

网络出版时间: 2019-4-8 14:02 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.r.20190403.1613.022.html

## 23-乙酰泽泻醇 B 对 2 型糖尿病小鼠血糖的影响

张伟云<sup>1</sup>, 刘华欣<sup>1</sup>, 王青<sup>1</sup>, 陈全成<sup>2</sup>

(1. 厦门医学院药理学系, 福建 厦门 361023; 2. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361102)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.05.011

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2019)05-0639-05  
中国图书分类号: R-332; R284.1; R329.24; R343.23;  
R446.112; R587.102.2; R587.105

**摘要:**目的 探讨 23-乙酰泽泻醇 B 是否有治疗 2 型糖尿病的潜能。方法 通过腹腔注射链脲佐菌素和烟酰胺建立 2 型糖尿病小鼠模型。灌胃罗格列酮或 23-乙酰泽泻醇 B 3 周后, 测定 2 型糖尿病小鼠血糖值, 次日进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT)。采用葡萄糖荧光示踪剂, 测定 23-乙酰泽泻醇 B 对葡萄糖吸收的影响。采用 3T3-L1 前脂肪细胞分化模型, 测定其对分化的影响。结果 分别每天灌胃阳性药罗格列酮  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、23-乙酰泽泻醇 B ( $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 连续灌胃给药 3 周后, 降低了 2 型糖尿病小鼠血糖值, 一定程度改善 OGTT 过程中胰岛素抵抗。在  $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  高糖条件下, 23-乙酰泽泻醇 B 促进了脂肪细胞对胰岛素刺激的葡萄糖吸收; 23-乙酰泽泻醇 B ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 促进 3T3-L1 前脂肪细胞的分化过程。结论 23-乙酰泽泻醇 B 降低 2 型糖尿病小鼠血糖, 促进前脂肪细胞分化, 促进脂肪细胞吸收葡萄糖, 但作用机制仍需进一步探索。

**关键词:** 23-乙酰泽泻醇 B; 2 型糖尿病; 2-NBDG 吸收; 血糖; 3T3-L1 前脂肪细胞; 分化

收稿日期: 2019-01-18 修回日期: 2019-02-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No 81773601); 福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目(No 2015-ZQN-JC-45); 福建省教育厅中青年骨干教师教育科研项目(No JT180664)

作者简介: 张伟云(1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药活性成分及机制, E-mail: zhangwy@xmu.edu.cn;  
陈全成(1977-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 天然产物活性及作用机制, 通讯作者, Tel: 0592-2881189, E-mail: chenqc@xmu.edu.cn

糖尿病是一种多因素引起的内分泌代谢紊乱性疾病, 可分为 1 型、2 型、妊娠糖尿病和其它特殊类型糖尿病<sup>[1]</sup>。胰岛素抵抗和高血糖是 2 型糖尿病的主要特征, 器官减少对葡萄糖的摄取、代谢<sup>[2]</sup>。因此, 寻找胰岛素增敏剂来对抗胰岛素抵抗, 从而治疗 2 型糖尿病<sup>[3]</sup>。噻唑烷二酮(thiazolidinedione, TZD) 介导过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 的激活, 导致胰岛素敏感性明显提高<sup>[4-5]</sup>。PPAR $\gamma$  对葡萄糖、脂质代谢和炎症过程发挥较大作用<sup>[6-7]</sup>。PPAR $\gamma$  对胰岛素应答性葡萄糖摄取和增强葡萄糖转运体的表达有重要意义<sup>[8-9]</sup>。PPAR $\gamma$  2 在脂肪细胞中表达, 且促进分化<sup>[10]</sup>。3T3-L1 前脂肪细胞分化后, 得到的新的成熟脂肪细胞能加快对葡萄糖的吸收。胰岛素或胰岛素类似物在培养基中与细胞内不同的酶和受体作用, 可以激活细胞和细胞核中的许多信号通路, 从而进一步促进成熟脂肪细胞摄取、运输、消耗葡萄糖, 最终使细胞培养基中葡萄糖浓度降低。综上所述, 3T3-L1 前脂肪细胞分化模型已被用于降血糖活性筛选<sup>[11-12]</sup>。

泽泻 [*Alisma orientale* (Sam.) Juzep.] 利水渗湿、泄热、化浊降脂, 现代研究表明, 泽泻水、醇提物均可改善高脂饲料小鼠胰岛素抵抗模型的糖耐量<sup>[13]</sup>, 但具体药效物质基础尚不明确。23-乙酰泽泻醇 B 是泽泻中的特征成分之一, 属于化学结构分类中三萜类化合物, 具有促进 HepG2 细胞葡萄糖摄取活性<sup>[13]</sup>。因此, 本研究旨在探索 23-乙酰泽泻醇 B 是否具有抗糖尿病的潜力。采用链脲佐菌素

rate significantly decreased after treatment with  $\text{NaAsO}_2$  for 48 h, which was reversed in OP group ( $P < 0.01$ ). Meanwhile,  $\text{NaAsO}_2$  also significantly increased the proportion of S phase cells and p53 protein expression, and down-regulated the protein levels of CDC25A, Cyclin A and CDK2 in BC and NC groups ( $P < 0.01$ ), whereas the above changes of protein levels were significantly antagonized in OP group compared with NC

group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusions**  $\text{NaAsO}_2$  inhibits the cell growth by inducing S-phase arrest and over-expression of MPST could reverse the noxious effects caused by  $\text{NaAsO}_2$  in SH-SY5Y cells.

**Key words:** sodium arsenite; 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase; SH-SY5Y cells; cell cycle; S-phase arrest; hydrogen sulfide

(streptozotocin, STZ) 和烟酰胺腹腔注射诱导的 2 型糖尿病小鼠模型<sup>[14]</sup>, 测定 23-乙酰泽泻醇 B 降低血糖活性; 应用 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖吸收模型, 检测 23-乙酰泽泻醇 B 对葡萄糖吸收的影响; 通过 3T3-L1 前脂肪细胞分化模型, 评估 23-乙酰泽泻醇 B 对分化的作用和改善胰岛素抵抗的能力。在本研究中使用 TZD 类中的罗格列酮作为阳性对照药。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 胰岛素、葡萄糖、STZ、烟酰胺、罗格列酮、油红 O 染色和 Harris 苏木精染色液, 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 23-乙酰泽泻醇 B ( $C_{32}H_{50}O_5$ , 纯度 > 98%), 购自成都瑞芬思有限公司; 葡萄糖荧光示踪剂 2-[N-(7-硝基苯-2-氧代-1,3-重氨基-4-基) 氨基]-2-脱氧-D-葡萄糖 (2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-D-glucose 2-NBDG) 购自美国 Molecular Probes 公司; 其他化学试剂均为分析级。

**1.2 实验动物** 5~6 周龄 C57BL/6  $\delta$  小鼠, 体质量 20~23 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 动物合格证号为 2015000501745。每笼随机 8 只, 饲养在室温 ( $22 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 ( $50 \pm 5$ ) % 和 12 h/12 h 明暗光循环条件下。适应 2 周后, 按照国家动物实验标准开始实验。

**1.3 细胞** 3T3-L1 前脂肪细胞, 购自美国菌种保存中心。

**1.4 仪器** 血糖仪 (罗氏诊断产品上海有限公司); 流式细胞仪 (美国 Becton Dickinson 公司)。

## 2 方法

**2.1 2 型糖尿病模型的建立**  $\delta$  C57BL/6 小鼠禁食, 次日腹腔注射  $240 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  烟酰胺, 15 min 后腹腔注射  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  STZ, 2 d 后再次注射相同剂量的烟酰胺和 STZ。3 周后, 与空白对照组相比, 血糖明显升高则可证实已造成高血糖, 2 型糖尿病模型成功建立。每日称量, 并记录建模期间和灌胃给药期间小鼠体质量。

**2.2 测定血糖值** 腹腔注射烟酰胺和 STZ 后, 每 7 d 采血 ( $5 \sim 10 \mu\text{g}$ ) 1 次, 即分别在 d 0 (注射前)、7、14、21, 用血糖测定仪测定血糖浓度。

**2.3 口服葡萄糖耐受试验 (oral glucose tolerance test, OGTT)** 小鼠注射 STZ 和烟酰胺后的 d 21 禁食过夜, d 22 进行 OGTT。2 型糖尿病模型组、阳性对照药罗格列酮组及 23-乙酰泽泻醇 B 不同剂量组分别按小鼠体质量给予生理盐水、 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  罗格列酮、23-乙酰泽泻醇 B ( $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 2 h 后, 再灌胃葡萄糖溶液 ( $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。第 0 min 和灌

胃葡萄糖后的第 30、60、120 min 尾静脉收集血液, 并测定血糖水平。

**2.4 灌胃给予 23-乙酰泽泻醇 B 对空腹血糖和 OGTT 的影响** 空白对照组和模型组小鼠每日灌胃生理盐水、阳性对照组灌胃罗格列酮  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 试药组分别灌胃 23-乙酰泽泻醇 B ( $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 持续 3 周。在 d 0 和给药后 d 7、14、21, 测定各组小鼠血糖值, 小鼠在灌胃后的 d 21 禁食过夜, 于 d 22 进行 OGTT。

**2.5 细胞培养** 小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 于 5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱  $37^{\circ}\text{C}$  培养, 第 5~9 代的细胞用于实验。

**2.6 流式细胞仪分析细胞葡萄糖吸收情况** 参照文献<sup>[11]</sup>测定 23-乙酰泽泻醇 B 对葡萄糖吸收的影响。每孔  $1 \times 10^4$  个细胞将分化的 3T3-L1 脂肪细胞接种到 96 孔板培养 24 h 后, 再用含  $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  D-葡萄糖 (高糖条件) 和  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  胰岛素的无血清 DMEM 培养, 对照组不加任何药物处理, 阳性对照组和试药组分别用罗格列酮 ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和 23-乙酰泽泻醇 B ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 与  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  2-NBDG 处理 1 h 后, 收集细胞, 并悬浮在  $500 \mu\text{L}$  预冷的无血清培养基中, 在  $4^{\circ}\text{C}$  条件下待流式细胞仪分析。记录流式细胞仪 FL1 通道中每组细胞的葡萄糖荧光示踪剂 2-NBDG 的荧光强度。用罗格列酮 ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、23-乙酰泽泻醇 B ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 不加  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  2-NBDG 的条件下单独处理细胞 1 h, 作为背景值, 以避免假阳性。相对荧光强度减去背景值用于数据分析。

**2.7 油红 O 染色** 参照文献方法<sup>[11]</sup>, 首先将 3T3-L1 前脂肪细胞按  $4 \times 10^3$  细胞/孔接种到 96 孔板中培养 24 h, 然后换成含 10% 胎牛血清和  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  胰岛素的 DMEM 培养基, 对照组不加任何药物处理, 阳性对照组加入罗格列酮 ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 培养 3 d, 23-乙酰泽泻醇 B 组加入 23-乙酰泽泻醇 B ( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 培养 3 d。细胞培养 12 d 后, 经 10% 福尔马林溶液固定 1 h, 依次用油红 O 溶液 2 h、Harris 苏木精染色液染色 15 min 后, 用 60% 异丙醇清洗 3 次, 将未与细胞结合的染料移除, 最后于显微镜下 ( $\times 400$ ) 拍摄染色情况。

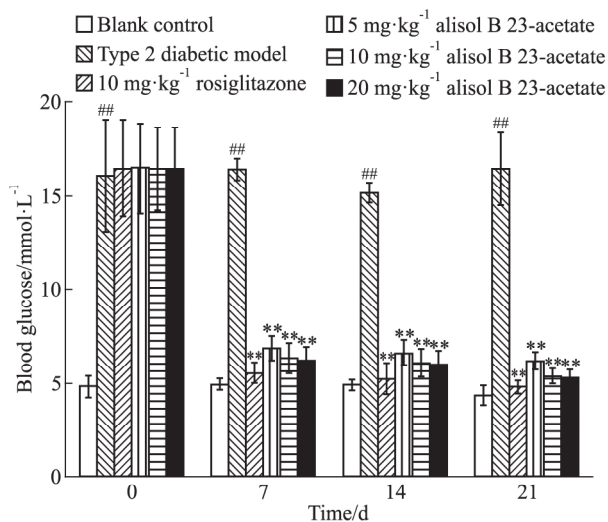
**2.8 统计学处理** 所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA)、Dunnnett's 或最小显著差异 (LSD) 检验。

## 3 结果

**3.1 2 型糖尿病小鼠模型造模后的空腹血糖值、OGTT、体质量变化** 在腹腔注射烟酰胺和 STZ 后

的 d 21, 小鼠的血糖值明显高于空白对照组小鼠血糖值, 提示造模成功。d 22 对模型组和空白对照组进行 OGTT 2 型糖尿病模型小鼠灌胃葡萄糖溶液后的第 30、60、120 min 对应的血糖值, 均明显高于空白对照组, 提示造模成功。2 型糖尿病模型建立期间, 模型组、空白对照组的小鼠体质量差异无显著性。

**3.2 23-乙酰泽泻醇 B 对 2 型糖尿病小鼠血糖的影响** 阳性对照组每日灌胃罗格列酮  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , d 7、14、21 的血糖值与 2 型糖尿病模型组相比明显降低。每日按小鼠体质量分别灌胃 23-乙酰泽泻醇 B ( $5、10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 持续给药 3 周, 在给药后的 d 7、14、21, 与 2 型糖尿病模型组小鼠相比, 血糖值呈明显下降的趋势 (Fig 1)。23-乙酰泽泻醇 B  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组比  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组显示出更好的降血糖活性, 而  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组降血糖趋势并未比  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组明显。



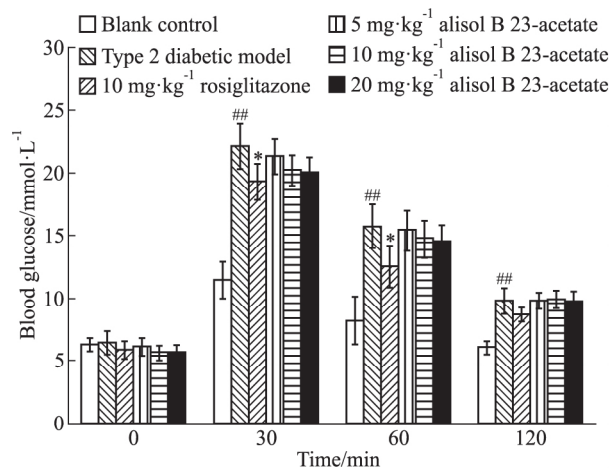
**Fig 1 Effect of alisol B 23-acetate at different doses on blood glucose ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )**

\*\*  $P < 0.01$  vs type 2 diabetic model group; ###  $P < 0.01$  vs blank control group

**3.3 23-乙酰泽泻醇 B 对 2 型糖尿病小鼠 OGTT 过程中血糖的影响** 与模型组比较, 罗格列酮  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组使 2 型糖尿病小鼠在 OGTT 中第 30、60 min 的血糖值明显降低, 而 23-乙酰泽泻醇 B ( $5、10、20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组在 OGTT 中仅在一定程度上对血糖值呈现出降低的趋势 (Fig 2)。

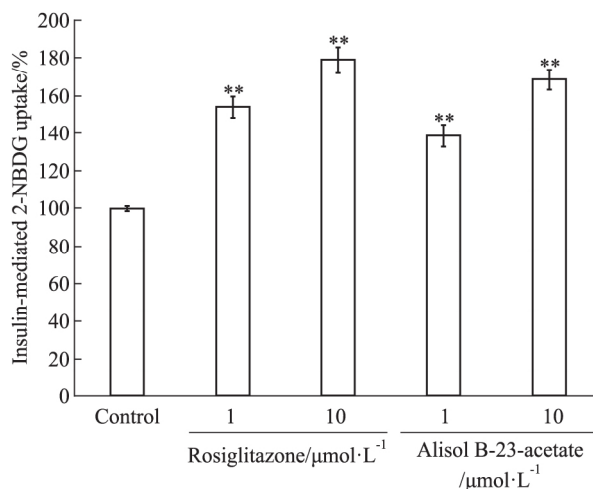
**3.4 23-乙酰泽泻醇 B 对脂肪细胞葡萄糖吸收的影响** 为研究 23-乙酰泽泻醇 B 在高糖 ( $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 条件下, 是否提高葡萄糖吸收, 采用分化的 3T3-L1 脂肪细胞模型进行葡萄糖荧光示踪剂 2-NB-

DG 吸收实验。罗格列酮 ( $1、10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 在高糖条件下明显增加胰岛素刺激的 3T3-L1 脂肪细胞对 2-NBDG 的吸收。23-乙酰泽泻醇 B ( $1、10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 也明显提高了胰岛素介导的脂肪细胞对 2-NBDG 的吸收。23-乙酰泽泻醇 B ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 促进脂肪细胞吸收 2-NBDG 的活性与阳性对照药罗格列酮相似 (Fig 3)。提示在高浓度葡萄糖环境下, 23-乙酰泽泻醇 B 提高分化的 3T3-L1 脂肪细胞吸收胰岛素刺激的 2-NBDG 活性。



**Fig 2 Effect of alisol B 23-acetate at different doses on OGTT ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )**

\*  $P < 0.05$  vs type 2 diabetic model group; ##  $P < 0.01$  vs blank control group



**Fig 3 Effect of alisol B-23-acetate on insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes under high concentration glucose condition ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )**

\*\*  $P < 0.01$  vs control (2-NBDG and insulin co-treated high-concentration glucose group)

**3.5 23-乙酰泽泻醇 B 对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的影响** 油红 O 染料可与细胞中的甘油三酯反应,

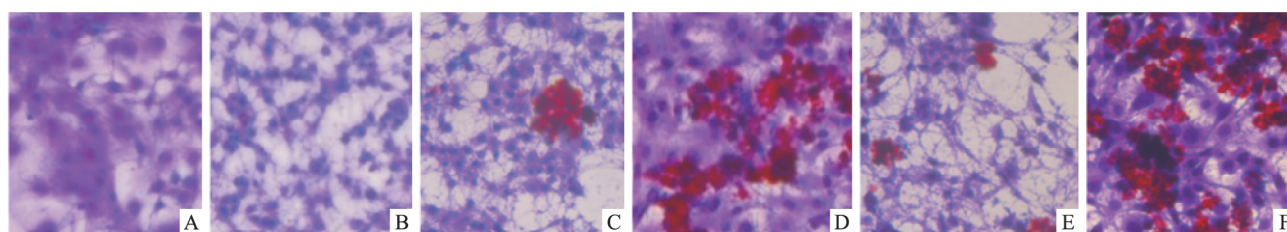


Fig 4 Effect of alisol B 23-acetate on differentiation in 3T3-L1 pre-adipocytes( ×400)

A: Pre-adipocytes; B: Control cells ( differentiated 3T3-L1 adipocytes ); C:  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  rosiglitazone; D:  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  rosiglitazone; E:  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  alisol B 23-acetate; F:  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  alisol B 23-acetate.

使脂肪细胞呈现红色。大量的脂肪滴出现在细胞中,表明新的成熟脂肪细胞的形成。如图4所示,与对照组相比,23-乙酰泽泻醇B( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )和罗格列酮( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )均能促进分化。

#### 4 讨论

灌胃泽泻乙酸乙酯提取物降低2型糖尿病小鼠空腹血糖值和口服葡萄糖耐量实验期间的血糖值,但具体的有效成分尚不明确<sup>[15]</sup>。研究表明,泽泻三萜类成分23-乙酰泽泻醇B具有促进HepG2细胞葡萄糖摄取活性<sup>[13]</sup>,很可能是其降糖药效物质基础之一。因此,本实验探讨了泽泻的特征化学成分23-乙酰泽泻醇B对2型糖尿病小鼠降糖活性的影响。模型组空腹血糖值和OGTT期间血糖明显高于空白对照组,提示造模成功。罗格列酮 $10 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药21 d后的血糖值明显低于2型糖尿病组小鼠;23-乙酰泽泻醇B( $5, 10, 20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组给药3周后,与模型组相比,也降低了血糖值。进行OGTT以确认对胰岛素的敏感性,2型糖尿病模型组小鼠在灌胃葡萄糖溶液后的第30、60、120 min时,血糖值明显高于空白对照组。罗格列酮 $10 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组在OGTT的第30、60 min时,使2型糖尿病小鼠血糖值下降,23-乙酰泽泻醇B组也在第30、60 min对血糖值有一定程度的降低。以上结果提示,23-乙酰泽泻醇B和罗格列酮均可降低OGTT期间的血糖值,提示二者均能使胰岛素抵抗程度降低。因此,23-乙酰泽泻醇B降低血糖值,可一定程度地改善胰岛素抵抗。

23-乙酰泽泻醇B( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )均能明显促进脂肪细胞吸收胰岛素刺激的葡萄糖,提示23-乙酰泽泻醇B可能作为治疗2型糖尿病的候选药物,但其作用机制尚需深入研究。

在3T3-L1前脂肪细胞分化模型中,23-乙酰泽泻醇B( $1, 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )均能促进分化过程。在分化过程中,产生新的成熟的脂肪细胞可能与胰岛素或胰岛素类似物作用,从而激活细胞和细胞核中的

信号通路,增强成熟脂肪细胞对葡萄糖的吸收。因此,推测23-乙酰泽泻醇B降血糖活性、提高糖吸收可能与其促进分化有关。

本文报道了23-乙酰泽泻醇B的降血糖活性,提示23-乙酰泽泻醇B可能是泽泻降血糖作用的药效物质。综合23-乙酰泽泻醇B促进分化、提高糖吸收、降低2型糖尿病小鼠空腹血糖值和OGTT过程中的血糖值的结果分析,推测23-乙酰泽泻醇B的降血糖活性可能是由于其激活PPAR $\gamma$ ,并增加其在脂肪细胞中表达,促进前脂肪细胞分化,提高胰岛素敏感性,从而促进胰岛素应答性葡萄糖吸收和改善胰岛素抵抗,最终使葡萄糖浓度降低。然而,上述推测尚需进一步研究和验证,详细的药理作用及作用机制尚需深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 李吉萍,袁野,张文友. 西洋参茎叶皂苷对糖尿病大鼠氧化损伤和血管内皮功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(12): 1698-702.
- [1] Li J P, Yuan Y, Zhang W Y. Influence of *Panax quinquefolium* saponins on oxidative damage and function of vascular endothelium in diabetic rats[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2017, 33(12): 1698-702.
- [2] Hardie D G. Role of AMP-activated protein kinase in the metabolic syndrome and in heart disease[J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(1): 81-9.
- [3] Prasad C N, Anjana T, Banerji A, et al. Gallic acid induces GLUT4 translocation and glucose uptake activity in 3T3-L1 cells[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(3): 531-6.
- [4] Saltiel A R, Olefsky J M. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes[J]. *Diabetes*, 1996, 45(12): 1661-9.
- [5] Olefsky J M, Saltiel A R. PPAR $\gamma$  and the treatment of insulin resistance[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, 11(9): 362-8.
- [6] Berger J, Moller D E. The mechanisms of action of PPARs[J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 409-35.
- [7] Willson T M, Lambert M H, Kliewer S A. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and metabolic disease[J]. *Annu Rev Biochem* 2001, 70: 341-67.

- [8] Hamm J K , el Jack A K , Pilch P F , et al. Role of PPAR $\gamma$  in regulating adipocyte differentiation and insulin-responsive glucose uptake [J]. *Ann NY Acad Sci* , 1999 , **892**: 134 - 45.
- [9] Nugent C , Prins J B , Whitehead J P , et al. Arachidonic acid stimulates glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes by increasing GLUT1 and GLUT4 levels at the plasma membrane. Evidence for involvement of lipoxygenase metabolites and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  [J]. *J Biol Chem* , 2001 , **276**( 12) : 9149 - 57.
- [10] Ren D , Collingwood T N , Rebar E J , et al. PPAR $\gamma$  knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPAR $\gamma$ 2 but not PPAR $\gamma$ 1 reactivates adipogenesis [J]. *Genes Dev* , 2002 , **16**( 1) : 27 - 32.
- [11] Zhang W Y , Lee J J , Kim Y H , et al. Effect of eriodictyol on glucose uptake and insulin resistance *in vitro* [J]. *J Agric Food Chem* , 2012 , **60**( 31) : 7652 - 8.
- [12] Kamon J , Naitoh T , Kitahara M , et al. Prostaglandin F(2) alpha enhances glucose consumption through neither adipocyte differentiation nor GLUT1 expression in 3T3-L1 cells [J]. *Cell Signal* , 2001 , **13**( 2) : 105 - 9.
- [13] 许文,罗奋熔,赵万里等.泽泻降糖活性提取物化学成分研究[J]. *中草药* , 2014 , **45**( 22) : 3238 - 45.
- [13] Xu W , Luo F R , Zhao W L , et al. Chemical constituents from *Alisma orientalis* extracts with hypoglycemic effect [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* , 2014 , **45**( 22) : 3238 - 45.
- [14] Choi W S , Lee J J , Kim Y , et al. Synergistic improvement in insulin resistance with a combination of fenofibrate and rosiglitazone in obese type 2 diabetic mice [J]. *Arch Pharm Res* , 2011 , **34**( 4) : 615 - 24.
- [15] 张伟云,陈全成,王丽荣等.泽泻降低2型糖尿病小鼠血糖的有效部位筛选[J]. *上海中医药杂志* , 2016 , **50**( 10) : 81 - 5.
- [15] Zhang W Y , Chen Q C , Wang L R , et al. Screening research on effective parts of *Alisma orientalis* ( Samuel. ) Juzep. associated with blood glucose decrease in type 2 diabetic mice [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med* , 2016 , **50**( 10) : 81 - 5.

## Influence of alisol B 23-acetate on blood glucose in type 2 diabetic mice

ZHANG Wei-yun<sup>1</sup> , LIU Hua-xin<sup>1</sup> , WANG Qing<sup>1</sup> , CHEN Quan-cheng<sup>2</sup>

( 1. Dept of Pharmacy , Xiamen Medical College , Xiamen Fujian 361023 , China;

2. School of Pharmaceutical Sciences , Xiamen University , Xiamen Fujian 361102 , China)

**Abstract: Aim** To explore whether alisol B 23-acetate possesses the therapeutic potential for treatment of type 2 diabetes mellitus ( T2DM ) . **Methods** T2DM mouse model was established by combined administration of streptozotocin and nicotinamide. After three weeks of oral administration of rosiglitazone or alisol B 23-acetate , the blood glucose of type 2 diabetic mice was measured. Oral glucose tolerance test ( OGTT ) was carried out the next day. Rosiglitazone was chosen as positive drug. 2-[N-( 7-nitrobenz-2-oxa-1 , 3-diazol-4-yl) amino ]-2-deoxy-D-glucose ( 2-NBDG ) uptake assay in adipocytes was adopted to test whether alisol B 23-acetate had effect on glucose uptake in cells. 3T3-L1 pre-adipocytes differentiation model was performed to evaluate whether alisol B 23-acetate promoted adipogenesis. **Results** Mice exhibited significantly higher blood glucose concentration after intraperitoneal injection of streptozotocin and nicotinamide for three weeks , as examined by blood glucose concentration on day 21 and OGTT on day 22 , compared with normal mice in

blank control group. After orally administrating alisol B 23-acetate at dose of 5 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> , 10 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> , 20 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> daily for three weeks , respectively , or orally administered rosiglitazone at dose of 10 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> daily for three weeks , blood glucose greatly decreased in type 2 diabetic mice. Moreover , insulin resistance was also improved to a certain degree during OGTT. Furthermore , alisol B 23-acetate not only increased insulin-induced glucose uptake in adipocytes at the concentration of 30 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> glucose , but also accelerated 3T3-L1 pre-adipocytes differentiation process at concentration of 1  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> and 10  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>. **Conclusions** Alisol B 23-acetate reduces blood glucose of type 2 diabetic mice , promotes pre-adipocyte differentiation and increases glucose uptake in adipocytes; however , the mechanism of action needs further exploration.

**Key words:** alisol B 23-acetate; type 2 diabetes mellitus; 2-NBDG uptake; blood glucose; 3T3-L1 pre-adipocytes; differentiation