

- [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药学杂志), 2003, 18(4): 244-246.
- [2] Chen W Z, Jin C, Lin J. Effect of Tongfenglin on PGE₂ level in rat's arthritis stimulated by uric acid sodium [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中国医药学报), 2000, 15(2): 24.
- [3] Lan Y J, Lin M X, Zhan R. Mechanism of gouty and traditional Chinese medicine treatment [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2001, 18(5): 19-20.
- [4] Dewar C L, Harth M. Superoxide production from cytokine-treated adherent rheumatoid neutrophils [J]. *Chin Invest Med*, 1994, 17: 52-60.
- [5] Wang B X. *Modern Pharmacology and Clinic of Chinese Traditional Medicine* (现代中药药理与临床) [M]. Tianjin: Tianjin Technology and Translation Publishing House, 2004.

桑枝生物碱与儿茶素的降血糖作用

耿 鹏¹, 朱元元², 杨 洋¹, 高智慧¹, 余养盛¹, 肖会姣¹, 白 钢^{1*}

(1. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2. 南开大学化学学院, 天津 300071)

糖尿病是一种常见病、多发病, 由于糖尿病的发病机制仍不十分清楚, 目前仍然以利用药物控制血糖升高和防治并发症作为其主要的治疗手段。

中药对糖尿病的治疗除单味药外复方中药更为重要, 因此本实验选取了对 α -葡萄糖苷酶具有明显抑制作用的桑枝和儿茶^[1], 对源于桑枝的生物碱成分与源于儿茶的儿茶素成分组成的复方组分药物的降血糖作用进行了研究。桑枝是桑科植物桑 *Morus alba* L. 的枝条部分, 除用于风寒温痹外, 还具有“养津液”、“疗口干”、“滋肾水”之功效, 故亦可用于治疗消渴^[2]。儿茶为豆科植物儿茶 *Acacia catechu* (L. f.) Willd. 的去皮枝、干的干燥煎膏, 具收敛、生肌、敛疮功效^[3]。本研究为开发有效成分明确, 作用靶标清晰的复方组分降糖药物进行了探索性工作, 为今后中医药治疗糖尿病的研究提供了新思路。

1 实验材料

1.1 药品与试剂: 1-脱氧野尻霉素 (1-deoxy-nojirimycin, DNJ)、四氧嘧啶为美国 Sigma 公司产品; α -葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.20) 为日本和光纯药工业株式会社产品; 阿卡波糖片为拜耳医药保健有限公司产品; 葡萄糖体外诊断试剂盒 (GOD-PAP 法) 为北京中生生物工程公司产品; 生药桑枝与儿茶均由天津市中新药业提供; 001 $\times$ 7 型阳离子交换树脂和 S-8 型大孔吸附树脂均购自南开大学化工厂; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 实验动物: 昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 雌雄各半; Wistar 大鼠, 体重 120~140 g, 雄性, 均为二级实验动物, 由军事医学科学院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 桑枝中生物碱成分的提取与分析: 取桑枝 500 g, 水提醇沉后, 以 001 $\times$ 7 型阳离子交换树脂吸附并洗脱 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测阳性部分, 吸附色素后冻干, 得到黄褐色固体桑枝提取物 (RME) 2.53 g^[4]。以酸碱滴定法测得 RME 中含生物碱 75.3%; 柱前衍生 HPLC 法^[5]分析 RME 中含 DNJ 23.1%。

2.2 儿茶中儿茶素成分的提取与分析: 取儿茶 500 g, 水提醇沉后以醋酸乙酯萃取, 重结晶后得粗提物 9.32 g。以 S-8 型大孔吸附树脂吸附并洗脱 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测阳性部分, 重结晶后得粉白色粉末儿茶提取物 (ACE) 4.8 g^[6]。以 HPLC 法^[3]分析 ACE 中含儿茶素 95.6%。

2.3 α -葡萄糖苷酶抑制实验、反转肠囊实验、 α -葡萄糖苷酶抑制剂对正常小鼠和糖尿病小鼠餐后血糖的影响: 参照文献方法进行^[7]。

2.4 统计: 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间进行 t 检验。

3 结果

3.1 RME 与 ACE 对 α -葡萄糖苷酶的协同抑制作用: 经 α -葡萄糖苷酶活性抑制检测, RME (0.01 mg/mL) 和 ACE (1 mg/mL) 均呈现出对 α -葡萄糖苷酶活性的极显著抑制 ($P < 0.01$), 且二者联合使用效果显著优于各自单独使用 ($P < 0.01$), 表明两类物质在酶学水平对 α -葡萄糖苷酶的抑制具有一定的协同作用 (图 1, 以药物组与对照组酶活性比值 E/E_0 为评价标准)。

3.2 RME 与 ACE 的反转肠囊实验: 见表 1。RME 与 ACE 无论单独使用, 还是联合使用, 其肠囊外对

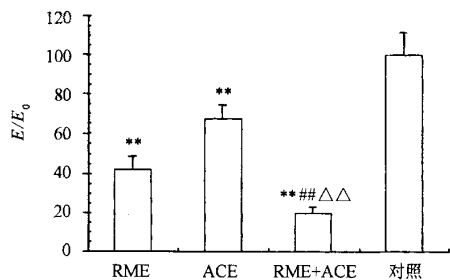
收稿日期: 2007-01-11

基金项目: “863”计划创新药和中药现代化资助项目 (2003AA2Z3510); 天津市自然科学基金重点基金资助项目 (023803811)

作者简介: 耿 鹏 (1979—), 男, 博士研究生, 主要从事中药现代化方向的研究。

Tel: (022) 23508318 E-mail: yengpeng_2001@163.com

* 通讯作者 白 钢 E-mail: gangbai@nankai.edu.cn



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与 RME 组比较: ## $P<0.01$;
与 ACE 组比较: $\Delta\Delta P<0.01$
** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs RME group;
 $\Delta\Delta P<0.01$ vs ACE group

图 1 RME 与 ACE 对 α -葡萄糖苷酶的协同抑制作用
($\bar{x}\pm s, n=5$)
Fig. 1 Synergistic inhibition of RME and ACE
on activity of α -glucosidase ($\bar{x}\pm s, n=5$)

淀粉水解的抑制效果和肠囊内对葡萄糖吸收的阻碍作用均很强,与空白对照组相比,有非常显著差异($P<0.01$)。其中 RME 与 ACE 联合使用,肠囊外对淀粉水解的抑制率(E/E_0)与 ACE 单独使用相比,有非常显著差异($P<0.01$);肠囊内对葡萄糖吸收的抑制率(E/E_0)与二者单独使用相比,分别有显著差异($P<0.05$)和非常显著差异($P<0.01$),表明两类物质在离体水平对 α -葡萄糖苷酶的抑制具有良好的协同作用。

3.3 RME 与 ACE 联合使用对正常小鼠餐后血糖的影响:将正常小鼠按体重随机分为空白对照组(生理盐水)、阳性对照组(4.0 mg/kg 阿卡波糖)和 3 个给药组,正常小鼠餐后 30 min 血糖值达到最高峰,然后逐渐回落,至 120 min 时血糖值基本恢复到接近空腹水平。实验结果表明,RME 与 ACE 单独使用均可以降低正常小鼠的餐后 30 min 血糖高峰水平,与空白对照组相比,血糖值有非常显著差异($P<0.01$);同时二者可推迟血糖值于 60 min 到达高峰。而联合使用组,不仅与空白对照组相比,于 30

min 和 60 min 时能分别显著降低血糖值($P<0.05$);而且与 RME 和 ACE 单独使用相比较,餐后 60 min 血糖值也分别有非常显著差异($P<0.01$)和显著差异($P<0.05$)。结果见表 2,表明两类物质在体内水平对 α -葡萄糖苷酶的抑制具有良好的协同作用。

表 1 RME 与 ACE 反转肠囊实验 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 1 Everted sac experiment of RME and ACE ($\bar{x}\pm s, n=5$)			
组别	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	反转肠囊外液 (E/E_0)/%	反转肠囊内液 (E/E_0)/%
空白对照	—	100.0	100.0
阿卡波糖	0.1	26.8±13.6**	35.7±17.8**
RME	0.1	27.3±10.8**	21.2±8.6**
ACE	1.0	64.5±10.3**	75.9±20.4**
RME+ACE	0.1+1.0	23.9±10.1*▲▲	16.7±6.0*▲▲▲

与空白对照组比较: ** $P<0.01$; 与 RME 组比较: $\Delta P<0.05$; 与 ACE 组比较: ▲▲ $P<0.01$
** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs RME group;
▲▲ $P<0.01$ vs ACE group

3.4 RME 与 ACE 联合使用对糖尿病小鼠餐后血糖的影响:将模型小鼠按空腹血糖分为 3 组(各组平均空腹血糖值之差小于 0.5 mmol/L):模型组(生理盐水);阳性对照组(4.0 mg/kg 阿卡波糖);混合物组(4.0 mg/kg RME+4.0 mg/kg ACE),同时设正常对照组。如表 3 所示,小鼠 ip 四氧嘧啶后,与正常对照组相比,血糖值非常显著升高($P<0.01$)。联合使用组可以显著降低糖尿病小鼠的餐后高血糖水平,给药 30 min 和 60 min 时,与空白对照组相比,血糖值有非常显著差异($P<0.01$)。结果表明由二者组成的复方药物对降低糖尿病小鼠餐后血糖具有明显的效果。

4 讨论

Asano 等^[8]从桑叶中分离得到了多羟基生物碱成分, Kimura 等^[9]观察了其 STZ 引起的糖尿病

表 2 RME 与 ACE 对正常小鼠餐后血糖升高的影响 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 2 Inhibitory effect of RME and ACE on postprandial elevation in blood glucose increasing
of normal mice ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药后不同时间血浆葡萄糖水平/(mmol·L ⁻¹)			
		0 min	30 min	60 min	120 min
空白对照	—	4.52±0.39	10.41±1.17	7.53±1.34	5.12±0.89
阿卡波糖	4.0	3.99±0.53	7.31±1.38**	7.48±1.14	5.60±0.95
RME	4.0	4.39±0.47	7.33±1.18**	8.78±0.79	6.52±0.95
ACE	4.0	4.49±0.93	7.93±1.43**	8.34±2.37	5.61±0.72
RME+ACE	4.0+4.0	4.44±0.73	8.93±0.89*	6.32±0.88* $\Delta\Delta\Delta$	3.66±0.78

与空白对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 RME 组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与 ACE 组比较: ▲ $P<0.05$
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs RME group; ▲ $P<0.05$ vs ACE group

表 3 RME 与 ACE 联合使用对糖尿病小鼠餐后血糖升高的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 3 Inhibitory effect of RME and ACE on postprandial elevation in blood glucose increasing of experimental-diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	给药后不同时间血浆葡萄糖水平/(mmol · L ⁻¹)			
		0 min	30 min	60 min	120 min
正常对照	—	4.52±0.39	10.41±1.17	7.53±1.34	5.12±0.89
模型	—	15.01±1.59**	21.27±1.94**	20.11±2.88**	15.63±1.17**
阿卡波糖	4.0	13.75±0.64	16.46±2.16△△	15.93±1.63△△	12.41±0.79
RME+ACE	4.0+4.0	15.18±1.23	15.84±1.71△△	16.49±2.02△△	16.55±1.86

与正常对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: △△ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; △△ $P<0.01$ vs model group

小鼠的降血糖作用。陈震等^[10]也从桑枝水提物中分离得到 4 种多羟基生物碱。尽管桑枝的降血糖功能已被广泛研究^[11],但针对生药桑枝中多羟基生物碱成分的降血糖机制还缺乏研究。儿茶素类化合物具有明显的消除体内自由基的功能^[12],其抗糖尿病活性一直以来被广泛认为是通过降低体内的氧化压力来实现的^[13],但是儿茶素类化合物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用却很少被研究人员所关注。

本实验从对 α -葡萄糖苷酶活性具有明显抑制作用的两种生药入手,分别分离了源于桑枝的生物碱成分和源于儿茶的儿茶素成分,证实了二者无论在酶学水平、离体水平还是体内水平,不仅单独使用具有对 α -葡萄糖苷酶活性的显著抑制效果,而且联合使用上有明显优于单独使用的协同抑制效果。这为探讨生药桑枝和儿茶单味药的降糖机制和降糖中药配伍研究作出了探索性工作。

References:

[1] Bai G, Wang D L, Cao X L, *et al.* Screening α -glucosidase inhibitors in traditional Chinese medicines [J]. *Acta Sci Nat Univ Nankai; Nat Sci* (南开大学学报:自然科学版), 2004, 37(3): 98-102.
[2] Wu Y M, Zou Y X, Liao S T, *et al.* Investigation on the hypolipidemic effect of *Ramulus mori* in hyperlipidemia mice [J]. *Acta Sericol Sin* (蚕业科学), 2005, 31(3): 348-350.
[3] Feng Y, Li Y, Fu R J, *et al.* Study on quality standard of *Catechu* and its extract [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药),

2004, 26(4): 325-328.
[4] Bai G, Yang W B, Geng P, *et al.* Compound prescription inhibiting the activity of α -glucosidase and its usage [P]. CN, 2004 10018677.4, 2006-4-12.
[5] Geng P, Zhu Y Y, Yang Y, *et al.* Determination of 1-deoxynojirimycin from mulberry resources and analysis of their bioactivities [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(8): 1151-1154.
[6] Zhang G A, Zhu Y L. New technics in extracting (+)-catechin [P]. CN: 85102818, 1986-12-31.
[7] Geng P, Zhu Y Y, Yang Y, *et al.* Analysis and bioactivity detection of the α -glucosidase inhibitors in the total alkaloid from *Feculae bombycis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(Supp): 159-162.
[8] Asano N, Tomioka E, Kizu H, *et al.* Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bombycis* [J]. *Carbohydr Res*, 1994, 253: 235-245.
[9] Kimura M, Chen F. Antihyperglycemic effects of *N*-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozocin induced diabetic mice [J]. *Wakan Iyakugaku Zasshi*, 1995, 12(3): 214-219.
[10] Chen Z, Wang R Y, Zhu L L, *et al.* Researches on chemical components in aqueous extract from *Ramulus mori* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(7): 502-503.
[11] He X M, Liao S T, Liu J P. Research progress on nutrient and functional components and pharmacology of mulberry [J]. *Acta Sericol Sin* (蚕业科学), 2004, 30(4): 390-394.
[12] Zhang L, Duan H J, Fang H J, *et al.* Studies on analysis of catechins and alkaloids in tea by HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(12): 920-924.
[13] Rizvi S I, Zaid M A, Anis R, *et al.* Protective role of tea catechins against oxidation-induced damage of type 2 diabetic erythrocytes [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2005, 32(1-2): 70-75.

守宫多糖对淋巴细胞增殖与细胞毒作用的影响

闫祝辰¹, 张晓宇², 吴雄志¹, 谢广茹¹, 陈 丹³

(1. 天津市肿瘤医院 中西医结合科, 天津 300060; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007;

3. 天津市传染病医院, 天津 300190)

守宫为壁虎科动物无蹼壁虎 *Gekko swinhoana*

Gunther 或其他几种壁虎除去内脏的全体, 是传统

收稿日期: 2007-01-02

作者简介: 闫祝辰(1971—), 男, 天津人, 医学硕士, 主治医师, 主要研究方向为中西医结合肿瘤治疗。E-mail: yanzc@126.com