

黄芩苷对链脲佐菌素诱导的糖尿病模型大鼠血糖和血脂及腺苷酸活化蛋白激酶的影响

刘金凤, 彭红丽

(中国科学院上海药物研究所新药研究国家重点实验室, 上海 201203)

摘要: 目的 探讨黄芩苷对糖尿病大鼠血糖和血脂的影响及其作用机制。方法 以高脂饲料(HFD)喂养雄性 SD 大鼠 6 周后,尾静脉 iv 给予链脲佐菌素(STZ)诱导 2 型糖尿病模型。黄芩苷组大鼠每天 ip 给予黄芩苷 $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 连续 6 周。给药 0, 3 和 6 周时观察血糖、血总胆固醇(TC)、血三酰甘油(TG); 给药 6 周时测定肝 TC 和丙二醛(MDA)水平; Western 印迹法分析肝和骨骼肌磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)及其下游靶蛋白乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)磷酸化水平。MTT 法检测黄芩苷 $1\sim 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 HepG2 细胞 24 h 的细胞存活力; Western 印迹法观察黄芩苷对 AMPK 活性的影响。结果 黄芩苷 $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可明显降低糖尿病大鼠的血糖和血 TC ($P < 0.05$); 黄芩苷可明显降低糖尿病大鼠肝 TC 和 MDA 水平 ($P < 0.05$)。糖尿病模型大鼠肝和骨骼肌磷酸化 AMPK 和磷酸化 ACC 的水平显著降低 ($P < 0.01$), 而黄芩苷能激活 AMPK, 明显增加糖尿病大鼠肝和骨骼肌 AMPK 和 ACC 的磷酸化水平 ($P < 0.01$)。黄芩苷 1 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 无细胞毒性, 但能显著增加 HepG2 肝细胞磷酸化 AMPK 水平 ($P < 0.01$)。结论 黄芩苷对糖尿病大鼠具有一定的保护作用, 其作用机制可能与激活肝和骨骼肌 AMPK 有关。

关键词: 黄芩; 糖尿病, 2 型; 蛋白激酶类; 腺苷酸激酶; 氧化性应激

中图分类号: R285.5, R977.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)02-0145-06

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.02.004

黄芩苷(baicalin)作为传统中药黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的主要活性成分,具有广泛的药理作用,包括抗氧化、抗炎、解热、镇静、降压、利尿、利胆、保肝以及调节免疫等作用^[1],但目前关于黄芩苷的降糖降脂作用鲜有报道。最新的研究表明,黄芩苷能改善链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠的氧化应激状态,增强二甲双胍的降糖作用^[2]。本课题组通过高脂饮食诱导大鼠肥胖模型,发现长期腹腔给予黄芩苷能降低肥胖大鼠体重,降低血清和肝胆固醇^[3]。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是细胞和机体重要的能量感受器,可促进骨骼肌葡萄糖摄取,减少肝糖原合成,调节脂肪酸和胆固醇的合成以及三酰甘油的分解,其活性降低可引发胰岛素抵抗、脂质代谢紊乱及 2 型糖尿病。作为调节细胞能量代谢通路中的关键蛋白激酶,

AMPK 已成为预防和治疗肥胖及 2 型糖尿病的重要靶点^[4]。为进一步探讨黄芩苷是否具有抗糖尿病作用及其作用机制,本研究通过高脂饮食加 STZ 诱导 2 型糖尿病大鼠模型,观察黄芩苷抗糖尿病作用及其对 AMPK 的影响。

1 材料与方法

1.1 药物、试剂和仪器

黄芩苷,纯度 >97%, 购自上海融禾医药科技发展有限公司; STZ, 纯度 >98%, 购自 Sigma 公司; 高脂饲料(干酪素 26.5%, 胆固醇 1%, 胆酸钠 0.4%, 猪油 31.0%, 基础饲料 42.1%) 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司; 血糖、三酰甘油和胆固醇试剂盒购自上海名典生物工程公司; 蛋白定量试剂盒购自 Bio-Rad 公司; 兔抗 AMPK α 、磷酸化 AMPK α (p-AMPK α)、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)和磷酸化 ACC(p-ACC)抗体购自 Cell Signaling 公司; 兔抗 β 肌动蛋白抗体购自 Lab Vision 公司; 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(二抗)购自 Jackson 公司; ECL 购自 Amersham Pharmacia Biotech 公司; 蛋白酶抑制剂复合物购自 Calbiochem 公司; 其他试剂均为分析纯。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30672467)

作者简介: 刘金凤(1983 -), 女, 硕士研究生, 主要从事内分泌药理学研究。E-mail: ljf0803@126.com; Tel: (021) 50806896

通讯作者: 彭红丽, E-mail: penghl@mail.shnc.ac.cn; Tel: (021)50806600-5407

OneTouchHorizon 血糖仪为强生公司产品。

1.2 STZ 诱导糖尿病模型制备

实验严格遵照中国科学院上海药物研究所实验动物伦理委员会制定的相关规定进行。SD 大鼠, 雄性, 6~8 周, SPF 级, 购自中国科学院动物中心, 动物合格证号: 0011892, 预养观察 1 周。第 2 周全部大鼠饲喂高脂饲料, 6 周后, 大鼠随机分为高脂饲料 (high fat diet, HFD) 对照组和糖尿病组。大鼠禁食不禁水 12 h, 糖尿病模型大鼠尾静脉 iv 给予新鲜柠檬酸缓冲液 (pH 4.5) 配置的 STZ $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 3~7 d 后测空腹血糖, 血糖值 $> 13 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 为糖尿病鼠模型成功标准 (造模成功率 59%)。

1.3 动物分组及样本收集

HFD 对照组尾静脉 iv 给予柠檬酸缓冲液。糖尿病大鼠随机分为糖尿病对照组和黄芩苷治疗组。造模成功后开始给药前为 0 天, 随后每天上午开始 ip 给予药物。黄芩苷 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 溶于 0.5% CMC-生理盐水, 糖尿病模型和 HFD 对照组大鼠 ip 给予同等体积的溶媒 0.5% CMC-生理盐水, 每天 1 次, 共给药 6 周, 所有试剂和器皿均高压灭菌。造模前、造模后及给药后 3 和 6 周剪尾血糖仪测血糖。给药前眼眶静脉丛采血测血糖和血脂, 采血前动物禁食不禁水 12 h 以上, 收集血清, -80°C 保存。实验结束后, 动物禁食不禁水 12 h 以上, ip 给予 12% 水合氯醛 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉, 心脏采血收集血清并迅速取肝、骨骼肌置于液氮中, 然后 -80°C 保存。

1.4 血浆生化指标检测

葡萄糖用 GOD-PAP 法测定^[5]; 胆固醇和三酰甘油测定方法为氧化酶法^[6-7]。具体操作参见试剂盒说明书。

1.5 Western 印迹法检测肝和肌肉中 AMPK, ACC 蛋白表达及其磷酸化水平

取肝或肌肉样本 0.1 g 组织匀浆 (1:10), 冰上静置 1 h, 3000 g, 4°C 离心 15 min, 取上清, 采用试剂盒蛋白浓度定量。蛋白样品行 10% SDS-PAGE 电泳, 电转运于硝酸纤维素膜, 抗 AMPK α 、磷酸化 AMPK α (pAMPK α) 和磷酸化乙酰辅酶 A 羧化酶 (pACC) 一抗孵育, TBST 溶液洗涤后 HRP 标记的二抗室温孵育, ECL 酶显色反应并采用 Bio-Rad 图像分析软件进行图像分析。

1.6 MTT 法检测 HepG2 细胞存活率

取对数生长期的 HepG2 细胞, 用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基调整细胞数至 $5 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$, 接种于 96 孔板, 每孔 100 μl , 置于 5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后, 弃去培养基, 依次加入 200 μl 黄芩苷 1, 5, 10 和

$50 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 每个浓度 5 个复孔。培养 24 h 后加入 0.5% MTT 溶液 10 μl , 37°C 继续培养 4 h 终止培养, 弃去培养基, 每孔加入 DMSO 150 μl , 摇床振荡 10 min, 全自动酶标仪 570 nm 测定各孔的吸光度 (absorbance, A)。以对照组 $A_{570 \text{ nm}}$ 为 100%, 计算药物处理后的相对细胞活力。

1.7 Western 印迹法检测 HepG2 细胞中磷酸化 AMPK 蛋白的表达

HepG2 在含 10% 胎牛血清、青霉素 $100 \text{ kU} \cdot \text{L}^{-1}$ 、链霉素 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 D-葡萄糖 $5.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MEM 培养基中, 于 37°C , 5% CO_2 培养箱中培养, 每 3 d 细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。实验用细胞生长在 100 mm 培养皿中, 当细胞达 80% 密度时用于实验。

HepG2 细胞在无胎牛血清的 MEM 培养基培养过夜, 加入黄芩苷 $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别继续培养 10, 30, 60 或 120 min; 或加入黄芩苷 1 和 $5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 继续培养 60 min。收集细胞, 4°C 超声粉碎后, $3000 \times g$, 4°C 离心 15 min, 取上清, 采用试剂盒进行蛋白浓度定量。Western 印迹法检测 AMPK 和磷酸化 AMPK 蛋白表达 (方法同 1.5)。

1.8 统计学分析

实验结果数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prim4.0 软件进行统计学分析。组间差异的显著性用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和组间比较采用 Newman-Student-Keuls 检验进行统计处理。

2 结果

2.1 黄芩苷对糖尿病大鼠血糖的影响

高脂饮食饲养 6 周后, 大鼠平均体质量为 $(542 \pm 7) \text{ g}$ 。大鼠 iv 给予 STZ $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 出现多饮和多尿, 1 周后, 体质量明显下降, 糖尿病模型大鼠血糖值为 $(23.2 \pm 2.1) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。HFD 对照组血糖为 $(9.0 \pm 0.4) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 体质量持续增加。

实验 3 周时, 糖尿病模型组大鼠血糖升高 6.9%, 黄芩苷组血糖分别下降了 7.4%。6 周时, 糖尿病模型组血糖升高了 21.8%, 而黄芩苷 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组血糖进一步下降了 21.8%, 黄芩苷 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组血糖值明显低于糖尿病模型组 ($P < 0.05$), 表明黄芩苷能改善糖尿病症状。糖尿病大鼠在整个实验过程中血糖值都明显高于 HFD 对照组 (表 1)。

2.2 黄芩苷对糖尿病大鼠血脂的影响

如表 2 所示, 与 HFD 对照组比较, 模型组大鼠血清胆固醇和三酰甘油水平也明显升高, 尤其是

表 1 黄芩苷对豚佐菌素 (STZ) 糖尿病大鼠血糖和体质量的影响

Tab.1 Effects of baicalin on glucose and body mass in serum of streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats

组别	血糖/mmol·L ⁻¹			体质量/g		
	0	3	6(周)	0	3	6(周)
HFD 对照	9.0 ± 0.4	6.7 ± 0.2	7.9 ± 0.3	556 ± 15	622 ± 22	632 ± 14
糖尿病模型	21.6 ± 2.8*	23.1 ± 1.2*	26.3 ± 0.9*	491 ± 17*	488 ± 18*	478 ± 17*
黄芩苷	24.8 ± 2.7*	22.9 ± 1.3*	19.4 ± 2.4** [△]	469 ± 18*	478 ± 17*	436 ± 21*

饲高脂饮食 6 周诱导大鼠肥胖, 尾静脉 iv 给予 STZ 45 mg·kg⁻¹ 诱导糖尿糖模型. ip 给予黄芩 80 mg·kg⁻¹, 连续 6 周. HFD 和糖尿病模型组分别给予等体积的溶媒 0.5% CMC-生理盐水. $\bar{x} \pm s, n=6 \sim 7$. * $P < 0.05$, 与同一时间 HFD 对照组比较; # $P < 0.05$, 与同一时间糖尿病模型组比较; $\Delta P < 0.05$, 与同一组给药前(0 周)相比.

表 2 黄芩苷对糖尿病大鼠血清胆固醇和三酰甘油的影响

Tab.2 Effect of baicalin on cholesterol and triglyceride levels in serum of STZ-induced diabetic rats

组别	胆固醇/mmol·L ⁻¹		三酰甘油/mmol·L ⁻¹	
	0	6(周)	0	6(周)
HFD 对照	1.21 ± 0.25	1.66 ± 0.34	1.67 ± 0.60	2.42 ± 0.33
糖尿病模型	2.66 ± 0.47*	3.57 ± 0.63*	4.79 ± 0.76*	7.07 ± 3.34**
黄芩苷	2.20 ± 0.35*	1.66 ± 0.37 [#]	5.06 ± 0.63*	2.87 ± 0.55 ^{#△}

动物处理见表 1. $\bar{x} \pm s, n=6 \sim 7$. * $P < 0.05$, 与同一时间 HFD 对照组比较; # $P < 0.05$, 与同一时间糖尿病模型组比较; $\Delta P < 0.05$, 与同一组给药前(0 周)相比.

三酰甘油水平波动幅度很大. 黄芩苷给药 6 周能降低血清三酰甘油, 并能明显抑制血清胆固醇升高 ($P < 0.05$). 表明黄芩苷能明显改善高脂饮食加 STZ 诱导糖尿病大鼠血糖和血脂升高.

2.3 黄芩苷对糖尿病大鼠肝胆固醇和丙二醛水平的影响

如表 3 所示, 与 HFD 对照组比较, 糖尿病模型组肝胆固醇和丙二醛均有一定的升高, 而黄芩苷 80 mg·kg⁻¹ 组能明显降低高脂糖尿病大鼠肝胆固醇 ($P < 0.05$) 和肝丙二醛水平 ($P < 0.05$), 减轻肝膜脂过氧化.

表 3 黄芩苷对糖尿病大鼠肝胆固醇和丙二醛水平的影响

Tab.3 Effect of baicalin on cholesterol and malondialdehyde in the liver

组别	胆固醇/ mg·g ⁻¹	丙二醛/ μmol·g ⁻¹
HFD 对照	3.42 ± 0.13	0.33 ± 0.07
糖尿病模型	3.66 ± 0.20	0.63 ± 0.15
黄芩苷	2.78 ± 0.22 [#]	0.16 ± 0.04 [#]

动物处理见表 1. $\bar{x} \pm s, n=6 \sim 7$. * $P < 0.05$, 与 HFD 对照组比较; # $P < 0.05$, 与糖尿病模型组比较.

2.4 黄芩苷对糖尿病大鼠肝和骨骼肌 AMPK 表达的影响

Western 印迹法分析各组大鼠肝(图 1)和骨骼

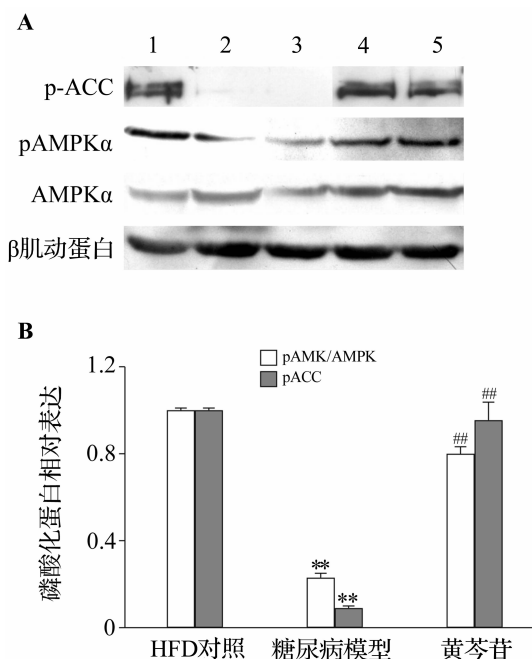


图 1 黄芩苷对糖尿病大鼠肝中磷酸化腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 和磷酸化乙酰辅酶 A 羧化酶 (p-ACC) 的影响. 动物处理见表 1. 以 HFD 对照组的磷酸化蛋白表达为 1, 各处理组的磷酸化蛋白表达均表示为与 HFD 对照组的相对值. A: 条带 1, HFD 对照组; 条带 2 和 3, 糖尿病模型组, 条带 4 和 5, 黄芩苷 80 mg·kg⁻¹ 组. B: 定量分析结果. $\bar{x} \pm s, n=3$. ** $P < 0.01$, 与 HFD 对照组比较; ## $P < 0.01$, 与糖尿病模型组比较.

Fig.1 Effect of baicalin on phosphorylation of AMPK (pAMPK) and ACC (pACC) in livers of STZ-induced diabetic rats.

肌(图 2)中 AMPK、磷酸化 AMPK 及磷酸化 ACC 水平,从而测定 AMPK 和 ACC 酶活性。糖尿病大鼠肝和骨骼肌的磷酸化 AMPK 和磷酸化 ACC 的表达均显著下降($P < 0.01$),而黄芩苷能明显增加糖尿病大鼠肝和骨骼肌中磷酸化 AMPK 的表达($P < 0.05$),同时也显著增加磷酸化 ACC 在上述组织中的表达($P < 0.05$),提示黄芩苷可激活 AMPK,并抑制其下游激酶 ACC 的活性。

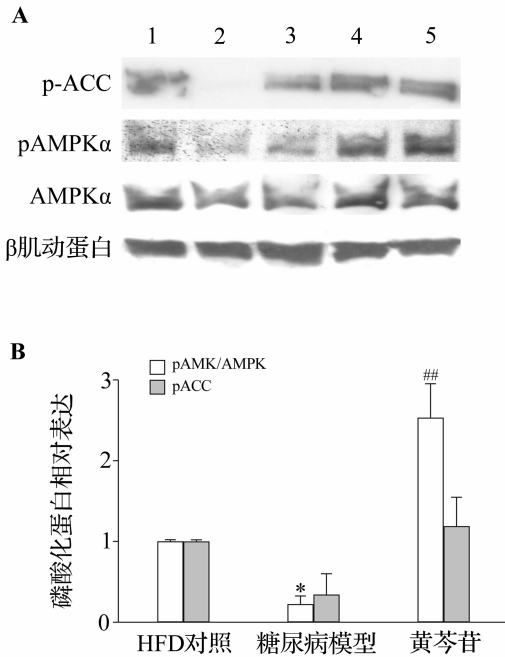


图 2 黄芩苷对糖尿病大鼠肝骨骼肌中 p-AMPK 和 p-ACC 的影响。动物处理见图 1。A: 条带 1, HFD 对照组; 条带 2 和 3, 糖尿病模型组, 条带 4 和 5, 黄芩苷 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。B: 定量分析结果。 $\bar{x} \pm s, n = 3$ 。* $P < 0.05$, 与 HFD 对照组比较; ## $P < 0.01$, 与糖尿病模型组比较。

Fig. 2 Effect of baicalin on phosphorylation of AMPK (pAMPK) and ACC (pACC) in skeleton muscle of STZ-induced diabetic rats.

2.5 黄芩苷对细胞活力的影响

如图 3 所示,黄芩苷 $1, 5, 10$ 和 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 孵育 HepG2 肝细胞 24 h,均不影响细胞存活。

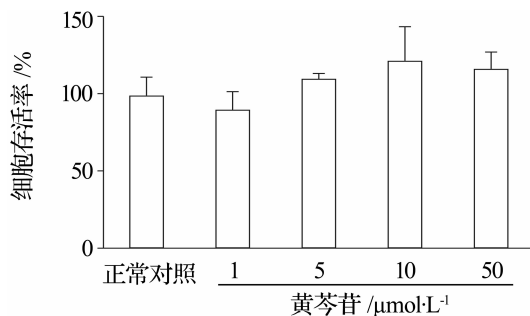


图 3 黄芩苷对 HepG2 细胞活力的影响。与细胞作用 24 h。 $\bar{x} \pm s, n = 6$ 。各组间无统计学差异。

Fig. 3 Effect of baicalin on HepG2 cell survival.

2.6 黄芩苷对细胞 AMPK 表达的影响

Western 印迹分析结果表明,黄芩苷在体内能增加 AMPK 的磷酸化,激活 AMPK。进一步考察了黄芩苷 1 和 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 在细胞水平对 AMPK 的影响。如图 4 所示,黄芩苷 1 和 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 能明显增加 HepG2 细胞磷酸化 AMPK 水平($P < 0.05$),并呈时间和浓度依赖关系,表明黄芩苷在细胞水平同样能激活 AMPK。

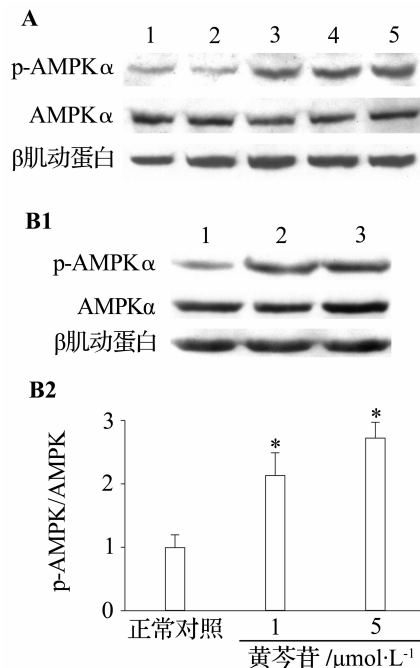


图 4 黄芩苷对 HepG2 细胞磷酸化 AMPK 时效(A)及量效(B)关系表达的影响。HepG2 细胞加入黄芩苷 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 继续培养 10, 30, 60 和 120 min; 或加入黄芩苷 1 和 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 继续培养 60 min, 测定磷酸化 AMPK 表达。A: 条带 1, HFD 对照组; 条带 2~5, 分别为黄芩苷 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用 HepG2 细胞 10, 30, 60 和 120 min。B1: 条带 1~3, 分别为黄芩苷 0, 1 和 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用细胞 60 min; B2: B1 定量分析结果。 $\bar{x} \pm s, n = 3$ 。* $P < 0.05$, 与 HFD 对照组比较。

Fig. 4 Time-effect (A) and concentration effect (B) of baicalin on phosphorylation of AMPK in HepG2 cells.

3 讨论

本实验发现黄芩苷能降低高脂饮食 + STZ 诱导 2 型糖尿病大鼠模型大鼠空腹血糖和血清胆固醇,明显抑制肝胆固醇升高,减少肝丙二醛,改善糖尿病大鼠的氧化应激状态。Western 印迹实验发现,黄芩苷能显著增加糖尿病大鼠肝和骨骼肌磷酸化 AMPK,激活 AMPK,导致其下游靶蛋白 ACC 的磷酸化增加,从而抑制其活性。体外实验结果显示,黄芩苷依然能增加 HepG2 细胞磷酸化 AMPK。因此,激活 AMPK 可能是黄芩苷降糖降脂作用的重要机制。

能量代谢失衡是导致 2 型糖尿病的重要原因,加速能量的代谢,减少能量在细胞中的储存是目前控制糖尿病进程的重要手段之一。在调节细胞能量状态的蛋白激酶级联反应中,AMPK 是关键组分^[8]。AMPK 是一类丝氨酸/苏氨酸激酶,由一个催化亚单位 α 、 β 和 γ 三个亚单位组成的异三聚体^[9]。在运动、能量消耗、缺氧等应激条件下,ATP 消耗增加,AMP 浓度升高,使 AMP:ATP 比值升高,激活 AMPK 激酶系统。AMPK 作为细胞和机体的能量感受器,对机体的能量代谢起重要的调节作用。其下游靶蛋白 ACC 是脂肪酸合成通路中限速酶,激活 AMPK 可磷酸化 ACC,使 ACC 活性降低从而抑制脂肪酸的合成。AMPK 通过磷酸化能量代谢通路中的限速酶(如 ACC),降低脂肪和胆固醇的合成、抑制肝糖原的产生、增加脂肪的氧化以及肌肉对葡萄糖的吸收。大量的研究表明,2 型糖尿病及脂肪肝等疾病状态下,AMPK 活性被抑制,导致能量代谢紊乱^[10-12]。近年来,研究发现降糖药二甲双胍和罗格列酮均能激活 AMPK,改善肝对胰岛素的抵抗,增加骨骼肌葡萄糖的转运和储存^[13-16]。许多具有降糖降脂作用的天然多酚类化合物,如白藜芦醇、茶黄素等也发现能通过激活 AMPK 发挥其药理作用^[17-18]。因此,增强 AMPK 活性目前已成为治疗 2 型糖尿病及代谢性疾病的一个新策略。本实验结果表明,黄芩苷能增加糖尿病大鼠肝和骨骼肌 AMPK 的磷酸化,激活 AMPK。黄芩苷在体外也能显著增加 HepG2 细胞 AMPK 的磷酸化,表明黄芩苷具有激活 AMPK 的作用。

此外,糖尿病患者通常存在严重的脂质过氧化损伤。丙二醛是膜脂过氧化最重要的产物之一。黄芩苷是传统的抗氧化剂,本实验也表明黄芩苷能明显降低高脂糖尿病大鼠肝丙二醛浓度,减轻肝脂质过氧化损伤。本实验结果提示黄芩苷可通过激活肝和骨骼肌 AMPK,发挥其抗糖尿病作用。

参考文献:

- [1] Huang WH, Lee AR, Yang CH. Antioxidative and anti-inflammatory activities of polyhydroxyflavonoids of *Scutellaria baicalensis* Georgi[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, **70**(10):2371-2380.
- [2] Waisundara VY, Hsu A, Tan BK, Huang D. Baicalin improves antioxidant status of streptozotocin-induced diabetic Wistar rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, **57**(10):4096-4102.
- [3] Guo HX, Liu DH, Ma Y, Liu JF, Wang Y, Du ZY, et al. Long-term baicalin administration ameliorates metabolic disorders and hepatic steatosis in rats given a high-fat diet[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, **30**(11):1505-1512.
- [4] Yu LF, Qiu BY, Nan FJ, Li J. AMPK activators as novel therapeutics for type 2 diabetes[J]. *Curr Top Med Chem*, 2010, **10**(4):397-410.
- [5] Trinder P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen[J]. *J Clin Pathol*, 1969, **22**(2):158-161.
- [6] Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide[J]. *Clin Chem*, 1982, **28**(10):2077-2080.
- [7] Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol[J]. *Clin Chem*, 1974, **20**(4):470-475.
- [8] Fryer LG, Carling D. AMP-activated protein kinase and the metabolic syndrome[J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, **33**(Pt 2):362-366.
- [9] Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**(10):774-785.
- [10] Yu X, McCorkle S, Wang M, Lee Y, Li J, Saha AK, et al. Leptinomimetic effects of the AMP kinase activator AICAR in leptin-resistant rats: prevention of diabetes and ectopic lipid deposition[J]. *Diabetologia*, 2004, **47**(11):2012-2021.
- [11] Park KG, Min AK, Koh EH, Kim HS, Kim MO, Park HS, et al. Alpha-lipoic acid decreases hepatic lipogenesis through adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)-dependent and AMPK-independent pathways[J]. *Hepatology*, 2008, **48**(5):1477-1486.
- [12] Song Z, Deaciuc I, Zhou Z, Song M, Chen T, Hill D, et al. Involvement of AMP-activated protein kinase in beneficial effects of betaine on high-sucrose diet-induced hepatic steatosis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, **293**(4):G894-G902.
- [13] Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action[J]. *J Clin Invest*, 2001, **108**(8):1167-1174.
- [14] Cleasby ME, Dzamko N, Hegarty BD, Cooney GJ, Kraegen EW, Ye JM. Metformin prevents the development of acute lipid-induced insulin resistance in the rat through altered hepatic signaling mechanisms[J]. *Diabetes*, 2004, **53**(12):3258-3266.
- [15] Musi N, Hirshman MF, Nygren J, Svanfeldt M, Bavenholm P, Rooyackers O, et al. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2002, **51**

- (7):2074-2081.
- [16] Bajaj M, Suraamornkul S, Pratipanawatr T, Hardies LJ, Pratipanawatr W, Glass L, *et al.* Pioglitazone reduces hepatic fat content and augments splanchnic glucose uptake in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2003, **52**(6):1364-1370.
- [17] Lin CL, Huang HC, Lin JK. Theaflavins attenuate hepatic lipid accumulation through activating AMPK in human HepG2 cells[J]. *J Lipid Res*, 2007, **48**(11):2334-2343.
- [18] Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, *et al.* Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet[J]. *Nature*, 2006, **444**(7117):337-342.

Effect of baicalin on serum glucose, cholesterol and activation of AMPK in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats

LIU Jin-feng, PENG Hong-li

(State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To investigate the effect of baicalin on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats with hyperlipidemia. **METHODS** Male SD rats were fed with high-fat diet (HFD) 6 weeks and iv given STZ 45 mg·kg⁻¹ to induce a type 2 diabetes model. Baicalin was ip given 80 mg·kg⁻¹ once daily for 6 weeks. Body mass was measured. The serum glucose, total cholesterol (TC) and triglyceride, liver TC and malondialdehyde (MDA) were analyzed. AMP-activated protein kinase (AMPK) activation in the liver and muscle was examined by measuring AMPK phosphorylation and quantitating phosphorylation of AMPK substrate acetyl-CoA carboxylase (ACC). Effects of baicalin on activation of AMPK in HepG2 cells were also examined. **RESULTS** Baicalin 80 mg·kg⁻¹ suppressed serum glucose and TC concentrations in diabetic rats. Baicalin reduced hepatic TC and MDA ($P < 0.05$) and enhanced phosphorylation of AMPK and ACC ($P < 0.01$). In HepG2 cells, baicalin 1 and 5 μmol·L⁻¹ increased phosphorylation of AMPK ($P < 0.01$). **CONCLUSION** Baicalin has protective effects on the development of diabetes by targeting the hepatic and muscular AMPK.

Key words: baicalin; diabetes mellitus, type 2; protein kinases; adenylate kinase; oxidative stress

Foundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China (30672467)

Corresponding author: PENG Hong-li, E-mail: penghl@mail.shnc.ac.cn; Tel: (021)50806600-5407

(收稿日期: 2010-04-08 接受日期: 2010-08-23)

(本文编辑: 齐春会 付良青)