

· 综述 ·

黄连素降糖量效关系实验研究概述

袁名泽 刘桂芳 张家成 姬航宇 赵林华 周强 仝小林 李敏

【摘要】 黄连素具有确切的降糖作用,而其降糖作用的量效研究集中于动物及细胞实验。本文通过系统回顾国内外关于黄连素在整体动物实验及细胞实验的降糖作用的量效研究。得出以下结论:(1)动物实验中,剂量在 40~200 mg/kg 之间,黄连素降糖作用具有量效关系;(2)细胞研究显示,黄连素具有潜在肝毒性(浓度 $\geq 3 \mu\text{mol/L}$);(3)肠道可能是黄连素发挥作用的重要部位,可能导致细胞实验与动物实验剂量范围的差异。

【关键词】 黄连素; 量效关系; 中药; 综述; 实验

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.06.024

Review about dose-effect relationship of berberine's hypoglycemic experiments YUAN Ming-ze, LIU Gui-fang, ZHANG Jia-cheng, et al. Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Corresponding author: LI Min, E-mail: limin-72114@163.com

【Abstract】 Berberine has the exact hypoglycemic effect, and its hypoglycemic dose-effect studies have focused on animal and cell experiments. In this paper, a systematic review on a dose of the hypoglycemic effect of berberine in the animal and cellular experiments. In conclusion: animal experiments show that the hypoglycemic effect of berberine has dose-effect relationship between 40 mg/kg and 200 mg/kg; and cell researches show that berberine has the potential liver toxicity ($\geq 3 \mu\text{mol/L}$); intestine may be an important part of the berberine play a role, and may lead to the differences of the dose range between cell experiments and animal studies.

【Key words】 Berberine; Dose-effect relationship; Traditional Chinese medicine; Review; Experiment

近 20 多年,越来越多的研究显示^[1-3],黄连素(即盐酸小檗碱,BBR)具有确切的降糖作用;且黄连素在一定的给药剂量或浓度范围内具有量效关系^[4,5]。本文从黄连素对整体动物及细胞降糖的量效研究角度进行综述。

1 黄连素对整体动物血糖的量效研究

传统观念认为,黄连素口服吸收差,在胃肠道吸收不好;小鼠静脉注射黄连素,在体内吸收快、分布广泛。黄连素静脉给药后 5 分钟到 2 小时小鼠各组织中分布顺序:肺>肝>脾>肾>心>肠>胃 \geq 脑^[6];小檗碱主要经过尿中排泄,粪排泄很少,且存在肝肠循环。

1.1 黄连素对正常动物血糖的量效研究

黄连素对正常动物空腹血糖的影响存在争议,其量效研究也较少。早期,陈其明^[7]发现黄连素能降低正常小鼠的空腹血糖,另有研究也肯定了这个观点,黄连素剂量 50 mg/kg 具有降糖作用,而 25 mg/kg 没有降糖效果^[8];但也有相反的观点,如李应霞^[9]采用正常 Wistar 大鼠为模型,以不同剂量黄连素(60、40、30 mg/kg,注:30 mg 约 10 μmol ,下

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2010CB530601)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院内分泌科[袁名泽(硕士研究生)、刘桂芳、张家成(硕士研究生)、姬航宇(博士研究生)、赵林华、周强(博士研究生)、仝小林、李敏];北京中医药大学针灸推拿学院[袁名泽(硕士研究生)、张家成(硕士研究生)]

作者简介:袁名泽(1985-),在读硕士研究生。研究方向:中西医结合糖尿病的基础与临床。E-mail:644064737@qq.com

通讯作者:李敏(1972-),女,博士,研究员。研究方向:中西医结合糖尿病。E-mail:limin-72114@163.com

同)干预 21 天,对血糖没有影响。

不同剂量黄连素干预后,正常动物没有出现低血糖现象,说明黄连素对正常人可能具有较大的安全性。

1.2 黄连素对糖尿病大鼠血糖的量效研究

1.2.1 黄连素对 1 型糖尿病动物血糖的量效研究

1 型糖尿病多采用不同浓度的高剂量四氧嘧啶造模,研究者以不同剂量黄连素对其干预。结果显示,黄连素对 1 型糖尿病动物的降糖作用具有剂量依赖性,且其有效范围为 40 mg/kg 到 120 mg/kg 之间,随着剂量的增加,降糖作用越强。如陈远航^[10]以 1 型糖尿病小鼠模型(100 mg/kg 四氧嘧啶造模),以不同剂量黄连素(40、80、120 mg/kg)灌胃 10 天,其降糖及提高血清胰岛素作用具有剂量依赖性,高剂量(120 mg/kg)作用最强。李应霞^[9]以雄性 Wistar 大鼠(皮下注射四氧嘧啶 200 mg/kg 造模),以不同剂量黄连素(60、40、30 mg/kg)灌胃,也得到同样的结论。Chueh WH 等^[11]以不同剂量黄连素(50、150、500 mg/kg)灌胃 14 周,胰岛数量增加具有剂量依赖性。而另有研究示对胰岛素基因敲除的小鼠(NOD/LtJ 小鼠)灌胃黄连素(100、200 mg/kg),无降糖效果^[12]。

黄连素的时效方面,陈其明^[7]以 50 mg/kg 黄连素的剂量灌胃 1 型糖尿病大鼠(尾静脉注射四氧嘧啶 95 ~ 100 mg/kg),第 1、4、10 天均可降低血糖。说明黄连素在 50 mg/kg 灌胃时具有至少 10 天的稳定的降血糖作用。

1.2.2 黄连素对 2 型糖尿病动物血糖的量效研究

黄连素可确切地降低 2 型糖尿病模型动物的血糖,在 40 ~ 200 mg/kg 效果明显,且呈量效关系,黄连素剂量越大,降糖效果越明显。Wang Y 等^[1]以 2 型糖尿病大鼠为模型(SD 大鼠,高热量饲料加 35 mg/kg 链脲佐菌素腹腔注射),以不同剂量黄连素(50、100、150 mg/kg 连续灌胃 6 周),结果示剂量为 100 mg/kg 及 150 mg/kg 黄连素均显著降低大鼠空腹及餐后血糖,而 50 mg/kg 黄连素对血糖无明显影响,不同剂量均对血清胰岛素、瘦素、脂联素无明显影响。有研究采用 2 型糖尿病大鼠(高脂饲料+链脲佐菌素 50 mg 腹腔注射)以不同剂量黄连素(75、150 mg/kg)灌胃,结论与上述研究一致^[12]。

此外,剂量不同,降糖作用出现的时间也存在差异,剂量高的黄连素组出现明显降糖所用的时间比剂量低的组短。如张彦^[8]以不同剂量黄连素

(50 mg/kg 和 25 mg/kg)连续 15 天灌胃 2 型糖尿病大鼠(四氧嘧啶 45 mg/kg),前者于给药后第 6 天、后者第 9 天均呈现明显的降糖作用。

肠促胰岛素因其独特的降糖作用,成为近年的热点。肠促胰岛素通过多种途径降糖,与中药的多靶点降糖的特点相似。黄连素可能通过诱导 GLP-1 释放来间接促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素,从而降低血糖。如吕秋菊^[13]首次观察黄连素对 2 型糖尿病大鼠(未指明具体造模过程、体重)血清 GLP-1 的影响。以不同浓度黄连素(15 mg/只及 30 mg/只)干预。结果两组黄连素均能有效刺激 GLP-1 分泌,且呈明显量效关系:在各个时间点(灌胃后 0、15、30、60 及 120 分钟),30 mg/只的组刺激作用明显优于 15 mg/只的组。

2 黄连素对细胞模型降糖作用的量效研究

2.1 黄连素作用于肝细胞的量效关系

肝脏通过参与糖原分解和糖异生调节血糖浓度,肝细胞系 HepG2 常用来研究药物的糖耗量。黄连素干预肝细胞系 HepG2 细胞,存在一定的量效关系。殷峻等^[14]以黄连素的有效浓度 20 $\mu\text{mol/L}$ 干预肝细胞系 HepG2。发现在中糖浓度(11.1 mmol/L)时,黄连素具有降糖作用,糖耗量增加 51%,而在高糖浓度(22.2 mmol/L)没有降糖作用。其进一步研究以不同浓度黄连素(1.0、5、10、50、100 $\mu\text{mol/L}$)干预 HepG2,结果示黄连素浓度在 5 $\mu\text{mol/L}$ ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 时具有显著的降糖作用,可使培养液中的葡萄糖消耗量增加 32% ~ 60% ($P < 0.001$),但没有量效关系,同时随着浓度增加,显著抑制 HepG2 细胞的增殖^[15];黄连素浓度降至 1 $\mu\text{mol/L}$ 降糖作用消失。常伟等^[16]进一步探讨其机制,以不同浓度黄连素(1、3、10、30、100 $\mu\text{mol/L}$)处理 HepG2 细胞 24 小时后,胰岛素诱导基因 2 (Insig-2) 和维生素 D 受体 (VDR) 基因表达上调,其效应随药物浓度的升高而逐渐增强,浓度为 3 $\mu\text{mol/L}$ 时达高峰,随后则逐渐减弱。

腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 是葡萄糖代谢的关键酶。Ge Y 等^[17]以不同浓度黄连素(1、10、25、50 $\mu\text{mol/L}$)培养大鼠原代肝细胞(SD、ZF、ZL 大鼠),均剂量依赖性的增加磷酸化的 AMPK- α ,及底物乙酰辅酶 A 羧化酶,但对 AMPK- β 亚基没有量效关系。

2.2 黄连素作用于脂肪组织细胞的量效关系

脂肪组织也是机体能量调节重要器官,在糖尿病发病中起重要作用,脂肪细胞系 3T3-L1 常用来研究糖代谢。周丽斌^[18-19]将 3T3-L1 细胞在 25 mmol/L 葡萄糖培养液中孵育 24 小时,以不同浓度黄连素(0.1、1、5、10、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$)干预,浓度在 0.1 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ 之间呈量效关系,其葡萄糖消耗量增加 26% ~ 201%。郭晓农^[20]也观察到黄连素浓度在 0.3 到 30 mg/L 之间(即 0.1 至 10 $\mu\text{mol/L}$)对 3T3L1 前脂肪细胞的葡萄糖消耗具有明显的量效关系。这与殷峻^[14]的研究结果不一致,其研究示黄连素在高糖浓度(22.2 mmol/L)下没有降糖作用,可能是因为两者的模型不同(3T3-L1 与 HepG2)。葡萄糖转运实验结果显示,以不同浓度黄连素(0.1、1、10、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$)干预,结果示黄连素浓度在 0.1 ~ 10 $\mu\text{mol/L}$ 之间的葡萄糖转运效果显著增加,但黄连素剂量达到 50 $\mu\text{mol/L}$ 时葡萄糖转运效果显著降低^[18]。这与模型细胞的活力在此浓度降低的结果一致,可能是黄连素对脂肪细胞产生毒性作用进而抑制了葡萄糖转运,但此时糖耗量却没有相应的减少,反而随黄连素浓度的升高而增加,可能黄连素具有其他降糖机制抵消了细胞毒作用引起的降糖效果。葡萄糖转运的时效研究结果显示,10 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素温育 2 小时即可使葡萄糖转运率增加 43%,6 小时增加 59%,12 小时增加 101%,24 小时和 48 小时分别增加 112% 和 127%,说明 12 小时时黄连素的作用已趋近最大^[18]。在最佳浓度下,黄连素对脂肪细胞模型(3T3-L1)的降糖作用具有不同于胰岛素的时一效特点,其作用远不如胰岛素迅速,可能在于其促进葡萄糖转运的机制与胰岛素不同。

2.3 黄连素在肌肉组织降糖的量效关系

L6 肌管细胞(1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$)培养细胞,剂量依赖性的减少 PPAR- γ 和 FAT/CD36 蛋白表达^[21]。对在体的比目鱼肌也具有量效关系,剂量依赖性的激活 AMPK 催化亚基的 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 苏氨酸磷酸化^[22]。剂量依赖性的促进线粒体呼吸^[23](0.2、4、6、8、10 $\mu\text{mol/L}$)。

2.4 黄连素作用于胰岛细胞的量效关系

胰岛细胞分泌胰岛素调节血糖,细胞系 βTC3 能稳定分泌胰岛素。殷峻等^[15]观察到不同浓度黄连素(0、0.01、0.1、1.0 $\mu\text{mol/L}$)均对 β 细胞无胰岛素分泌作用,而且 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的黄连素显著抑制了胰岛素的分泌($P < 0.01$),其原因可能在于该药阻滞

了 βTC3 细胞的增殖。

黄连素能部分预防和拮抗链脲菌素所致胰岛 β 细胞损伤,呈剂量依赖性。李素迎等^[23]以不同浓度黄连素(10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)干预以上离体细胞,结果示浓度高(40、80 $\mu\text{mol/L}$)的黄连素干预组的 1 小时高浓度葡萄糖刺激的胰岛素(HGSIR)高于单纯 STZ 组但均明显低于正常对照组,且呈剂量依赖性:浓度越高,预防和拮抗链脲菌素所致胰岛 β 细胞损伤的作用显著。

以不同浓度的黄连素(1、3、10 和 30 $\mu\text{mol/L}$)干预离体胰岛细胞,黄连素浓度依赖性增强葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[24],浓度越高,作用越明显。

2.5 黄连素作用于肠道细胞的量效关系

肠道葡萄糖的吸收对调节血糖具有重要作用,Caco-2 细胞模型可用来研究黄连素对二糖水解的影响。潘国宇^[25]以不同浓度黄连素(0.02、0.2、2、20 mg/L)干预以上模型 40 分钟,黄连素对蔗糖的抑制作用存在量效关系,对麦芽糖的抑制作用虽然显著,但是量效关系不明显。在体肠灌流模型研究表明,50 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素,在肠道内几乎不吸收(2.5 小时吸收量小于 5%)^[25];黄连素的降血糖作用可能并不是在它吸收之后产生的,而是象阿卡波糖等 $\alpha 2$ 糖苷酶抑制剂一样在肠道发挥作用:黄连素降血糖机制可能主要是通过抑制蔗糖酶、麦芽糖酶等二糖酶活力,减少葡萄糖吸收,降低餐后高血糖的产生。有研究考虑其吸收过低、剂量过高(有的达 3 g/天)的局限性,而对 BBR 结构进行修饰,发现其 8 位羟基取代化合物(BBRH)对 2 型糖尿病模型大鼠疗效均显著优于 BBR 组,且剂量较 BBR 低 1 个数量级^[26]。此外,NCI-H716 系肠内分泌细胞株^[27],常用来研究 GLP-1 分泌的调节。研究黄连素 0、1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 预处理,浓度依赖性刺激 GLP-1 释放[从基础的(0.34 \pm 0.02) pM/mg 到 100 $\mu\text{mol/L}$ 的(0.51 \pm 0.03) pM/mg]^[28]。

2.6 黄连素作用与不同细胞模型的量一效一毒关系分析

不同的模型细胞,黄连素发挥细胞毒性作用的浓度也不同。肝细胞系 HepG2 出现毒性的黄连素浓度较低($\geq 3 \mu\text{mol/L}$),说明黄连素降糖的同时,也具有肝毒性,可能是造成其浓度在 5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 时没有量效关系的原因。对脂肪细胞系 3T3-L1,黄连素的细胞抑制作用的浓度在 10 到 50 $\mu\text{mol/L}$ 之间。而对胰岛细胞系 βTC3 的细胞毒性作用的浓度更

低,为 1.0 $\mu\text{mol/L}$,但是临床不仅未见黄连素的毒性报道,而且有研究显示黄连素对肝源性的糖尿病具有肝保护作用,可能与黄连素的体内变化有关,如黄连素血药浓度低或转化为其他物质等^[29];也可能是黄连素在不同的器官分布的浓度不同所致。

3 讨论

综观以上黄连素降糖的量效关系研究,得出以下结论:(1)黄连素的治疗窗:黄连素给药剂量大 40 mg/kg 具有明显降糖作用,且剂量在 40 ~ 200 mg/kg 之间存在量效关系;适合中等浓度的血糖(11.0 mmol/L);在高糖浓度(大于 22.0 mmol/L)血糖中,黄连素没有降糖作用。(2)黄连素的量毒关系:随着黄连素浓度的增大,出现明显的肝毒性,对脂肪细胞也具有抑制作用。(3)黄连素的吸收:黄连素的降血糖作用可能并不仅在其吸收入血之后产生,而可能早在肠道发挥作用。

参 考 文 献

- [1] Wang Y, Campbell T, Perry B, et al. Hypoglycemic and insulin-sensitizing effects of berberine in high-fat diet- and streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Metabolism*, 2011, 60(2): 298-305.
- [2] Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Metabolism*, 2008, 57(5): 712-717.
- [3] Ko BS, Choi SB, Park SK, et al. Insulin sensitizing and insulinotropic action of berberine from *Cordis rhizoma*[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(8): 1431-1437.
- [4] Turner N, Li JY, 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(5): 1414-1418.
- [5] Leng SH, Lu FE, Xu LJ. Therapeutic effects of berberine in impaired glucose tolerance rats and its influence on insulin secretion[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(4): 496-502.
- [6] 熊程亿, 施绪保, 代宗顺, 等. $\sim 3\text{H}$ -小檗碱在家兔及小鼠体内的药代动力学研究[J]. *中国药理学通报*, 1989, 5(5): 293-296.
- [7] 陈其明, 谢明智. 黄连及小檗碱降血糖作用的研究[J]. *药学报*, 1986, (6): 401-406.
- [8] 张彦, 陈靖, 王超凡. 小檗碱降血糖作用的实验研究[J]. *中国民族民间医药*, 2008, 17(12): 24-26.
- [9] 李应霞, 成小蔓, 何海霞. 黄连小檗碱对大鼠糖尿病模型中血糖的影响[J]. *医学研究杂志*, 2007, 36(11): 70-71.
- [10] 陈远航, 邓诗清, 黄小玲. 黄连素的降血糖药效学试验与临床观察[J]. *中国实用医药*, 2006, 1(1): 23-25.
- [11] Chueh WH, Lin JY. Berberine, an isoquinoline alkaloid in herbal plants, protects pancreatic islets and serum lipids in nonobese diabetic mice[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(14): 8021-8027.
- [12] Kong WJ, Zhang H, Song DQ, et al. Berberine reduces insulin

- resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression [J]. *Metabolism*, 2009, 58 (1): 109-119.
- [13] 吕秋菊, 曹淑强, 蒲强红. 黄连素对糖尿病大鼠分泌 GLP-1 的影响[J]. *内江科技*, 2010, 31(12): 64.
- [14] 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): 70-71.
- [15] 殷峻, 胡仁明, 陈名道, 等. 小檗碱、齐墩果酸和大蒜新素对糖代谢作用的体外研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2003, 26(2): 36-38.
- [16] 常伟, 周岐新, 杨俊霞. Ber 对肝 HepG2 细胞 Insig-2 和 VDR 基因表达的影响[J]. *中成药*, 2008, 30(7): 965-968.
- [17] Ge Y, Zhang Y, Li R, et al. Berberine regulated Gck, G6pc, Pck1 and Srebp-1c expression and activated AMP-activated protein kinase in primary rat hepatocytes [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(5): 673-684.
- [18] 周丽斌, 杨颖, 唐金凤, 等. 小檗碱对脂肪细胞糖代谢的影响[J]. *上海第二医科大学学报*, 2002, 22(5): 412-414.
- [19] Zhou L, Yang Y, Wang X, et al. Berberine stimulates glucose transport through a mechanism distinct from insulin [J]. *Metabolism*, 2007, 56(3): 405-412.
- [20] 郭晓农. 小檗碱对 3T3-L1 脂肪细胞增殖及糖代谢的影响[J]. *中药材*, 2011, 34(4): 602-604.
- [21] Chen Y, Li Y, Wang Y, et al. Berberine improves free-fatty-acid-induced insulin resistance in L6 myotubes through inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor gamma and fatty acid transferase expressions [J]. *Metabolism*, 2009, 58 (12): 1694-1702.
- [22] 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]. *Metabolism*, 2010, 59(11): 1619-1627.
- [23] 李素迎, 姚运伟, 伍忍, 等. 盐酸小檗碱对链脲霉素致大鼠胰岛 B 细胞损伤的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2002, 12(18): 6-7, 10.
- [24] Wang ZQ, Lu FE, Leng SH, et al. Facilitating effects of berberine on rat pancreatic islets through modulating hepatic nuclear factor 4 alpha expression and glucokinase activity [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(39): 6004-6011.
- [25] 潘国宇, 王广基, 孙建国, 等. 小檗碱对葡萄糖吸收的抑制作用[J]. *药学报*, 2003, 38(12): 911-914.
- [26] 董苏. 小檗碱及其结构修饰物的在体肠吸收特性及对小肠糖分吸收影响的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2009.
- [27] Reimer RA, Darimont C, Gremlich S, et al. A human cellular model for studying the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(10): 4522-4528.
- [28] Yu Y, Liu L, Wang X, et al. Modulation of glucagon-like peptide-1 release by berberine: in vivo and in vitro studies [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79(7): 1000-1006.
- [29] Domitrović R, Jakovac H, Blagojević G. Hepatoprotective activity of berberine is mediated by inhibition of TNF-alpha, COX-2, and iNOS expression in CCl(4)-intoxicated mice [J]. *Toxicology*, 2011, 280(1-2): 33-43.

(收稿日期: 2012-04-08)

(本文编辑: 刘群)