

美亚通复合植物茶促 NO 生成及其降糖作用*

陈世坚^{1,2}, 刘志军^{1,2}, 陈河如¹

- 暨南大学药学院, 广东 广州 510632
- 广州药本君安生物技术有限公司, 广东 广州 510663

摘要: 为探讨美亚通复合植物茶(YCHT)的促 NO 生成及降糖作用。选取 H9C2、PC-12 细胞、HUVEC 细胞, 加入不同质量浓度的 YCHT 孵育 24 h 后, 检测各质量浓度 YCHT 对 3 种细胞的存活率以及细胞内外 NO 的含量; 在正常大鼠体内给予 YCHT 后, 观察其对正常动物空腹血糖的影响; 以链脲佐菌素诱导 SD 大鼠建立糖尿病大鼠模型, 分析各组动物的空腹血糖值; 通过建立高糖果蝇模型, 以体质量、海藻糖为检测指标, 观察 YCHT 对高糖果蝇的影响。结果显示, YCHT 作用于 H9C2、PC-12、HUVEC 细胞 24 h 后存活率为 80% 以上的质量浓度分别为 3.12、1.56 和 3.12 mg/mL; YCHT 在 3.5 mg/mL 的质量浓度下分别作用于 H9C2 和 HUVEC 细胞 24 h, 或 1.5 mg/mL 的质量浓度下作用于 PC-12 细胞, 细胞上清液与细胞裂解液中的 NO 含量均显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 在每 kg 体质量 5.1 g 剂量下, 正常 SD 大鼠的初始体质量、初始空腹血糖值、实验终期的体质量、空腹血糖值与空白对照组相比, 无显著差异 ($P > 0.05$); 在低剂量受试组 (每 kg 体质量 0.85 g 剂量) 中, 实验终期的空腹血糖值显著降低 ($P < 0.05$); 同时, $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=5\%$ 受试组还降低了高糖果蝇体质量及海藻糖水平 ($P < 0.05$)。结果表明, YCHT 在适当质量浓度下不影响 H9C2、PC-12、HUVEC 细胞的存活率, 并能促进 H9C2、PC-12、HUVEC 细胞增加 NO 的生成; 每 kg 体质量 5.1 g 剂量的 YCHT 对正常 SD 大鼠的体质量及空腹血糖值没有影响; 合适剂量的 YCHT 能逆转高糖 SD 大鼠空腹血糖值的升高, 以及逆转高糖果蝇体质量和海藻糖水平的增加。

关键词: 美亚通复合植物茶; 药食同源; 糖尿病; 降糖作用; NO; 糖尿病预防

中图分类号: R961 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137(2023)04-0065-08

NO production improvement and anti-diabetic effects of YouthyCome composite herbal tea

CHEN Shijian^{1,2}, LIU Zhijun^{1,2}, CHEN Heru¹

- College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China
- Guangzhou PharmCherub Biological Technique Co., Guangzhou 510663, China

Abstract: To investigate both NO production improvement and anti-diabetic effects of YouthyCome composite herbal tea (YCHT), in this study, H9C2 cells, PC-12 cells and HUVEC cells were selected and incubated with different concentrations of YCHT for 24 hours, respectively. Cell survival and the content of nitric oxide (NO) inside and outside the cells were detected. After administration of YCHT to normal rats, the effect on fasting blood glucose was observed. The diabetic SD rats was set up by inducing with streptozotocin. The blood glucose value and the percentage of blood glucose decrease

* 收稿日期: 2022-09-19 录用日期: 2022-12-24 网络首发日期: 2023-04-10

基金项目: 广东省自然科学基金 (2021A1515011238; 2020A1515010857)

作者简介: 陈世坚 (1995 年生), 男; 研究方向: 药理学; E-mail: shijian.chen@yinzhuopharma.com

通信作者: 陈河如 (1967 年生), 男; 研究方向: 新药设计合成及作用机制、天然产物结构修饰;
E-mail: thrchen@jnu.edu.cn

in each group were analyzed. By establishing high glucose drosophila model, the anti-diabetic effect of YCHT was further evaluated using body mass and trehalose level as indicators. The results showed that after treated with YCHT at a mass concentration up to 3.12, 1.56 and 3.12 mg/mL corresponding to H9C2, PC-12, and HUVEC cells for 24 hours, respectively, their survival rates still maintained above 80%. It was found that after H9C2 and HUVEC cells were treated with 3.5 mg/mL YCHT, respectively for 24 hours, as well as PC-12 cells were treated with 1.5 mg/mL YCHT for 24 hours, the contents of NO in both cell supernatant and cell lysate increased significantly ($P < 0.05$). Compared the indicators including initial body mass, initial fasting blood glucose level, final experimental body mass and fasting blood glucose level, there was no significant difference between normal SD rat treated with 5.1 g/kg BW YCHT group and blank control group ($P > 0.05$). In the low dose group (0.85 g/kg BW), the value of fasting blood glucose decreased significantly at the end of the experiment ($P < 0.05$). In the meantime, treatment of YCHT amount to 5% culture mass decreased the body mass and trehalose content of high glucose drosophila melanogaster ($P < 0.05$). The results indicate that appropriate dosage of YCHT does not affect the survival of H9C2, PC-12, HUVEC cells, but improves the NO production in the cells. Treatment of YCHT at the dose of 5.1 g/kg BW to normal SD rats does not affect their body mass and fasting blood glucose. However, treatment of appropriate dose of YCHT reverses the increase of fasting blood glucose in diabetic SD rats, and the increases of body mass and trehalose content in diabetic drosophila.

Key words: YouthyCome composite herbal tea; homology of medicine and food; diabetes mellitus; anti-diabetics; NO; diabetics prevention

糖尿病是一种以高血糖为特征的、胰岛素分泌缺陷或受损造成的代谢性疾病,主要分为1型糖尿病、2型糖尿病、特殊类型糖尿病和妊娠期糖尿病4大类型,常见的为1型和2型糖尿病。长期高血糖会引起血管内皮、心血管、眼、肾脏、神经系统的损伤,导致各种并发症,给患者带来极大的痛苦甚至危及生命(Petersmann et al., 2019; Cloete, 2022)。目前,临床治疗糖尿病的药物虽能较好地控制空腹血糖水平,但无法控制餐后血糖水平的升高且生物利用度低。此外,长期服用还会导致消化道不良反应和肝、肾损害。

中医历来有药食同源的理念,认为药和食殊途同归,二者均可用以防治疾病。这个观点早见于《黄帝内经》,其认为“谷肉果菜、食养尽之,无使过之,伤其正也”(山东中医学院, 2009)⁸¹⁵⁻⁸¹⁶,许多药膳方也见诸中药典籍记载中,流传民间,产生深远影响。现代药食同源理论在继承基础上进一步发展,开拓出食养、食疗、药膳等主要应用形式,达到养生保健功效,以食代药预防治疗,作用人群更为广泛(朱建平, 2015)。

众所周知,全球糖尿病患者人数增长迅猛,预计至2045年,将高达7亿(International Diabetes Federation, 2019),这无疑给包括我国在内的国际

社会带来严重的健康挑战。鉴于药食同源的植物具有高效、低毒、多靶点作用的优势,利用中医的理论和实践,研发功能性保健食品用于辅助防治糖尿病,将有可能发挥独特的降糖作用(Luo et al., 2016; Mu et al., 2020)。

美亚通复合植物茶(YCHT, YouthyCome composite herbal tea)于2018年开始面市,是一款以药食同源理念研发而成的、用于预防和干预糖尿病的食品。它以普洱茶、青钱柳叶、栀子等具有降糖降脂作用的药食两用材料为原料(Xie et al., 2013; Fu et al., 2017; Meng et al., 2019),萃取其天然植物精华,辅以人体必需氨基酸复合配制而成。本研究以YCHT为研究对象,通过建立体内与体外实验模型,观察并评价其促NO生成作用及降糖作用,初步阐明其作用机制,为YCHT作为预防和干预糖尿病的新型食品提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株与实验动物 H9C2大鼠心肌细胞、PC-12大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞,购自中科院上海细胞库;HUVEC人脐静脉内皮细胞,购自北纳生物细胞库(中国北京);SPF级雄性SD大鼠54

只, 体质量(180 ± 20) g, 由北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2014-0004]提供, 所有大鼠于广州质量监督检测研究院SPF级大鼠设施饲养[SCXK(粤)2018-0137], 饲养期间动物自由采食饮水, 实验室温度范围: $20 \sim 26$ °C, 相对湿度范围: $40\% \sim 70\%$; 黑腹果蝇, 由广东省实验动物监测所提供。

实验动物伦理批号: 暨南大学实验动物伦理委员会(No. 20, 141, 112, 017)。

1.1.2 主要试剂与仪器 YCHT(批号:A0000003), 生产日期2021-03-03, 有效期18个月, 由广州药本君安生物技术有限公司提供; 胎牛血清、DMEM培养基、RPMI 1640培养基, 购自美国Gibco公司; CM15-1培养液, 购自北纳生物(中国北京); CCK-8试剂盒, 购自同仁化学研究所(日本九州); NO检测试剂盒、细胞与组织裂解液(NO检测用), 购自碧云天生物技术有限公司(中国上海); 链脲佐菌素、柠檬酸、柠檬酸钠、乳酸试剂、葡萄糖, 均购自美国Sigma公司; 海藻糖含量测定试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所(中国南京); 果蝇普通培养基、 $w(\text{葡萄糖})=20\%$ 的高糖培养基, 来自本实验室自制。

VARIOSKAN LUX多功能酶标仪(美国赛默飞); QUINTIX513电子天平(德国赛多利斯); SBB Aqua 12 Plus沸水浴槽(英国Grant公司); AxioVert A1倒置相差显微镜(德国ZEISS公司); Scepter 2.0全自动细胞计数仪(德国Millipore公司); CO₂培养箱(美国SHEL LAB公司); 血糖乳酸分析仪(德国EKF公司); YHDAM果蝇节律温控箱(中国武汉一鸿科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 H9C2细胞用含 $\varphi=10\%$ FBS的DMEM培养基、PC-12细胞用含 $\varphi=10\%$ FBS的RPMI-1640培养基、HUVEC细胞用CMI5-1完全培养液于 37 °C、 $\varphi=5\%$ CO₂的培养箱内培养。

1.2.2 细胞存活率测定 将传代2次的细胞用 $w=0.25\%$ Trypsin-EDTA消化, 吹打混匀后用全自动细胞计数仪计数, 根据实测细胞密度, 加入适量完全培养基配制成 1×10^5 个/mL的细胞悬液备用。

将细胞悬液接种于96孔细胞培养板, 设空白对照组和6个不同质量浓度的受试组(25、12.5、6.25、3.12、1.56和0.78 mg/mL), 每组设6个平行孔, 每孔接种100 μ L细胞悬液, 置 $\varphi=5\%$ CO₂培养

箱, 37 °C下培养24 h。培养24 h后, 空白对照组加入100 μ L新鲜完全培养基, 受试组加入100 μ L $2 \times$ 受试质量浓度的受试液。继续培养24 h后, 用CCK-8试剂盒测定细胞存活率。

1.2.3 细胞内外NO浓度的检测 参照Dimmeler et al.(1999)方法, 实验分为空白对照组和3个受试组, 受试组分别为高、中、低剂量组(高剂量组细胞存活率 $> 80\%$), 每个浓度设6个平行孔。收集生长良好的细胞, 用细胞计数仪计数, 以 1×10^5 个/mL的细胞密度接种于96孔板中, 每孔100 μ L。待细胞贴壁生长良好时, 弃掉原培养基, 空白对照组加入完全培养基, 受试组分别加入相应质量浓度的受试液, 分别培养4、24 h。作用H9C2、HUVEC细胞的受试物高、中、低剂量组的质量浓度分别为3.5、1.75、0.88 mg/mL, 作用于PC-12细胞的受试物高、中、低剂量组的质量浓度分别为1.5、0.75、0.38 mg/mL。

分别培养4、24 h后, 收集96孔板每孔细胞培养上清液50 μ L。之后, 去上清, 用PBS清洗一遍, 每孔加入100 μ L的细胞裂解液, 吹打数次后, 10 000 r/min(离心半径为7 cm)离心5 min, 取上清液50 μ L即得细胞裂解液(裂解细胞在冰上操作)。参照NO检测试剂盒提供的说明书进行操作, 于540 nm测定吸光值, 检测各组细胞培养基上清液和细胞裂解液中NO的含量。

1.3 动物实验

1.3.1 高糖黑腹果蝇体质量及海藻糖检测 参照Zhu et al.(2021)方法, 设正常对照组、模型组、阳性对照组和药物组。将三日龄雄性果蝇随机分组培养, 其中正常对照组果蝇使用普通的果蝇培养基, 其他果蝇使用 $w(\text{葡萄糖})=20\%$ 的高糖培养基孵育7 d后, 再随机分为模型组、阳性对照组、YCHT低剂量组[$m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=1\%$]、YCHT中剂量组[$m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=3\%$]、YCHT高剂量组[$m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=5\%$], 分别给药1周后测定每只果蝇的体质量以及按试剂盒方法测定海藻糖的含量。其中阳性对照组是在普通培养基中加入二甲双胍[$m(\text{二甲双胍}):m(\text{培养基})=0.1\%$]。

1.3.2 正常动物灌服YCHT实验 SD大鼠在实验室条件下适应3 d, 随机取18只动物禁食不禁水4 h, 测定禁食后的空腹血糖值, 并作为动物基础血糖值, 随后根据血糖值随机分成空白对照组和

正常动物高剂量组, 每组 9 只, 正常动物高剂量组每日经口灌胃给予高剂量组受试物(每 kg 体质量 5.1 g 剂量), 空白对照组灌胃给予同等容量纯净水, 连续 30 d。实验结束时动物禁食 4 h 后测定空腹血糖值, 比较两组动物血糖值, 观察受试样品对正常动物空腹血糖的影响。

1.3.3 胰岛损伤高血糖模型造模方法 参照段寅慧(2014)方法, 将剩余的 36 只 SD 大鼠禁食 24 h, 按空腹体质量一次性腹腔注射链脲佐菌素的剂量为每 kg 体质量 55 mg, 注射剂量为每 100 g 体质量 0.55 mL, 注射后连续饲养 14 d。造模结束后禁食不禁水 4 h 后采集大鼠尾静脉血测定空腹血糖值, 血糖值为 10~25 mmol/L 为高血糖模型成功动物, 用于高血糖模型动物降血糖实验。

1.3.4 高血糖模型动物降糖实验 将造模成功的 36 只大鼠按空腹血糖值随机分为模型对照组、低剂量组(每 kg 体质量 0.85 g)、中剂量组(每 kg 体质量 1.7 g)和高剂量组(每 kg 体质量 5.1 g), 开始给

予相应剂量的受试物, 连续灌胃 30 d, 测定空腹血糖值(禁食同前实验)。

1.3.5 图像和统计学处理 实验数据用 SPSS 13.0 进行统计学分析, 图像用 GraphPad Prism 6 软件进行分析, 采用因素方差分析的统计学方法, 实验结果采用均数±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 组间比较采用 *t* 检验进行比较。* $P < 0.05$ 为差异显著, ** $P < 0.01$ 为差异较显著, *** $P < 0.001$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 细胞实验

2.1.1 不同剂量 YCHT 对不同种类细胞存活率的影响 YCHT 作用于 H9C2、PC-12、HUVEC 细胞 24 h 后存活率结果分别见图 1a~c。结果显示, YCHT 作用于 H9C2、PC-12、HUVEC 细胞 24 h 后存活率为 80% 以上的质量浓度分别为 3.12、1.56 和 3.12 mg/mL。

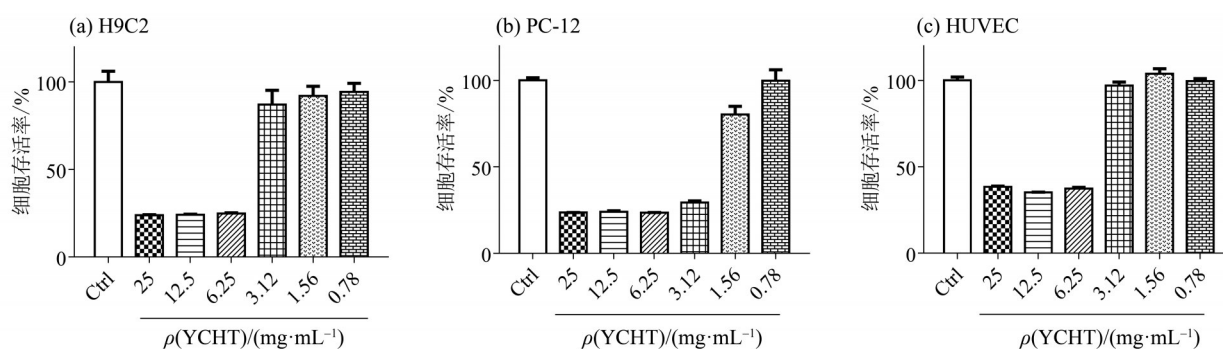


图1 YCHT作用于H9C2、PC-12、HUVEC细胞24 h后的存活率($\bar{x} \pm SD$, $n=6$)

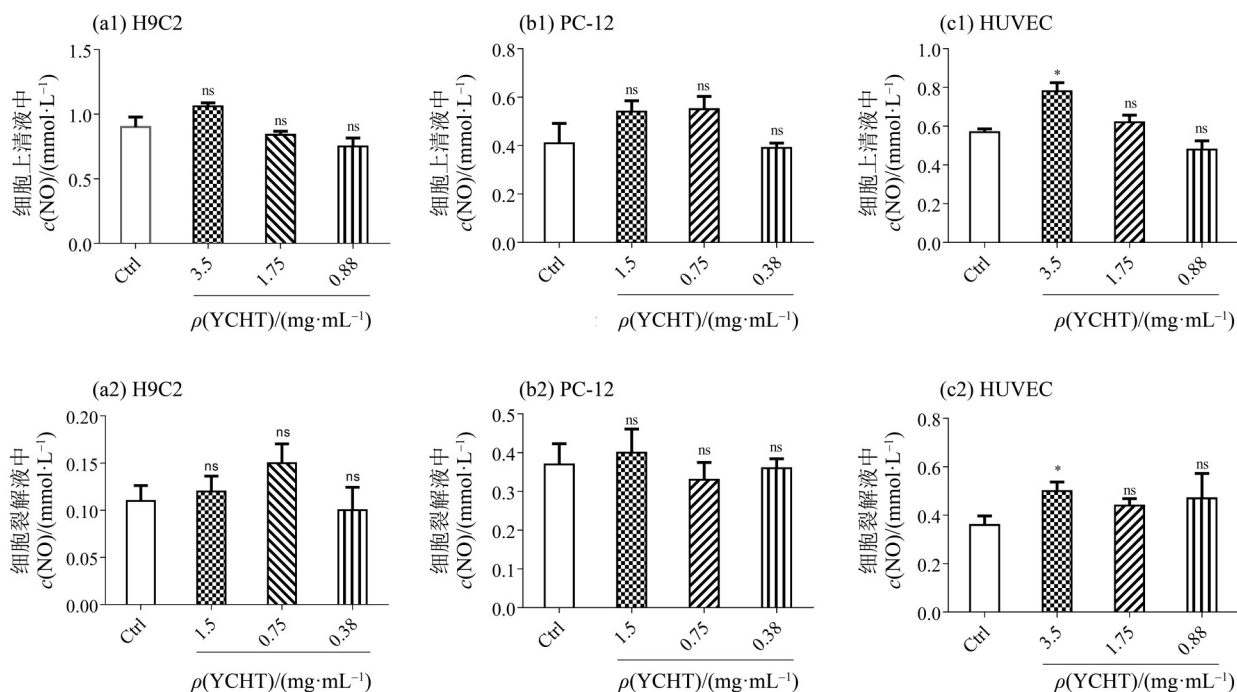
Fig. 1 Survival rate of H9C2, PC-12 and HUVEC cells after treated with YouthyCome composite herbal tea for 24 h ($\bar{x} \pm SD$, $n=6$)

2.1.2 不同剂量 YCHT 对不同种类细胞内外 NO 浓度的影响 检测了不同剂量 YCHT 对不同种类细胞内外 NO 浓度的影响, 结果如图 2 所示。研究发现, 对于 H9C2 细胞, 与 3.5 mg/mL YCHT 孵育 24 h 后, 细胞上清液与细胞裂解液中的 NO 含量显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 2a1~a2); 对于 PC-12 细胞中, 与 1.5 mg/mL YCHT 孵育 24 h 后, 细胞上清液与细胞裂解液中的 NO 含量显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 2b1~b2); 从图 2c1~c2 可以, 3.5 mg/mL YCHT 与 HUVEC 细胞孵育 24 h 后, 与空白对照组相比, 细胞上清液与细胞裂解液中的 NO 含量显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 揭示 YCHT 在合适质量浓度下具有促进 H9C2、PC-12 和 HUVEC 细胞

增加 NO 生成的作用。

2.2 动物实验

2.2.1 YCHT 对高糖黑腹果蝇体质量及海藻糖含量的影响 如图 3a~b 所示, 黑腹果蝇在 $w(\text{葡萄糖})=20\%$ 的培养基喂养后, 其体质量及体内海藻糖含量均升高。阳性药物二甲双胍 [$m(\text{二甲双胍}):m(\text{培养基})=0.1\%$] 显著降低高糖黑腹果蝇的体质量及体内海藻糖含量 ($P < 0.01$)。图 3a 显示, $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=3\%$ 受试组与 $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=5\%$ 受试组能明显降低黑腹果蝇的体质量 ($P < 0.05$), 与阳性药物组相比, $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=5\%$ 受试组对体质量的调控作用略好, 或至少相当于阳性药物组; 而 $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=1\%$ 受试组对高糖果蝇体质量的调控作用差异



Ctrl: 空白对照组; 与空白对照组相比, * $P < 0.05$; ns: $P > 0.05$ 。

图2 YCHT 作用于H9C2、PC-12、HUVEC 细胞24 h后细胞内外NO的浓度 ($\bar{x} \pm SD$, $n=6$)

Fig. 2 Extracellular and intracellular NO Concentration of H9C2, PC-12 and HUVEC cells after treated with YouthyCome composite herbal tea for 24 hours, respectively ($\bar{x} \pm SD$, $n=6$)

无统计学意义($P > 0.05$)。图3b揭示, $m(\text{YCHT})$: $m(\text{培养基})$ 为1%、3%、5%时, 均能够显著减少高糖黑腹果蝇的海藻糖含量($P < 0.05$), 且有剂量依赖性; 与阳性药物组相比, YCHT在高剂量时与二甲双胍的降糖作用相当。

2.2.2 YCHT对正常大鼠体质量和血糖值的影响 图4a~b显示了YCHT对正常大鼠体质量和血糖值的影响。可以看到, 正常SD大鼠按每kg体质量5.1 g的YCHT高剂量灌胃, 大鼠的初始体质量、初始空腹血糖值、实验终期的体质量、空腹血糖值与空白对照组(灌胃同等剂量纯净水)相比, 无显著性差异($P > 0.05$)。表明YCHT对正常大鼠的体质量和空腹血糖指标无明显影响。

2.2.3 YCHT对高血糖大鼠体质量和空腹血糖的影响 图5a~b显示了YCHT对高血糖大鼠体质量和血糖值的影响。可以看到, 模型对照组大鼠的空腹血糖值大于10 mmol/L, 说明高血糖SD大鼠模型建立成功。各个受试剂量组实验终期体质量与模型对照组相比, 无明显降低($P > 0.05$)。在低剂量(每kg体质量0.85 g)受试组中, 实验终期空腹血糖值与模型对照组相比, 有明显降低, 且具有统计学差异($P < 0.05$), 而中、高剂量受试组的空腹

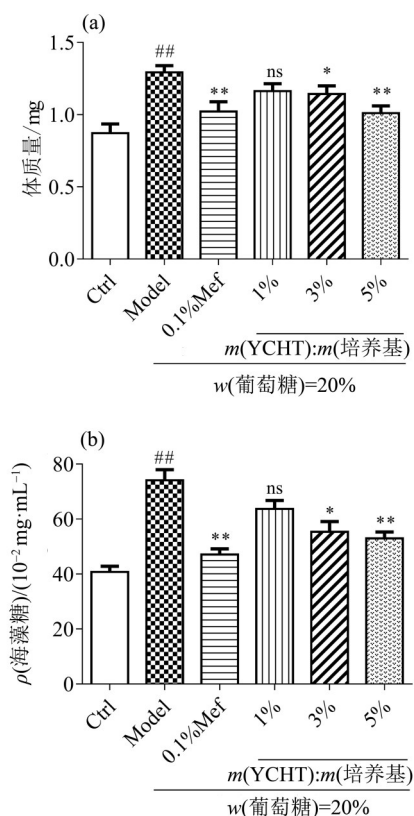
血糖值与模型对照组相比, 无显著差异($P > 0.05$)。表明低剂量(每kg体质量0.85 g)YCHT能显著降低高血糖大鼠的空腹血糖。

3 讨论

3.1 YCHT促进心肌细胞、神经细胞和内皮细胞增加NO的生成

YCHT是由药食两用材料青钱柳叶、栀子和普洱茶的水提取物与复合氨基酸粉复配而成的固体饮料。从成分来看, YCHT估计具有降糖和促进心血管微循环的作用。本研究首先选取大鼠心肌细胞H9C2、鼠嗜铬细胞瘤细胞PC-12和人脐静脉内皮细胞HUVEC作为心肌细胞、神经细胞和内皮细胞的代表, 考查YCHT与这些细胞的相互作用。实验结果显示, H9C2和HUVEC两种细胞能耐受较高质量浓度的YCHT, 在3.12 mg/mL剂量下, 细胞存活率大于80%; 相比而言, PC-12细胞能耐受的YCHT质量浓度要低一些, 在1.56 mg/mL的剂量下, 细胞存活率大于80%, 这可能跟PC-12细胞具有部分神经细胞特征有关。

更进一步地, 本研究揭示, 在3.5 mg/mL的条件下, YCHT能够促进H9C2和HUVEC细胞增加



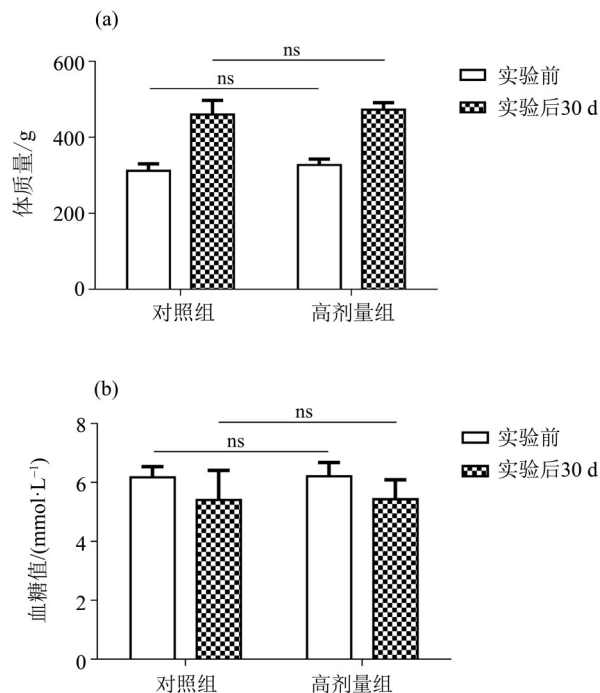
Ctrl:空白对照组;Model:模型对照组;Mef:二甲双胍,阳性对照组;与空白对照组相比,## $P<0.01$;与模型对照组相比,* $P<0.05$;** $P<0.01$;ns: $P>0.05$ 。

图3 YCHT对高糖黑腹果蝇体质量(a)及海藻糖水平(b)的影响($\bar{x} \pm SD$, $n=15$)

Fig. 3 Effects of YCHT on body mass (a) and trehalose level (b) of drosophila melanogaster with high glucose ($\bar{x} \pm SD$, $n=15$)

NO的生成;相比而言,在较低质量浓度,即1.5 mg/mL的条件下,YCHT能够促进PC-12细胞增加NO的生成。即是,合适质量浓度的YCHT能够促进心肌细胞、神经细胞和内皮细胞增加NO生成。

上述的实验结果有相当积极意义。有很多研究报道,糖尿病及其并发症与高血糖引起的代谢紊乱有关(Lundberg et al., 2018; Das, 2019; Vallon et al., 2020; Khemais-Benkhiat et al., 2020),而高血糖与组织细胞中NO的合成和释放有密切关系,这一点一直以来都是糖尿病防治研究的热点之一(Rogacka et al., 2021)。大量证据表明,NO合成减少以及NO的失活都会加快糖尿病的发病进程(Xie et al., 2013; Eulhaq et al., 2021)。糖尿病患者晚期常伴随的血管病变、神经病变、视网膜病变都与NO水平的变化密切相关(Natarajan et al., 2019; Yarube et al., 2019)。YCHT能够促进心肌细胞、神经细胞和内皮细胞增加NO生成,说明YCHT具



高剂量组: 5.1 g/kg; 与对照组相比, ns: $P>0.05$ 。

图4 YCHT对正常大鼠体质量(a)和血糖值(b)的影响($\bar{x} \pm SD$, $n=9$)

Fig. 4 Effects of YCHT on body mass (a) and blood glucose value (b) of normal rats ($\bar{x} \pm SD$, $n=9$)

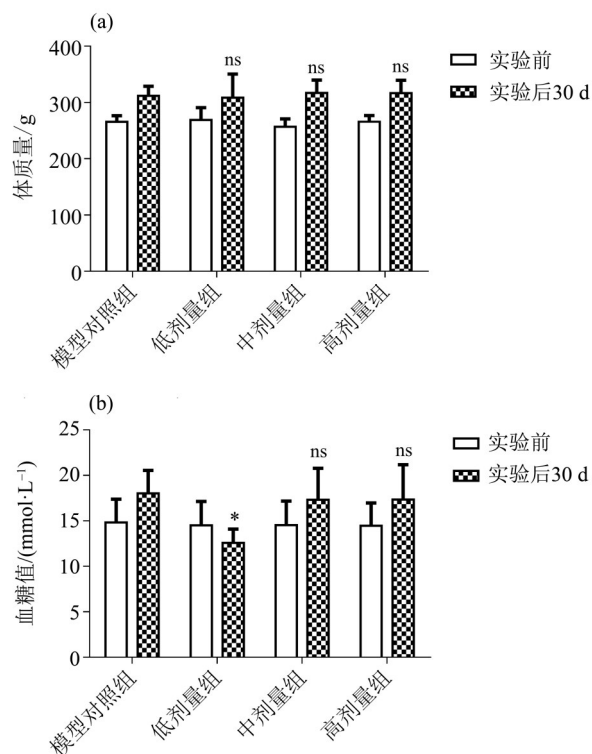
有预防和干预糖尿病及其并发症的潜在可能性。

YCHT成分包含有栀子,有文献报道,栀子能够激活NO合成酶(NOS),从而增加NO的生成(Luo et al., 2012; Shi et al., 2014);而该产品还添加了复合氨基酸粉,其中含有丰富的L-精氨酸,众所周知,L-精氨酸是NO的合成底物之一,L-精氨酸浓度的增加可使机体内NO的合成增加,从而促进NO的释放,以此延缓糖尿病引起的血管病变的产生(Ignarro, 1990; Yamagishi et al., 2011)。

3.2 YCHT具有辅助降糖作用

YCHT的降糖作用在高糖果蝇和高糖SD大鼠的实验中得到证实。在高糖果蝇实验中,我们发现, $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=3\%$ 受试组与 $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=5\%$ 受试组均能逆转高糖引起的果蝇体质量及体内海藻糖含量的增加,其效果与阳性药物二甲双胍对照组所表现出来的降糖作用趋势一致;本研究还发现, $m(\text{YCHT}):m(\text{培养基})=5\%$ 受试组的降糖效果略优于或相当于阳性药物二甲双胍对照组。

进一步地,通过对高糖SD大鼠体质量和空腹血糖指标的观察发现,剂量为0.85 g/kg的YCHT



低剂量组: 0.85 g/kg; 中剂量组: 1.7 g/kg; 高剂量组: 5.1 g/kg; 与模型对照组相比, * $P < 0.05$; ns: $P > 0.05$ 。

图5 YCHT对高血糖模型大鼠体质量(a)和空腹血糖(b)的影响 ($\bar{x} \pm SD$, $n=9$)

Fig. 5 Effects of YCHT on body mass (a) and fasting blood glucose (b) in hyperglycemia rats ($\bar{x} \pm SD$, $n=9$)

参考文献:

- 段寅慧, 2014. 清化瘀热方对果蝇2型糖尿病模型糖脂代谢的影响[D]. 南京: 南京中医药大学.
- 李红专, 高洁, 韩冰冰, 等, 2014. 中药栀子对大鼠血糖水平、胰岛功能及结构的影响[J]. 山东医药, 54(6): 11-13.
- 山东中医学院, 2009. 黄帝内经素问校释[M]. 北京: 人民卫生出版社: 815-816.
- 苏静静, 王雪青, 宋文军, 等, 2014. 普洱茶对小鼠血糖的干预作用[J]. 食品科学, 35(9): 260-263.
- 易醒, 谢明勇, 温辉梁, 等, 2001. 青钱柳对四氧嘧啶糖尿病小鼠降血糖作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 13(3): 52-54, 57.
- 朱建平, 邓文祥, 吴彬才, 等, 2015. “药食同源”源流探讨[J]. 湖南中医药大学学报, 35(12): 27-30.
- CLOETE L, 2022. Diabetes mellitus: An overview of the types, symptoms, complications and management [J]. Nurs Stand, 37(1): 61-66.
- DAS U N, 2019. Vitamin C for type 2 diabetes mellitus and hypertension[J]. Arch Med Res, 50(2): 11-14.

能够降低高糖SD大鼠的空腹血糖值, 但对大鼠的体质量没有影响。一般而言, 糖尿病患者有“三多一少”的特征, 即多饮、多尿、多食、体质量减少。在高糖SD大鼠实验中, 我们没有发现高糖SD大鼠有体质量减少的现象, 可能的原因是影响体质量的因素较多, 除了高血糖外, 还与动物进食量、动物活动状态有关; 而且实验期限只有1个月, 体质量指标的变化可能不够显著。

YCHT具有降糖作用, 一方面跟它能促进心肌细胞、神经细胞、内皮质细胞增加NO的生成有关; 另一方面跟它里面所含有的降糖活性成分有关。据文献报道, 青钱柳(易醒等, 2001)、栀子(李红专等, 2014)和普洱茶(苏静静等, 2014)均具有降糖作用。

综上, 本研究通过细胞实验和动物实验证实, YCHT能够促进心肌细胞、神经细胞以及血管内皮细胞增加NO的合成, 从而对糖尿病及其并发症起到干预和预防的作用; 合适剂量的YCHT能够逆转高糖黑腹果蝇的体质量以及体内海藻糖含量的增加, 其下降趋势与阳性对照药二甲双胍一致。每kg体质量的剂量为0.85 g的YCHT能够降低高糖SD大鼠的空腹血糖值, 进一步证明YCHT具有降糖作用。本研究为YCHT作为干预和预防糖尿病及其并发症的一种辅助食品提供科学依据。

- DIMMELER S, ZEIHNER A M, 1999. Nitric oxide—An endothelial cell survival factor[J]. Cell Death Differ, 6(10): 964-968.
- E UL HAQ M, AKASH M S H, REHMAN K, et al, 2021. Essential oils downregulate pro-inflammatory cytokines and nitric oxide-mediated oxidative stress in alloxan-induced diabetogenic rats [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 21(4): 756-767.
- FU Q Y, LI Q S, LIN X M, et al, 2017. Antidiabetic effects of tea[J]. Molecules, 22(5): 849.
- IGNARRO L J, 1990. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication [J]. Hypertension, 16(5): 477-483.
- International Diabetes Federation, 2019. IDF diabetes atlas [M]. 9th ed. Brussels, Belgium.
- KHEMAIS-BENKHIAT S, BELCASTRO E, IDRIS-KHODJA N, et al, 2020. Angiotensin II-induced redox-sensitive SGLT1 and 2 expression promotes high glucose-induced endothelial cell senescence[J]. J Cell Mol Med,

- 24(3): 2109–2122.
- LUNDBERG J O, CARLSTRÖM M, WEITZBERG E, 2018. Metabolic effects of dietary nitrate in health and disease[J]. *Cell Metab*, 28(1): 9–22.
- LUO J, WANG R, HUANG Z, et al, 2012. Synthesis of stable genipin derivatives and studies of their neuroprotective activity in PC12 cells[J]. *ChemMedChem*, 7(9): 1661–1668.
- LUO X, WU J, JING S, et al, 2016. Hyperglycemic stress and carbon stress in diabetic glucotoxicity[J]. *Aging Dis*, 7(1): 90–110.
- MENG Y Y, YUAN Y P, ZHANG X, et al, 2019. Protection against doxorubicin-induced cytotoxicity by geniposide involves AMPK α signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 7901735.
- MU J, XIN G, ZHANG B, et al, 2020. Beneficial effects of *Aronia melanocarpa* berry extract on hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats[J]. *J Food Sci*, 85(4): 1307–1318.
- NATARAJAN M, HABIB S L, REDDICK R L, et al, 2019. Endothelial cell-specific overexpression of endothelial nitric oxide synthase in Ins2Akita mice exacerbates diabetic nephropathy[J]. *J Diabetes Complicat*, 33(1): 23–32.
- PETERSMANN A, MÜLLER-WIELAND D, MÜLLER U A, et al, 2019. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 127(S 1): S1–S7.
- ROGACKA D, AUDZEYENKA I, RACHUBIK P, et al, 2021. Involvement of nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in the regulation of SIRT1 - AMPK crosstalk in podocytes: Impact on glucose uptake[J]. *Arch Biochem Biophys*, 709: 108985.
- SHI Q, CAO J, FANG L, et al, 2014. Geniposide suppresses LPS-induced nitric oxide, PGE₂ and inflammatory cytokine by downregulating NF- κ B, MAPK and AP-1 signaling pathways in macrophages[J]. *Int Immunopharmacol*, 20(2): 298–306.
- VALLON V, THOMSON S C, 2020. The tubular hypothesis of nephron filtration and diabetic kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 16(6): 317–336.
- XIE J H, SHEN M Y, NIE S P, et al, 2013. Analysis of monosaccharide composition of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide with anion exchange chromatography [J]. *Carbohydr Polym*, 98(1): 976–981.
- XIE Y D, LIU J P, WANG W, et al, 2020. 3, 4-Dihydroxyphenethyl nitrate with nitric oxide releasing, antioxidant, hypoglycemic and hypolipidemic effects[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 30(15): 127277.
- YAMAGISHI S I, MATSUI T, 2011. Nitric oxide, a Janus-faced therapeutic target for diabetic microangiopathy—Friend or foe?[J]. *Pharmacol Res*, 64(3): 187–194.
- YARUBE I, AYO J, MAGAJI R, et al, 2019. Insulin treatment increases brain nitric oxide and oxidative stress, but does not affect memory function in mice [J]. *Physiol Behav*, 211: 112640.
- ZHU M, WANG H, CHEN J, et al, 2021. Sinomenine improve diabetic nephropathy by inhibiting fibrosis and regulating the JAK2/STAT3/SOCS1 pathway in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Life Sci*, 265: 118855.

(责任编辑 张 冰)