

• 综 述 •

小檗碱降糖作用机制研究进展

丁阳平^{1,4}, 叶小利², 周洁¹, 楼乔明³, 练梦菲¹, 罗赛¹, 李学刚^{4*}

1. 西南大学食品学院, 重庆 400716

2. 西南大学生命科学院, 重庆 400716

3. 宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211

4. 西南大学药学院, 重庆 400716

摘 要: 小檗碱是黄连中主要药效成分, 广泛用于治疗胃肠炎、细菌性痢疾等。近年来发现小檗碱通过提高胰岛素受体的表达、促进糖酵解、增强胰岛素敏感性、促进胰岛素的释放与分泌、增加肝细胞对葡萄糖的消耗等在降糖方面发挥重要作用, 由于其天然、毒副作用小, 应用前景极其广阔。对小檗碱降糖作用机制及其衍生物降糖构效关系研究进展进行综述。

关键词: 小檗碱; 黄连; 衍生物; 降糖机制; 构效关系

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)06-0763-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.06.025

Research progress in hypoglycemic mechanism of berberine

DING Yang-ping^{1,4}, YE Xiao-li², ZHOU Jie¹, LOU Qiao-ming³, LIAN Meng-fei¹, LUO Sai¹, LI Xue-gang⁴

1. School of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China

2. School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400716, China

3. School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China

4. School of Pharmaceutical Science, Southwest University, Chongqing 400716, China

Key words: berberine; *Coptidis Rhizoma*; derivatives; hypoglycemic mechanism; structure-activity relationship

小檗碱(berberine, 结构式见图1)是从中药黄连中分离出的一种异喹啉生物碱, 在传统中医药中被长期用于治疗由细菌感染引起的胃肠道疾病, 其降糖作用是在20世纪80年代治疗具有糖尿病的腹泻患者偶然发现的。大量实验研究表明小檗碱能提高胰岛素受体的表达、促进糖酵解、增强胰岛素敏感性、促进胰岛素的释放与分泌、增加肝细胞对葡萄糖的消耗等, 具有良好的降糖效果, 由于其天然、毒副作用小备受关注。

1 小檗碱降糖作用机制研究进展

1.1 增强胰岛素受体的表达

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus)是以胰岛

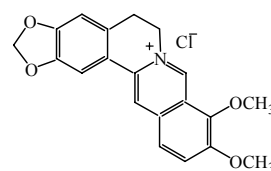


图1 小檗碱的结构

Fig. 1 Chemical structure of berberine

素抵抗为主的糖代谢紊乱综合征, 占糖尿病患者的90%~95%^[1]。2型糖尿病发病机制较为复杂, 长期以来胰岛素受体是治疗该疾病的靶点之一, 其中主要是增强胰岛素受体的表达, 而胰岛素受体基因的启动子受蛋白激酶C(PKC)的调控, 因此, PKC

收稿日期: 2012-07-09

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(CSTC, 2010BB1134, CSTC, 2008BB5257); 重庆市重大科技专项资助项目(CSTC, 2008AA5021); 重庆市科委攻关项目(CSTC, 2010AC5007); 西南大学基本科研业务费专项资金项目(XDJK2010C075)

作者简介: 丁阳平(1978—), 男, 湖南永顺人, 博士, 西南大学食品学院讲师, 主要从事天然产物研究与开发。

Tel: 13883341918 E-mail: barry4784088@126.com

*通信作者 李学刚

在胰岛素受体基因表达中扮演重要作用。Kong 等^[2]在人类肝细胞实验中发现,小檗碱能激活 PKC,从而启动胰岛素受体基因的表达,当 PKC 活性被抑制后小檗碱诱导的胰岛素受体 mRNA 的转录及胰岛素受体基因的激活将消失,还发现小檗碱本身不能增加细胞对葡萄糖的消耗,其降糖作用依赖于胰岛素。动物实验研究表明,喂食小檗碱的 2 型糖尿病小鼠空腹血糖及空腹血清胰岛素均降低,胰岛素的敏感性增强,其肝脏中胰岛素受体 (InsR) mRNA 增多及 PKC 活性增强。但小檗碱对 1 型糖尿病小鼠不起作用。Zhang 等^[3]临床试验研究表明,小檗碱能增加外周血淋巴细胞,这也说明胰岛素受体表达增加。

1.2 促进糖酵解或抑制糖原异生

糖酵解途径是指细胞在细胞质中分解葡萄糖生成丙酮酸的过程。陈其明等^[4]研究发现小檗碱能显著降低正常小鼠肝脏及膈肌糖原量,分别下降了 78.2% 和 70.1%,并可抑制以丙氨酸为底物的糖原异生;喂食小檗碱的小鼠血乳酸量明显上升,表明小檗碱的降糖作用与血乳酸水平呈正相关;同时血乳酸水平上升也说明糖酵解促进乳酸的生成或乳酸异生为葡萄糖的能力降低;小檗碱能抑制葡萄糖注射及肾上腺素引起的血糖升高,并可明显降低四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖水平。Yin 等^[5]用小檗碱处理肥胖鼠 5 周,其空腹胰岛素及胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 分别下降了 46% 和 48%。细胞实验研究表明,小檗碱能明显促进非胰岛素依赖性的葡萄糖消耗、2-脱氧葡萄糖的吸收,在浓度为 5~20 $\mu\text{mol/L}$ 时,葡萄糖的吸收增加 109.0%~183.5%,葡萄糖的消耗量增加 72.9%~113.7%;同时乳酸水平明显增加,在没有胰岛素的条件下小檗碱使脂肪细胞 3T3-L1 乳酸的释放量增加 47.4%~163.8%,在有胰岛素的条件下增加 57.1%~106.7%。相同的结果也出现在 L6 肌纤维细胞中。乳酸水平的增加说明细胞有氧呼吸减弱而无氧呼吸增强。氧消耗实验表明,小檗碱能显著降低 3T3-L1 和 L6 细胞中氧的消耗量,并且呈量效关系,在浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时小檗碱使 3T3-L1 细胞对氧的消耗量减少了 45.7%,这证实了小檗碱能抑制线粒体的有氧呼吸。正常条件下 ATP 的产生需要有氧呼吸,但细胞实验显示 ATP 的生成量并没有因线粒体的抑制而减少,细胞要进行正常代谢就需要无氧呼吸来弥补。在产生相同量 ATP 的前提下,糖酵解需要消耗更多的葡萄糖,这就是小檗碱能增加细胞消耗葡萄糖的主要原因^[5]。

1.3 改善胰岛素抵抗、增强胰岛素敏感性

胰岛素抵抗是肝脏、肌肉和脂肪组织等周围靶组织细胞对胰岛素等敏感性降低而产生的一系列临床表现,是 2 型糖尿病的主要发病机制,也是目前治疗糖尿病所面临的难题。改善胰岛素抵抗、增强胰岛素的敏感性对糖尿病治疗具有重要意义。高从容等^[6]分别用小檗碱、二甲双胍治疗胰岛素抵抗大鼠 (胰岛素敏感性 K 值为 5.02 ± 1.08) 1 个月,其胰岛素敏感性得到改善, K 值分别为 6.31 ± 0.95 和 6.24 ± 0.65 ,其作用机制与二甲双胍相似,属于胰岛素增敏剂范畴。

研究发现 2 型糖尿病患者不仅空腹游离脂肪酸 (FFA) 量升高,而且餐后 2 h 血 FFA 水平也明显高于对照组。FFA 升高能对机体血糖自稳状态产生多途径损害,通过多种环节导致胰岛素抵抗。因此降低 FFA,对稳定血糖,改善胰岛素抵抗均具有重要意义。宋菊敏等^[7]研究证实,小檗碱能提高胰岛素与胰岛素受体的结合,改善胰岛素抵抗。临床试验研究表明^[3],具有肝炎并发症的 2 型糖尿病患者每天服用小檗碱 1 g,连续 2 个月,能明显降低空腹血糖及血清胰岛素,分别下降 25.9% 和 28.2%,说明小檗碱能增强胰岛素敏感性,并明显改善肝、肾功能,避免了 2 型糖尿病治疗药物 (二甲双胍等) 对肝、肾产生的副作用,因此适合治疗具有肝、肾并发症的糖尿病患者。

胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRSs) 是能被激活的胰岛素受体酪氨酸激酶作用的一系列底物,是维持 β 细胞存活的重要蛋白质,其上具有十几个可被磷酸化的酪氨酸残基,磷酸化的 IRSs 能结合并激活下游效应物。基因序列分析显示,IRSs 的 C 端具有长度不等的富有酪氨酸 (其磷酸化会被激活) 和丝氨酸 (其磷酸化会引起降解) 磷酸化位点,而 N 末端为 PH 段,与 PH 段相邻的区域为酪氨酸磷酸位点结合区 (PTB),其中 PH 段和 PTB 区域主要是结合 IRSs 上游信号分子,而 C 端的酪氨酸磷酸化位点对调节下游信号传导起着关键作用^[8]。在 β 细胞中,当胰岛素受体的 α 亚基与胰岛素结合后,胰岛素受体的 β 亚基 (酪氨酸蛋白激酶) 被激活,被激活的胰岛素受体使 IRSs 上酪氨酸位点磷酸化,从而激活 IRSs,改善胰岛素抵抗,而 IRSs C 端丝氨酸的磷酸化会导致胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 降解^[9-11],因此 IRS-1 中 307 位丝氨酸磷酸化成为胰岛素抵抗的分子标记。Yi 等^[12]研究发现小

槲碱能通过增强 IRS-1 和磷脂酰肌醇-3-蛋白激酶 (PI-3K) 蛋白的表达来阻断由 FFA 引起的胰岛素抵抗, 并且存在明显量效关系。作用机制研究发现小槲碱 (1~10 $\mu\text{mol/L}$) 能抑制 FFA 诱导的 IRS-1 Ser³⁰⁷ 磷酸化, 从而阻断 IRS-1 降解。另外 IRS-1 的磷酸化又与核转录因子 κB 抑制蛋白激酶 β (IKK β) 的激活有很大关系, IKK β Ser¹⁸¹ 磷酸化能激活 IKK β , 被激活的 IKK β 能使 IRS-1 的丝氨酸磷酸化产生胰岛素抵抗。研究发现小槲碱也能抑制 FFA 诱导的 IKK β Ser¹⁸¹ 磷酸化, 改善胰岛素敏感性^[12], 这为研究小槲碱治疗糖尿病提供了新的方向。Ko 等^[13]用 50 mmol/L 小槲碱和 0.2 nmol/L 胰岛素同时处理脂肪细胞 3T3L1, 结果发现其降糖作用与 10 nmol/L 胰岛素相当, 说明小槲碱具有明显的胰岛素增敏效果。动物实验研究发现小槲碱能显著改善高脂饮食大鼠的胰岛素抵抗^[14]。

另外, 一种新的观点认为胰岛素抵抗是一种自然免疫和低度炎症性疾病, 且提出 2 型糖尿病存在着细胞因子介导的急性相反应的假说^[15]。肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是一种由活化单核细胞产生的多功能细胞因子, 可激活核转录因子 (NF- κB) 抑制因子激酶 (IKK), IKK 通过使 κB 抑制因子 (I κB) 磷酸化而激活 NF- κB , 而后者又促进 TNF- α 转录, 从而形成低度炎症信号的正反馈环, 加重炎症, 并可直接损伤胰岛 β 细胞, 诱发胰岛素抵抗^[16]。如果小槲碱具有抗炎作用的话, 那么其将大大改善胰岛素抵抗对生理产生的负面影响。Yi 等^[12]研究发现小槲碱能抑制由棕榈酸 (PA) 诱导的 NF- κB P65 蛋白的表达。Wang 等^[17]研究发现小槲碱能降低 NF- κB 的活性。

1.4 促进葡萄糖吸收、增加葡萄糖的转运及消耗

小槲碱能抑制 α -葡萄糖苷酶的活性, 减少消化道碳水化合物的水解, 具有 α -葡萄糖苷酶抑制剂的作用^[18]。Zhou 等^[19]研究发现小槲碱在 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 时能显著增加脂肪细胞 3T3-L1 对葡萄糖的吸收, 在浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最大值, 并与胰岛素具有协同效应。小槲碱不仅能促进脂肪细胞 3T3-L1 对葡萄糖的吸收, 还可增加其对葡萄糖的消耗, 且存在量效关系, 当小槲碱的浓度从 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 增加到 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 葡萄糖的消耗量从提高 1.3 倍增加到 3 倍, 但小槲碱浓度达到 50 $\mu\text{mol/L}$ 时葡萄糖的消耗量显著降低, 表现出一定细胞毒性。小槲碱处理初期, 细胞对葡萄糖的吸收很慢, 2 h 后开始加速,

12 h 达到最大值, 48 h 后还维持在较高水平。另外, 小槲碱的降糖效果跟葡萄糖浓度有很大关系, 其降糖作用随着培养液中葡萄糖浓度的升高而降低, 当葡萄糖的浓度在 5~100 $\mu\text{mol/L}$ 时 HepG2 细胞对葡萄糖的消耗量增加了 32%~60%, 其中小槲碱浓度为 5.5 mmol/L 时降糖效果最好, 降糖作用与 1 mmol/L 的二甲双胍相似, 当浓度达到 22.2 mmol/L 时作用消失, 而二甲双胍的降糖作用与葡萄糖的浓度关系不大^[20-21]。Kim 等^[22]研究发现小槲碱能增强 3T3-L1 细胞糖转运蛋白 1 (GLUT1) 的表达从而促进葡萄糖的吸收。Alexandra 等^[23]研究小槲碱对 L929 纤维组织母细胞 GLUT1 的影响, 发现当小槲碱浓度大于 40 $\mu\text{mol/L}$ 时葡萄糖的消耗量增加了 5 倍, 在最初 5 min 内就有显著变化, 30 min 时达到最大值。小槲碱能明显减少葡萄糖吸收的 K_m 值, 由原来的 (6.7 $\pm$ 1.9) $\mu\text{mol/L}$ 下降到 (0.55 $\pm$ 0.08) $\mu\text{mol/L}$, 但对葡萄糖吸收的最大速率没有影响。作用机制研究表明腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 抑制剂 Compound C 不会影响小槲碱激活细胞对葡萄糖的吸收, 但下游激酶抑制剂能部分阻断小槲碱的这种作用。

小槲碱能间接激活 GLUT4, 从而促进葡萄糖的转运, 激活过程见图 2。Ma 等^[24]研究发现小槲碱能催化鼠肌纤维细胞 AMPK Thr¹⁷² 的磷酸化, 从而激活 AMPK 的两个催化亚基 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$, 另外 AMPK 的胞内底物乙酰辅酶 A 羧化酶 Ser⁷⁹ 也相应磷酸化, 启动 GLUT4 的转运。



图 2 小槲碱对 GLUT4 的激活机制

Fig. 2 Activation mechanism of berberine on GLUT4

1.5 通过调血脂达到降糖作用

1971 年遗传学家 Neel 认为肥胖与 2 型糖尿病有共同的遗传背景, 并提出节俭基因学说^[25]。具有这种基因型的个体较易耐受长时间饥饿, 经过长期自然选择而生存下来, 但是到了丰衣足食的现代社会, 就容易出现肥胖、胰岛素抵抗及糖尿病。研究发现在 2 型糖尿病患者中, 70%~80% 的人有肥胖病史。因此, 2 型糖尿病与肥胖具有极为密切的关系。对受体的研究表明, 肥胖者特别是内脏肥胖者, 体内胰岛素靶细胞上受体数目明显减少。同时, 受体酪氨酸激酶活性降低, 可见第 2 信使异常, GLUT4

的数量减少。小檗碱能增加胰岛素受体的表达,也能激活受体酪氨酸激酶。Lee 等^[26]给 12 周龄的 Wistar 2 型糖尿病大鼠每天喂食 5 mg/kg 小檗碱,3 周后体质量减少了 13%,并且没有减少实验鼠对食物的摄入量。

AMPK 是一种重要的蛋白激酶,主要协调代谢与能量需求。激活 AMPK 将调控一系列代谢过程,一方面关闭 ATP 的合成代谢途径,另一方面启动产生 ATP 的分解代谢途径,从而减少能量贮存,增加能量消耗,有“细胞能量调节器”之称。AMPK 是目前治疗 2 型糖尿病的新靶点。研究人员用高脂食物喂养小鼠建立胰岛素抵抗模型,再连续 ig 小檗碱 2 周后发现,模型鼠体质量减轻,能提高 AMPK 的活性,从而抑制人肝细胞脂质的合成。组织学研究表明,主要器官肝、肾没有异常病理现象及炎症;高胰岛素-正常葡萄糖钳夹技术(hyperinsulinemic-euglycemic clamp)研究表明小檗碱能有效缓解高脂鼠的胰岛素抵抗,作用机制研究发现,小檗碱能减少一系列脂肪细胞分化特定基因的表达,如脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)、脂肪细胞分化决定和分化因子 1/固醇调节元件结合蛋白 1c(adipocyte determination and differentiation-1/sterol regulatory element binding proteins-1c, ADD1/SREBP 1c)、过氧化物酶体增殖因子活化受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR γ)等,从而抑制脂肪细胞的分化,小檗碱对细胞周期素 D 激酶 5(cyclin D kinase 5)没有明显影响,说明小檗碱不影响细胞的正常生长,细胞毒性较小。

体外实验研究表明,正常胰岛组织暴露于含有高浓度 FFA(或三酰甘油 TG)的培养液中,短期刺激胰岛素分泌,长期可见葡萄糖刺激的胰岛素分泌(GSIS)抑制^[27],因为高浓度的 FFA 或 TG 可使胰岛 β 细胞产生分泌功能障碍。用小檗碱分别处理分化期及充分分化的脂肪细胞 3T3-L1,结果发现小檗碱能明显减少脂肪细胞的分化及降低细胞内 TA 和 FFA 的积累。其作用机制也是减少一系列脂肪细胞分化特定基因的表达,与动物实验结果一致。但长期使用会明显减少细胞 GLUT4 mRNA 及脂肪合成相关基因的表达,对细胞产生去分化作用^[26]。Gu 等^[28]利用降低 FFA 综合代谢组学成功解释了小檗碱对治疗 2 型糖尿病及血脂异常疾病的作用机制。Yin 等^[5]研究发现 2 μ mol/L 小檗碱能诱导 3T3-L1 中 AMPK 的磷酸化,并阻断胰岛素对 AMPK 的磷酸

化抑制作用,并且还发现 AMPK 磷酸化的开始时间根据细胞不同存在一定差异,L6 细胞从 0.5 h 开始,3T3-L1 从 1 h 开始,AMPK 磷酸化的持续时间至少是 16 h,说明小檗碱能快速使 AMPK 磷酸化,并能使其长时间维持高磷酸化状态。大量实验研究表明^[29]AMPK 持续磷酸化与 AMP/ATP 比例上调有关。20 μ mol/L 的小檗碱能增加胞内 AMP、ADP 和 ATP 的浓度,这说明小檗碱不是降低 ATP 的生成,而是提高 ATP 的利用;2 h 以后 AMP/ATP 和 ADP/ATP 的比例上调,AMP 通过激活上游激酶来刺激 AMPK 磷酸化。AMP/ATP 比例上调不仅能使 AMPK 磷酸化,还能激活 p38 丝裂原激活蛋白激酶(p38 MAPK),并且 p38 MAPK 抑制剂 SB202190 能部分阻断小檗碱促进细胞对葡萄糖的吸收,AMPK 活性的抑制能降低 p38 MAPK 的磷酸化,说明 AMPK 处于调控上游。小檗碱不能刺激胰岛素信号通路的关键分子 Akt 磷酸化,显示小檗碱促进葡萄糖的吸收不是通过胰岛素信号通道,而是通过 AMP-AMPK-p38 MAPK 通路。

1.6 改善胰岛 β 细胞功能

研究发现胰岛 β 细胞死亡及功能受损将导致糖尿病的发生。李素迎等^[30]用小檗碱处理大鼠离体胰岛 β 细胞损伤模型发现,小檗碱可以改善链脲霉素抑制模型细胞对葡萄糖的吸收,促进胰岛素的分泌,对离体胰岛细胞损伤具有一定保护作用。动物病理学研究发现小檗碱能促进胰岛 β 细胞的修复作用^[31-33]。

1.7 通过抗氧化达到改善糖尿病的作用

自由基是人体代谢过程中必然产生的一种氧化物,其具有高度的化学活性,是人体防御系统中不可缺少的一部分,但是当自由基过多时,又会攻击体内的糖蛋白质脂肪和核酸,从而促进衰老并诱发糖尿病、癌症及一系列退行性疾病。因此,药物可以通过抗氧化来达到改善糖尿病的作用。Zhou 等^[34]给链脲霉素(或高糖、高脂)诱导的糖尿病小鼠喂食小檗碱发现,小檗碱不仅能够改善胰岛 β 细胞的功能,增加血清胰岛素水平及胰岛素的敏感性,还能提高超氧化物歧化酶(SOD)的活性及降低模型鼠体内丙二醛(MDA)的量,提示小檗碱对胰岛 β 细胞的保护作用可能是通过抗氧化来完成的。大脑皮层中神经元的氧化损伤会破坏小鼠的认知功能,另外脂质过氧化水平增加会显著降低糖尿病小鼠大脑皮层中还还原性谷胱甘肽酶的活性,因此抗氧化能改善小鼠的认知功能。Bhutada 等^[35]研究发现小檗

碱能提高糖尿病小鼠谷胱甘肽酶过氧化物酶(GSH-Px)的活性,降低胆碱酯酶的活性及体内脂质过氧化水平;在小鼠水迷宫实验中发现,小檗碱在100 mg/kg时能显著降低记忆损伤。

2 小檗碱对糖尿病血管并发症的研究进展

小檗碱除了能预防和治疗糖尿病外,对糖尿病引起的血管并发症也有较好的治疗效果。一氧化氮(NO)是内皮产生的最主要的舒张因子,在体内具有广泛的生理功能,如舒张血管、阻止白细胞和血小板黏附于血管内壁、抑制血管平滑肌细胞的增殖、降低血管的渗透性等。Wang等^[17]研究发现小檗碱能增强内皮源性NO合酶(eNOS)Ser¹¹⁷⁷的磷酸化,也能促进热休克蛋白90(HSP90)与eNOS的结合,从而加速NO的生成;并且也能减弱由高糖引起的活性氧的生成、细胞凋亡及黏附分子的表达,抑制单核白细胞黏附于内皮细胞,改善由糖尿病引发的血管内皮功能损伤。同样Wang等^[36]研究发现小檗碱能通过增强eNOS的表达及下调尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶(NADPH,是血管内生活性氧的主要酶体)的表达来提高血清NO的水平,从而改善血管内皮功能障碍。

晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs)是人体内的还原糖与蛋白质或脂质发生不可逆反应所形成的,是非酶糖基化衰老理论的最终产物。AGEs在体内的聚集一方面会降低NO合酶(内皮核酶)的表达,影响内皮源性NO的释放;另一方面也会降低血栓调节素的表达,改变胞内凝血剂的功能,从而引发各种糖尿病并发症。Hao等^[37]利用高糖和AGEs建立糖尿病微内皮损伤模型,结果发现小檗碱能通过抑制AGEs的形成,从而增加NO合酶和血栓调节素生成及NO的释放,改善糖尿引发的微血管损伤;进一步研究表明小檗碱能降低血清糖化白蛋白的水平,从而达到治疗糖尿病微血管并发症的目的。

3 小檗碱衍生物构效关系研究进展

小檗碱良好的降血糖效果在医学界引起了广泛重视。为了深入研究其降血糖机制及开发更为有效的降糖药物,研究其构效关系显得尤为重要。2006年,Bian等^[38]合成了17个小檗碱衍生物,并用β-细胞膜亲和色谱法研究其降糖作用的构效关系,结果发现,当C-2、C-3位的亚甲二氧基环被打开后形成甲氧基、羟基或乙酰氧基时,与胰腺β-细胞膜的亲和性消失,说明小檗碱亚甲二氧基环是其保持胰

腺β-细胞膜亲和性的必需基团。用硼氢化钾还原芳环C形成二氢及四氢小檗碱衍生物,将季铵结构转换为叔胺结构,其与β-胰腺细胞膜亲和性也会消失,这说明具有正电荷季铵氮原子的静电效应在两者结合中扮演重要角色。当N-7上引入取代基时(烷基、或苯基)形成N-烷基(或苯基)季铵盐时,对胰腺β-细胞膜亲和性的构效关系差异很大,当取代基为甲基或乙基时无亲和性,这可能是烷基链把N-7原子的静电效应屏蔽掉了,而当被苯基取代后其亲和性很高,可能与化合物的疏水性有很大关系,同时也说明芳环结构并不是降血糖的必需基团。Turner等^[39]进一步证实二氢小檗碱的降糖作用强于小檗碱,作用机制研究发现二氢小檗碱比小檗碱更容易被小肠上皮细胞吸收,进一步研究显示二氢小檗碱被吸收后很快又转变成小檗碱,这提示真正起到降糖作用的还是小檗碱;另外还发现D环取代基的变化与胰腺β-细胞膜亲和力关系密切,当C-9、C-10位被甲氧基取代或D环无取代基时活性很强,但C-9、C-10或C-11位引入单一甲氧基或苄氧基时活性均降低。Yang等^[40]合成了19个D环不同取代基的小檗碱衍生物并研究其上调低密度脂蛋白受体(LDLR)表达的构效关系,结果发现D环上有2个烷氧基的化合物具有一定活性,但增加C-9、C-10位的烷氧基碳链其活性会逐渐降低。当去掉C-9烷氧基,并在C-10引入羟基其活性接近小檗碱;当C-10、C-11引入甲氧基时,其活性最强,比小檗碱提高了1.6倍,但随着烷基链的增加活性逐渐降低。2010年,Huang等^[41]得到同样结果。Cheng等^[42]经过4步反应成功地在C-8位上引入2个短链烷基,降糖实验研究发现,8,8-二甲基-二氢小檗碱能抑制线粒体有氧呼吸,上调AMP/ATP比例,激活AMPK,从而促进葡萄糖的吸收,动物实验发现,8,8-二甲基-二氢小檗碱比小檗碱具有更好的生物利用率。

4 结语

2型糖尿病临床上以高血糖为主要特征,出现糖尿,进而引起糖、蛋白质和脂肪等代谢紊乱综合征,因此在治疗上主要针对其病因,注重改善胰岛素抵抗,促进葡萄糖的消耗以及对保护和修复胰腺β细胞的功能等。目前治疗2型糖尿病常用的口服药有双胍类、磺酰脲类、α-葡萄糖苷酶抑制剂。近年来新型噻唑烷二酮类(TZDs)胰岛素增敏药(如罗格列酮)的上市,为2型糖尿病的治疗提供了全新的用药选择,但长期使用存在体质量增加、水肿

等副作用。小檗碱作为天然化合物,降糖效果好、副作用小,对治疗伴有并发症的糖尿病患者具有独特优势,其作用机制见图3。近年来,大量实验数

据显示,2型糖尿病及其并发症的发病机制可能与炎症有关。流行病学资料表明,2型糖尿病患者血液循环中的急性期反应产物和炎症介质水平升高;临

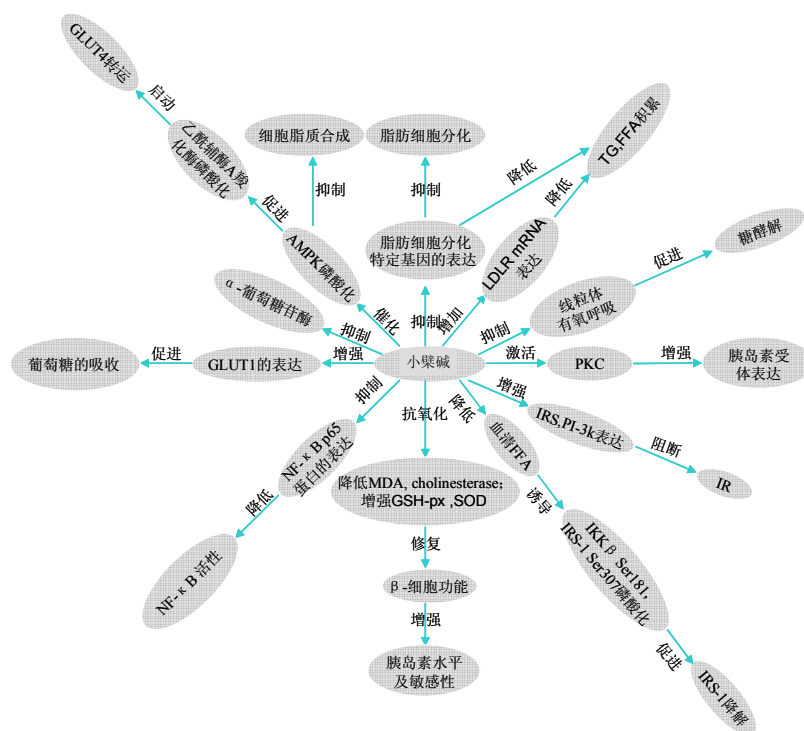


图3 小檗碱降糖作用机制

Fig. 3 Hypoglycemic mechanism of berberine

床医学实践中发现水杨酸类抗炎药物具有降低血糖的潜能;基础医学研究发现,炎症细胞因子由于“交流”(cross-talk)可能削弱胰岛素的信号传导。提示小檗碱与抗炎药物合用在治疗糖尿病方面值得深入研究。另外,2型糖尿病发病机制复杂、并发症多,也不适宜选用单一药物,而要借用中医复方多部位、多靶点同时治疗。

参考文献

- [1] Zimmer P Z. The global epidemiology of noninsulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome [J]. *J Diabetes Complications*, 1997, 11: 60-68.
- [2] Kong W J, Zhang H, Song D Q, *et al.* Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression [J]. *Metab Clin Exp*, 2009, 58: 109-119.
- [3] Zhang H, Wei J, Xue R, *et al.* Berberine lowers blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients through increasing insulin receptor expression [J]. *Metab Clin Exp*, 2010, 59: 285-292.
- [4] 陈其明, 谢明智. 小檗碱对正常小鼠血糖调节的影响 [J]. *药理学学报*, 1987, 22(3): 161-162.
- [5] Yin J, Gao Z G, Liu D, *et al.* Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis [J]. *Am J*

Physiol Endocrinol Metab, 2008, 294: E148-E156.

- [6] 高从容, 张家庆, 黄庆玲. 黄连素增加胰岛素抵抗大鼠模型胰岛素敏感性的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1997, 17(3): 162.
- [7] 宋菊敏, 刘丽琼, 刘小美, *等.* 复方黄连降糖片对2型糖尿病大鼠肝组织胰岛素受体基因表达的影响 [J]. *中医基础医学杂志*, 2008, 14(7): 509-511.
- [8] White M F. IRS proteins and the common path to diabetes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 283(3): 413-422.
- [9] Sun X J, Goldberg J L, Qiao L Y, *et al.* Insulin-induced insulin receptor substrate-1 degradation is mediated by the proteasome degradation pathway [J]. *Diabetes*, 1999, 48: 1359-1364.
- [10] Rui L, Fisher T L, Thomas J, *et al.* Regulation of insulin/insulin-like growth factor-1 signaling by proteasome-mediated degradation of insulin receptor substrate-2 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 40362-40367.
- [11] Zhande R, Mitchell J J, Wu J, *et al.* Molecular mechanism of insulin-induced degradation of insulin receptor substrate 1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 1016-1026.
- [12] Yi P, Lu F E, Xu L J, *et al.* Berberine reverses free-fatty-acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes through targeting IKK β [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(6): 876-883.

- [13] Ko B S, Choi S B, Park S K, *et al.* Insulin sensitizing and insulin 2 tropic action of berberine from *Cortidis Rhizoma* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(8): 1431.
- [14] 周丽斌, 杨颖, 尚文斌, 等. 小檗碱改善高脂饮食大鼠的胰岛素抵抗 [J]. 放射免疫学杂志, 2005, 18(3): 198-200.
- [15] Pick J C, Crok M A. Is type 2 diabetes mellitus a disease of the innate immune system? [J]. *Diabetologia*, 1998, 41: 1241-1248.
- [16] 罗晖, 宁英远. 内皮型一氧化氮合酶基因多态性与糖尿病肾病早期干预的关系 [J]. 中国临床康复, 2003, 7(12): 1766-1767.
- [17] Wang Y Q, Huang Y, Karen S L, *et al.* Berberine prevents hyperglycemia-induced endothelial injury and enhances vasodilatation via adenosine monophosphate-activated protein kinase and endothelial nitric oxide synthase [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 82: 484-492.
- [18] Pan G Y, Huang Z J, Wang G J, *et al.* The antihyperglycaemic activity of berberine arises from a decrease of glucose absorption [J]. *Planta Med*, 2003, 69(7): 632-633.
- [19] Zhou L B, Yang Y, Wang X, *et al.* Berberine stimulates glucose transport through a mechanism distinct from insulin [J]. *Metab Clin Exp*, 2007, 56: 405-412.
- [20] 殷峻, 胡仁明, 陈名道, 等. 二甲双胍、曲格列酮和小檗碱对 HepG2 细胞耗糖作用比较 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2002, 18(6): 488-491.
- [21] Yin J, Hu R M, Chen M D, *et al.* Effects of berberine on glucose metabolism *in vitro* [J]. *Metabolism*, 2002, 51(11): 1439-1443.
- [22] Kim S H, Shin E J, Kim E D, *et al.* Berberine activates GLUT1-mediated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30: 2120-2125.
- [23] Alexandra C, Christina P, Matthew J S, *et al.* Berberine acutely activates the glucose transport activity of GLUT1 [J]. *Biochimie*, 2011, 93: 1187-1192.
- [24] Ma X, Egawa T, Kimura H, *et al.* Berberine-induced activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase and glucose transport in rat skeletal muscles [J]. *Metab Clin Exp*, 2010, 59: 1619-1627.
- [25] Neel J V. Diabetes mellitus: A thrifty genotype rendered detrimental by progress [J]. *Am J Hum Genet*, 1962, 14: 353.
- [26] Lee Y S, Kim W S, Kim K H, *et al.* Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states [J]. *Diabetes*, 2006, 55(5): 2256-2264.
- [27] Olof L, Jude T D, Robert B, *et al.* Activation of the ATP-sensitive K⁺ channel by long chain acyl-CoA. A role in modulation of pancreatic β -cell glucose sensitivity [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271: 10623.
- [28] Gu Y, Zhang Y F, Shi X Z, *et al.* Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabolomics [J]. *Talanta*, 2010, 51: 766-772.
- [29] Cheng Z, Pang T, Gu M, *et al.* Berberine-stimulated glucose uptake in L6 myotubes involves both AMPK and p38 MAPK [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760: 1682-1689.
- [30] 李素迎, 姚运伟, 伍忍. 盐酸小檗碱对链脲霉素致大鼠胰岛 β -细胞损伤的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(18): 6-10.
- [31] 倪艳霞. 黄连素治疗 II 型糖尿病 60 例疗效观察及实验研究 [J]. 中西医结合杂志, 1988, 8(12): 711-713.
- [32] Yin J, Hu R, Chen M, *et al.* Effects of berberine on glucose metabolism *in vitro* [J]. *Metabolism*, 2002, 51(11): 1439-1442.
- [33] 唐玲光. 黄连素巧治糖尿病 [J]. 医药与保健, 2005, 13(6): 40-43.
- [34] Zhou J Y, Zhou S W, Tang J L, *et al.* Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 606: 262-268.
- [35] Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, *et al.* Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin-induced diabetes [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 220: 30-41.
- [36] Wang C M, Li J, Lv X Y, *et al.* Ameliorative effect of berberine on endothelial dysfunction in diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 620: 131-137.
- [37] Hao M, Li S Y, Sun C K, *et al.* Amelioration effects of berberine on diabetic microendothelial injury model by the combination of high glucose and advanced glycation end products *in vitro* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 654: 320-325.
- [38] Bian X L, He L C, Yang G D. Synthesis and antihyperglycemic evaluation of various protoberberine derivatives [J]. *Bio Med Chem Lett*, 2006, 16: 1380-1383.
- [39] Turner N, Li J Y, Gosby A, *et al.* Berberine and its more biologically available derivative, dihydroberberine, inhibit mitochondrial respiratory complex I: A mechanism for the action of berberine to activate AMP-activated protein kinase and improve insulin action [J]. *Diabetes*, 2008, 57: 1414-1418.
- [40] Yang P, Song D Q, Li Y H, *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of berberine analogues as a novel class of low-density-lipoprotein receptor up-regulators [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 4675-4677.
- [41] Huang L, Shi A D, He F, *et al.* Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18: 1244-1251.
- [42] Cheng Z, Chen A F, Wu F, *et al.* 8, 8-Dimethyl-dihydroberberine with improved bioavailability and oral efficacy on obese and diabetic mouse models [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18: 5915-5924.