

文章编号 1006-8147(2014)03-0169-03

论著

新型委陵菜黄酮衍生物对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠 血糖血脂的影响

梁艳¹, 段宏泉¹, 秦楠², 周雯¹, 靳美娜¹, 乔卫¹

(1. 天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070; 2. 天津医科大学基础医学研究中心, 天津 300070)

摘要 目的: 研究4个新型委陵菜黄酮衍生物对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠血糖血脂水平的影响。方法: 用四氧嘧啶制备糖尿病小鼠模型, 研究不同结构的新型委陵菜黄酮衍生物 A~D 分别给予不同剂量灌胃给药 (10, 30 mg·kg⁻¹) 对糖尿病小鼠血糖、血脂的影响。结果: 4个新型委陵菜黄酮衍生物均可显著降低糖尿病小鼠的血糖和血清甘油三酯水平。除衍生物 B 外, 其它各给药组均能明显降低糖尿病小鼠的血清总胆固醇水平。结论: 新型委陵菜黄酮衍生物对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠均具有较好的降血糖和降血脂作用, 衍生物 D 是更具有进一步研究价值的抗糖尿病候选化合物。

关键词 新型委陵菜黄酮衍生物; 四氧嘧啶; 血糖; 血脂; 小鼠

中图分类号 R587.1

文献标志码 A

Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of the novel flavonoid derivatives of potentilla chinensis on alloxan diabetic mice

LIANG Yan¹, DUAN Hong-quan¹, QIN Nan², ZHOU Wen¹, JIN Mei-na¹, QIAO Wei¹

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics, Tianjin 300070, China; 2. Research Center of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To study the antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of novel flavonoid derivatives of potentilla chinensis on alloxan diabetic mice. **Methods:** The diabetic mice were induced by ALX in KM mice. The effects of blood glucose and blood lipid were investigated after administration of the different dosages (10, 30 mg·kg⁻¹) of the derivatives (A~D). **Results:** Derivatives (A, C, D) could not only decrease the blood glucose levels but also decrease the levels of cholesterol and triglyceride in serum of diabetic mice. Derivative B, however, could only decrease the blood glucose and the levels of CHO in serum. **Conclusion:** The new type potentilla chinensis' flavonoid derivatives have significant effects on diabetic mice with derivative D having more potential.

Key words novel flavonoid derivatives of potentilla chinensis; alloxan; blood glucose; blood lipid; mice

委陵菜在民间代茶饮治疗糖尿病取得了较好的疗效。本课题组前期研究表明委陵菜抗糖尿病的主要有效成分是委陵菜黄酮, 即山奈酚-3-O-β-D-(6-O-trans-p-桂皮酰基)葡萄糖苷, 具有降血糖、调节脂代谢作用^[1-2]。进一步对委陵菜黄酮的体内代谢研究表明, 该化合物进入体内后会快速分解成4-羟基肉桂酸和山奈酚-3-O-β-D-葡萄糖苷。为了提高委陵菜黄酮在体内的代谢稳定性, 同时尽可能地保留其药效基团, 本课题组对委陵菜黄酮的结构进行了简单的改造, 去掉葡萄糖片段, 将肉桂酰基片段与山奈酚片段以相对稳定的醚键形式进行连接, 合

成了一系列委陵菜黄酮衍生物。前期研究结果表明, 化合物 3-O-[(E)-4-(4-异丙基苯基)-3-烯-2-酮丁基]山奈酚(A)、3-O-[(E)-4-(4-叔丁基苯基)-3-烯-2-酮丁基]山奈酚(B)、3-O-[(E)-4-(4-甲氧基苯基)-3-烯-2-酮丁基]山奈酚(C)、3-O-[(E)-4-(4-氯苯基)-3-烯-2-酮丁基]山奈酚(D)可以显著提高胰岛素抵抗的肝细胞(HepG2 细胞)对葡萄糖的消耗, 在体外活性筛选中显示出一定的抗糖尿病活性^[3]。本文在前期研究的基础上以四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠模型评价新型委陵菜黄酮衍生物 A~D 对糖尿病小鼠血糖血脂的影响, 进一步评价其宏观药效, 以期发现结构新颖的抗糖尿病药物候选化合物。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康雄性昆明小鼠, (18±2)g, 由中国

基金项目 国家自然科学基金面上项目(81373297); 天津市自然科学基金重点项目(12JCZDJC25900)

作者简介 梁艳(1988-), 女, 硕士在读, 研究方向: 中药药理与药物化学; 通信作者: 乔卫, E-mail: qiaowei@tjmu.edu.cn。

中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(军)2009-001。

1.1.2 药品与试剂 新型委陵菜黄酮衍生物 A~D (天津医科大学药学院段宏泉教授课题组提供);盐酸二甲双胍片 (天津太平洋制药有限公司, 111211);四氧嘧啶(Sigma 公司, BCBC9107);甘油三酯(TG)试剂盒(北京北化康泰临床试剂有限公司, 20120104);总胆固醇(CHO)试剂盒(北京北化康泰临床试剂有限公司, 20120220);甲醇、二氯甲烷均为分析纯 (天津基准化学试剂有限公司, 20111220)。

1.1.3 仪器 血糖仪及血糖试纸[强生(中国)医疗器材有限公司, One Touch Ultra]; Anke TGL-16G 台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); FA1004 电子天平(上海舜禹恒平科学仪器有限公司); KQ-500B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); U-3300 紫外可见分光光度计(日本日立)。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病小鼠动物模型的建立 小鼠适应性喂养 1 周, 禁食不禁水 12 h 后, 尾静脉注射新鲜配制的四氧嘧啶溶液 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 72 h 后, 尾尖取血, 测定禁食不禁水 12 h 后空腹血糖值(FBG)^[2,4], $\text{FBG} \geq 14.0 \text{ mmol/L}$ 者为造模成功小鼠。

1.2.2 动物分组及给药 取糖尿病模型小鼠 100 只, 根据血糖值、体质量按随机表法分 10 组, 模型对照组给予蒸馏水 ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 给药组分别给予新型委陵菜黄酮衍生物 A、B、C、D ($10, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 盐酸二甲双胍 ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。另设正常对照组。各组连续灌胃给药 15 d。

1.2.3 检测指标 第 7、15 天给药前, 禁食不禁水 12 h, 尾尖取血, 测定 FBG。末次给药后 1 h, 眼内眦取血, 血液静置 30 min 后, 离心 $15 \text{ min}(5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1})$, 取血清。按照 TG 和 CHO 试剂盒方法测定血清中 TG 和 CHO 的浓度。

1.3 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 对糖尿病小鼠体质量的影响 从表 1 中可以看出, 造模后, 模型组小鼠体质量与正常组相比显著减轻, 且至给药 15 d, 模型组小鼠体质量与正常组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。给药 15 d 后, 各给药组与模型组小鼠相比体质量无显著性差异。

2.2 对糖尿病小鼠血糖的影响 由表 2 可看出, 给药 7 d 后, 除委陵菜黄酮衍生物 C 低剂量组、D 低剂量组与模型组相比 FBG 无显著性差异, 其余各组差

表 1 新型委陵菜黄酮衍生物对糖尿病小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, g)

Tab 1 Effects of the novel flavonoid derivatives of potentilla chinensis on mice weight ($\bar{x} \pm s$, g)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	n	给药前	给药 7 d	给药 15 d
正常组	—	10	24.37±1.71	29.89±1.06	34.06±1.79
模型组	—	10	22.92±1.25 ^a	24.87±2.10 ^a	26.31±1.61 ^a
A 低剂量组	10	10	22.25±1.37 ^a	24.97±1.97 ^a	28.01±2.78 ^a
A 高剂量组	30	10	22.84±1.69 ^a	25.79±2.65 ^a	26.93±0.54 ^a
B 低剂量组	10	10	23.51±2.17 ^a	24.64±2.26 ^a	26.62±2.20 ^a
B 高剂量组	30	10	22.43±0.81 ^a	25.42±1.95 ^a	26.83±3.11 ^a
C 低剂量组	10	9	23.94±1.28 ^a	26.68±1.91 ^a	27.62±3.27 ^a
C 高剂量组	30	7	23.23±3.11 ^a	25.66±4.89 ^a	27.92±6.40 ^a
D 低剂量组	10	10	21.47±2.39 ^a	22.87±2.21 ^a	24.31±2.36 ^a
D 高剂量组	30	10	23.02±1.81 ^a	25.60±2.99 ^a	27.07±4.05 ^a
二甲双胍组	250	10	22.39±1.51 ^a	24.81±2.19 ^a	26.54±1.79 ^a

经方差分析, 两两比较: 与正常组比较, ^a $P < 0.01$

异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 且委陵菜黄酮衍生物 D 的降糖效果呈现一定的剂量相关性 ($P < 0.01$)。给药 15 d 后, 仅委陵菜黄酮衍生物 B 低剂量组与模型组比较 FBG 无显著性差异, 其余各组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 委陵菜黄酮衍生物 C 高、低剂量组与其相应初始血糖比较有明显的降糖作用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 委陵菜黄酮衍生物 D 各给药组降糖效果均弱于 C 低剂量组 ($P < 0.01$, $P < 0.01$), 与其他各给药组相当。

表 2 委陵菜黄酮衍生物对糖尿病小鼠空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Tab 2 Effects of the novel flavonoid derivatives of potentilla chinensis on mice blood glucose ($\bar{x} \pm s$, $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	n	给药前	给药 7 d	给药 15 d
正常组	—	10	7.0±0.8	6.5±1.2	7.3±1.2
模型组	—	10	27.3±2.9 ^a	29.2±2.9 ^a	31.5±2.1 ^a
A 低剂量组	10	10	26.5±4.3 ^a	17.9±5.6 ^{ac}	24.5±4.8 ^{ab}
A 高剂量组	30	10	26.8±4.6 ^a	21.6±2.2 ^{ac}	24.8±4.8 ^{ab}
B 低剂量组	10	10	26.9±4.5 ^a	18.7±5.9 ^{ac}	29.2±2.2 ^a
B 高剂量组	30	10	26.7±3.7 ^a	19.4±6.8 ^{ac}	21.0±5.2 ^{ac}
C 低剂量组	10	9	26.4±4.6 ^a	26.3±2.9 ^a	13.9±7.2 ^{acde}
C 高剂量组	30	7	26.7±4.3 ^a	22.8±6.3 ^{ab}	18.8±6.4 ^{ac}
D 低剂量组	10	10	27.2±3.9 ^a	26.1±2.1 ^{ai}	24.9±1.2 ^{ac}
D 高剂量组	30	10	26.2±4.8 ^a	17.6±7.9 ^{acd}	24.0±4.8 ^{ab}
二甲双胍组	250	10	25.9±4.6 ^a	21.7±4.2 ^{ac}	25.5±6.2 ^{ab}

经方差分析, 两两比较: 与正常组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 给药 7 d 衍生物 D 高低剂量组之间比较, ^d $P < 0.01$; 给药 15 d 衍生物 C 高、低剂量组与自身给药前经 *t* 检验比较, ^e $P < 0.01$; 给药 15 d 衍生物 D 低剂量组与各给药组比较, ^f $P < 0.01$; 给药 15 d 衍生物 D 高剂量组与各给药组比较, ^g $P < 0.01$

2.3 对糖尿病小鼠血脂的影响 由表3可看出,给药15 d后,委陵菜黄酮衍生物各给药组与模型组比较,小鼠血清TG含量明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$),B、D各给药组TG降低效果与二甲双胍相当($P>0.05$),且B、D组小鼠TG值接近正常组水平($P>0.05$)。A、C各给药组与模型组比较,实验小鼠血清CHO含量下降,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组相比较D高、低剂量组均可以明显降低血清CHO含量($P<0.01$),且D组降CHO效果与二甲双胍组相当($P>0.05$);B各给药组与模型组相比较无明显的降血清CHO作用($P>0.05$)。实验结果表明新型委陵菜黄酮衍生物A、C、D均有良好的降TG和CHO的作用,B仅有良好的降TG作用。

表3 新型委陵菜黄酮衍生物对糖尿病小鼠血清中TG和CHO含量的影响($\bar{x}\pm s$, mmol·L⁻¹)

Tab 3 Effects of the novel flavonoid derivatives of potentilla chinensis on mice blood lipid ($\bar{x}\pm s$, mmol·L⁻¹)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	n	TG	CHO
正常组	—	10	0.44±0.05	2.71±0.51
模型组	—	10	1.88±1.01 ^b	3.12±0.48
A 低剂量组	10	10	1.09±0.48 ^{ab}	2.41±0.45 ^c
A 高剂量组	30	10	0.69±0.30 ^d	2.32±0.35 ^d
B 低剂量组	10	10	0.71±0.51 ^d	2.84±0.49
B 高剂量组	30	10	0.45±0.27 ^d	2.74±0.76
C 低剂量组	10	9	0.70±0.41 ^d	2.50±0.34 ^c
C 高剂量组	30	7	1.19±0.72 ^{ac}	2.49±0.34 ^c
D 低剂量组	10	10	0.30±0.06 ^d	2.34±0.59 ^d
D 高剂量组	30	10	0.54±0.46 ^d	2.24±0.34 ^d
二甲双胍组	250	10	0.56±0.26 ^d	2.57±0.47 ^c

经方差分析,两两比较:与正常组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$;与二甲双胍组比较,^e $P<0.05$

3 讨论

四氧嘧啶是一种胰岛素β-细胞毒素,它可以选择性损伤多种实验动物的胰岛β细胞而引起胰岛素依赖型糖尿病^[5]。四氧嘧啶糖尿病模型是目前最常用的I型糖尿病动物模型之一,模型血糖水平稳定且维持时间长,有明显的糖尿病症状,且模型复制时间短,操作简单,成本较低,是评价糖尿病药物疗效及安全性的常用制模方法^[6]。

课题组前期研究表明,新型委陵菜黄酮衍生物A~D具有一定的体外抗糖尿病活性,本实验用四氧

嘧啶诱导糖尿病小鼠模型进行体内实验,以期筛选出更具有进一步研究价值的抗糖尿病候选化合物。实验结果显示,分别给予新型委陵菜黄酮衍生物A、B、C、D后,四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的血糖、血脂较模型组都有不同程度的降低,表明新型委陵菜黄酮衍生物A、B、C、D均具有一定的抗糖尿病作用。衍生物A虽在给药7、15 d降血糖作用较好,但无明显量效关系,降低血清总胆固醇作用良好,但其低剂量降甘油三酯作用较弱。衍生物B虽在给药7 d时显现出较好的降血糖作用,给药15 d后其低剂量组无明显降血糖作用表明降糖作用持续时间较短;对糖尿病小鼠血清中总胆固醇无明显降低作用,且该组小鼠较其余各组比较毛色黯淡、状态较差,显现一定的不良反应。衍生物C虽在给药15 d后表现出良好的降血糖、降血脂作用,但其高、低剂量组小鼠在给药期间死亡率分别达30%、10%,显现出较强毒性。衍生物D虽在给药15 d时降糖作用弱于C低剂量组,但其降糖作用与其他各组相当,且起效较快,7 d即有量效关系显现,给药15 d其调节血脂效果明显,使小鼠甘油三酯与总胆固醇值与正常组相当,实验期间未见小鼠出现明显不良反应,后期对衍生物D的验证性实验亦表明其与模型组相比有明显的降血糖、降血脂作用。

综上所述,本研究表明新型委陵菜黄酮衍生物D对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠具有较好的降血糖、降血脂作用,是较衍生物A、B、C更具有进一步研究价值的抗糖尿病候选化合物。

参考文献:

- [1] 赵川,乔卫,段宏泉,等. 委陵菜抗糖尿病有效部位及有效成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 6(33): 680
- [2] 乔卫,赵川,段宏泉,等. 委陵菜黄酮对正常小鼠及四氧嘧啶所致糖尿病小鼠血糖与血脂的影响[J]. 中草药, 2010, 41(4): 612
- [3] Qin N, Li C B, Duan H Q, et al. Synthesis and biological activity of novel tiliroside derivants[J]. Eur J Med Chem, 2011, 46(10): 5189
- [4] Ahmadi S, Ebrahimi S S, Oryan S, et al. Blockades of ATP-sensitive potassium channels and L-type calcium channels improve analgesic effect of morphine in alloxan-induced diabetic mice [J]. Pathophysiology, 2012, 19(3): 171
- [5] Nabeel M A, Kathiresan K, Manivannan S. Antidiabetic activity of the mangrove species Ceriops decandra in alloxan-induced diabetic rats[J]. J Diabetes, 2010, 2(2): 97
- [6] 叶华虎,袁菊芳,李敏,等. 四氧嘧啶诱发糖尿病模型效果的性别差异[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(1): 19

(2014-01-09 收稿)