

网络出版时间: 网络出版地址:

23-乙酰泽泻醇 B 对 2 型糖尿病小鼠血糖的影响

张伟云¹, 刘华欣¹, 王青¹, 陈全成²

(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^[1]。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^[2]。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^[3]。噻唑烷二酮(thiazolidinedione, TZD)介导过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 的激活,导致胰岛素敏感性明显提高^[4-5]。PPAR γ 对葡萄糖、脂质代谢和炎症过程发挥较大作用^[6-7]。PPAR γ 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^[8-9]。PPAR γ 2 在脂肪细胞中表达,且促进分化^[10]。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^[11-12]。

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^[13],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^[13]。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 NaAsO_2 for 48 h, which was reversed in OP group ($P < 0.01$). Meanwhile, 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** NaAsO_2 inhibits the cell growth by inducing S-phase arrest and over-expression of MPST could reverse the noxious effects caused by 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^[14], 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 δ 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 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 (50 ± 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 δ 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% CO_2 细胞培养箱 37°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^[11]测定 23-乙酰泽泻醇 B 对葡萄糖吸收的影响。每孔 1×10^4 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°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^[11], 首先将 3T3-L1 前脂肪细胞按 4×10^3 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。

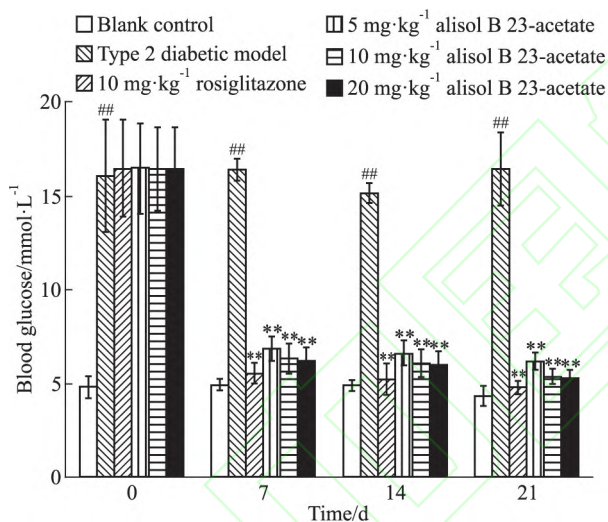


Fig 1 Effect of alisol B 23-acetate at different doses on blood glucose ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

** $P < 0.01$ 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。

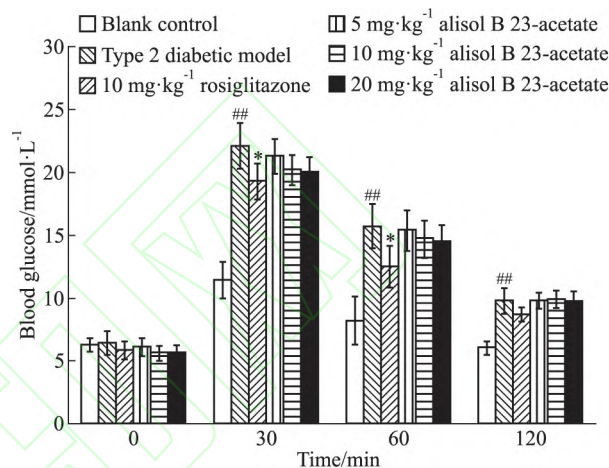


Fig 2 Effect of alisol B 23-acetate at different doses on OGTT ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

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

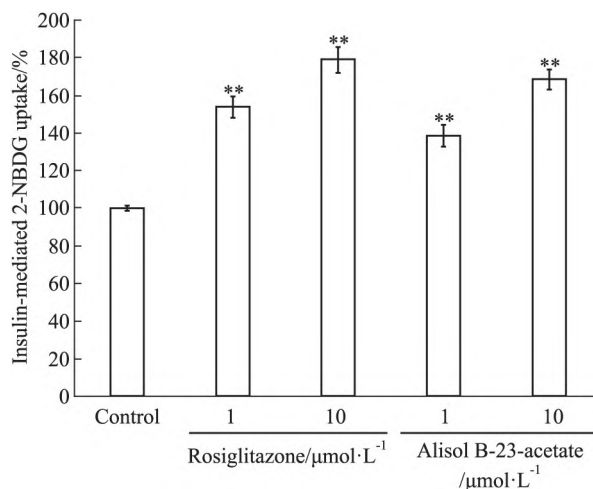


Fig 3 Effect of alisol B-23-acetate on insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes under high concentration glucose condition ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

** $P < 0.01$ 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,

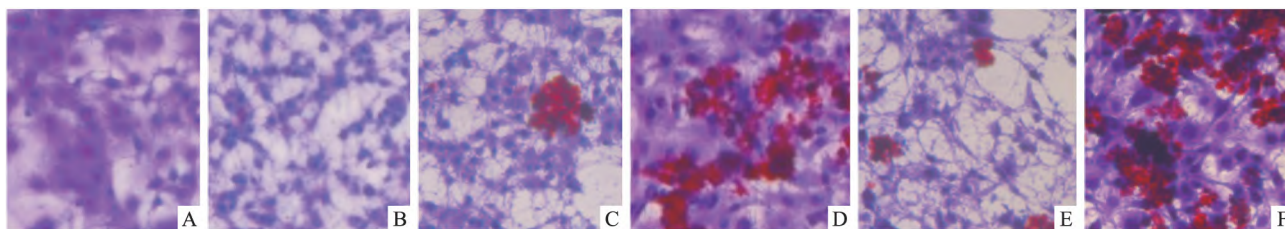


Fig 4 Effect of alisol B 23-acetate on differentiation in 3T3-L1 pre-adipocytes(×400)

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^[15]。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^[13],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 γ ,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 γ 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 γ 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 γ 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 γ [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(12): 9149–57.
- [10] Ren D, Collingwood T N, Rebar E J, et al. PPAR γ knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPAR γ 2 but not PPAR γ 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-yun¹, LIU Hua-xin¹, WANG Qing¹, CHEN Quan-cheng²

(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⁻¹, 10 mg \cdot kg⁻¹, 20 mg \cdot kg⁻¹ daily for three weeks, respectively, or orally administered rosiglitazone at dose of 10 mg \cdot kg⁻¹ 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⁻¹ glucose, but also accelerated 3T3-L1 pre-adipocytes differentiation process at concentration of 1 μ mol \cdot L⁻¹ and 10 μ mol \cdot L⁻¹. **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