

# 山茱萸中马钱苷和莫诺苷对 HepG2 细胞及其胰岛素抵抗模型的影响研究

黄明辉<sup>1</sup>, 葛长杰<sup>2</sup>, 于淑娟<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 南阳龙茵生物科技有限公司, 河南南阳 474550)

**摘要:** 本文通过微波辅助提取、有机溶剂萃取、大孔树脂、制备色谱和 HPLC 等方法对山茱萸活性成分进行分离、纯化和鉴定, 得到马钱苷和莫诺苷两种主要成分。考察了正丁醇 30%乙醇洗脱相 (Fr. Bu-2)、马钱苷、莫诺苷对 HepG2 细胞及其胰岛素抵抗模型摄取葡萄糖的影响以及对 HepG2 细胞的毒性作用, 结果发现, 马钱苷和莫诺苷对 HepG2 细胞增殖没有显著影响; Fr. Bu-2、马钱苷和莫诺苷均能显著促进 HepG2 细胞葡萄糖摄取 (GU), 其中马钱苷促进作用最强, 且呈剂量依赖性, 在 0.5 mg/mL 浓度时, 马钱苷组和莫诺苷组 GU 分别是对照组的 3.24 倍和 1.64 倍; 此外, Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷在高浓度 ( $\geq 0.1$  mg/mL) 下均能显著促进胰岛素抵抗模型细胞 GU, 在 0.5 mg/mL 浓度时, 马钱苷组和莫诺苷组的模型细胞 GU 分别为对照组的 1.76 倍和 1.27 倍。这些结果说明 Fr. Bu-2、马钱苷和莫诺苷均能通过促进 HepG2 细胞及其胰岛素抵抗模型摄取葡萄糖发挥降血糖作用。

**关键词:** 山茱萸; 降血糖; 葡萄糖摄取; 胰岛素抵抗

文章编号: 1673-9078(2017)4-13-18

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.003

## Effects of Loganin and Morroniside Extracted from *Cornus officinalis* on HepG2 Cells and Their Insulin Resistance Model

HUANG Ming-hui<sup>1</sup>, GE Chang-jie<sup>2</sup>, YU Shu-juan<sup>1</sup>

(1. College of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Long Yin Biological Technology Co., Ltd., Nanyang 474550, China)

**Abstract:** Microwave-assisted extraction, organic solvent extraction, macroporous resin chromatography, preparative chromatography, and high-performance liquid chromatography (HPLC) were used to isolate, purify, and identify active ingredients from *Cornus officinalis*. Two main types of iridoid glycosides—loganin and morroniside—were isolated, and the fraction eluted using *n*-butanol 30% ethanol (Fr. Bu-2) was used to investigate the effects of loganin and morroniside on glucose uptake (GU) by HepG2 cells and a HepG2 cell insulin resistance model; their cytotoxic effects on HepG2 cells were also assessed. The results showed that loganin and morroniside had no significant effect on cell proliferation. Fr. Bu-2, loganin, and morroniside could significantly promote GU by HepG2 cells. Among them, loganin exhibited the strongest promotion effect in a dose-dependent manner. The GU with 0.5 mg/mL loganin and morroniside was about 3.24 and 1.64 times that of the control group, respectively. Moreover, high concentrations ( $\geq 0.1$  mg/mL) of Fr. Bu-2, loganin, and morroniside could significantly promote GU by HepG2 insulin resistance model cells, especially loganin. The GU with 0.5 mg/mL loganin and morroniside was about 1.76 and 1.27 times that of the control group, respectively. In summary, Fr. Bu-2, loganin, and morroniside can exert a hypoglycemic effect by promoting GU by HepG2 cells and their insulin resistance model.

**Key words:** *Cornus officinalis*; hypoglycemia; glucose uptake; insulin resistance

HepG2 细胞是人肝癌细胞株, 具有正常肝细胞的基本生理特性<sup>[1]</sup>, 能够正常吸收葡萄糖, 生成脂质,

收稿日期: 2016-05-11

基金项目: 农业科技成果转化资金项目 (2013GB23600669)

作者简介: 黄明辉 (1989-), 男, 硕士研究生, 主要从事制糖工程、功能碳水化合物, 天然产物提取与活性研究

通讯作者: 于淑娟 (1955-), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事制糖工程,

功能碳水化合物, 碳水化合物分子修饰的研究

合成 RNA, 并且保持了糖原合成酶的活性<sup>[2]</sup>。细胞表面具有众多的胰岛素受体<sup>[3]</sup>, 具有高表达和高亲和力的特征, 能够正常的完成胰岛素转导过程, 加上癌细胞的无限增殖的特性, 使得 HepG2 肝癌细胞成为体外研究糖代谢过程的重要靶细胞之一。

胰岛素抵抗 (Insulin Resistance, IR) 是机体可以产生足够的胰岛素, 但可能由于多种原因, 胰岛素不能完全发挥作用, 或者效果成倍降低, 导致敏感性下降,

肝脏是胰岛素作用靶器官之一,发生 IR 时,胰岛素和肝细胞上胰岛素受体作用减弱,肝细胞对葡萄糖摄取和利用降低,同时肝糖原的释放增加,目前,研究者对 IR 研究的手段多用体外 IR 模型,体外胰岛素细胞模型具有易于复制、价格低廉、便于控制等优点。Liang 等<sup>[4]</sup>利用 HepG2 细胞研究了 3DG 诱导 HepG2 细胞胰岛素抵抗机制。姜等<sup>[5]</sup>利用 HepG2 胰岛素抵抗模型研究了女贞子中 8 中化合物对抵抗模型摄取葡萄糖的影响。Zhu 等<sup>[2]</sup>也利用 HepG2 细胞及其 IR 模型研究了菊苣酸对其摄取葡萄糖的影响,另外也有研究者利用 HepG2 胰岛素抵抗模型对降血糖活性成分进行筛选<sup>[6]</sup>。因此 HepG2 是体外研究肝 IR 的理想细胞模型。

中药山茱萸(*Cornus officinalis*)为山茱萸科山茱萸属植物,中医临床上常以其成熟果实去核后入药,为我国传统珍贵的中药材。因具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗肿瘤和调节免疫等多种生物活性而成为近年来研究的热点。随着糖尿病的防治成为全球性的卫生健康问题,山茱萸具有的降糖作用越来越受到国内外学者的重视<sup>[7]</sup>。

目前,也有报道山茱萸改善胰岛素抵抗的研究,孙亚京等<sup>[8]</sup>研究了山茱萸总萜对 PCOS 大鼠及其卵巢颗粒细胞分泌作用,结果显示山茱萸总萜可改善 IR 细胞葡萄糖摄取,并增加其雌激素和孕酮的分泌。Kim 等<sup>[9]</sup>研究了山茱萸提取物对 db/db 小鼠葡萄糖摄取和 IR 的影响,结果发现山茱萸提取物可以在高糖环境下增加葡萄糖的摄取并改善 IR。目前为止,还没有研究报道利用 HepG2 胰岛素抵抗细胞模型来研究山茱萸提取物对 IR 的影响。因此本文旨在研究山茱萸各提取组分对 HepG2 肝癌细胞及其胰岛素抵抗模型摄取葡萄糖的影响。

## 1 原料、试剂及仪器

山茱萸原料产自河南西峡县

主要试剂:莫诺昔标准品(≥98%)、马钱子苷标准品(≥98%)、购自于阿拉丁试剂,胰岛素购自于 Sigma 公司,盐酸二甲双胍为市售降糖药,葡萄糖检测试剂盒购自于南京建成生物科技有限公司。

主要仪器: MARS6 微波萃取系统(美国 CEM 公司), Waters 液相色谱仪。

### 1.1 样品提取及分离

在乙醇浓度 30%、料液比 1:10、提取温度 90 °C、提取时间 5 min 下,进行微波辅助提取,将提取液离心、过滤、旋转蒸发浓缩,冷冻干燥得到山茱萸浸膏。将山茱萸浸膏用超纯水制成悬液,然后用有机溶剂依

次分级萃取,得到石油醚相,氯仿相,乙酸乙酯相,正丁醇相和水相。将正丁醇相用大孔树脂 D101 吸附,分别用梯度乙醇洗脱(10%、30%、50%、70%和 90%),将洗脱液旋转蒸发浓缩、冷冻干燥得到五种正丁醇组分(10%、30%、50%、70%和 90%),用 Fr. Bu-1、Fr. Bu-2、Fr. Bu-3、Fr. Bu-4 和 Fr. Bu-5 表示。将 Fr. Bu-2 通过制备色谱分离得到莫诺昔和马钱昔。

### 1.2 提取物鉴定

采用液相色谱-紫外阵列检测器-质谱联用分析 Fr. Bu-2 中成分。高效液相色谱分离条件: Waters C18 分析柱(4.6 mm×250 mm ID, 5.0 μm),进样量 20 μL,流动相为甲醇和水,流速 1 mL/min,流动相洗脱步骤 0~8 min: 28%甲醇, 8~15 min: 28%~35%甲醇, 15~20 min: 35%~85%甲醇, 20~50 min: 85%甲醇。紫外阵列检测器条件: 波长 210~400 nm 扫描, 2D 通道 240 nm。

### 1.3 对 HepG2 肝癌细胞模型葡萄糖摄入的影响

按照 Huang 等人<sup>[10]</sup>的方法稍作改动,采用高糖 DMEM 细胞培养液(4.5 g/L)培养的 HepG2 肝癌细胞为模型,研究山茱萸提取物对 HepG2 肝癌细胞葡萄糖摄入(Glucose Uptake GU)的影响。将对数期生长的 HepG2 细胞按照细胞传代的步骤,将细胞制成单细胞悬液。然后稀释成 10<sup>4</sup> cells/mL,然后以每孔 100 μL 将细胞接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后,更换为不含胎牛血清的 DMEM 的不完全培养液,培养 16 h,让细胞适应无血清的环境,然后弃去培养基,加入各组培养液,实验设置空白组(无细胞)、对照组(不加药)、胰岛素组(10<sup>-4</sup> mg/mL)、盐酸二甲双胍组(0.01 mg/mL)、药物组(0.5、0.2、0.1、0.05、0.01 mg/mL),其中药物组包括 Fr. Bu-2、马钱昔、莫诺昔,每组 6 个平行,继续培养 24 h,然后用葡萄糖检测试剂盒检测培养液上清中葡萄糖的含量, GU=空白组葡萄糖含量-药物组葡萄糖的含量。

### 1.4 对 HepG2 细胞增殖的影响

按照 Chen 等人<sup>[11]</sup>的方法进行改进,采用噻唑蓝(MTT)检测法,在 1.3 的基础上,弃去 96 孔板中培养液,然后在每孔中加 100 μL MTT(0.5 mg/mL)溶液,在培养箱中反应 4 h,弃去 MTT 溶液,每孔加入 150 μL 二甲基亚砜(DMSO),室温下轻轻摇晃 10 min,充分溶解甲瓩(Formazan),然后于酶标仪 490 nm 处检测吸光度值,以吸光值反映活细胞的数量。

### 1.5 HepG2 胰岛素抵抗模型构建

以每孔  $10^3$  个细胞接种于 96 孔培养板内,待贴壁后,更换不含血清的培养液培养 16 h,然后加入各组培养液,分为对照组及模型组,模型组加入含有不同梯度浓度 ( $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  mg/mL) 的胰岛素,培养 36 h,然后弃去培养液,用 PBS 清洗细胞,加入正常高糖培养液培养 24 h,用葡萄糖检测试剂盒检测培养液上清葡萄糖含量,选择葡萄糖消耗量最少的浓度为最佳胰岛素浓度。

同样上述操作方法,选择最佳胰岛素浓度,作用 24、36、48、60 h,然后用 PBS 清洗细胞,换正常高糖培养液培养 24 h,然后用葡萄糖检测试剂盒检测培养液上清葡萄糖含量,选择葡萄糖消耗量随浓度变化最小的时间为最佳培养时间。

### 1.6 对 HepG2 胰岛素抵抗模型葡萄糖摄入的影响

取对数期的生长细胞,以每孔  $100 \mu\text{L}$ 、 $10^3$  个细胞接种于 96 孔板内,待细胞单层贴壁后换无血清培养液,培养 16 h 后换各组培养液,分为空白组、对照组、胰岛素抵抗模型组,空白组不加细胞,对照组加入正常培养液,模型组加入筛选的最佳胰岛素浓度的培养液,培育到造模的最佳时间,然后弃去培养液,换上无血清的培养基,设置对照组、模型加药组,药物组包括盐酸二甲双胍组、山茱萸提取物组,培养 24 h 后计算各组细胞葡萄糖摄取量。

### 1.7 数据处理与分析

采用 SPSS 22 进行方差和显著性分析,通过 Origin 8.5 作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取物的鉴定分析

通过 HPLC-PAD-MS 分析,Fr. Bu-2 在 240 nm 左右有最大吸收,因此选用 240 nm 为紫外检测器 2D 色谱通道,色谱图如图 2,可知其中 1 号峰和 2 号峰为其主要成分,通过光谱图和质谱图(图 2 和图 3)发现,1 号峰在 239.8 nm 处有最大吸收,质荷比  $[m/z]$  为 424,2 号峰在 236.2 nm 处有最大吸收,质荷比  $[m/z]$  为 408,经过分析 1 号峰为莫诺昔,2 号峰为马钱苷,通过与标准品对比,如图 4,马钱苷保留时间为 17.43 min,莫诺昔保留时间为 8.18 min,与 Fr. Bu-2 色谱图

吻合,说明 Fr. Bu-2 中主要成分为马钱苷和莫诺昔。

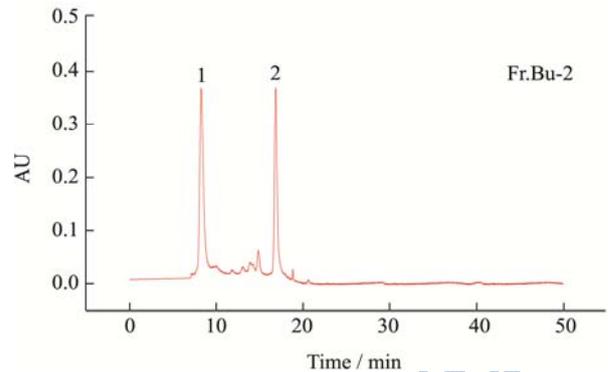


图 1 正丁醇 30%乙醇洗脱相 HPLC-PAD 色谱图

Fig.1 HPLC-PAD chromatogram of Fr. Bu-2

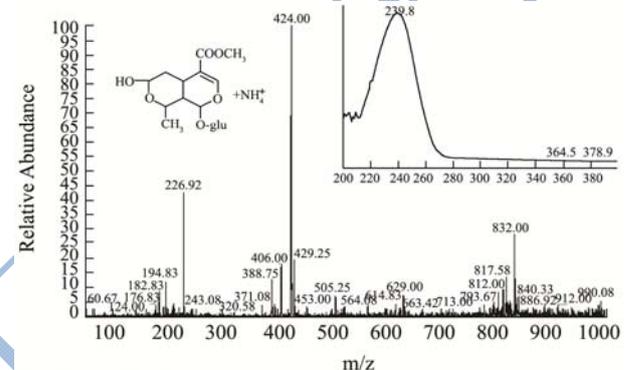


图 2 正丁醇 30%乙醇洗脱相 1 号峰光谱与质谱图

Fig.2 UV and MS spectra of the first peak of Fr. Bu-2

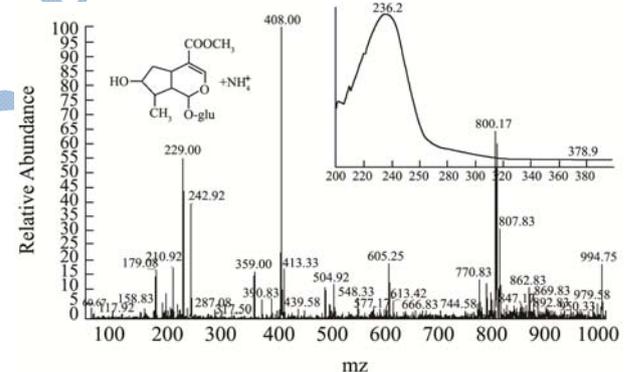


图 3 正丁醇 30%乙醇洗脱相 2 号峰光谱与质谱图

Fig.3 UV and MS spectra of the second peak of Fr. Bu-2

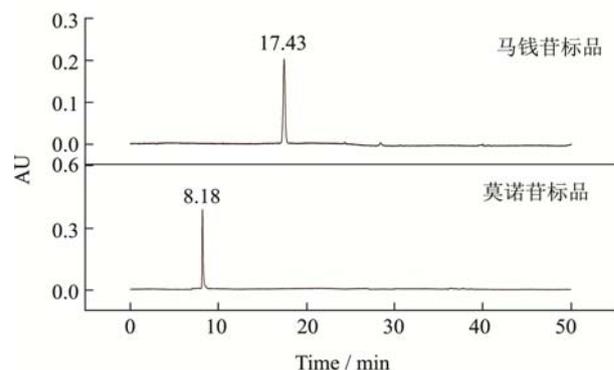


图 4 马钱苷和莫诺昔标准品 HPLC-PAD 色谱图

Fig.4 HPLC-PAD chromatograms of loganin and morroniside

## 2.2 对 HepG2 肝癌细胞模型葡萄糖摄入的影响

响

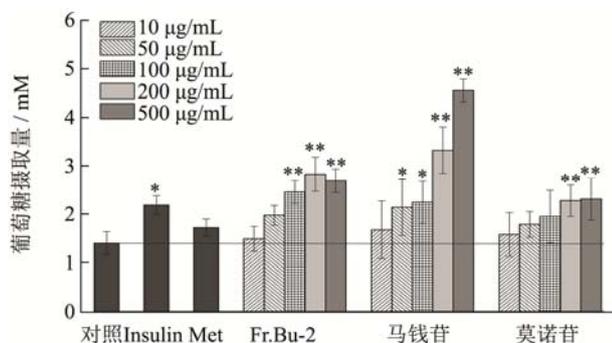


图5 提取物对 HepG2 细胞葡萄糖摄入的影响

Fig.5 Effects of extracts on glucose uptake by HepG2 cells

注: 均与阳性对照组 Met 相比, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

实验分为对照组 (不加药)、胰岛素组 ( $10^{-4}$  mg/mL)、盐酸二甲双胍组 ( $10^{-2}$  mg/mL)、Fr. Bu-2 组、马钱苷组、莫诺苷组。如图 5 所示, Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷均能不同程度促进 HepG2 细胞葡萄糖摄取 (GU), 随浓度升高, Fr. Bu-2 组 GU 先升高后略微降低, 在  $0.2 \text{ mg/mL}$  浓度时, GU 约为对照组的 2 倍, 马钱苷能够显著促进 GU, 促进作用呈剂量依赖性, 浓度越高, 促进作用越强, 在  $0.5 \text{ mg/mL}$  浓度时, GU 是对照组的 3.24 倍。莫诺苷也能在一定程度上促进 GU, 在  $0.5 \text{ mg/mL}$  浓度时 GU 为对照组的 1.64 倍, 而阳性对照组盐酸二甲双胍 (Met) 在  $0.01 \text{ mg/mL}$  时 GU 为对照组的 1.22 倍, 胰岛素 (Insulin) 为对照组的 1.55 倍。可以看出, 三种物质的促进作用均要优于阳性对照。因此得出结论 Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷均能通过促进肝癌细胞摄取葡萄糖发挥降血糖作用。

## 2.3 对 HepG2 细胞增殖的影响

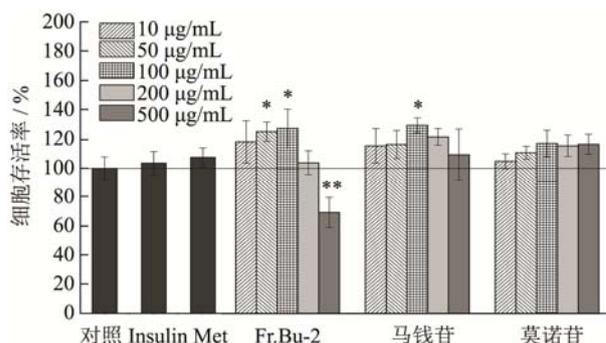


图6 提取物对 HepG2 细胞增殖的影响

Fig.6 Effects of extracts on the proliferation of HepG2 cells

注: 均与阳性对照组 Met 相比, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

由图 6 可知, 胰岛素和盐酸二甲双胍对 HepG2 细胞增殖没有显著影响, Fr. Bu-2 在高浓度对细胞具有显著的增殖抑制作用, 说明高浓度的 Fr. Bu-2 对 HepG2 细胞有一定的毒性作用, 能够抑制 HepG2 细胞的增殖, 因此, 可以解释 2.2 中 Fr. Bu-2 随浓度升高对葡萄糖吸收先升高后略微降低的现象, 马钱苷和莫诺苷对细胞没有显著的增殖抑制作用。

## 2.4 HepG2 胰岛素抵抗模型构建

为了构建胰岛素抵抗 (Insulin Resistance IR) 模型细胞, 从胰岛素浓度和培养时间两个因素分别考察了对葡萄糖摄取的影响, 由表 1 可知, 在高浓度胰岛素 ( $\geq 10^{-3} \text{ mg/mL}$ ) 下, 葡萄糖摄取量反而较低, 说明 HepG2 细胞发生了胰岛素抵抗, 因此选用  $10^{-3} \text{ mg/mL}$  浓度作为胰岛素抵抗最佳浓度进行下一步培养时间的筛选。如表 2 所示, 培养时间由 24 h 到 36 h, 葡萄糖消耗量显著升高, 36 h 后葡萄糖消耗量上升缓慢, 说明在 36 h 时达到最佳胰岛素抵抗, 因此选用胰岛素浓度为  $10^{-3} \text{ mg/mL}$ 、培养时间 36 h 来构建最佳胰岛素抵抗模型, 用于下一步实验。

表 1 构建胰岛素抵抗模型 (胰岛素浓度)

Table 1 Construction of insulin resistance model (concentrations of insulin)

胰岛素浓度/(mg/mL)	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
葡萄糖摄取量/(mM)	2.39±0.07	2.44±0.12	2.42±0.10	2.66±0.11	2.88±0.31	3.28±0.32

表 2 构建胰岛素抵抗模型 (培养时间)

Table 2 Construction of insulin resistance model (incubation time)

培养时间/h	24	36	48	60	72
葡萄糖消耗量/mM	2.13±0.31	2.49±0.25	2.55±0.20	2.61±0.12	2.66±0.22

## 2.5 对 HepG2 胰岛素抵抗模型葡萄糖摄入的影响

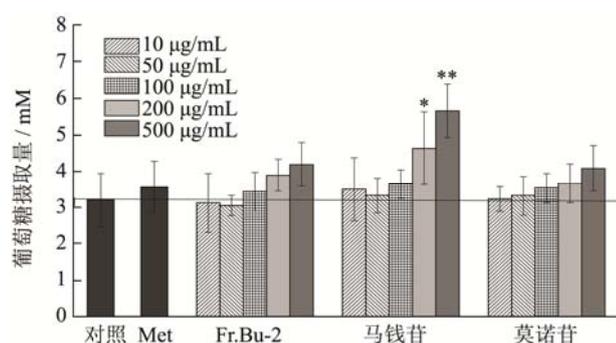


图7 提取物对 HepG2 胰岛素抵抗模型细胞葡萄糖摄入的影响

Fig.7 Effects of extracts on glucose uptake of HepG2 insulin resistance model cells

注: 均与阳性对照组 Met 相比, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

按照 2.4 的方法构建 HepG2 细胞 IR 模型, 将不同浓度 Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷分别作用于 IR 模型, 结果如图 7, Fr. Bu-2 组随浓度升高 GU 逐渐升高, 在高浓度 ( $\geq 0.1$  mg/mL) 下促进模型细胞葡萄糖摄入, 马钱苷能够显著增加模型细胞的葡萄糖摄取量, 浓度越高, 葡萄糖摄取量越大, 在 0.5 mg/mL 浓度时, 摄入量为对照组的 1.76 倍, 莫诺苷在低浓度都模型细胞 GU 没有显著影响, 在 0.5 mg/mL 时, GU 为对照组的 1.27 倍。在 0.5 mg/mL 时, Fr. Bu-2 的促进作用没有马钱苷强, 与高浓度 Fr. Bu-2 的细胞毒性作用有关。因此得出结论, Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷对模型细胞葡萄糖摄取均有一定的促进作用, 其中马钱苷促进作用最强, 说明 Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷能在一定程度上改善胰岛素抵抗。

## 2.6 讨论

Fr. Bu-2 中主要成分马钱苷和莫诺苷对细胞没有显著的增殖抑制作用, 而 Fr. Bu-2 在高浓度时对 HepG2 细胞有显著的毒性作用, 说明 Fr. Bu-2 中含有具有高细胞毒性的其它物质, 这些物质虽然含量较低, 但是具有很高的 HepG2 细胞毒性, 可以作为抗癌活性物质进行进一步研究。Fr. Bu-2 中的马钱苷在高浓度时能显著促进 HepG2 细胞以及胰岛素抵抗模型的葡萄糖摄入量, 而其中的莫诺苷仅对 HepG2 正常细胞有促进作用, 而在高浓度的时候, Fr. Bu-2 对胰岛素抵抗模型的葡萄糖摄入的促进作用不显著, 主要是因为其细胞毒性作用。

## 3 结论

3.1 利用微波辅助提取、有机溶剂萃取、大孔树脂富集、制备色谱和 HPLC-PAD-MS 等方法对山茱萸活性成分进行分离、纯化和鉴定, 得到两种主要的环烯醚

萜苷类物质马钱苷和莫诺苷。MTT 实验发现马钱苷和莫诺苷对 HepG2 细胞增殖没有显著影响, Fr. Bu-2 在高浓度抑制 HepG2 细胞增殖, 具有一定的细胞毒性作用。通过葡萄糖摄取实验发现, Fr. Bu-2、马钱苷和莫诺苷均能不同程度促进 HepG2 细胞葡萄糖摄取 (GU), 0.2 mg/mL 正丁醇 30%乙醇洗脱相葡萄糖摄取量约为对照组的 2 倍, 马钱苷能够显著促进 GU, 促进作用呈剂量依赖性, 浓度越高, 促进作用越强, 在 0.5 mg/mL 浓度时, GU 是对照组的 3.24 倍, 莫诺苷也能在一定程度上促进 GU, 在 0.5 mg/mL 浓度时 GU 为对照组的 1.64 倍。建立胰岛素抵抗模型后发现, Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷在高浓度 ( $\geq 0.1$  mg/mL) 下促进模型细胞葡萄糖摄入, 马钱苷能够显著增加模型细胞的葡萄糖摄取量, 浓度越高, 葡萄糖摄取量越大, 在 0.5 mg/mL 浓度时, 摄入量为对照组的 1.76 倍, 莫诺苷在低浓度都模型细胞 GU 没有显著影响, 在 0.5 mg/mL 时, GU 为对照组的 1.27 倍。

3.2 因此得出结论, Fr. Bu-2、马钱苷、莫诺苷均能通过促进肝癌细胞摄取葡萄糖发挥降血糖作用, 也可以在一定程度上促进胰岛素抵抗模型细胞摄取葡萄糖, 改善胰岛素抵抗, 缓解 2 型糖尿病症状, 可以作为治疗糖尿病的潜在药物。

## 参考文献

- [1] Cordero-Herrera I, Angeles Martin M, Goya L, et al. Cocoa flavonoids attenuate high glucose-induced insulin signalling blockade and modulate glucose uptake and production in human HepG2 cells [J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 64(2): 10-19
  - [2] Zhu D, Wang Y, Du Q, et al. Cichoric acid reverses insulin resistance and suppresses inflammatory responses in the glucosamine-induced HepG2 cells [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(51): 10903-10913
  - [3] Williams J F, Olefsky J M. Defective insulin receptor function in down-regulated HepG2 cells [J]. Endocrinology, 1990, 127(4): 1706-1717
  - [4] Liang G, Wang F, Song X, et al. 3-Deoxyglucosone induces insulin resistance by impairing insulin signaling in HepG2 cells [J]. Molecular Medicine Reports, 2016, 13(5): 4506-4512
  - [5] 姜斐, 姚楠, 钱士辉, 等. 女贞子中 8 个化合物对胰岛素抵抗 HepG2 细胞葡萄糖消耗的影响 [J]. 海峡药学, 2010, 22(1): 164-167
- JIANG Fei, YAO Nan, QIAN Shi-hui, et al. The effect of eight compounds from ligustrum lucidum ait. on the glucose

- consumption of insulin resistance HepG2 cells [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2010, 22(1): 164-167
- [6] 张汝学,贾正平,李茂星,等.体外胰岛素抵抗细胞模型的建立及在药物筛选中的应用[J].中国药理学通报,2008,24(7): 971-976
- ZHANG Ru-xue, JIA Zheng-ping, LI Mao-xing, et al. The establishment of insulin resistant model *in vitro* and preliminary application for screening drugs [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2008, 24(7): 971-976
- [7] He K, Song S, Zou Z, et al. The hypoglycemic and synergistic effect of loganin, morroniside, and ursolic acid isolated from the fruits of *cornus officinalis* [J]. Phytotherapy Research, 2016, 30(2): 283-291
- [8] 孙亚京,刘丽冰,颜思思,等.山茱萸总萜调控伴胰岛素抵抗的PCOS大鼠及其卵巢颗粒细胞分泌作用的机制[J].云南中医学院学报,2014,37(5):9-12
- SUN Ya-jing, LIU Li-bing, YAN Si-si, et al. Dogwood total terpene regulation of PCOS rats with insulin resistance and its mechanism of ovarian granular cells secrete [J]. Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, 2014, 37(5): 9-12
- [9] Kim H J, Kim K, Lee T, et al. Antidiabetic effects of corni fructus extract on blood glucose and insulin resistance in db/db mice [J]. Toxicological Research. 2009, 25(2): 93-99
- [10] Huang Q, Chen L, Teng H, et al. Phenolic compounds ameliorate the glucose uptake in HepG2 cells' insulin resistance via activating AMPK anti-diabetic effect of phenolic compounds in HepG2 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 19(A): 487-494
- [11] Chen L, Kang Y. In vitro inhibitory effect of oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Makino) seed on key enzyme linked to Type 2 diabetes [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(2): 981-986