

# 黄地吉仙汤对2型糖尿病大鼠FBG及HbA1c影响的实验研究\*

杨丽娜, 罗志红, 栾晓文, 宁钰清, 李富强, 宁亚功  
(成都军区昆明总医院附属中医医院, 昆明 650032)

**摘要:** [目的] 观察“补泻同施, 调节平衡”法指导组方的经验方黄地吉仙汤对2型糖尿病大鼠空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)的影响。 [方法] 将清洁级雄性SD大鼠60只, 随机抽取10只设置为空白对照组, 其余50只给予高脂高糖饲料加一次性小剂量腹腔注射链脲菌素(STZ)与精神紧张法诱发2型糖尿病大鼠模型。造模成功后随机分为模型组、西药治疗组、中药治疗低、中、高剂量组, 每组10只。除空白对照组外, 其余5组分别喂药观察8周, 给药前后观察大鼠一般情况、测定体质量、FBG、HbA1c指标。 [结果] 西药治疗组、中药高、中、低剂量组大鼠经给药治疗后, 一般情况均有不同程度的改善, 中药高剂量组体质量与其他4组比较明显升高( $P<0.05$ ); 西药治疗组、中药高、中剂量组与模型组比较血糖明显减低( $P<0.05$ ); 中药高剂量组具有明显降低HbA1c的作用。 [结论] 黄地吉仙汤可以明显改善糖尿病大鼠的一般情况, 对糖尿病大鼠的体质量减轻具有缓解作用, 能显著降低血糖及HbA1c, 有效治疗2型糖尿病。

**关键词:** 2型糖尿病; 黄地吉仙汤; 空腹血糖; 糖化血红蛋白

**中图分类号:** R587.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9043(2016)01-0023-04

糖尿病(DM)是由于胰岛素分泌不足或胰岛素作用低下而引起的一种代谢性疾病, 以慢性高血糖为主要特征, 是仅次于心血管疾病和恶性肿瘤的致死性疾病<sup>[1]</sup>。目前中国DM的诊断指标为空腹血糖(FBG)和口服糖耐量(OGTT), 只能反映即时血糖水平, 受进食、应激反应和降血糖药物等相关因素的影响<sup>[2]</sup>。糖尿病一旦明确诊断, 首先要控制血糖。近年来, 血糖控制的情况多以糖化血红蛋白(HbA1c)来评估。HbA1c是指血中葡萄糖与红细胞的血红蛋白经非酶促反应形成的酮胺化合物<sup>[3]</sup>, 其含量与血糖浓度成正比, 在血中浓度稳定, 可作为早期诊断DM、控制血糖的一项敏感而准确的检测指标, 从而评估DM并发症的发病风险<sup>[4]</sup>。HbA1c对糖尿病的诊断已引起医学卫生界的高度关注, 2010年美国ADA糖尿病协会的标准中, 明确规定HbA1c是国际公认的糖尿病检测的“金标准”<sup>[5]</sup>, 在对糖尿病早发现、早诊断、早治疗中起到重要作用。本课题在前期的临床研究中发现黄地吉仙汤具有降低2型糖

尿病患者FBG及HbA1c的作用, 本实验通过复制2型糖尿病大鼠模型, 以期进一步验证黄地吉仙汤的治疗作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 清洁级雄性SD大鼠, 体质量140~160 g, 5周龄, 60只。购自昆明医科大学实验动物中心, 动物质量合格证号SYXK(滇)2005-0008; 实验动物使用许可证号SYXK(滇)2008-0005。动物共分12笼饲养, 每笼5只。屏障环境饲养, 环境温度为20~25℃, 湿度为40%~60%, 每天光照12 h, 自由进食进水, 饲养笼每日清洁, 垫料每日更换1次。

## 1.2 实验药物的制备及给药剂量设定

**1.2.1 黄地吉仙汤药液的制备及给药剂量设定** 中药饮片由成都军区解放军昆明总医院附属中医医院中药房提供。主要由黄芪、太子参、生地、玄参、石膏、知母、桔梗、黄连、菟丝子、山茱萸、丹参、土鳖虫、仙鹤草、桑白皮、甘草等药物组成。将中药饮片加5倍量水浸泡0.5 h, 煎煮3次, 每次5倍量水煎煮30 min, 合并3次煎液为黄地吉仙汤原液, 再参照《实验药理学》进行浓缩, 浓缩至实验所需的不同浓度的观察剂量, 分别为低、中、高剂量的黄地吉仙汤药液。参照《实验药理学》<sup>[6]</sup>, 利用体质量换算法,

\* 基金项目: 全军中医药重大专项课题资助项目(10ZY119)。

作者简介: 杨丽娜(1987-), 女, 硕士, 中医医师, 研究方向为中医药治疗糖尿病的临床和实验研究。

通讯作者: 宁亚功, E-mail: kmnyg@126.com。

将实验用药的剂量换算成大鼠的服用剂量,进行实验观察。体质量换算法:已知A种动物(60 kg成人)1 kg体质量用药剂量,欲估算B种动物(200 g大鼠)1 kg体质量用药剂量时,可查表找出折算系数W( $W=6.25$ ),再按照公式计算即可。计算公式: $B$ 种动物的用药剂量(mg/kg)= $W \times A$ 种动物的用药剂量(mg/kg)。(用药比例:成人单剂黄地吉仙汤生药总量为366 g,每日量为183 g,按照成人标准体质量60 kg计算,每人每日量为生药3.05 g/(kg·d)。再按照体质量换算法,大鼠1 kg体质量用药剂量为成人的6.25倍,即为生药19.06 g/(kg·d),约为生药19 g/(kg·d)。低剂量:大鼠每日正常剂量的50%,即生药9.5 g/(kg·d)。中剂量:大鼠每日正常剂量,即生药19 g/(kg·d)。高剂量:大鼠每日正常剂量的2倍,即生药38 g/(kg·d)。

**1.2.2 二甲双胍片药液制备及给药剂量设定** 每片250 mg,北京双鹤药业股份有限公司生产,批准文号:国药准字H11020541。灌胃前将二甲双胍片用双蒸水配制成25 g/L的悬浊液待用。成人每日二甲双胍的常用剂量为500~2 000 mg,按照成人标准体质量60 kg计算,每人每日量为8.33~33.3 mg/(kg·d),换算成大鼠每日量为51.4~205.5 mg/(kg·d)。经预实验确定剂量为200 mg/(kg·d)。

**1.3 动物模型的建立及分组给药** 本实验在成都军区昆明总医院实验动物中心完成。普通饲料:由昆明医科大学动物实验中心提供。高脂高糖饲料:由昆明医科大学动物实验中心按照配方制备,配方为:动物脂肪15%、蔗糖20%、蛋黄粉5%、普通饲料60%。将60只SD大鼠以普通饲料喂养1周,1周后采取随机数字表法随机抽取10只大鼠作为空白对照组,整个实验过程均以普通饲料喂养。其余50只大鼠改为高脂高糖饲料喂养4周后,禁食不禁水12 h,用电子天平给大鼠称重,称重后按30 mg/kg剂量一次性腹腔注射链脲菌素(STZ)。注射后开始观察并记录其饮水量、摄食量、大便量、尿量、体质量、活动、死亡等变化,3 d后尾静脉取血,血糖仪测定随机血糖,凡随机血糖 $\geq 16.7$  mmol/L为造模成功者,不成功者给予STZ 10~20 mg/kg进行二次造模。造模期间,除空白对照组10只大鼠外,其余大鼠每日给予2次驱赶和惊吓,造成实验动物精神紧张状态。

将造模成功的50只糖尿病大鼠按照随机数字表法进行第2次随机分组,分为模型组、西药治疗组、中药治疗低、中、高剂量组,每组10只,共50只。

空白对照组不予任何处理,模型组给予灌服蒸馏水[5 mL/(kg·d)],中药治疗低、中、高剂量组分别灌服低、中、高剂量的中药黄地吉仙汤,西药治疗组灌服确定剂量的二甲双胍片配制液。成模次日即开始给药,连续观察8周。治疗期间均以基础饲料喂养。

#### 1.4 检测指标与方法

**1.4.1 一般情况观察** 对各组大鼠的饮水量、摄食量、尿量、大便量、精神状态、毛发、行为活动等进行观察。

**1.4.2 体质量** 分别于给药前、给药后2、4、6周及实验结束前对大鼠进行称重,观察大鼠的体质量变化情况。

**1.4.3 血糖测定** 分别在给药前后采用尾尖采血法测微量血糖。采血前禁食不禁水8 h,固定好大鼠,用碘酒及乙醇棉球将尾部消毒并擦干后,取采血针刺穿尾静脉,然后从尾根向尾尖部按摩挤压,使血从尾尖流出,滴于已准备好的血糖试纸条上,即可测定。

**1.4.4 HbA1c检测** 给药8周后从心脏处取血,应用全自动生化分析仪检测HbA1c,并进行组间比较。

**1.5 统计学方法** 应用SPSS18.0统计学软件对实验数据进行分析处理,各组实验数据计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,各组间观察指标计量资料采用单因素方差分析进行统计分析。组间差异比较若方差齐采用LSD法,若方差不齐采用Dunnett's  $T_3$ 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般情况观察** 在给药治疗期间,空白对照组大鼠精神状态良好,活动自如,反应灵敏,毛发光泽,无三多一少症状,饮水、进食及大小便正常。模型组大鼠一般情况较差,精神萎靡,动作迟缓,拱背蜷卧,反应迟钝,毛发稀少欠光泽,三多一少症状明显。西药治疗组、中药高、中、低剂量组大鼠经给药治疗后,一般情况均有不同程度的改善。在实验期间,模型组有3只大鼠死亡,西药治疗组与中药高、中、低剂量组各有2只大鼠死亡,其死亡原因可能与灌胃误伤肺脏、感染导致血糖升高等有关。

**2.2 对体质量的影响** 给药前6组大鼠的体质量差异无统计学意义。给药8周后,6组大鼠的体质量之间差异有统计学意义。其中,空白对照组与其余5组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ 或0.01);除空白对照组外,中药高剂量组与其他4组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );模型组与中药高、中剂量组比较,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ 或0.01),

与西药治疗组、中药低剂量组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 治疗前后各组大鼠体质量比较( $\bar{x}\pm s$ ) g

组别	n	给药前	给药后
空白对照组	10	343.30±24.90	495.00±13.38
模型组	7	330.38±48.20	262.43±58.37**
西药治疗组	8	338.75±26.01	308.38±38.79* <sup>△</sup>
中药高剂量组	8	346.00±48.47	349.75±41.47* <sup>##</sup>
中药中剂量组	8	331.63±38.37	298.75±38.66* <sup>##△</sup>
中药低剂量组	8	350.38±38.45	264.88±43.17* <sup>##△</sup>

注:与空白对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ ;与中药高剂量组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

**2.3 对血糖的影响** 喂药前,空白对照组大鼠的血糖与其余 5 组比较,差异均具有统计学意义( $P<0.01$ ),其余 5 组之间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。喂药 8 周后,空白对照组与模型组比较差异具有统计学意义( $P<0.01$ );模型组与中药低剂量组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),与其余 3 组比较差异有统计学意义( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );西药治疗组与中药高、中剂量组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),与其余组比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。通过对 6 组大鼠的血糖进行比较,可以看出黄地吉仙汤与二甲双胍片均具有降低血糖的作用,但是中药高、中、低剂量组的疗效不同,随着中药浓度的降低,降糖效果也相应的降低,即中药高剂量组的降糖疗效最好,而中药低剂量组的疗效甚微,因此可以说明中药降糖的疗效与药物浓度有关,受量效关系的影响。

表 2 治疗前后各组大鼠血糖比较( $\bar{x}\pm s$ ) mmol/L

组别	n	给药前血糖	给药后血糖
空白对照组	10	4.70±0.67	4.91±0.50
模型组	7	24.55±5.60**	24.31±7.71**
西药治疗组	8	25.68±4.27**	9.89±2.66* <sup>##</sup>
中药高剂量组	8	24.88±4.04**	9.75±3.84* <sup>##</sup>
中药中剂量组	8	24.52±6.66**	12.57±3.51* <sup>##</sup>
中药低剂量组	8	24.68±3.86**	20.50±9.40**

注:与空白对照组比较,\*\* $P<0.01$ ,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ 。

**2.4 对 HbA1c 的影响** 通过对 6 组大鼠的 HbA1c 比较说明黄地吉仙汤与二甲双胍片均具有显著降低 HbA1c 的作用,而且经治疗后,中药高剂量组大鼠的 HbA1c 已接近正常水平,但是中药高、中、低剂量组的疗效不同,随着中药浓度的降低,降低

HbA1c 的效果也相应减退,即中药高剂量组的疗效最好,而中药低剂量组的疗效甚微,因此可以说明中药降低 HbA1c 的疗效受量效关系的影响,与药物浓度有关,需要达到一定浓度才能发挥最佳治疗效果,见表 3。

表 3 治疗后各组大鼠 HbA1c 比较( $\bar{x}\pm s$ ) %

组别	n	治疗后 HbA1c
空白对照组	10	4.986±0.542
模型组	7	9.162±1.254
西药治疗组	8	6.346±1.529
中药高剂量组	8	6.063±1.363
中药中剂量组	8	8.585±1.478
中药低剂量组	8	9.337±1.393

### 3 讨论

本实验采用高脂高糖饲料加小剂量(30 mg/kg)腹腔注射 STZ 与精神紧张法诱发 2 型糖尿病大鼠模型。造模方法科学、新颖,造模一次成功率达 90%。STZ 是一种氨基葡萄糖-亚硝基脲,对胰腺  $\beta$  细胞具有选择性毒性作用,可直接杀伤  $\beta$  细胞,从而引起胰岛素合成、分泌减少,胰岛功能受损,导致糖代谢紊乱,诱发糖尿病。该实验选择高脂高糖饲料喂养配合小剂量注射 STZ 造模的方法,即先给予大鼠高脂高糖饮食,通过高脂高糖毒性作用,引起大鼠胰岛素抵抗,继而通过注射小剂量 STZ 造成部分  $\beta$  细胞破坏,引起胰岛素分泌缺陷,成模大鼠即为 2 型糖尿病大鼠,STZ 对于大鼠的影响仅局限于胰腺组织,6 h 即可排出体外,故 STZ 一般不会直接损害其他脏器组织。情志因素是糖尿病形成与发展过程中不可忽视的因素,故该实验在传统药物造模的基础上又加入精神紧张法,造成大鼠精神紧张状态,更易于诱导 2 型糖尿病模型,而精神紧张法也可谓该实验诱导模型的创新之处。

黄地吉仙汤是宁亚功教授凭借 30 余年临床经验,总结出补泻同施、调节平衡法治疗糖尿病的经验方。该方以益气养阴、补肾健脾、润肺清胃、化痰通络为主,补泻同施、寒温并用,整体调节、标本兼治。在前期的临床研究发现黄地吉仙汤对初发 2 型糖尿病患者的 FBG、HbA1c 都具有显著减低作用。本课题通过动物实验进一步研究证实“补泻同施、调节平衡”法指导组方之经验方黄地吉仙汤可以明显改善糖尿病大鼠的一般情况,对糖尿病大鼠的体质量减轻具有缓解作用,可以起到缓解“三多一少”症状的作用。黄地吉仙汤与二甲双胍片均具

有明显降低血糖和 HbA1c 的作用, HbA1c 能够反映过去 2~3 个月血糖控制的平均水平, 不受偶尔一次血糖升高或降低的影响, 因此 HbA1c 更能说明血糖控制情况。同时研究还发现黄地吉仙汤治疗组存在明显的量效关系, 高剂量组降低血糖及 HbA1c 的疗效几乎与西药对照组等效, 而且稳定性较好, 这为临床单纯应用中药治疗糖尿病及黄地吉仙汤有效剂量的把握提供了宝贵的参考资料。

参考文献:

[1] 宋 玮. 糖尿病的治疗药物与进展[J]. 天津药学, 2011, 23

(2):68-71.

[2] 张 健, 杨 青, 张进安, 等. 糖化血红蛋白在高危人群诊断 2 型糖尿病中的价值[J]. 西安交通大学学报, 2010, 31(4): 512-514.

[3] Calisti L, Tognetti S. Measure of glycosylated hemoglobin[J]. Acta Biomed, 2005, 76(Suppl 3): 59-62.

[4] 贾俊梅. HbA1c 检测与糖尿病及其并发症的关系[J]. 继续医学教育, 2010, 32(1):43-45.

[5] Association AD. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 2003, 26:33-50.

(收稿日期: 2015-09-23)

### Experiment study of Huangdi Jixian decoction on FBG and HbA1c in type 2 diabetes

YANG Li-na, LUO Zhi-hong, LUAN Xiao-wen, NING Yu-qing, LI Fu-qiang, NING Ya-gong

(The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Kunming General Hospital of Chengdu Military Command, Kunming 650032, China)

**Abstract:** [Objective] To observe the effects of Huangdi Jixian decoction guided by “reinforcing and reducing, adjustment the balance” method on the FBG and HbA1c in type 2 diabetic rats. [Methods] Sixty male SD rats of clean grade, randomly selected 10 rats as the normal control group, the remaining 50 of given high fat diet add disposable small dose of intraperitoneal injection of STZ add stress to induce rat model of type 2 diabetes mellitus. After the success of modeling, 50 rats were randomly divided into model group, western medicine group, Chinese medicine treatment of low, medium and high dose groups, 10 rats in each group. All groups were treated 8 weeks, before and after administration of the body weight, the determination of FPG, HbA1c were administered. [Results] Western medicine treatment group, Chinese herbal medicine in high, medium and low dose group rats were improved in general condition after treatment. The weight in the high dosage group of Chinese medicine increased significantly than those in the other four groups ( $P < 0.05$ ). The FBG in the western medicine treatment group, Chinese medicine of high, middle dose group were decreased significantly than model group ( $P < 0.05$  or  $0.01$ ). Traditional Chinese medicine of high dose can significantly reduced HbA1c. [Conclusion] Huangdi Jixian decoction can obviously improve the diabetic rats in general condition, significantly reduced blood glucose and HbA1c.

**Key words:** Type 2 diabetes; Huangdi Jixian decoction; FBG; HbA1c