

[药 理]

交泰丸中小檗碱联合 cinnamtannin D1 的降血糖作用

王雪萍¹, 张皓月¹, 王 婷², 李医明¹, 陈凯先^{1,2}, 王贺瑶^{2*}, 贾 琦^{1*}

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 目的 研究交泰丸中小檗碱联合 cinnamtannin D1 的降血糖作用。方法 40 只 db/db 小鼠随机分为对照组 (0.5% CMC-Na)、二甲双胍组 (150 mg/kg)、小檗碱组 (200 mg/kg)、小檗碱 + cinnamtannin D1 组 (200 mg/kg + 30 mg/kg), 每组 10 只; 10 只 db/m 小鼠作为正常组。灌胃给药 5 周后, 进行口服葡萄糖耐量、胰岛素耐量试验, 检测空腹血糖及甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、游离脂肪酸 (NEFA)、谷丙转氨酶 (ALT)、天门冬氨酸转氨酶 (AST) 水平。结果 与对照组比较, 小檗碱组、小檗碱 + cinnamtannin D1 组口服葡萄糖耐量、胰岛素耐量有所改善, 空腹血糖及血清 TG、NEFA 水平显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 但仅后一组肝脏 TG 水平显著降低 ($P < 0.01$); 与小檗碱组比较, 小檗碱 + cinnamtannin D1 组空腹血糖、胰岛素耐量 AUC 显著降低 ($P < 0.05$)。结论 交泰丸中小檗碱联合 cinnamtannin D1 可有效改善 2 型糖尿病小鼠症状, 可能具有协同作用。

关键词: 交泰丸; 小檗碱; cinnamtannin D1; 降血糖作用

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)12-2613-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.12.001

Synergistic anti-hyperglycemia effects of berberine and cinnamtannin D1 in Jiaotai Pills

WANG Xue-ping¹, ZHANG Hao-yue¹, WANG Ting², LI Yi-ming¹, CHEN Kai-xian^{1,2},
WANG He-yao^{2*}, JIA Qi^{1*}

(1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: AIM To study the synergistic anti-glycemia effects of berberine and cinnamtannin D1 in Jiaotai Pills. **METHODS** Forty db/db mice were randomly divided into control group (0.5% CMC-Na), metformin group (150 mg/kg), berberine group (200 mg/kg) and berberine + cinnamtannin D1 group (200 mg/kg + 30 mg/kg), ten mice in each group; and another ten db/m mice were recruited into the normal group. After 5-week corresponding intragastric administration, the mice had their oral glucose tolerance and insulin tolerance tested, as well as the levels of fasting blood glucose and triglyceride (TG), total cholesterol (TC), glutamic-pyruvic transaminase (ALT), and aspartate transaminase (AST). **RESULTS** Compared with the control group, both the berberine group and the berberine + cinnamtannin D1 group demonstrated improved oral glucose tolerance and insulin tolerance, in addition to the significantly decreased fasting blood glucose and serum TG, NEFA levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), markedly reduced liver TG level ($P < 0.01$, only observable in the berberine + cinnamtannin D1 group). The berberine + cinnamtannin D1 group was superior to the berberine group in terms of significantly decreased fasting blood glucose and insulin tolerance AUC ($P < 0.05$). **CONCLUSION** The effective

收稿日期: 2018-01-01

基金项目: 国家自然科学基金 (81773791); 上海市自然科学基金 (15ZR1441200); 上海市优秀学术带头人基金 (16XD1403500); 上海市中药药效物质 E-研究院项目 (E14017)

作者简介: 王雪萍 (1990—), 女, 硕士生, 从事代谢性疾病研究。Tel: 15000425698, E-mail: xueping723@163.com

* 通信作者: 王贺瑶 (1963—), 女, 研究员, 从事代谢性疾病新药发现与药理学研究。Tel: (021) 50805785, E-mail: hywang@simm.

ac.cn

贾 琦 (1963—), 女, 副教授, 从事中药活性成分和结构修饰研究。Tel: (021) 51322207, E-mail: q_ jia@126.com

alleviation of conditions of type 2 diabetic mice due to berberine and cinnamtannin D1 in Jiaotai Pills demonstrate their synergetic effects.

KEY WORDS: Jiaotai Pills; berberine; cinnamtannin D1; anti-hyperglycemia effects

交泰丸源自《韩氏医通》，是由黄连和肉桂组成的治疗心肾不交证的经典方剂。近年来临床试验发现，交泰丸加味对治疗2型糖尿病伴失眠^[1]、视网膜病变^[2]、并发高血脂症^[3]等均有较好疗效，在降低血糖的同时缓解了相关症状；在动物实验方面，交泰丸也表现出较好的降糖效果^[4-6]。

黄连的主要有效成分是小檗碱，具有降血糖、调节脂质等作用^[7-8]；肉桂水煎剂中含有大量多酚类物质，以 cinnamtannin D1 为代表的化合物在体内外均能增强胰岛素的生物活性^[9]。目前，对黄连、肉桂多酚或小檗碱降血糖、降血脂作用的研究较多，但鲜有小檗碱及肉桂多酚联合作用的报道，特别是小檗碱与 cinnamtannin D1 联合作用尚无报道。研究表明，交泰丸中黄连及肉桂联合降血糖作用优于单味药，为进一步明确黄连中主要降血糖活性成分小檗碱联合肉桂中低聚原花青素成分 cinnamtannin D1 是否存在降血糖增效作用，本实验采用先天自发肥胖性2型糖尿病 db/db 小鼠，观察以上2种成分对其血糖及相关指标的影响，以期揭示该制剂降血糖的合理性，为临床治疗糖尿病提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 40只5周龄SPF级雄性C57BL/KsJ-db/db小鼠、10只同窝出生的雄性db/m小鼠（作为正常组）均由南京生物医药研究院提供，合格证号SCXK（苏）2015-0001，由中国科学院上海药物研究所动物房SPF级环境饲养。其间自由采食饮水，室内通风条件良好，12h昼夜变化正常，相对湿度50%~70%，室温20~25℃。

1.2 药物 cinnamtannin D1（由本实验室从肉桂中分离纯化^[10]，含有量95%）。盐酸二甲双胍（含有量≥98%，美国Sigma公司）；盐酸小檗碱（含有量≥98%，上海哈灵生物技术有限公司）；0.5%羧甲基纤维素钠（CMC-Na）（化学纯，国药集团化学试剂有限公司）。

1.3 试剂 甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）、游离脂肪酸（NEFA）、天门冬氨酸转氨酶（AST）、谷丙转氨酶（ALT）试剂盒（南京建成生物科技有限公司）；苏木素、伊红（上海碧云天生物技术有限公司）。

1.4 仪器 低温高速离心机（德国Eppendorf公司）；罗氏血糖仪卓越精密型（瑞士Roche公司）；FlexStation3多功能酶标仪（美国Molecular Devices公司）。

2 方法

2.1 分组及给药 将db/db小鼠随机分成对照组（0.5% CMC-Na）、二甲双胍组（150 mg/kg）、小檗碱组（200 mg/kg）、小檗碱 + cinnamtannin D1组（200 mg/kg + 30 mg/kg），药物均用0.5% CMC-Na配置备用。小鼠适应性喂养1周后，每天下午3点给药1次，每3d检测1次体质量、摄食量，每周测量空腹血糖。

2.2 口服葡萄糖耐量试验 给药5周后，小鼠禁食12h，尾静脉取血测血糖，该时间点取为0min。灌胃0.35 g/kg体质量葡萄糖后，于15、30、60、90、120、150min尾静脉取血测血糖，观察各组血糖、给葡萄糖后血糖值及血糖-时间曲线下面积（AUC）。

2.3 胰岛素耐量试验 给药5周后，小鼠禁食6h，尾静脉取血测血糖，该时间点取为0min。腹腔注射1 IU/kg体质量胰岛素后，于30、60、90、120、150min尾静脉取血测血糖，观察各组血糖、给胰岛素后血糖值及血糖-时间曲线下面积（AUC）。

2.4 血清生化指标检测 给药5周后，小鼠禁食4h，眼底静脉丛取血，分离血浆，测定血清中AST、ALT、NEFA、TG、TC水平。

2.5 肝脏HE染色 小鼠肝组织于0.4%多聚甲醛溶液中固定1周后，切取相同部位、大小置于包埋框内，梯度酒精脱水，二甲苯透化后包埋成石蜡块。经脱蜡后，切片8 μm厚度，进行HE染色。

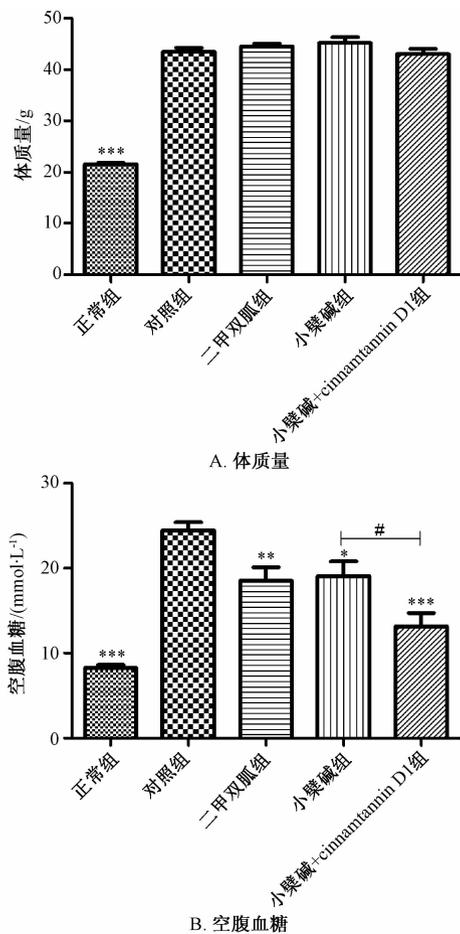
2.6 肝脏TG水平测定 取小鼠肝组织称定质量，于甲醇-氯仿（2:1）中匀浆，氯仿层干燥后复溶，试剂盒测定TG水平。

2.7 统计学处理 采用Graphpad prism 5统计软件，结果以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，总体差异采用单因素方差分析，两组间均数比较采用Dunnett-*t*检验。以 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠体质量、空腹血糖 给药5周后，各给

药组小鼠体质量无显著差异 ($P > 0.05$)。与对照组比较,二甲双胍组、小檗碱组、小檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠空腹血糖显著降低 ($P < 0.05$); 与小檗碱组比较,小檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠空腹血糖也显著降低 ($P < 0.05$)。见图 1。



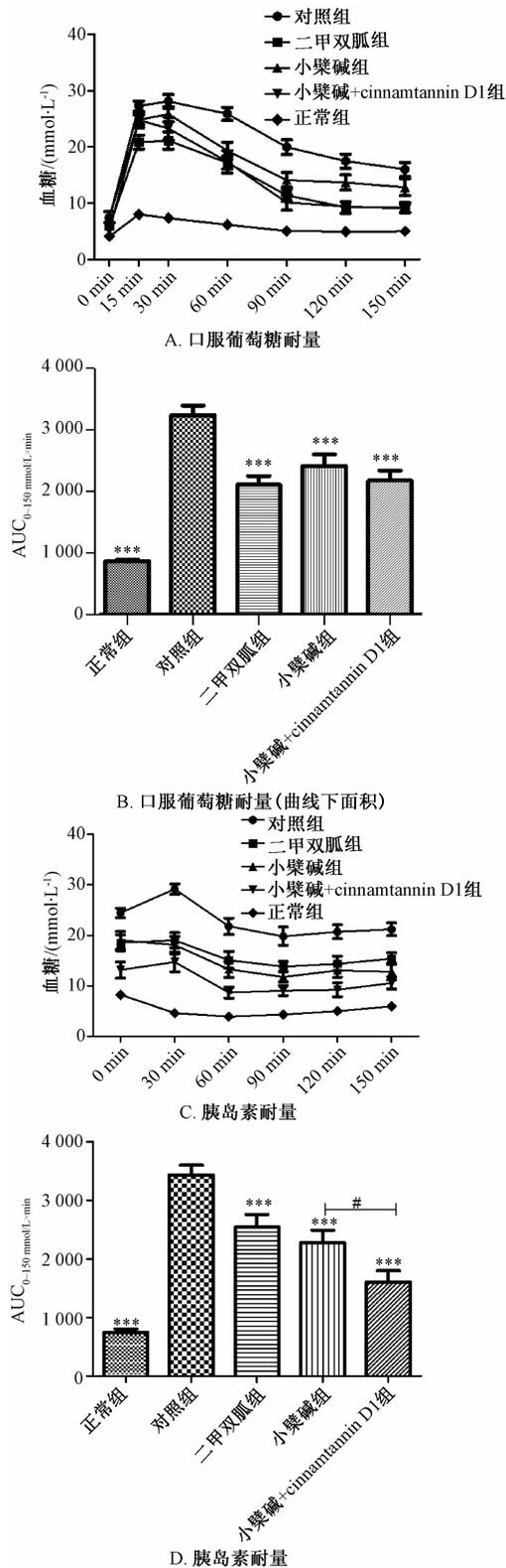
注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与小檗碱组比较, # $P < 0.05$

图 1 各成分对小鼠体质量、空腹血糖的影响

Fig. 1 Effects of various constituents on mice body weights and fasting glucose

3.2 小鼠口服葡萄糖耐量、胰岛素耐量 给予葡萄糖 15 min 后, 各组小鼠血糖明显上升, 30 min 后逐渐降低; 二甲双胍组、小檗碱组、小檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠 AUC 显著低于对照组 ($P < 0.001$); 在 30 ~ 150 min 之间的各个时间点虽未表现出显著性差异 ($P > 0.05$), 但小檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠血糖水平低于小檗碱组。腹腔注射胰岛素后, 对照组大鼠 30 min 血糖有所升高, 30 min 后降低, 120 min 后又逐渐上升至基础状态; 二甲双胍组、小檗碱组、小檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠 AUC 显著低于对照组 ($P < 0.001$), 而且

小檗碱 + cinnamtannin D1 组 AUC 显著小于小檗碱组 ($P < 0.05$)。见图 2。

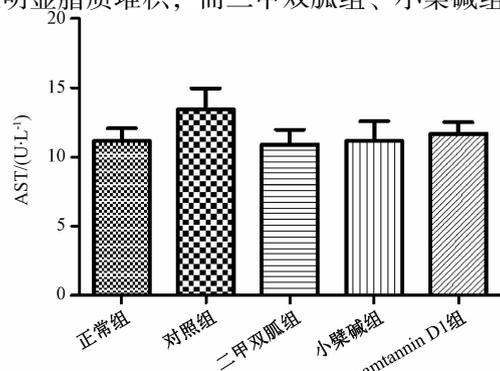


注: 与对照组比较, *** $P < 0.001$; 与小檗碱组比较, # $P < 0.05$

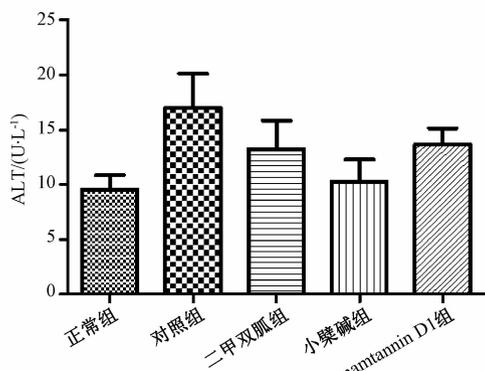
图 2 各成分对小鼠口服葡萄糖耐量、胰岛素耐量的影响
Fig. 2 Effects of various constituents on mice oral glucose tolerance and insulin tolerance

3.3 小鼠血清生化指标 给药5周后,与对照组比较,二甲双胍组、小檗碱组、小檗碱 + cinnamtannin D1 组 AST、ALT 水平有降低趋势,但无显著性差异 ($P > 0.05$); TG、NEFA 显著降低 ($P < 0.001$),而 TC 水平有所升高,但无显著性差异 ($P > 0.05$)。见图3。

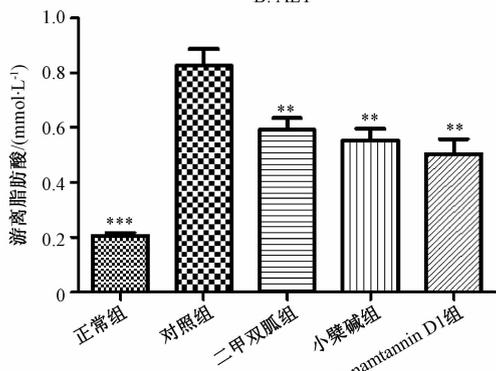
3.4 小鼠肝脏 TG 水平 给药5周后,小檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠肝脏 TG 水平显著低于对照组 ($P < 0.01$),而二甲双胍组、小檗碱组其水平有降低趋势,但无显著性差异 ($P > 0.05$)。然后,各组小鼠肝脏切片进行 HE 染色,发现对照组小鼠出现明显脂质堆积,而二甲双胍组、小檗碱组、小



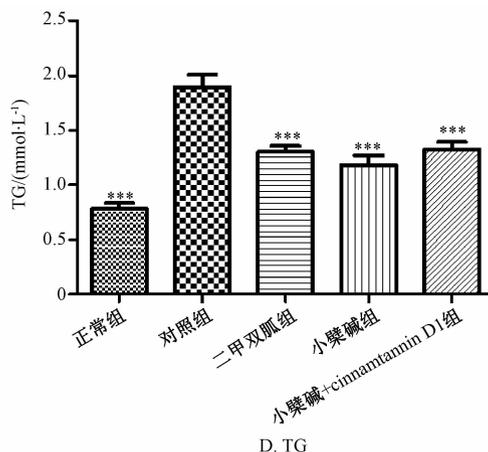
A. AST



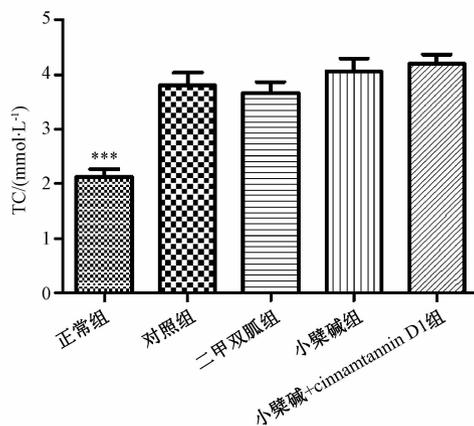
B. ALT



C. NEFA



D. TG



E. TC

注:与对照组比较,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$

图3 各成分对小鼠血清生化指标的影响

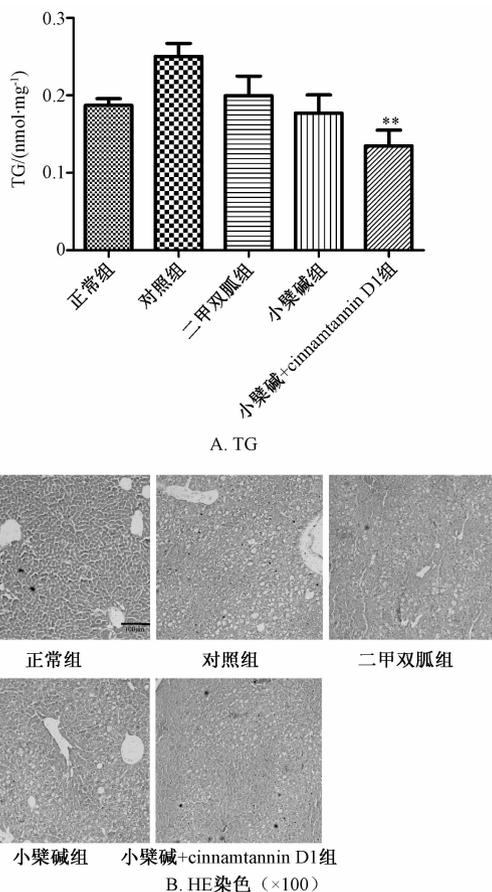
Fig. 3 Effects of various constituents on mice serum biochemical indices

檗碱 + cinnamtannin D1 组小鼠脂质堆积得到改善。见图4。

4 讨论与结论

糖尿病是严重危害人类健康的主要疾病之一,也是患者致死、致残的主要原因,目前该病尚无根治方法。中药天然成分或复方制剂已成为新型降糖药物研究的一个重要方向,主要是因为它们在降血糖的同时往往还有治疗并发症的显著作用。

中医古方交泰丸由于降血糖临床疗效确切,近年愈来愈受到人们关注^[1,3,11]。本实验发现,交泰丸中小檗碱单用或与 cinnamtannin D1 合用均能降低糖尿病小鼠血糖,改善葡萄糖耐量,提高胰岛素敏感性,并均可调节血清及肝脏中脂质水平,提示交泰丸在降血糖的同时对动脉粥样硬化及脂肪肝均有一定治疗作用。同时还观察到,给药5周后小檗碱 + cinnamtannin D1 组空腹血糖及肝脏 TG 水平较小檗碱组降低更显著,并有更明显的降低餐后血糖



注：与对照组比较，** $P < 0.01$

图4 各成分对小鼠肝脏中TG水平的影响

Fig. 4 Effects of various constituents on mice hepatic TG level

趋势，而且胰岛素抵抗状态和血脂水平也得到改善，表明两者联用可能有协同作用。

研究表明，小檗碱降糖的作用机制主要是提高胰岛素敏感性，激活 AMPK 信号通路，调节肠道菌群，抑制肝脏糖异生，刺激外周组织糖酵解，提高肠道 GLP-1 分泌，上调肝脏中低密度脂蛋白受体 mRNA 表达等^[12-15]；cinnamtannin D1 主要作用为抗氧化，免疫抑制，抑制低密度脂蛋白调节脂质，减少线粒体活性氧的产生保护内皮细胞，抵抗 H₂O₂ 或棕榈酸诱导的损伤而保护胰岛 β 细胞，改善胰岛素分泌水平等^[10,16-20]。本实验进一步发现，小檗碱与 cinnamtannin D1 合用改善糖脂代谢效果优于单用小檗碱，其原因一方面两者联用可能在改善胰岛素抵抗的同时保护了胰岛 β 细胞，从而发挥更好的降血糖和改善脂质紊乱作用；另一方面，也可能是促进这 2 种成分吸收。

前期报道，小檗碱生物利用度极低，不到 5%^[14]，其原因可能是吸收差，同时还包括自身聚

合、渗透性差、P-糖蛋白 (P-gp) 外排、肝胆外排^[21]等。有研究发现，小檗碱是 P-gp 蛋白底物^[22]，而 cinnamtannin D1 所属的低聚原花青素类成分也是其底物^[23]，但是否由于小檗碱和 cinnamtannin D1 与 P-gp 蛋白竞争性结合来减少两者外排，从而提高其生物利用度，达到协同作用尚不明确，还有待进一步证明。

参考文献:

[1] 全世建, 黑赏燕, 钱莉莉. 加味交泰丸治疗 2 型糖尿病伴失眠 70 例临床观察[J]. 新中医, 2012, 44(12): 85-86.

[2] 接传红, 吴正正, 严京, 等. 高健生辨治糖尿病视网膜病变经验[J]. 中医杂志, 2012, 53(23): 1996-1997.

[3] 黄河清, 黄骏, 麦韵屏. 交泰丸加味复方治疗 2 型糖尿病并发高血脂症的临床研究[J]. 中国中医药科技, 2006, 13(3): 141-142.

[4] 汪健红, 陆付耳, 董慧, 等. 不同配伍比例交泰丸对 2 型糖尿病大鼠的治疗作用[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(16): 2271-2276.

[5] 胡娜, 袁琳, 林敏, 等. 不同剂量交泰丸对 2 型糖尿病 db/db 小鼠治疗作用的比较研究[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(5): 474-476.

[6] 龚艳琳, 陆付耳, 董慧, 等. 交泰丸及其单味药对大鼠 2 型糖尿病的治疗作用[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(5): 356-360.

[7] Chang W, Zhang M, Li J, et al. Berberine improves insulin resistance in cardiomyocytes via activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase[J]. *Metabolism*, 2013, 62(8): 1159-1167.

[8] Lee S, Lim H J, Park J H, et al. Berberine-induced LDLR up-regulation involves JNK pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(4): 853-857.

[9] Broadhurst C L, Polansky M M, Anderson R A. Insulin-like biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts *in vitro*[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(3): 849-852.

[10] Chen L, Sun P, Wang T, et al. Diverse mechanisms of antidiabetic effects of the different procyanidin oligomer types of two different cinnamon species on db/db mice[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(36): 9144-9150.

[11] 陆伟珍, 徐东丽, 王翹楚. 交泰丸对糖尿病伴失眠治疗的临床研究[J]. 河北中医药学报, 2015, 30(2): 35-37.

[12] Derosa G, Maffioli P, Cicero A F. Berberine on metabolic and cardiovascular risk factors: an analysis from preclinical evidences to clinical trials[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12(8): 1113-1124.

[13] Singh I P, Mahajan S. Berberine and its derivatives: a patent review (2009—2012) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2013, 23(2): 215-231.

[14] Vuddanda P R, Chakraborty S, Singh S. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities[J].

- Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19(10): 1297-1307.
- [15] Zhang Q, Xiao X H, Feng K, *et al.* Berberine moderates glucose and lipid metabolism through multipathway mechanism [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 924851.
- [16] Wang C M, Hsu Y M, Jhan Y L, *et al.* Structure elucidation of procyanidins isolated from *Rhododendron formosanum* and their anti-oxidative and anti-bacterial activities[J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 12787-12803.
- [17] Chen L, Yang Y, Yuan P L, *et al.* Immunosuppressive effects of A-type procyanidin oligomers from *Cinnamomum tamala*[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 365258.
- [18] Huh G W, Park J H, Kang J H, *et al.* Flavonoids from *Lindera glauca* Blume as low-density lipoprotein oxidation inhibitors [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(11): 831-834.
- [19] Panickar K S, Qin B, Anderson R A. Ischemia-induced endothelial cell swelling and mitochondrial dysfunction are attenuated by cinnamtannin D1, green tea extract, and resveratrol *in vitro* [J]. *Nutr Neurosci*, 2015, 18(7): 297-306.
- [20] Wang T, Sun P, Chen L, *et al.* Cinnamtannin D-1 protects pancreatic β -cells from palmitic acid-induced apoptosis by attenuating oxidative stress [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(22): 5038-5045.
- [21] Tsai P L, Tsai T H. Hepatobiliary excretion of berberine[J]. *Drug Metab Dispos*, 2004, 32(4): 405-412.
- [22] Shitan N, Tanaka M, Terai K, *et al.* Human MDR1 and MRP1 recognize berberine as their transport substrate[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71(1): 242-245.
- [23] Zumdick S, Deters A, Hensel A. *In vitro* intestinal transport of oligomeric procyanidins (DP 2 to 4) across monolayers of Caco-2 cells[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(7): 1210-1217.

白藜中性多糖 ATP1-1 对 1 型糖尿病小鼠糖代谢的影响

郑诗嘉, 杨慧文, 程轩轩*, 周露, 肖祝华, 潘育方

(广东药科大学中药学院, 国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点研究室, 国家中药材产业技术体系广州综合试验站, 广东省南药规范化种植与综合开发工程技术研究中心, 广东广州 510006)

摘要: 目的 考察白藜中性多糖 ATP1-1 对 1 型糖尿病小鼠糖代谢的影响。方法 链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病小鼠模型后, 将 50 只成模小鼠随机分成模型组、二甲双胍组 (185 mg/kg) 及 ATP1-1 高、中、低剂量组 (60、40、20 mg/kg), 每组 10 只, 各组灌胃给药 4 周; 另取 10 只正常小鼠作为正常对照组。末次给药前, 进行空腹血糖测试及口服葡萄糖糖耐量试验, qRT-PCR 法和 Western blot 法检测小鼠肝脏 *GLUT1*、*PEPCK*、*G6Pase* mRNA 及蛋白表达。结果 与模型组比较, ATP1-1 高、中剂量组口服葡萄糖耐量明显改善 ($P < 0.01$), 空腹血糖及 *PEPCK*、*G6Pase* mRNA、蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), *GLUT1* mRNA 表达显著上升 ($P < 0.01$); ATP1-1 高剂量组 *GLUT1* 蛋白表达显著上升 ($P < 0.05$), 但中剂量组无明显变化 ($P > 0.05$)。结论 ATP1-1 可有效降低 1 型糖尿病小鼠血糖, 提高耐受性, 修复受损糖代谢, 其机制可能与提高 *GLUT1* 表达、促进糖酵解和肝糖原合成、降低 *PEPCK* 和 *G6Pase* 表达来抑制糖异生有关。

关键词: 白藜; 中性多糖 ATP1-1; 糖代谢; 1 型糖尿病

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)12-2618-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.12.002

Effects of neutral polysaccharide ATP1-1 from *Acanthopanax trifoliatum* on glucose metabolism in type 1 diabetic mice

ZHENG Shi-jia, YANG Hui-wen, CHENG Xuan-xuan*, ZHOU Lu, XIAO Zhu-hua, PAN Yu-fang
(State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory for Production & Development of Medicinal Materials in Lingnan; Guangzhou Compre-

收稿日期: 2018-05-26

基金项目: 国家自然科学基金 (青年科学基金) 资助项目 (81503217); 广东省自然科学基金项目 (2017A030313623); 广东省科技计划项目 (2016ZC0172)

作者简介: 郑诗嘉 (1992—), 女, 硕士生, 从事中药化学成分与药理活性研究。Tel: 13242848687, E-mail: jiangshi1115@163.com

* 通信作者: 程轩轩 (1978—), 女, 博士, 副教授, 从事中药化学成分与药理活性研究。E-mail: gdxyxexx@126.com