

文章编号: 1004-4353(2015)02-0145-04

# 一种复合制剂对糖尿病模型小鼠的影响

王志强<sup>1</sup>, 李海飞<sup>1</sup>, 姜成哲<sup>1</sup>, 李官浩<sup>2</sup>, 崔明勋<sup>1\*</sup>

( 1. 延边大学农学院 动物医学系; 2. 延边大学农学院 食品科学系: 吉林 延吉 133002 )

**摘要:** 用红参、葛根、巴拿巴、桑枝、松叶、苦瓜和荞麦等植物的提取物制成了复合制剂,探讨了该复合制剂对糖尿病模型小鼠的影响.结果显示:灌胃复合制剂的模型组与灌水的模型组相比小鼠的血糖无显著性差异,复合制剂对正常小鼠的血糖无影响;复合制剂组小鼠肾脏中的丙二醛(MDA)含量显著低于模型对照组,而超氧化物歧化酶(SOD)活性显著高于模型对照组.

**关键词:** 复合制剂;糖尿病;四氧嘧啶;小鼠

**中图分类号:** R587.1      **文献标识码:** A

## Effects of the combined supplement on diabetic model mice

WANG Zhiqiang<sup>1</sup>, LI Haifei<sup>1</sup>, JIANG Chengzhe<sup>1</sup>, LI Guanhao<sup>2</sup>, CUI Mingxun<sup>1\*</sup>

( 1. *Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Yanbian University;*

*2. Department of Food Science, College of Agriculture, Yanbian University; Yanji 133002, China )*

**Abstract:** Effects of the combined supplement on diabetic model mice were discussed, the combined supplement were the extracts of the red ginseng, kudzu root, bamabas leaves, ramulus mori, pine balsam pear and buckwheat. The results show that the combined supplement did not improve blood glucose levels for diabetic mouse with water and gavage models, respectively. Thus, the blood glucose levels were not significant different in the control group. The malondialdehyde (MDA) concentrations of mice renal in the combined supplement group is significantly lower than the control group, however, superoxide dismutase (SOD) activity in the combined supplement group is significantly higher than the control group.

**Key words:** the combined supplement; diabetic; alloxan; mice

随着人们生活水平的提高、人口老龄化以及肥胖发生率的增加,糖尿病的发病率呈逐年上升趋势,严重威胁着人类的健康<sup>[1]</sup>.研究表明,糖尿病的致病因素很多,主要可归纳为遗传因素、免疫功能因素、生物感染因素和环境因素等.近年来,在治疗糖尿病的研究中,研究人员对多种植物的提取物进行了研究,并取得了一定的研究成果,例如:葛根黄酮能降低由四氧嘧啶导致糖尿病的小鼠血糖<sup>[2]</sup>;红参具有降糖效果<sup>[3]</sup>;葛根提取物能降低链脲佐菌素高血糖模型大鼠的血糖,同时能降低肾脏中的 MDA 浓度,提高肾脏中的 SOD 活性<sup>[4]</sup>;巴拿巴提取物中含有的科罗索酸(corosolic acid)能够降低血糖<sup>[5-6]</sup>;桑枝的醇提物能够降低糖尿病模型大鼠的血糖,且能够提高肾脏中的 SOD 活性<sup>[7]</sup>;松叶提取物对Ⅱ型糖尿病大鼠的血糖、胆固醇和甘油三酯均有降低作用<sup>[8]</sup>;苦瓜粗多糖对四氧嘧啶造成的昆明种小白鼠的高血糖有降低作用<sup>[9]</sup>;荞麦种子的提取物对糖尿病小鼠和Ⅱ型糖尿病模型大鼠的高血糖具有降低作用<sup>[10-11]</sup>.基于上述研究,本文将上述植物的提取物按照一定的比例混合制成复合制剂,并以四氧嘧啶诱导的糖尿病模型小鼠为对象,观察其对糖尿病模型

收稿日期: 2015-01-23

\* 通信作者: 崔明勋(1966—),男,博士,副教授,研究方向为药理学和生物化学.

小鼠血糖状况的改善情况.

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

FA1004A 电子天平,上海精天电子仪器有限公司;DK-8D 型电热恒温水槽,上海精宏实验设备有限公司;TDL-408 低速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;722S 分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;超纯水系统,Millipore 公司. 四氧嘧啶,Apollo 公司;总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及甘油三酯测定试剂盒,长春汇力生物技术有限公司;氯化钠、邻甲苯胺、联苯三酚等化学试剂均为分析纯;注射器、移液器枪头等均为市售一次性商品.

实验用鼠为昆明种小白鼠,购于延边大学实验动物中心. 复合制剂由红参、葛根、巴拿巴叶、桑叶、松叶、苦瓜和荞麦的提取物按一定比例混合而成.

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 取体重 24~30 g 的健康昆明种公鼠 80 只,随机挑选 10 只作为空白对照组,其中 5 只用等量蒸馏水灌胃,另 5 只作灌药对照组(灌胃 0.4 mg/(g·d)复合制剂). 其余 70 只作为造模组,并将造模成功者分为 4 组,即灌水模型组、高剂量模型组(0.4 mg/(g·d))、中剂量模型组(0.28 mg/(g·d))、低剂量模型组(0.18 mg/(g·d)),各组全部灌胃 21 d.

1.2.2 糖尿病模型的建立 模型组小鼠禁食不禁饮水(自来水)12 h 后,按体重以 50~80 mg/kg 的剂量尾静脉注射 8~12 mg/mL 的四氧嘧啶生理盐水溶液. 注射 3 d 后,再禁食不禁饮水 12 h,尾静脉采血后用邻甲苯胺法测定血糖浓度<sup>[12]</sup>,血糖浓度高于 13 mmol/L 以上的为造模成功的小鼠.

1.2.3 观察指标及测定

1) 观察小鼠的自然状况,如:饮食、排尿、皮毛、体重等身体状况和精神状况,每隔 7 d 称重 1 次,同时调整灌药量.

2) 为减少饮食因素对小鼠血糖的影响,小鼠禁食不禁水 12 h 后,尾静脉采血,采用邻甲苯胺法测定血糖.

3) 灌药结束后,对小鼠进行摘眼球采血,血液静置 30 min 后,以 3 000 r/min 离心 20 min,然

后将提取分离出的血清放入冰箱保存. 采血结束后,对小鼠进行剖检,取小鼠的心脏、胸腺、脾、肾、肝进行称重,并计算其脏器指数.

4) 血清的总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及甘油三酯的测定均按照试剂盒使用说明书进行操作. 胆固醇的测定采用的是胆固醇氧化酶法;高密度脂蛋白胆固醇的测定是通过抑制剂把低密度和极低密度胆固醇隐藏后,再测定胆固醇的含量;甘油三酯的测定是先用脂肪酶水解后,测定其含量. 肝脏和肾脏先制备匀浆,再进行测定;蛋白质含量的测定用考马斯亮蓝法 (coomassie blue staining)<sup>[13]</sup>,SOD 活性测定采用联苯三酚自氧化法<sup>[14]</sup>,MDA 浓度测定采用硫代巴比妥酸法<sup>[15]</sup>.

1.3 统计分析

所得数据用 mean±SD 表示,组间试验数据显著性差异用 *t*-检验, $P<0.05$  表示差异有统计学意义.

2 结果与讨论

2.1 小鼠的自然状况

通过对小鼠的观察发现:未造模小鼠(2 个组)的食量、饮水量、排尿量均正常,皮毛干净有光泽;模型小鼠(4 个组)的食量、饮水量、排尿量明显增多,皮毛凌乱无光泽,精神萎靡.

2.2 小鼠的血糖与体重的变化

各组小鼠的血糖变化如表 1 所示. 从表 1 可知,对照组和模型组组内之间的血糖变化无显著性差异( $P>0.05$ ). 研究<sup>[16]</sup>表明,四氧嘧啶能够选择性地破坏胰岛  $\beta$  细胞,使其丧失分泌胰岛素的功能,造成小鼠代谢失调,从而使小鼠的血糖升高. 模型组各组间的小鼠血糖浓度没有出现显著性差异,可能是因为:复合制剂没能起到同胰岛素一样的作用;小鼠的胰岛  $\beta$  细胞只有受到足够的损伤时,才能表现出高血糖,而复合制剂的修复能力有限;动物的个体差异也可能影响统计结果. 由表 1 中小鼠血糖的增加量可以看出,复合制剂具有一定的稳定血糖的作用.

各组小鼠的体重变化如表 2 所示. 由表 2 可以看出,小鼠的体重在对照组间没有差异;但在模型组间,中剂量组和低剂量组与高剂量组存在显著差异( $P<0.05$ ),高剂量组小鼠的体重减少得

最为明显,低剂量组减重最少.

表 1 各组小鼠血糖变化

组别	数量/ 只	起始血糖浓度/ (mmol/L)	结束血糖浓度/ (mmol/L)	血糖增加量/ (mmol/L)
空白对照组	5	9.3±0.9	9.6±1.4	0.3±2.4
灌药对照组	5	9.7±0.7	10.6±0.5	0.8±0.9
灌水模型组	7	22.5±5.6	25.3±5.6	2.8±9.4
高剂量模型组	7	22.5±2.4	23.3±7.8	0.8±9.4
中剂量模型组	5	23.4±3.2	23.1±5.0	-0.3±5.7
低剂量模型组	6	23.6±1.6	25.7±2.6	2.1±2.2

表 2 各组小鼠体重变化

组别	数量/ 只	起始体重/ g	结束体重/ g	增重/ g
空白对照组	5	26.5±1.4	40.1±1.3	13.5±1.6
灌药对照组	5	26.1±1.8	40.1±2.8	13.9±3.7
灌水模型组	7	24.5±2.6	21.7±2.6	-2.8±2.1
高剂量模型组	7	24.1±2.7	20.4±1.6	-3.8±3.1
中剂量模型组	5	26.0±3.9	23.1±1.9 <sup>#</sup>	-2.9±2.1
低剂量模型组	6	24.5±3.3	23.5±2.7 <sup>#</sup>	-1.0±4.1

注: #表示与高剂量模型组相比差异显著, $P<0.05$ .

2.3 小鼠的脏器指数

各模型组小鼠脏器指数见表 3. 由表 3 可以

表 3 模型组小鼠脏器指数

组别	数量/只	胸腺指数/%	脾脏指数/%	心脏指数/%	肾脏指数/%	肝脏指数/%
灌水模型组	7	0.031±0.017	0.17 ±0.062	0.56±0.19	1.89±0.18	5.1±0.6
高剂量模型组	7	0.055±0.021 <sup>*</sup>	0.176±0.066	0.55±0.04	2.03±0.12	4.7±0.7
中剂量模型组	5	0.056±0.028	0.23 ±0.079	0.54±0.04	1.93±0.11	5.2±0.6
低剂量模型组	6	0.065±0.031 <sup>*</sup>	0.166±0.061	0.57±0.1	1.81±0.21 <sup>#</sup>	5.1±0.7

注: \*表示与模型组相比差异显著, $P<0.05$ ; #表示与高剂量组相比差异极显著, $P<0.05$ .

表 4 各组小鼠血清中甘油三酯、总胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇的含量

组别	甘油三酯/ (mmol/L)	总胆固醇/ (mmol/L)	高密度脂蛋白 胆固醇/(mmol/L)	总胆固醇 高密度脂蛋白胆固醇
灌水模型组	1.41±0.48	6.64±1.46	1.36±0.37	5.08
高剂量模型组	1.17±0.7	7.51±0.92	1.66±0.24	4.58
中剂量模型组	0.98±0.66	7.62±1.66	1.57±0.49	5.03
低剂量模型组	1.31±0.61	6.99±2.3	1.7±0.64	4.22

2.5 小鼠肾、肝脏中 MDA 的含量和 SOD 的活性

各组小鼠肝脏和肾脏中 MDA 的含量与 SOD 的活性见表 5. 由表 5 可以看出,灌水组小鼠肾脏中 MDA 的浓度显著高于高剂量组( $P<$

看出:高剂量组和低剂量组小鼠的胸腺指数显著高于灌水组( $P<0.05$ ),但与中剂量组未呈现显著差异(可能与个体差异偏大有关),这说明高中低 3 个剂量组都表现出明显的缓解胸腺萎缩的现象;脾脏和心脏的脏器指数没有显著性差异;低剂量组小鼠肾脏指数显著低于高剂量组( $P<0.05$ ),小鼠肾脏指数出现剂量依赖性变化;高剂量组小鼠肝脏指数最低,其他 3 组的肝脏指数相似,高剂量组的肝脏指数最低,说明高浓度的复合制剂对小鼠肝脏的影响较大,这可能是复合制剂中多种化学成分加重了肝脏的代谢负担所致.

2.4 小鼠血清中胆固醇和甘油三酯的含量

各组小鼠血清中甘油三酯、总胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇的含量见表 4. 由表 4 可以看出,各组间小鼠血清中甘油三酯的浓度没有出现显著性差异,其中中剂量组的浓度最低,灌水组最高. 各组间小鼠血清中总胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇的浓度也没有出现显著性差异,灌水组的浓度仍为最低,但高剂量组和低剂量组的总胆固醇与高密度脂蛋白胆固醇的比值低于灌水组与中剂量组的比值.

0.05),中剂量组和低剂量组的浓度虽然相近,但只有中剂量组与高剂量组间出现了显著性差异( $P<0.05$ ). 灌水组小鼠肾脏中的 SOD 活性最低,中剂量组最高,两者呈显著差异( $P<0.05$ ),

这说明复合制剂对肾脏具有明显的保护作用,同时也说明了表 3 中小鼠肾脏指数高的原因. 各组间小鼠肝脏中的 MDA 含量接近(无显著性差异),其中低剂量组的含量最低,中剂量组的含量

最高. 各组间小鼠肝脏中 SOD 的活性灌水组为最高,与低剂量组呈显著性差异( $P<0.05$ ),这可能是由于复合制剂加重了肝脏的负担所致.

表 5 各组小鼠肝脏和肾脏中 MDA 的含量与 SOD 的活性

组别	肾脏 MDA/ (nmol/mg)	肾脏 SOD/ (U/mg)	肝脏 MDA/ (nmol/mg)	肝脏 SOD/ (U/mg)
灌水模型组	1.91±0.84	180.5±30.1	1.66±0.3	478.4±27.7
高剂量模型组	1.05±0.14*	193.6±25.8	1.68±0.72	454.8±63
中剂量模型组	1.49±0.49#	229.0±39.1*	1.73±0.55	416.3±72.3
低剂量模型组	1.45±0.48	214.1±34.8	1.61±0.4	426.4±48.2*

注: \* 表示与灌水模型组相比差异显著,  $P<0.05$ ; # 表示与高剂量模型组相比差异显著,  $P<0.05$ .

3 结论

本文制成的复合制剂对正常对照组小鼠的血糖没有明显影响,而对用四氧嘧啶造成的糖尿病模型小鼠的血糖升高具有一定的抑制作用. 另外, 本文制成的复合制剂能够降低小鼠肾脏中的 MDA 含量, 提高肾脏中 SOD 的活性, 并对小鼠胸腺的萎缩具有防护作用. 由以上结果可知, 本文制成的复合制剂虽然没能显著降低由四氧嘧啶造成的糖尿病模型小鼠的血糖, 但其对非胰岛素依赖型的Ⅱ型糖尿病可能具有较好的治疗作用.

参考文献:

[1] 陈湘宏,文绍敦,吴萍,等. 茺菁不同提取物对糖尿病模型小鼠降血糖作用的研究[J]. 中国药房,2013,24(7):596-598.

[2] 张再超,叶希韵,徐敏华,等. 葛根黄酮降血糖防治糖尿病并发症的实验研究[J]. 华北师范大学学报:自然科学版,2010(2):76-81.

[3] Hong B N, Ji M G, Kang T H. The efficacy of Red ginseng in type 1 and type 2 diabetes in animals[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013,2013: 593181.

[4] 王友川,李津. 葛根提取物对糖尿病模型大鼠氧化应激影响的实验研究[J]. 中国生化药物杂志,2014,34(8):29-31.

[5] Wen X A, Sun H B, Liu J, et al. Pentacyclic triterpenes part 1: the first examples of naturally occurring pentacyclic triterpenes as a new class of inhibi-

tors of glycogen phosphorylases[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2005,15(22):4944-4948.

[6] 梁茂雨,陈怡平,纵伟. 降血糖功能因子科罗索酸研究进展[J]. 中国食物与营养,2007(5):17-18.

[7] 邢冬杰,李广元,孙永庆,等. 桑枝提取物对糖尿病大鼠的作用研究[J]. 中国实用医药,2010,5(9):29-30.

[8] 王春梅,杜兴旭. 松针提取物对Ⅱ型糖尿病大鼠的抗氧化作用[J]. 北华大学学报:自然科学版,2013,14(4):426-428.

[9] 郑子新,滕俊英,刘剑英,等. 苦瓜粗多糖提取物降血糖作用的实验研究[J]. 卫生研究,2005,34(3):361-363.

[10] 朱莉莎,韩淑英,吕华,等. 荞麦种子提取物对糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. 中成药,2002,24(4):307-308.

[11] 韩刚,姚国贤,林庆辉,等. 荞麦种子不同提取物对Ⅱ型糖尿病大鼠血糖的影响[J]. 现代预防医学,2008,35(23):4677-4678.

[12] 农嵩. 葡萄糖氧化酶法与邻甲苯胺法作血糖测定方法对比试验[J]. 右江民族医学院学报,1998,20(1):8-9.

[13] 李留安,袁学军. 动物生物化学实验指导[M]. 北京:清华大学出版社,2013:43.

[14] 庞战军,周玖,陈瑗. 自由基医学研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:110.

[15] 向荣,王鼎年. 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展,1979,17(3):241-242.

[16] 杨润军,李青旺,赵蕊. 四氧嘧啶与链脲佐菌素诱导小鼠糖尿病模型的效果比较[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(2):17-20.