

# 缅栀花提取物的挥发性成分鉴定及其葡萄糖转运机制研究

田 迪<sup>1</sup>, 陈 锐<sup>1</sup>, 朴永革<sup>2\*</sup>, 付 祺<sup>2</sup>, 李 锋<sup>2</sup>, 李河霖<sup>2</sup>, 李宝志<sup>2</sup>, 桂明英<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> 云南农业大学茶学院, 昆明 650201; <sup>2</sup> 吉林烟草工业有限责任公司技术中心, 长春 130031;

<sup>3</sup> 云南省高原特色农业产业研究院, 昆明 650201

**摘要:** 缅栀花中含有丰富的功能性化合物。本研究采用荧光葡萄糖类似物 2-NBDG 葡萄糖摄取试剂盒用荧光酶标仪测定不同浓度的缅栀花提取物(PE)处理下细胞荧光强度, 及 Western blot 法检测 C2C12 骨骼肌细胞中 Akt 的磷酸化水平及其他关键因子表达。研究结果表明: 与空白组相比, PE 作用后的 C2C12 骨骼肌细胞对葡萄糖摄取量显著提高。C2C12 骨骼肌细胞在含有 4 mg/mL 缅栀花水提取物培养液中培养 30 min 后, Akt 的磷酸化水平有明显提升。同时, 缅栀花水提物并没有引起腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK) Thr172 位点磷酸化水平的上调, 说明 PE 提高 C2C12 骨骼肌细胞葡萄糖摄取与 Akt 的磷酸化水平的表达具有密切联系。使用 GC-MS 对进行成分表征, 确定 PE 成分及含量, 通过降糖相关成分分析得出: 缅栀花能调控葡萄糖转运可能与缅栀花中某些成分相关, 具体是一种或是多种还有待探索。

**关键词:** 缅栀花; 蛋白激酶 B(Akt); C2C12 骨骼肌细胞; 机制研究

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)11-1910-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.11.014

## Study on identification of volatile constituents and glucose transport of the extract of *Plumeria*

TIAN Di<sup>1</sup>, CHEN Rui<sup>1</sup>, PIAO Yong-ge<sup>2\*</sup>, FU Qi<sup>2</sup>, LI Feng<sup>2</sup>, LI He-lin<sup>2</sup>, LI Bao-zhi<sup>2</sup>, GUI Ming-ying<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> College of Tea, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

<sup>2</sup> Technical Center of Jilin Tobacco Industry Co., Ltd., Changchun 130031, China;

<sup>3</sup> Yunnan Plateau Characteristic Agricultural Industry Research Institute, Kunming 650201, China

**Abstract:** *Plumeria* contains rich functional compounds. In this study, 2-NBDG glucose uptake kit was used to measure cell fluorescence intensity under different concentrations of *Plumeria* water extract (PE), and the phosphorylation level of Akt and the expression of other key factors in C2C12 skeletal muscle cells were detected by Western blot. The results showed that the glucose intake of C2C12 skeletal muscle cells after PE treatment was significantly increased compared with the blank group. After C2C12 skeletal muscle cells were cultured in the medium containing 4 mg/mL PE for 30 min, the phosphorylation level of Akt was significantly increased. Meanwhile, the extract did not up-regulate the phosphorylation of AMPK Thr172, suggesting that the increase of glucose uptake by PE in C2C12 skeletal muscle cells was closely related to the phosphorylation of Akt. The composition of PE was characterized by GC-MS, and the composition and content of PE were determined. Through the analysis of the related components of hypoglycemic, it was concluded that the regulation of glucose transport in PE might be related to some components in *Plumeria*, which one or many are still to be explored.

**Key words:** *Plumeria*; Akt; C2C12 skeletal muscle cells; mechanism study

缅栀花(*Plumeria rubra* L. var. *actifolia* Bailey),

收稿日期: 2021-05-12 接受日期: 2020-09-22

基金项目: 云南省重大科技专项-绿色食品国际合作研究中心项目  
(2019ZG009); 吉林烟草技术中心技术服务项目  
(KX132326); 云南省科技项目(YCJ 2020-323)

\* 通信作者 Tel: 86-871-65229853; E-mail: piaoyongge@jilintobacco.com.cn, guimingying@126.com

因其外形极似蛋白包裹蛋黄而又名鸡蛋花, 属竹夹科<sup>[1]</sup>。缅栀花原产于南美洲, 在云南较为常见, 云南缅栀花具有清热解毒、利湿、止咳的功效, 并且可用来治疗传染性肝炎、支气管炎、肺结核等疾病。环烯醚萜类及苷类化合物是缅栀花主要的功能性成分, 由于其具有很强的抗真菌和抗肿瘤活性作用而

受到广泛关注<sup>[2-4]</sup>。糖尿病已成为当前威胁全球人类健康最重要的慢性非传染性疾病之一,并在世界范围内呈流行趋势<sup>[5]</sup>。最新数据统计,中国糖尿病患者人数达到1.139亿<sup>[6]</sup>,并产生巨大的医疗经济负担。2型糖尿病病理生理的主要特征是胰岛素抵抗和胰岛素分泌减少<sup>[7]</sup>,通常胰岛素信号通路的减弱是发生胰岛素抵抗的原因<sup>[8,9]</sup>,PI3K/Akt信号通路是胰岛素作用的最主要信号通路。Akt蛋白是PI3K信号通路下游的重要靶蛋白,Akt蛋白是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的一种,各种研究表明Akt在细胞的糖代谢、细胞增殖、凋亡方面占据重要作用<sup>[10]</sup>。目前对缅栀花的研究主要在其挥发油化学成分检测及其药理研究,而缅栀花提取物对骨骼肌细胞Akt调控作用的相关研究鲜有报道<sup>[11-14]</sup>。有研究表明缅栀花中存在抗糖尿病类异戊二烯和长链δ-内酯对α-葡萄糖苷酶有抑制的活性,茎皮提取物黄酮苷可明显降低四氧嘧啶所致的高血糖大鼠中血清甘油三酯含量,说明缅栀花具有一定的降糖降脂潜力<sup>[15,16]</sup>。

本研究以缅栀花为实验材料,通过制备缅栀花水提物,探索其是否可以正向调节某一个关键因子如PI3K、Akt/PKB、AS160的磷酸化水平,使其处于活性状态,进而强化GLUT4的转移,以期达到降血糖的效果。旨在为云南地区缅栀花资源促进骨骼肌葡萄糖转运提供理论依据和挖掘其综合药用价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 缅栀花

实验用干燥缅栀花材料产自云南省昆明市。

#### 1.1.2 骨骼肌细胞系

C2C12骨骼肌细胞购于ATCC-American type culture collection。

#### 1.1.3 主要实验试剂

胰岛素(江苏万邦,7353789);青链霉素混合液(Solarbio);胰蛋白消化酶(碧云天);DMSO(Solarbio,67-68-5);磷酸盐缓冲液(Solarbio);DMEM/HIGHGLUCOSE(Hyclone);抗体(Cell Signaling Technology);2-NBDG葡萄糖摄取试剂盒(abcam,ab235976);甲醇(天津致远,67-56-1);Meilunbio®飞克特超敏ECL发光液(美仑生物,MA0186);石油醚(阿拉丁);乙腈(美国,TEDIA,色谱纯);三氟乙酸(德国,MERCK,色谱纯)。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 缅栀花提取物的制备

**打碎:**使用破壁粉碎机将干燥缅栀花进行破碎化处理;**浸出:**按料液比1:20加入热水,温度保持在75±10℃,浸出0.5 h后,使用三层医用纱布进行过滤,滤渣保留,按照1:20、1:20、1:10的料液比反复热水浸出3次,之后将全部滤液合并后做离心处理,取上清液;**浓缩:**减压浓缩至原液体积的1/8~1/10后,进入-20℃冰箱做冷冻处理;**干燥:**利用真空冷冻干燥机对冷冻浓缩液进行冷冻干燥处理,得到干燥缅栀花水提取物,含水率低于3%,产率为10~15%。

### 1.2.2 使用气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)对缅栀花提取物进行成分测定

**仪器:**Agilent Technologies-7890A/5975C型气相色谱-质谱仪;色谱柱:Agilent1909 1S-433UI HP(30 m×0.25mm×0.25 μm)石英毛细管柱;载气为He,流速为1.2 mL/min,进样量5 μL,分流比10:1;程序升温:起始温度为60℃,然后以6℃/min升到280℃,保持6 min,再以10℃/min升至300℃,保持2 min,运行时间为46.667 min;EI电离源,电离能为70 eV,离子源温度230℃;扫描质量范围m/z:35~550 amu。

### 1.2.3 细胞培养条件

在细胞培养板中使用含10%牛血清的DMEM(Dulbecco's modified eagle medium)高糖配方培养液对接种后的C2C12细胞进行培养,至70~80%细胞出现汇合时换培养液,添加新的培养液前需使用PBS进行1~2次清洗,之后再新加入含有2%马血清的DMEM培养液使细胞分化,体外分化培养C2C12细胞4~5天后,进行饥饿处理后加药,实验分为空白对照组(0 mg/mL)和不同浓度缅栀花提取物组,浓度分别为1、2、4、8 mg/mL。

### 1.2.4 免疫印迹试验(Western blot)检测

在10%的SDS-聚丙烯酰胺凝胶分离胶上配制8%的凝胶,添加经过蛋白定量后的样本,恒压电泳1.5 h后,将蛋白转膜到聚偏二氟乙烯(polyvinylidenefluoride,PVDF)膜上,5% BSA封闭1 h。1:1000稀释一抗抗体,封闭后加入一抗抗体4℃摇床8 h,PBST缓冲液洗膜3~4次,每次10 min。之后在封闭液中加入二抗抗体(1:10 000)辣根过氧化物酶标记的抗鼠抗体,室温摇床1.5 h。再用PBT洗膜

3 次,每次 10 min。经过化学发光试剂显色,在曝光机中进行曝光,扫描或拍照后,用图像处理系统分析目标分子量条带进行数字化分析处理。

### 1.2.5 葡萄糖摄取测定(2-NBDG 法)

分化后的 C2C12 细胞设置为空白对照组(control)、缅栀花提取物组(PE)和胰岛素阳性对照组(insulin),使用荧光葡萄糖类似物 2-NBDG 葡萄糖摄取试剂盒,分别加入 2-NBDG 低糖培养基后,用荧光酶标仪测定细胞在 485 nm 激发波长和 538 nm 发射波长下的荧光强度,对照组 2-NBDG 摄取率为 100%,以 2-NBDG 为探针计算不同条件下细胞葡萄

糖摄取率。

### 1.2.6 数据分析

采用 SPSS 统计软件 ANOVA 进行显著性分析,  $P < 0.05$  视为有显著性差异,  $P < 0.01$  视为有极显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 缅栀花提取物的主要成分

经 GC-MS 检测所得的质谱信息,缅栀花提取物实验分析结果见图 1,应用谱库检索并参考有关文献<sup>[17]</sup>,鉴定了缅栀花提取物中含有 12 个主要成分。

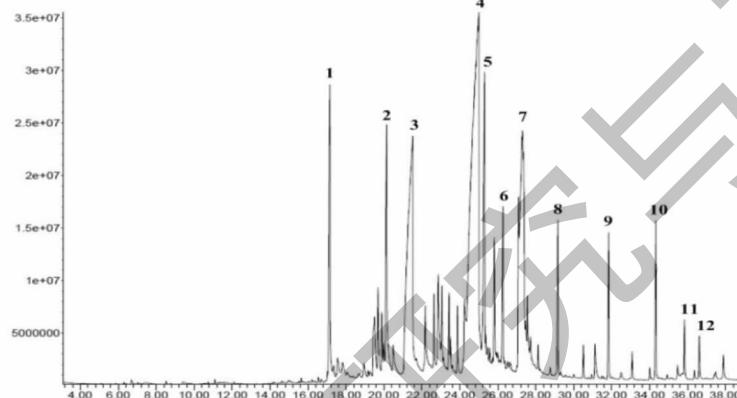


图 1 缅栀花提取物 GC-MS 实验结果

Fig. 1 Results of GC-MS experiment on *Plumeria* water extract

有研究表明,植物酚酸类、萜类物质具有明显的降糖作用<sup>[18,19]</sup>。由表 1 可知,对缅栀花挥发油中主要化学成分的分离鉴定表明主要成分为 31.16% 的十六酸(n-hexadecanoic acid),肉豆蔻酸(tetradecanoic acid)含量为 15.02%,9,12-十八碳二烯酸(9,12-octadecadienoic acid)含量为 11.01%,还包含其他脂肪酸,酚类,酯类,烷烃类,萜类等成分,说明鸡蛋花挥发油中主要成分为脂肪酸和萜类化合物,

其中脂肪酸为十六酸、肉豆蔻酸等,占挥发油总量的 46%,萜类化合物主要为 1,6,10-十二碳三烯-3-醇、2,6,10-十二碳三烯-1-醇和双十六烷硫醇等,这些成分可能与缅栀花发挥功能性作用相关。从总的结果来分析,主要成分与文献报道的基本一致<sup>[20]</sup>,但在相同成分含量上却存在差异,这可能与鸡蛋花产地的土壤性质、地理环境、采摘时间以及测试条件有一定关系。

表 1 缅栀花提取物的主要成分及含量

Table 1 Main components and contents of the *Plumeria* water extract

序号 No.	保留时间 $t_R$	分子量 Molecular weight	分子式 Formula	化合物名称 Compound name	含量 Content (%)
1	17.220	222	$C_{15}H_{26}O$	1,6,10-十二碳三烯-3-醇 1,6,10-Dodecatrien-3-ol	4.87
2	20.143	222	$C_{15}H_{26}O$	2,6,10-十二碳三烯-1-醇 2,6,10-Dodecatrien-1-ol	3.41
3	21.465	228	$C_{14}H_{28}O_2$	肉豆蔻酸 Tetradecanoic acid	15.02
4	25.016	256	$C_{16}H_{32}O_2$	十六酸 n-Hexadecanoic acid	31.16
5	25.299	290	$C_{20}H_{34}O$	3,7,11,15-1,6,10,14-十六烷基-3-醇 3,7,11,15-1,6,10,14-Tetramethylhexadecatetraen-3-ol	4.90
6	26.301	258	$C_{16}H_{34}S$	双十六烷硫醇 Tert-hexadecanethiol	1.67

续表1(Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 <i>t</i> <sub>R</sub>	分子量 Molecular weight	分子式 Formula	化合物名称 Compound name	含量 Content (%)
7	27.290	280	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	9,12-十八碳二烯酸 9,12-Octadecadienoic acid	11.01
8	29.181	296	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	二十一烷 Heneicosane	1.61
9	31.836	352	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	二十五烷 Pentacosane	1.49
10	34.331	618	C <sub>44</sub> H <sub>90</sub>	三十四烷 Tetrapentadecane	1.71
11	35.819	410	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	2,6,10,14,18,22-二十碳六烯 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene	0.55
12	36.621	380	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	二十七烷 Heptacosane	0.47

## 2.2 缅栀花提取物对 C2C12 细胞生长状态的影响

由图2知,不同缅栀花提取物(PE)浓度培养C2C12细胞4 h后,与对照组相比较,不同浓度PE对C2C12细胞增殖情况无明显影响,未发现促细胞凋亡现象,细胞生长状态正常。

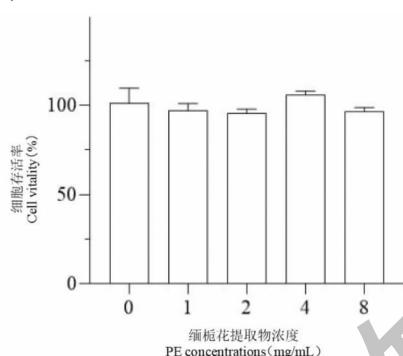


图2 缅栀花提取物浓度对C2C12细胞存活率的影响

Fig. 2 The effect of PE concentration on C2C12 cell vitality

## 2.3 缅栀花提取物对C2C12细胞中葡萄糖摄取量和对蛋白激酶B(Akt)的调控作用

为了测定不同浓度PE对C2C12细胞中Akt的调控作用,使用PE浓度梯度为1、2、4、8 mg/mL处理之后,以Western blot法检测Akt磷酸化水平。结果显示,当PE浓度为1 mg/mL时,对Akt磷酸化的促进效果不明显,而PE浓度为2 mg/mL时,对C2C12细胞Akt磷酸化促进效果显著( $P < 0.05$ ),当PE浓度为2 mg/mL时,对C2C12细胞Akt磷酸化有极显著促进效果,当PE浓度为4 mg/mL时,达到最大促进效果( $P < 0.01$ ),而在PE浓度增加到8 mg/mL时效果稍有减缓,因此我们选择将4 mg/mL浓度作为PE正向调控C2C12细胞Akt磷酸化水平的最适剂量(见图3B)。

在确定最适剂量后,为了确定PE最适处理时间,确定的最适剂量为4 mg/mL浓度的基础上,选

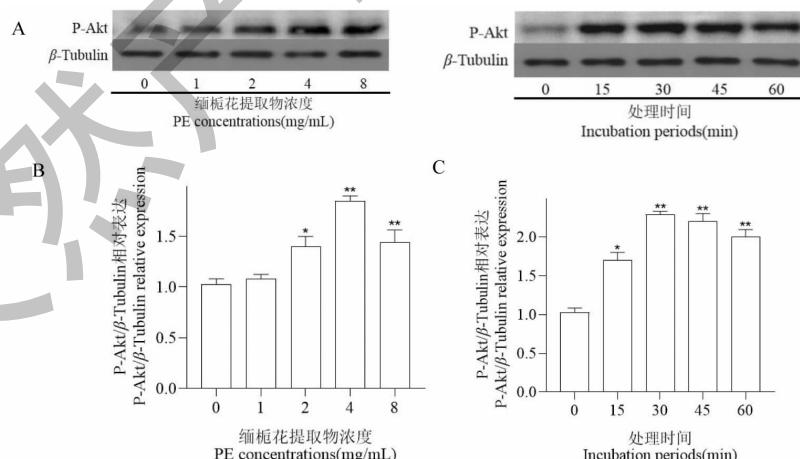


图3 确定PE对C2C12细胞中Akt磷酸化正向调控作用的最适剂量和时间

Fig. 3 Determine the optimal dose and time of PE on the positive regulation of p-Akt in C2C12 cells

注:与空白对照组相比, $*P < 0.05$ , $**P < 0.01$ , $***P < 0.001$ 。下同。Note: Compared with control group,  $*P < 0.5$ ,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ . The same below.

取 15、30、45、60 min 四个时间梯度进行处理, 同样以 Western blot 法检测 C2C12 细胞中 Akt 的磷酸化水平。结果表明, 当处理时间为 15 min 时, 对 Akt 磷酸化有一定的促进效果 ( $P < 0.05$ ), 处理时间为 30 min 时, 对 C2C12 细胞 Akt 磷酸化达到最大促进效果 ( $P < 0.01$ ), 而在处理时间为 45 min 和 60 min 时, Akt 磷酸化的促进效果基本持平, 并略有减缓, 因此选择将 30 min 作为 PE 正向调控 C2C12 细胞 Akt 磷酸化水平的最适处理时间(见图 3C)。

有研究表面表明, Akt 是胰岛素刺激葡萄糖转运信号通路中的关键分子<sup>[21]</sup>, 能增强葡萄糖转运和代谢, 同时腺苷酸激活蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK) 和乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC) 也是与葡萄糖转运和糖脂代谢密切相关的酶。

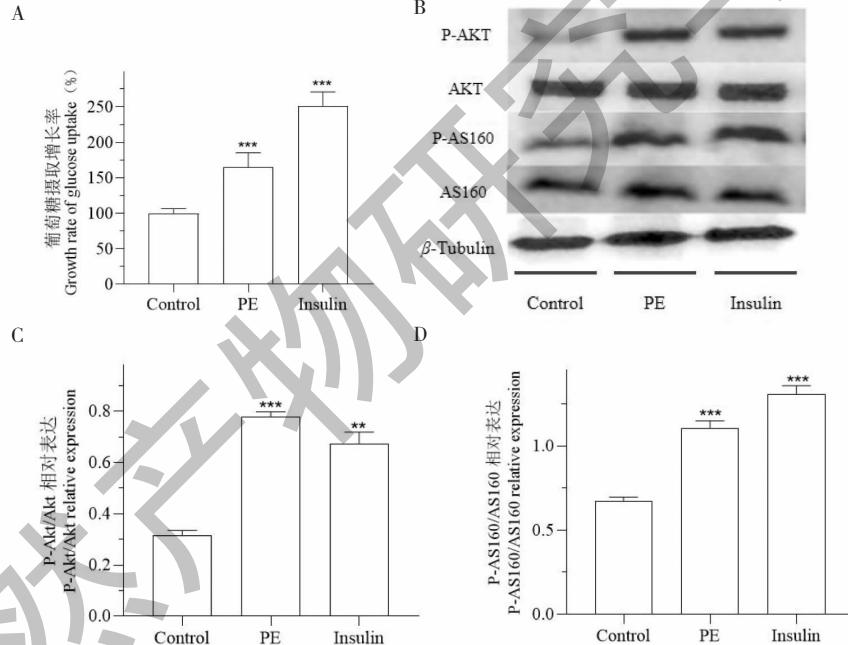


图 4 PE 促进 C2C12 细胞的葡萄糖吸收和刺激 Akt、AS160 的磷酸化水平

Fig. 4 PE promotes glucose uptake in C2C12 cells and stimulates the phosphorylation of Akt and AS160

我们又选取和咖啡因 (caffeine, 1 mg/mL, 30 min) 作为阳性对照, 验证了 PE (4 mg/mL, 30 min) 对 AMPK 和 ACC 的磷酸化水平的影响(见图 5), 通过实验我们发现 PE 对 AMPK 和 ACC 磷酸化水平没有影响。

#### 2.4 缬草花提取物与胰岛素的协同作用

胰岛素注射是当前糖尿病治疗的主要方法, 而通过实验发现 PE 与胰岛素都具有正向调控 Akt 磷

在诸多前期研究中, 在此胰岛素 (insulin, 1  $\mu$ L/mL, 30 min) 作用实验条件下<sup>[22]</sup>, 骨骼肌的 Akt 磷酸化水平显著增高, 因此可以作为可靠的阳性对照使用, 所以本文选取胰岛素 (insulin, 1  $\mu$ L/mL, 30 min) 作为阳性对照, 通过 PE (4 mg/mL, 30 min) 处理 C2C12 细胞, 与对照组相比, C2C12 细胞再经过 PE 处理后 Akt 磷酸化水平显著增加, 同在葡萄糖转运信号通路下游的 Akt 底物 (Akt Ser/Thr kinase, AS160) 的磷酸化水平也明显增加(见图 4C、4D)。为了考察 PE 的降糖活性, 通过 2-NBDG 法检测细胞对葡萄糖的摄取量, 如图 4A 示, 与对照组相比, C2C12 细胞再经过 PE (4 mg/mL, 30 min) 处理后对葡萄糖摄取量显著提高, 葡萄糖摄取量提高了 1.65 倍。

酸水平的作用后, 下一步, 我们对 PE 是否有可能与胰岛素发生协同作用进行了验证。实验结果表明, 经 PE (4 mg/mL, 30 min) 和胰岛素 (insulin, 1  $\mu$ L/mL, 30 min) 单独处理后 C2C12 细胞中 Akt 磷酸化水平与对照组相比有显著上升 ( $P < 0.01$ )。PE 和胰岛素协同作用组 (PE, 4 mg/mL, 30 min + insulin, 1  $\mu$ L/mL, 30 min) 比 PE 和胰岛素单独处理组又有显著上升 ( $P < 0.01$ ), 这个结果说明, PE 和胰岛素

都能够有效正向调控 C2C12 细胞 Akt 的磷酸化水平,同时 PE 和胰岛素还表现出了良好的协同作用

效果(见图 6A、6B)。

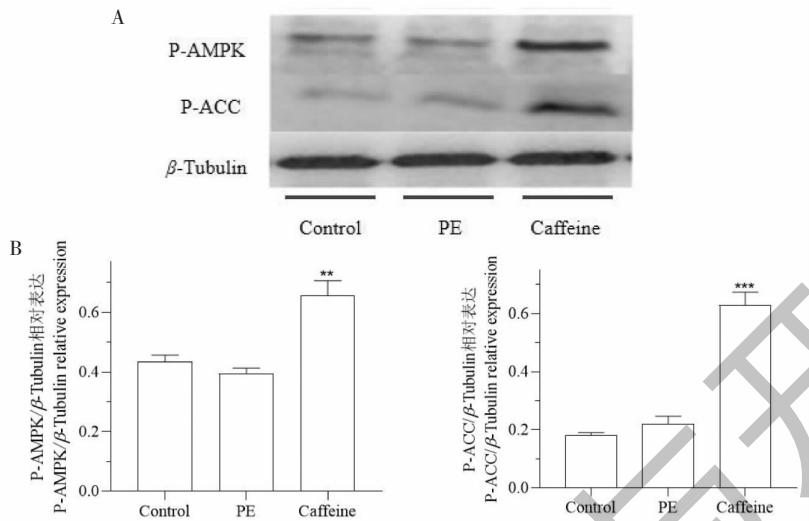


图 5 PE 对 C2C12 细胞 P-AMPK 和 P-ACC 的影响

Fig. 5 The effect of PE on P-AMPK and P-ACC in C2C12 cells

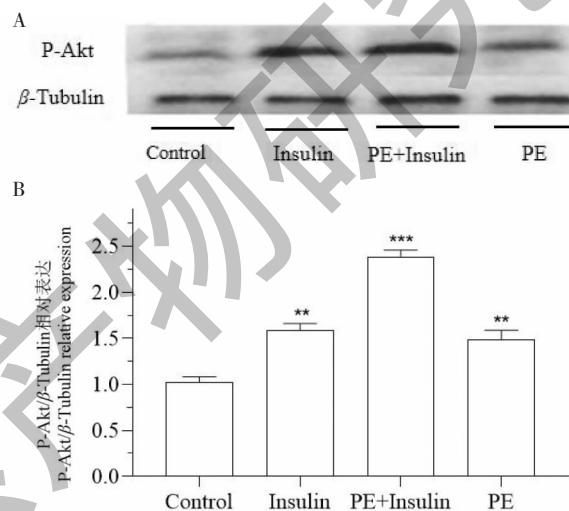


图 6 PE 与胰岛素的协同作用

Fig. 6 The synergistic effect of PE and insulin

### 3 讨论与结论

本实验通过 GC-MS 检测了缅栀花提取物,对缅栀花挥发油中主要化学成分的分离鉴定,检测出脂肪酸、酯类、烷烃类、萜类等 12 种主要成分,其中含量较多为十六酸、肉豆蔻酸等。目前已有相关文献报道,酚类、萜类、烷烃类物质具有明显的降糖作用,缅栀花中含有这些成分,可能是这些成分对于降糖产生了一定效果。对缅栀花挥发油的成分和组成的研究结果进行报道,为其进一步开发利用打下基础。

通过实验,发现在研究中选取的 PE 浓度范围,未对 C2C12 细胞的生长和状态带来毒副影响,在各组细胞数量基本一致的情况下,可以排除细胞状态异常带来的极端影响,所取得的数据可信度较高。C2C12 细胞中的 Akt 在糖转运和代谢信号转导中发挥重要作用,PI3K/Akt/GIUT4 途径被公认为是体内胰岛素介导糖摄取的主要信号通路之一<sup>[23]</sup>。AMPK 作为细胞内能量水平的感受器,当细胞内能量水平降低时,AMPK 通过磷酸化机制被激活,促进细胞葡

萄糖转运子向细胞膜易位,通过向细胞内转运葡萄糖来维持细胞能量水平,ACC为AMPK的下游因子。因此,我们也对与葡萄糖转运信号通路相关的AMPK以及ACC等关键酶是否也受到PE的影响进行了进一步的验证,结果PE处理对C2C12细胞中的AMPK和ACC没有影响。

PE对C2C12细胞中的Akt具有正向调控作用,与Akt分子有紧密调控关系,这与胰岛素依赖性糖转运信号通路的机理机制相似,因此,我们对PE与胰岛素的协同作用也进行了探究。经过实验证明了PE与胰岛素联用后,对Akt的刺激作用均强于PE或胰岛素单独作用,显示了较好协同效应,从正向调控C2C12细胞中Akt活性的角度,明确了PE具有与胰岛素类似或者提升胰岛素敏感性的作用,提供了缅栀花在医药健康领域应用基础研究依据。

目前,对缅栀花化学成分、功效、加工方法等方面的研究还比较有限,本研究通过缅栀花水提物的成分分析,鉴定分离缅栀花的主要成分及含量,并发现了缅栀花提取物对C2C12细胞Akt磷酸化水平的正向调控作用,明确了缅栀花水提物与胰岛素的协同作用,为缅栀花在医药和保健品方面的应用提供了一定的理论依据和新的开发思路。

## 参考文献

- Xie CJ, Dai SX. Analysis of aroma components of *Plumeria* and *Plumeria* tea [J]. Guangdong Tea Ind(广东茶业), 1992, (2): 34-37.
- Hong T, Yu B, Lu Y, et al. Advances in studies on chemical compositions and biological activities of *Plumeria rubra* [J]. Nat Prod Res(天然产物研究与开发), 2011, 23: 565-568.
- Huang XC, Li Y, Zhang SR, et al. Study on essential oil extraction of *Plumeria rubra* L. and its antioxidant and antibacterial activity [J]. Guangzhou Chem Ind(广州化工), 2017, 45(12): 31-33.
- Chen S, Huang JS, Wang J. Extraction of total flavonoids from *Plumeria* by ultrasonic and SDS and determination of its free radical scavenging activity [J]. Agr Jilin(吉林农业), 2017, (3): 70-72.
- Hu ZJ, Zhang XH, Zhang YH, et al. Effects of xinkaiujiang formula on insulin sensitivity and glucolipid metabolism in KKAY mice with incipient type 2 diabetes mellitus [J]. World Chin Med(世界中医药), 2014, 9: 774-777.
- Li Y, Teng D, Shi X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study [J]. BMJ, 2020, 369: m997.
- Abdin AA, Baalash AA, Hamooda HE. Effects of rosiglitazone and aspirin on experimental model of induced type 2 diabetes in rats: focus on insulin resistance and inflammatory markers [J]. J Diabetes Complicat, 2010, 24(3): 168-178.
- Dimopoulos N, Watson M, Sakamoto K, et al. Differential effects of palmitate and palmitoleate on insulin action and glucose utilization in rat L6 skeletal muscle cells [J]. Biochem J, 2006, 399: 473-481.
- Wang Q, Li MZ, Zhang H, et al. Effects of nesfatin-1 on PI3K/AKT signaling pathway and the expression of GSK-3 $\beta$  and GLUT-4 in insulin-resistant skeletal muscle cells [J]. Chin J Gerontol(中国老年学杂志), 2021, 41: 330-334.
- Li B, Fan Y, Li X, et al. Research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus based on PI3K/Akt signaling pathway [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2017, 39(1): 151-154.
- Liu J, Deng XM, Zhao B, et al. Determination of 15-to methyl frangipani glycosides in *Plumeria rubra* with HPLC [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报), 2015, 21(18): 38-40.
- Li Y, Liu JJ, Yang M, et al. Studies on the constituents of essential oil from the flower of *Plumeria rubra* Linn. cv. acutifolia by GC-MS [J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2006(4): 2-3.
- Gao ZR, Huang J, Liu JY, et al. Research advances in the volatile components and pharmacological effects of *Plumeria rubra* L. [J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2012, 40: 10067-10070.
- Li S, Chen K, Zhang LJ, et al. Content determination and extraction process of total iridoid in *Plumeria rubra* [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2015, 32: 300-303.
- Lin LZ. The pharmacognostical study of *Plumeria Flos* [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University(广东药学院), 2015.
- Zhang SN, Song HZ, Ma RJ, et al. Potential anti-diabetic isoprenoids and a long-chain $\delta$ -lactone from frangipani (*Plumeria rubra*) [J]. Fitoterapia, 2020, 146: 104684.
- Cong PZ, Li SY. Natural Organic Matter Spectroscopy(天然有机质谱学) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2003: 783-1107.
- Huang XJ, Chu Z, Fang YM, et al. Research progress on hypoglycemic mechanism of plant polyphenols [J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2021, 42: 453-461.
- Zheng GH, Piao HS. Antidiabetic activity of three terpenoids

- and their glycosides [J]. West Chin J Pharm Sci (华西药学杂志), 2011, 26: 294-297.
- 20 Han M. Essential oil extraction from *Plumeria rubra* linn and its component analysis [J]. J Anhui Agr Sci (安徽农业科学), 2007, 6: 6100-6102.
- 21 Luo W, Ai L, Wang BF, et al. High glucose inhibits myogenesis and induces insulin resistance by down-regulating AKT signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 120: 109498.
- 22 Ma X, Iwanaka N, Masuda S, et al. Morus alba leaf extract stimulates 5'-AMP-activated protein kinase in isolated rat skeletal muscle [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 122 (1): 54-59.
- 23 Thong FS, Dugani CB, Klip A. Turning signals on and off: GLUT4 traffic in the insulin-signaling highway [J]. Physiology (Bethesda), 2005, 20: 271-284.

## 大麻中抗癫痫作用新化合物的发现

大麻被用来治疗癫痫已有几千年的历史,在被禁用之前,医生经常为此开出处方。近年来,药用大麻在全世界被合法化地广泛使用,部分原因是手工大麻产品对患有严重、难治性癫痫的儿童具有显著的治疗效果。大麻提取物是一种复杂的生物活性混合物,包括被称为植物性大麻素的140种萜类化合物,其中主要的精神活性植物大麻素 $\Delta^9$ -四氢大麻酚( $\Delta^9$ -THC)和非毒性成分大麻二酚(CBD)都具有明确的药理作用。尽管 $\Delta^9$ -THC显示出复杂的促惊厥和抗惊厥作用,但CBD在多个临床前模型中表现出抗惊厥特性。前期研究已经发现了一系列的植物性大麻素,它们可以减少动物模型中的癫痫活动和发作,包括 $\Delta^9$ -四氢大麻二甲基苯酚( $\Delta^9$ -THCV)、大麻素(CBDV)和大麻二酚酸(CBDA)。

因此,对大麻植物的进一步探索可能会发现更多的对Dravet综合症等耐药性癫痫有疗效的先导分子。来自悉尼大学的Lyndsey L. Anderson及其团队使用Dravet综合征的 $Scn1a^{+/-}$ 小鼠模型来评估了七种不同的植物性大麻素的抗惊厥活性,包括大麻萜酚酸(CBGA, 大麻植物中作为 $\Delta^9$ -THC和CBD生物合成前体的分子)。最初的筛选确定了三种具有新型抗惊厥特性的植物性大麻素,分别是CBGA、次大麻酚酸(CBDVA)和次大麻萜酚酸(CBGVA)。CBGA对高热诱发的和自发的癫痫发作的抗惊厥作用最强,并增强了氯巴扎姆的抗惊厥作用,在MES阈值实验中具有抗惊厥作用。然而,CBGA在6 Hz阈值实验中具有促惊厥作用,而且高剂量会增加 $Scn1a^{+/-}$ 小鼠的自发发作频率。CBGA被发现能够与许多癫痫相关的靶点相互作用,包括GPR55、TRPV1通道和GABAA受体。这些结果表明,CBGA、CBDVA和CBGVA可能有助于大麻类产品对儿童癫痫的疗效,可以作为药物开发计划的先导化合物。相关研究发表在《British Journal of Pharmacology》杂志上。

胡乃华编译自:<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.15661>

原文标题:Cannabigerolic acid, a major biosynthetic precursor molecule in cannabis, exhibits divergent effects on seizures in mouse models of epilepsy