

## 秋龙筋中药制剂对链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠的降糖作用及机制研究

林文东<sup>1</sup>, 杨维群<sup>1△</sup>, 施水液<sup>2</sup>, 张美佳<sup>2</sup>, 程晶<sup>1</sup>, 洪建兵<sup>3</sup>

(1. 泉州医学高等专科学校基础医学部, 福建泉州 362000; 2. 福建省晋江市中西医结合医院内科 362200; 3. 福建省泉星生物有限公司, 福建南安 362300)

**[摘要]** **目的** 探讨秋龙筋中药制剂对链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病大鼠的降糖作用及作用机制, 为进一步深入开发提供依据。**方法** 将 24 只大鼠分为正常组、模型组、阳性药组及实验组, 模型组、阳性药组及实验组使用 STZ 诱导造模。正常组及模型组给予生理盐水, 阳性药组给予盐酸二甲双胍, 实验组给予秋龙筋中药制剂干预。给药结束后检测血清学指标; 采集肝脏组织, 检测肝糖原水平。**结果** 实验组大鼠血中低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、空腹血糖(FBG)、丙二醛(MDA)、游离脂肪酸(FFA)、糖化血红蛋白(GHb)、一氧化氮(NO)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平明显低于模型组, 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、肝糖原水平明显高于模型组( $P < 0.05$ )。**结论** 采用秋龙筋中药制剂对 STZ 诱导糖尿病大鼠干预后, 可有效降低其体内血糖水平, 提高胰腺  $\beta$  细胞功能。

**[关键词]** 链脲菌素; 糖尿病, 实验性; 秋龙筋中药制剂; 降糖作用; 机制**[中图分类号]** R285.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)24-3138-04

Study on hypoglycemic effect and related mechanism of Qiulongjin Chinese medicine preparation on STZ-induced diabetic rats

LIN Wendong<sup>1</sup>, YANG Wiequn<sup>1△</sup>, SHI Shuiye<sup>2</sup>, ZHANG Meijia<sup>2</sup>, CHENG Jing<sup>1</sup>, HONG Jianbing<sup>3</sup>

(1. Department of Basic Medicine, Quanzhou Medical College, Quanzhou, Fujian 362000, China;

2. Internal Medicine, Jinjiang Municipal Hospital of Integrated Traditional

Chinese and Western Medicine, Jinjiang, Fujian 362200, China; 3. Fujian Spring

Star Biological Co., Ltd., Nanan, Fujian 362300, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the hypoglycemic effect and mechanism of Qiulongjin Chinese medicine preparation on STZ-induced diabetic rats. **Methods** Twenty-four rats were divided into the normal group, model group, positive drug group and experimental group. The model group, positive drug group and experimental group used STZ to induce the model construction. The normal group and model group were given normal saline, the positive drug group was given metformin hydrochloride, and the experimental group was given Qiulongjin Chinese medicine preparation intervention. The serological indexes were detected at the end of medication. Liver tissue was collected and liver glycogen level was detected. **Results** The levels of LDL-C, TC, TG, FBG, MDA, FFA, GHb, NO and TNF- $\alpha$  in the experimental group were significantly lower than those in the model group, while the levels of HDL-C, SOD, GSH and liver glycogen were significantly higher than those in the model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Adopting Qiulongjin Chinese medicine preparation for conducting the intervention on STZ-induced diabetic rats could effectively decrease the blood glucose level and increases the pancreatic  $\beta$  cellular function.

**[Key words]** streptozocin; diabetes mellitus, experimental; Qiulongjin Chinese medicine preparation; hypoglycemic effect; mechanism

糖尿病是因胰岛素分泌量绝对或相对不足而导致的脂肪、糖、蛋白质代谢紊乱等为特点的内分泌性疾病<sup>[1]</sup>。随着我国人民生活水平的改善, 经济条件的发展, 糖尿病的临床发病率越来越高, 已成为严重威

胁人民生活健康的主要威胁之一<sup>[2]</sup>。现阶段临床试验仍在积极探索治疗糖尿病的有效方法, 这也是目前医疗学术研究一个热点<sup>[3]</sup>。秋龙筋中药制剂是民间中医自拟方, 有改善糖尿病症状的作用。本研究选择

链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病大鼠为实验对象,对秋龙筋中药制剂的降糖作用及机制进行研究,为该民间方药的进一步深入开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 本研究选取 24 只 6~7 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠(合格证编号:2015000509957、2015000510718),体质量 200~241 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号:SCXK(沪)2012-0002],所有大鼠均置于相对湿度为 45%~60%,光照 12 h,温度为 23~25 °C 的环境中饲养,实验场所是泉州医学高等专科学校屏障系统动物实验室[许可证号:SYXK(闽)2016-0001]。

**1.1.2 主要仪器** 本研究中所用 ST-360 型酶标仪,购自上海科华实验系统有限公司,T6 紫外可见分光光度计购自北京普利生有限公司。

**1.1.3 试剂与药物** 秋龙筋中药制剂为民间中医自制方剂,组方:中草药秋龙筋 35 g,野山参 3 g,太子参 5 g,天花 5 g,葛根 5 g。用约 1.50 L 水先浸泡 30 min,中火烧开后改用温火,煎约 20 min,药水剩下约 0.50 L,沉淀后倒出;另加水 1.00 L 继续烧开后约剩 0.25 L 时,倒出与第 1 遍药水混合使用。

盐酸二甲双胍购自中美上海施贵宝制药有限公司(国药准字 H20023371);STZ 购自美国 Sigma 公司;氢氧化钠、柠檬酸均购自上海国药集团;高脂高糖饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司[许可证号:SCXK(京)2017-0008];胰岛素 ELISA 试剂盒购自默克公司;高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、葡萄糖测定试剂盒均购自艾康生物技术(杭州)有限公司;一氧化氮(NO)试剂盒、糖化血红蛋白(GHb)试剂盒、肝糖原、游离脂肪酸(FFA)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;C 肽(C-P)试剂盒、胰岛素(Fins)试剂盒、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )试剂盒均购自武汉默沙克生物科技有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组、造模及给药** 本研究选用 24 只雄性 SD 大鼠,饲养 3 d 后,采用随机数字表法随机分为 4 组,即正常组、模型组、阳性药组、实验组,每组 6 只。模型组、阳性药组、实验组大鼠均使用 1%STZ 腹腔注射 55 mg/kg,使用柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 0.01 mol/L 造模,用高脂高糖饲料进行喂养,正常组注射等体积缓冲液。造模完成 48 h 后,采集尾静脉血检测血中空腹血糖,若血糖水平大于 16.7 mmol/L 则判定造

模成功。阳性药组每天早上 9 点灌胃给药盐酸二甲双胍,给药浓度为 150 mg/kg;实验组同时间点灌胃给药秋龙筋中药制剂,给药浓度为 200 mg/kg;模型组及正常组同期灌胃等体积的生理盐水,每天 1 次,连续给药 28 d。实验全程所有大鼠均自由饮水,饲养标准颗粒饲料。

**1.2.2 检测指标** 每组动物在实验结束后乙醚麻醉,腹主动脉取血,检测血清中空腹血糖(FBG)、TG、TC、LDL-C、HDL-C、INS、GHb、SOD、C-P、谷胱甘肽(GSH)、MDA、SOD、FFA、NO 及 TNF- $\alpha$  水平,所有操作均严格遵照试剂盒说明书进行操作。采集肝脏组织,检测肝糖原水平,严格遵照试剂盒说明书进行操作。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 处理数据,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料用率表示,组间采用  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠给药前后体质量变化情况** 给药后模型组、阳性药组及实验组 3 组大鼠体质量明显低于正常组( $P < 0.05$ ),阳性药组及实验组大鼠体质量明显高于模型组( $P < 0.05$ ),且实验组大鼠体质量明显低于阳性药组( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 各组大鼠给药前后体质量比较( $\bar{x} \pm s, g$ )

组别	<i>n</i>	给药前	给药后 28 d
正常组	6	287.21 ± 13.21	365.28 ± 14.29
模型组	6	290.32 ± 15.78	242.31 ± 17.42 <sup>a</sup>
阳性药组	6	289.38 ± 14.88	334.21 ± 16.35 <sup>ab</sup>
实验组	6	291.34 ± 14.82	310.64 ± 15.98 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与正常组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与阳性药组比较

**2.2 给药后各组大鼠血脂及血中 FBG、Fins、C-P 水平变化情况** 与正常组及阳性药组相比,模型组及实验组大鼠血中 TG、TC、LDL-C 水平明显较高,HDL-C 水平明显较低( $P < 0.05$ );实验组大鼠血中 TG、TC、LDL-C 水平明显低于模型组,HDL-C 水平明显高于模型组( $P < 0.05$ )。模型组及实验组大鼠血中 FBG 水平高于正常组及阳性药组( $P < 0.05$ ),Fins 及 C-P 水平明显低于正常组及阳性药组( $P < 0.05$ ),实验组大鼠血中 FBG 水平低于模型组( $P < 0.05$ ),Fins 及 C-P 水平明显高于模型组( $P < 0.05$ ),见表 2。

**2.3 给药后各组大鼠血中 SOD、MDA、GSH、FFA、GHb、NO、肝糖原及 TNF- $\alpha$  水平检测结果** 与正常组及阳性药组比较,模型组及实验组血中 MDA 水平明显较高,SOD 及 GSH 水平明显较低( $P < 0.05$ );实

表 2 给药后各组大鼠血脂及血中 FBG、Fins、C-P 水平检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	FBG(mmol/L)	Fins(mIU/L)	C-P(pg/L)
正常组	6	0.64±0.21	2.20±0.34	1.35±0.21	1.48±0.13	6.21±0.56	21.42±3.19	368.28±20.31
模型组	6	1.95±0.33 <sup>a</sup>	3.75±0.41 <sup>a</sup>	2.62±0.35 <sup>a</sup>	0.94±0.11 <sup>a</sup>	19.83±2.19 <sup>a</sup>	14.22±2.34 <sup>a</sup>	227.38±13.21 <sup>a</sup>
阳性药组	6	0.72±0.18 <sup>ab</sup>	2.33±0.29 <sup>b</sup>	1.42±0.33 <sup>ab</sup>	1.42±0.14 <sup>ab</sup>	6.42±0.74 <sup>b</sup>	20.98±2.42 <sup>b</sup>	357.14±32.38 <sup>b</sup>
实验组	6	1.22±0.11 <sup>abc</sup>	2.69±0.28 <sup>abc</sup>	1.89±0.26 <sup>abc</sup>	1.13±0.09 <sup>abc</sup>	11.23±1.21 <sup>abc</sup>	18.38±1.84 <sup>abc</sup>	321.38±21.94 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与正常组比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与阳性药组比较

表 3 给药后各组大鼠血中 SOD、MDA、GSH、FFA、GHb、NO、肝糖原及 TNF- $\alpha$  水平检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SOD(U/L)	MDA(nmol/L)	GSH(mg/L)	FFA( $\mu$ mol/L)	GHb(mmol/L)	NO( $\mu$ mol/L)	肝糖原(mg/g)	TNF- $\alpha$ (pg/L)
正常组	6	85.34±4.29	4.99±0.64	3.81±0.54	268.93±43.25	17.03±0.85	27.48±5.32	12.28±1.04	102.32±12.25
模型组	6	71.47±4.36 <sup>a</sup>	9.54±1.21 <sup>a</sup>	2.13±0.32 <sup>a</sup>	522.38±38.43 <sup>a</sup>	24.84±1.13 <sup>a</sup>	52.38±8.39 <sup>a</sup>	7.32±0.87 <sup>a</sup>	129.48±14.34 <sup>a</sup>
阳性药组	6	84.53±5.15 <sup>b</sup>	5.02±0.57 <sup>b</sup>	3.78±0.41 <sup>b</sup>	291.44±37.65 <sup>b</sup>	17.84±0.74 <sup>b</sup>	28.84±6.84 <sup>b</sup>	11.52±1.21 <sup>b</sup>	100.94±15.29 <sup>b</sup>
实验组	6	79.38±4.12 <sup>abc</sup>	7.13±0.98 <sup>abc</sup>	3.09±0.62 <sup>abc</sup>	321.43±39.47 <sup>abc</sup>	19.32±0.94 <sup>abc</sup>	32.55±6.19 <sup>abc</sup>	9.12±0.91 <sup>abc</sup>	110.84±13.27 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与正常组比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与阳性药组比较

验组血中 MDA 水平明显低于模型组, SOD 及 GSH 水平明显高于模型组( $P<0.05$ )。实验组大鼠血中 FFA、GHb、TNF- $\alpha$  及 NO 水平明显低于模型组, 肝糖原水平明显高于模型组( $P<0.05$ ); 实验组大鼠 TNF- $\alpha$  水平明显高于阳性药组( $P<0.05$ ), 见表 3。

### 3 讨 论

维持机体内血糖水平稳定多是通过利用、贮存及转化血中葡萄糖的动态平衡实现的<sup>[4]</sup>。C-P 也是人体内由胰腺  $\beta$  细胞合成并分泌的产物, 因其不被肝脏代谢和摄取, 也不受外源性胰岛素影响, 所以血中 C-P 水平可作为评估胰腺  $\beta$  细胞功能的重要指标之一<sup>[5]</sup>。有研究指出, 在糖尿病早期, 机体肾小球内皮细胞功能异常, 导致大量生成 NO, 而过量 NO 则会进一步转化为过硝酸根离子等自由基, 通过其细胞毒作用对胰腺  $\beta$  细胞的功能及结构造成损害<sup>[6]</sup>。

STZ 致糖尿病大鼠采用秋龙筋中药制剂给药后, 机体 C-P 及胰岛素水平明显提高, NO 水平明显降低。本研究结果提示, 秋龙筋中药制剂可能具有调节糖尿病大鼠受损的胰腺  $\beta$  细胞功能。有学者指出血糖水平与体内糖化血红蛋白水平呈明显正相关, 机体内糖化血红蛋白水平可有效反映机体内蛋白质糖基化水平<sup>[7]</sup>。秋龙筋中药制剂可有效降低糖尿病大鼠体内 GHb 及 FBG 水平, 笔者分析认为这可能是通过上调大鼠体内肝糖原的合成并改善胰腺  $\beta$  细胞分泌功能而实现。

有研究指出, 在 2 型糖尿病患者体内, 可见明显的脂代谢紊乱症状, 并伴有明显的 TC、TG、LDL-C 水平异常升高, HDL-C 水平异常降低<sup>[8]</sup>。糖尿病大鼠体内氧化自由基水平增高, 使细胞膜增强脂质过氧化作用, 降低血中 GSH 及 SOD 水平, 并提高 MDA 水平<sup>[9]</sup>。采用秋龙筋中药制剂给药后, 可有效提高糖尿

病大鼠血中 SOD、HDL-C 及 GDH 水平, 并降低大鼠血中 MDA、TG、TC 及 LDL-C 水平。结果表明, 秋龙筋中药制剂可减少脂质过氧化, 清除自由基, 有效防止糖尿病脂肪代谢并发症的发生及发展。

TNF- $\alpha$  是机体内重要的具有多种生物活性的细胞活性因子, 在机体免疫应答及炎症反应过程中起到重要的调节作用<sup>[10-11]</sup>。有研究指出, 脂肪组织是内源性 TNF- $\alpha$  的主要来源, 其参与机体内的诸多代谢过程, 包括脂质代谢、胰岛素代谢、葡萄糖代谢等, 在机体的胰岛素抵抗过程中起到十分重要的作用<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$  可有效调节脂肪细胞基因, 降低体内脂蛋白酯酶水平, 抑制脂肪细胞分化, 加速脂肪分解, 并升高血清中 FFA 水平<sup>[13-14]</sup>。研究指出, FFA 升高可加速糖异生, 降低胰岛素清除率, 使胰高血糖素水平升高, 抑制糖原合成及骨骼肌利用葡萄糖作用, 导致机体出现胰岛素抵抗<sup>[15]</sup>。本研究结果显示, 在 STZ 诱导的糖尿病大鼠血中, FFA 及 TNF- $\alpha$  水平均明显升高, 提示该模型大鼠可能出现胰岛素抵抗。而 STZ 诱导的糖尿病大鼠采用秋龙筋中药制剂干预后可有效降低其血中 FFA 及 TNF- $\alpha$  水平, 提示秋龙筋中药制剂可有效抑制胰岛素抵抗, 调节胰岛素水平。

综上所述, 采用秋龙筋中药制剂对 STZ 诱导糖尿病大鼠干预后, 可有效降低体内血糖水平, 提高胰腺  $\beta$  细胞功能, 改善糖脂代谢紊乱及胰岛素抵抗, 抗脂质过氧化并促进肝糖原合成。

### 参考文献

- [1] MAHMOUD A M, AHMED O M, ASHOUR M B, et al. In vivo and in vitro antidiabetic effects of citrus flavonoids: a study on the mechanism of action[J]. Int J Diabetes Dev Ctries, 2015, 35(3):250-263.
- [2] GAO D W, ZHAO M, QI X M, et al. Hypoglycemic effect

- of Gynostemma pentaphyllum saponins by enhancing the Nrf2 signaling pathway in STZ-inducing diabetic rats[J]. Arch Pharm Res, 2016, 39(2): 221-230.
- [3] 李小英,肖新华. 第 51 届欧洲糖尿病研究学会(EASD)年会热点聚焦[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(11): 1004-1006.
- [4] LI Y G, JI D F, ZHONG S, et al. Hypoglycemic effect of deoxynojirimycin-polysaccharide on high fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice via regulation of hepatic glucose metabolism[J]. Chem Biol Interact, 2015, 225(6097): 70-79.
- [5] MA Y G, ZHANG Y B, BAI Y G, et al. Berberine alleviates the cerebrovascular contractility in streptozotocin-induced diabetic rats through modulation of intracellular  $Ca^{2+}$  handling in smooth muscle cells[J]. Cardiovasc Diabetol, 2016, 15(1): 63.
- [6] 吕娟,白甫,魏鹏飞. 姬松茸多糖对糖尿病大鼠氧自由基及炎症相关因子的影响[J]. 贵州医药, 2017, 41(2): 139-140.
- [7] SEINO Y, KAKU K, INAGAKI N, et al. Fifty-two-week long-term clinical study of luseogliflozin as monotherapy in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled with diet and exercise[J]. Endocr J, 2015, 62(7): 593-603.
- [8] 王俊,于微,徐健,等. 2 型糖尿病患者脂代谢异常情况及血清载脂蛋白含量分析[J]. 卫生研究, 2016, 45(4): 587-592.
- [9] GHOLAMI M, HEMMATI M, TAHERI-GHAHFAROKHI A, et al. Expression of glucokinase, glucose 6-phosphatase, and stress protein in streptozotocin-induced diabetic rats treated with natural honey[J]. Int J Diabetes Dev Ctries, 2016, 36(1): 125-131.
- [10] Sabahi Z, Namadi S R, Moein M. Antidiabetic and synergistic effects study of anthocyanin fraction from berberis integerrima fruit on streptozotocin-induced diabetic rats model[J]. Trends Pharmacol Sci, 2016, 2(1): 43-50.
- [11] 张雪利. TNF- $\alpha$ , PARP 及施万细胞凋亡在糖尿病痛性周围神经病变中的作用[J]. 医学综述, 2015, 21(23): 4317-4319.
- [12] DOMEKOUO U L, LONGO F, TARKANG P A, et al. Evaluation of the antidiabetic and antioxidant properties of Morinda lucida stem bark extract in streptozotocin intoxicated rats[J]. Pak J Pharm Sci, 2016, 29(3): 903-911.
- [13] 李振,宋国华,肖强,等. 高密度脂蛋白对脂肪细胞腺苷酸激活蛋白激酶的调节作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2015, 42(9): 804-809.
- [14] CHIS I C, COSERIU A, SIMEDREA R, et al. In vivo effects of quercetin in association with moderate exercise training in improving Streptozotocin-Induced aortic tissue injuries[J]. Molecules, 2015, 20(12): 21770-21786.
- [15] 曹荟哲,哈小琴,李雪雁,等. 游离脂肪酸致胰岛素抵抗的分子机制[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(1): 81-85.

(收稿日期:2018-02-11 修回日期:2018-05-25)

(上接第 3137 页)

- cells to gemcitabine[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 483(1): 725-731.
- [11] FINZEL A, GRYBOWSKI A, STRASEN J, et al. Hyperactivation of ATM upon DNA-PKcs inhibition modulates p53 dynamics and cell fate in response to DNA damage[J]. Mol Biol Cell, 2016, 27(15): 2360-2367.
- [12] CALLÉN E, JANKOVIC M, WONG N, et al. Essential role for DNA-PKcs in DNA double-strand break repair and apoptosis in ATM-deficient lymphocytes[J]. Mol Cell, 2009, 34(3): 285-297.
- [13] ZOU K, LIU C G, ZHANG Z, et al. The effect of elemene on lung adenocarcinoma A549 cell radiosensitivity and elucidation of its mechanism[J]. Clinics, 2015, 70(8): 556-562.
- [14] FANG Y, CHAI Z T, WANG D S, et al. DNA-PKcs deficiency sensitizes the human hepatoma HepG2 cells to cisplatin and 5-fluorouracil through suppression of the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 399(1/2): 269-278.
- [15] YF Z, LI S T, ZHU Y R, et al. Identification of DNA-PKcs as a primary resistance factor of salinomycin in osteosarcoma cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(48): 79417-79427.
- [16] LI X, TIAN J G, BO Q Y, et al. Targeting DNA-PKcs increased anticancer drug sensitivity by suppressing DNA damage repair in osteosarcoma cell line MG63[J]. Tumour Biol, 2015, 36(12): 9365-9372.

(收稿日期:2018-02-15 修回日期:2018-05-10)