

## 葛根素抑制钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 活性发挥促尿糖作用研究

史永恒\*, 邓颖颖, 刘继平, 张恩户

陕西中医药大学 药学院, 陕西 咸阳 712046

**摘要:** **目的** 研究葛根素通过抑制钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT2) 发挥促尿糖、降血糖作用。**方法** 同源建模获得 SGLT2 蛋白虚拟结构, 以达格列净为阳性药, 与葛根素进行分子对接, 考察其分子结合强弱; 采用能稳定表达人 SGLT2 (hSGLT2) 蛋白的中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞、以  $^{14}\text{C}$ -甲基葡萄糖苷 ( $^{14}\text{C}$ -AMG) 为底物, 评价葛根素体外抑制 SGLT2 的活性; 以达格列净为阳性药, 采用大鼠体内口服糖耐量试验 (OGTT) 和尿排泄糖试验 (UGE) 观察葛根素直接降血糖和促尿糖活性。**结果** 分子对接得分显示, 葛根素是 SGLT2 的底物, 总体作用强度不及达格列净; 体外实验显示, 葛根素可较强抑制 hSGLT2, 最大效应为 84% 左右, 半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 为 0.40  $\mu\text{mol/L}$ ; OGTT 结果显示, 葛根素 10、30、60 和 120 mg/kg 剂量的抑糖率分别为 5.1%、6.5%、16% 和 22%, 呈剂量相关性; 在 UGE 实验中, 随着葛根素剂量的增大, 尿糖量增加, 与模型组比较, 30、60 和 120 mg/kg 剂量组差异显著 ( $P < 0.05$ 、0.01)。**结论** 葛根素具有抑制 hSGLT2、促尿糖降低血糖的药理活性, 有可能作为一类新型结构的 SGLT2 抑制剂的先导化合物。

**关键词:** 葛根素; 钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT2); 分子对接; 口服糖耐量试验 (OGTT); 尿糖排泄试验 (UGE); 达格列净

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)10-1408-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.10.008

## Inhibition of puerarin on sodium-dependent glucose cotransporters 2 to promote urinary glucose excretion

SHI Yong-heng, DENG Ying-ying, LIU Ji-ping, ZHANG En-hu

College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

**Abstract: Objective** To study that puerarin can prevent the renal glucose reabsorption process and promote urinary glucose excretion by inhibiting sodium-dependent glucose cotransporters 2 (SGLT2) to reduce plasma glucose in diabetes rats. **Methods** Molecular docking was carried out on puerarin and the obtained SGLT2 complexes through homology modeling method with dapagliflozin as positive control. Chinese hamster ovary (CHO) cells stably expressing human SGLT2 and  $^{14}\text{C}$ -Methyl-D-glucopyranoside ( $^{14}\text{C}$ -AMG) as the substrate were used *in vitro* for the transport assays and  $\text{IC}_{50}$  for SGLT2. The antihyperglycemic activity of puerarin was operated by oral glucose tolerance test (OGTT) and urinary glucose excretion (UGE) test in rats. **Results** Puerarin was identified as the substrate of SGLT2 through molecular docking, but the overall effect was not as strong as dapagliflozin. *In vitro* experiments showed that puerarin can strongly inhibit hSGLT2, the maximum effect was about 84% with the half inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) of 0.40 mol/L. OGTT results showed that glucose inhibition rates of puerarin 10, 30, 60 and 120 mg/kg doses were 5.1%, 6.5%, 16%, and 22% respectively, in a dose-dependent manner. In the UGE experiment, the urine sugar increased with the increase of puerarin dose. Compared with model group, the 30, 60, and 120 mg/kg dose groups had significant difference ( $P < 0.05$  and 0.01). **Conclusion** Puerarin exhibited antiglycemic activity through inhibiting SGLT2 and was considered to be a new lead compound of SGLT2 inhibitors.

**Key words:** puerarin; sodium-dependent glucose cotransporters 2; molecular docking; oral glucose tolerance test (OGTT); Urine glucose excretion test (UGE); dapagliflozin

收稿日期: 2017-04-18

基金项目: 陕西省教育厅专项科研 (15JK1203); 陕西省高校科协青年人才托举计划资助 (20160227)

作者简介: 史永恒, 讲师, 博士研究生, 研究方向为天然来源先导化合物的设计、合成与构效关系的研究。

Tel: 18291497169 E-mail: shiyongheng1986@aliyun.com

在正常的生理活动中，原尿 99% 的葡萄糖在肾小管中会被肾脏钠-葡萄糖转运蛋白（Sodium-glucose transporters, SGLTs）——SGLT1 和 SGLT2 介导重吸收入血，SGLT1 分布在肠道、心脏和肾脏，对葡萄糖和半乳糖均有较高的亲和力，完成 10% 肾脏葡萄糖的重吸收；SGLT2 分布在肾脏的近曲小管，其内源性底物只有葡萄糖，完成 90% 肾脏葡萄糖的重吸收<sup>[1]</sup>，对机体血糖水平的调控有非常重要的作用。抑制 SGLT2 对肾脏葡萄糖的重吸收，可促进尿糖，从而有效控制血糖水平，SGLT2 抑制剂已成为治疗 2 型糖尿病的一种新型药物<sup>[2]</sup>。

根皮苷（phlorizin, 1）是报道的第一个具有抑制 SGLTs 活性的天然 O-苷化合物，同时对 SGLT1 和 SGLT2 有抑制作用，胃肠道不良反应多，且易被

内源性水解酶代谢<sup>[3]</sup>；制药公司在此基础上进行结构修饰，获得了 T1095, 2（图 1），抑制 SGLT2 的活性大大增强，同时对 SGLT2 的选择性也提高了 4 倍，但是其代谢稳定性依然未能解决，半衰期过短，未能成功上市<sup>[4]</sup>。

为解决化合物的代谢稳定性，BMS 公司在前期研究基础上发现了达格列净（dapagliflozin, 3），该化合物活性强，对 SGLT2 的半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>）为 1.1 nmol/L<sup>[5]</sup>，2012 年在欧洲上市，2014 年在美国上市，2017 年 3 月 13 日在中国上市。达格列净的问世开创了 C-芳基糖苷类 SGLT2 抑制剂的时代，陆续有 canagliflozin, 4；empagliflozin, 5；luseogliflozin, 6；ipragliflozin, 7 上市。见图 2。

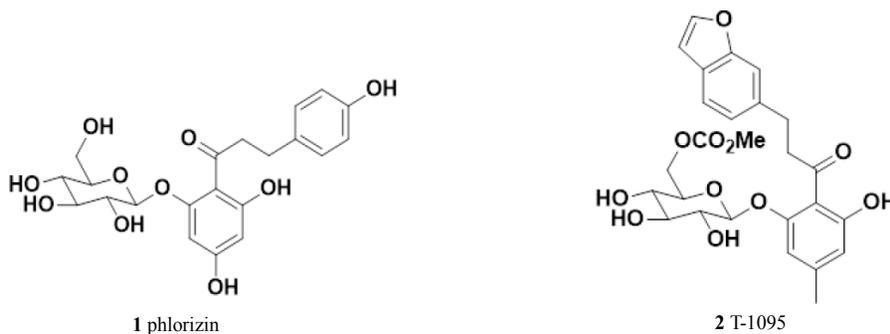


图 1 O-芳基糖苷类 SGLT2 抑制剂

Fig. 1 O-aryl glucosides SGLT2 inhibitors

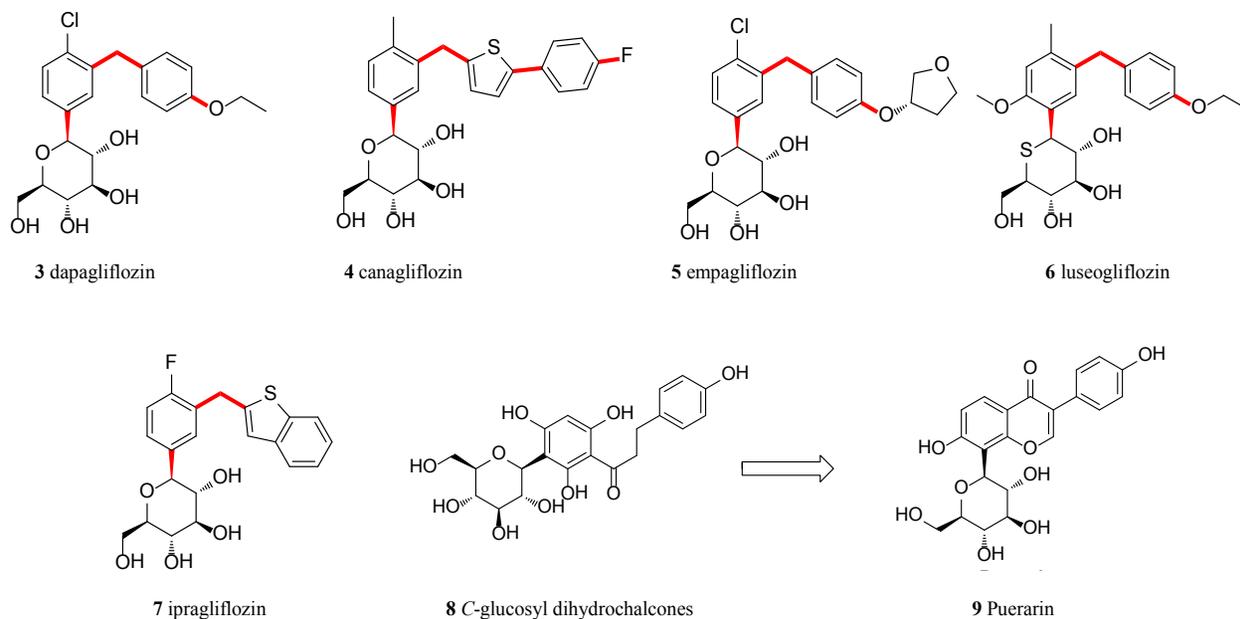


图 2 葛根素与 C-芳基糖苷类 SGLT2 抑制剂的结构

Fig. 2 Molecule structure of C-aryl glucosides SGLT2 inhibitors and puerarin

随着 C-芳基糖苷类 SGLT2 抑制剂的不断出现, 有学者发现天然 C-二氢查尔酮糖苷类化合物 (C-glucosyl dihydrochalcones, **8**) 具有很强的抑制 SGLT2 的活性, 体外 IC<sub>50</sub> 可达 9 nmol/L<sup>[6]</sup>。这类化合物的发现, 为我们在天然产物尤其是天然碳苷中寻找新型结构的 SGLT2 抑制剂提供了思路。葛根素 (Puerarin, **9**) 为中药野葛的主要提取物, 具有抗氧化、改善微循环和降血糖的药理作用, 可用于治疗糖尿病并发症, 如糖尿病肾病、糖尿病眼病等。作为黄酮碳苷, 葛根素与已经上市或在研的 SGLT2 抑制剂具有非常相似的结构: (1) 具有 C-芳基-β-D-糖苷结构; (2) 远端芳香环和葡萄糖环在近端芳香环可视为间位取代, 其他 SGLT2 抑制剂也为间位取代; (3) 远端芳香环有两个取代基, 且呈对位取代。

白玉蓉等在临床实践中多次发现葛根素可致高血压患者出现尿糖等不良反应<sup>[7]</sup>, 这一现象与 SGLT2 抑制剂的药理作用相近, 然而当时国内对新型降糖药 SGLT2 抑制剂的研究尚未兴起, 这一现象能未引起学者的足够重视。Meezan 等<sup>[8]</sup>认为葛根素与根皮苷一样可抑制 SGLTs, 在后续研究中发现葛根素在肾脏大量蓄积, 推断葛根素是肾脏 SGLTs 的底物<sup>[9]</sup>, 并发现类似葛根素结构的根皮素碳苷具有明确的抑制 SGLT1 和 SGLT2 的活性<sup>[10]</sup>。

本研究采用分子对接、体外抑制人 SGLT2 (hSGLT2) 活性以及大鼠体内口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 和尿糖排泄试验 (UGE), 初步阐述葛根素通过抑制 SGLT2 发挥促尿糖、降低血糖的作用。

## 1 材料

### 1.1 药品及主要试剂

葛根素 (批号 2014111403)、达格列净 (批号 2014102202), 瀚香生物科技有限公司; 葡萄糖测定试剂盒 (葡萄糖氧化酶法), 长春汇力生物科技有限公司, 批号 2014102202; 三诺血糖试纸, 长沙三诺生物传感技术股份有限公司, 批号 2127NK; 生理盐水, 四川科伦药业股份有限公司, 批号 W216011401; 葡萄糖, 重庆和平制药有限公司, 批号 20140112; 戊巴比妥钠 (批号 P3761)、链脲佐菌素 (STZ), 美国 Sigma 公司; 柠檬酸 (分析纯, 批号 20140321)、柠檬酸钠 (分析纯, 批号 20140612), 天津市化学试剂厂; <sup>14</sup>C-甲基葡萄糖苷 (<sup>14</sup>C]-methyl-D-glucopyranoside, [<sup>14</sup>C]-AMG) 美国 PerkinElmer 公司, 批号 NEC659250UC。

### 1.2 细胞

能稳定表达 hSGLT2 蛋白中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞, 上海睿智化学研究有限公司。

### 1.3 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 200~250 g, 由西安交通大学医学部实验动物中心提供, 许可证号 SCKK (陕) 2012-003, 饲养于陕西省陕西中医药大学中药药理实验室, 环境温度 (22±2) °C, 自由采食饮水。

### 1.4 仪器

ELX808-IU 酶联免疫检测仪, 美国 Bio-Tek 公司; BT224S 电子天平, 德国赛多利斯科学仪器有限公司; 三诺安稳血糖仪, 长沙三诺生物传感股份有限公司。

## 2 方法

### 2.1 分子对接

由于 hSGLT2 目前尚无晶体结构, 所以采用同源模建 (homology modeling) 方法进行三维结构的构建。从 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 下载 SGLT2 序列 (code: gi4507033)。以 vSGLT2 结构 (PDB 3DH4) 为模板蛋白, 在 Schrödinger 软件中用 Prime 模块进行序列比对及结构构建, 得到目标蛋白结构后在 MacroModel 模块中用能量最小化方法进行结构优化, 得到 hSGLT2 受体结构。

将葛根素与上步所得 hSGLT2 结构进行分子对接, 以达格列净为阳性对照。首先用 Glide 模块的 Receptor grid generation 生成格点文件, 选定原配体 GAL 为中心产生格点盒子, 盒子的大小设为 1.5 nm, 其他参数采用默认设置。然后在 Schrödinger 软件中绘制小分子化合物结构, 并用 LigPrep 模块进行配体处理。最后用 Schrödinger 软件的 Glide 模块进行受体与配体的对接计算, 所用力场为 OPLS\_2005, 选用标准精度。

### 2.2 体外抑制 SGLT2 的 IC<sub>50</sub> 活性实验

采用能稳定表达 hSGLT2 蛋白的 CHO 细胞, 以 [<sup>14</sup>C]-AMG 为底物评价葛根素体外抑制 SGLT2 的活性。

将葛根素用 DMSO 溶解, 起始浓度为 200 μmol/L, 4 倍等比稀释, 10 个浓度梯度, 以 5 μL/孔分别加入到 96 孔板上, 然后以 45 μL/孔加入含 2.5 μCi/mL [<sup>14</sup>C]-AMG 的缓冲液 (包含有 120 mmol/L NaCl、4.7 mmol/L KCl、1.2 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、

2.2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>、10 mmol/L HEPES、1 mmol/L Tris, pH 7.4), 得到不同浓度的葛根素-[<sup>14</sup>C]-AMG 缓冲液, 待用。

培养 CHO 细胞株: 采用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基, 待细胞长到 80%满的时候, 加入胰酶-EDTA 溶液, 待细胞脱壁后吹成单细胞悬液, 调整细胞密度为 3×10<sup>5</sup>/mL, 按 100 μL/孔的量接种到 96 孔的细胞培养板中, 并在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 12 h。用 150 μL/孔的 KRH-Na<sup>+</sup> 裂解液洗细胞一次, 吸干, 加入 50 μL/孔对应浓度的葛根素, 振荡混合后, 培养箱中培养 1 h, 而后立即在每个孔中加入 150 μL/孔冰冷的洗涤缓冲液[包含有 120 mmol/L NaCl、4.7 mmol/L KCl、1.2 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、2.2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>、10 mmol/L HEPES、0.5 mmol/L phlorizin (pH 7.4 with 1 mmol/L Tris)]以终止吸收试验, 清洗 3 次。

加入 50 μL/孔的 Lysis 缓冲液 (100 mmol/L NaOH), 900 r/min 振荡 5 min, 加入 150 μL/孔的闪烁液 Microsint40 到所有孔中, 900 r/min 振荡 5 min, 置于 MicroBeta Trilux 仪器上测定放射活性。收集数据, 用 SPSS 19.0 软件计算葛根素抑制 SGLT2 的 IC<sub>50</sub>, 各浓度测定 3 次, 求取平均值。

### 2.3 大鼠糖尿病模型建立

将 70 只雄性 SD 大鼠于 SPF 级实验室进行适应性饲养 1 周, 造模前禁食 12 h, 自由饮水, 取 8 只大鼠作为对照组, 其余 62 只 ip 链脲佐菌素 (STZ, 60 mg/kg) -柠檬酸钠缓冲液, 72 h 后, 除去死亡的

6 只大鼠, 其他大鼠尾尖取血, 优选血糖值大于 17.6 mmol/L 的作为急性糖尿病模型大鼠, 共 56 只, 任选其中的 48 只为实验用大鼠。

### 2.4 大鼠 OGTT 实验和 UGE 实验

将 48 只糖尿病模型大鼠随机分为 6 组, 每组 8 只, 代谢笼中饲养, 分别为模型组、达格列净 (阳性药, 10 mg/kg) 组和葛根素 10、30、60、120 mg/kg<sup>[8, 9, 11]</sup> 剂量组。各组大鼠实验前禁食 16 h, ig 给予葛根素和达格列净, 对照组给予相同体积的生理盐水, 30 min 后再 ig 给予葡萄糖 (2 g/kg)。断尾采集 0、30、60、90、120、180、240、300 min 时的大鼠血液, 葡萄糖测定试剂盒测定各时间点的血糖值, 记录血糖变化。化合物的降血糖活性通过血糖抑制率来衡量。收集 24 h 内大鼠尿液, 采用葡萄糖测定试剂盒测定尿液中葡萄糖的浓度, 计算每只大鼠的尿糖量。

$$\text{血糖抑制率} = (\text{AUC}_{\text{模型}} - \text{AUC}_{\text{葛根素/达格列净}}) / (\text{AUC}_{\text{模型}} - \text{AUC}_{\text{对照}})$$

AUC 为“血糖浓度-时间”曲线下的面积

### 2.5 统计学分析

数据的统计分析采用 SPSS 19.0 软件, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验。

## 3 结果

### 3.1 与 SGLT2 蛋白的对接结果

利用 Schrödinger 软件构建了 hSGLT2 的三维结构, 并与葛根素进行分子对接, 结果见表 1。葛根素与达格列净的对接得分分别为 -8.59 和 -9.79

表 1 SGLT2 与不同化合物的对接结果

Table 1 The molecule docking results of danpagliflozin and puerarin on SGLT2 receptor

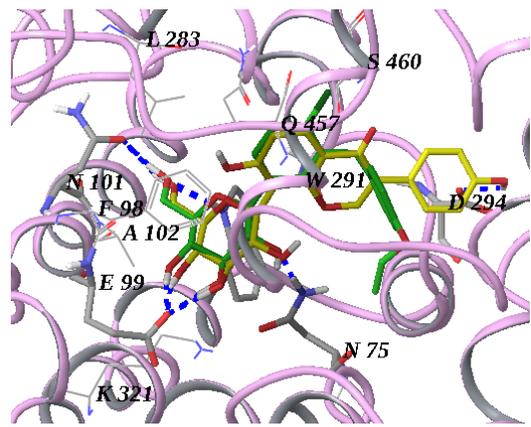
化合物	对接分数	能量/(kcal·mol <sup>-1</sup> )				氢键个数
		疏水作用	范德华作用	库伦作用	总能量	
达格列净	-9.79	-4.13	-41.21	-21.55	-62.76	5 (Asn75, Glu99, Asn101, Trp291)
葛根素	-8.59	-2.24	-39.98	-22.96	-62.94	6 (Asn75, Glu99, Asn101, Trp291, Asp294)

kcal/mol, 可见葛根素与 SGLT2 的作用比达格列净略差。二者的范德华作用和库伦作用相差不大, 分别在 -40 和 -22 kcal/mol 左右, 从而导致类似的结合能。葛根素与 SGLT2 的疏水作用弱于达格列净, 表明葛根素的疏水占据情况不如达格列净。葛根素、达格列净分别与 SGLT2 形成 6 个和 5 个氢键, 这与库伦作用结果相一致。

图 3 为对接计算得到的葛根素、达格列净与 SGLT2 受体的作用模式图。由图可见 SGLT2 的活

性空腔组成包括 Asn75、His80p289、Lys321、Ser460、Gln457 等多个极性氨基酸残基, 还包括含有苯环结构的残基如 Phe98、Tyr150、Trp289、Tyr290、Trp291 及其他疏水残基如 Ala102、Val105、Leu149、Val286 等。其中极性氨基酸可以与小分子化合物形成氢键, 而含苯环的氨基酸除了满足小分子化合物的疏水占据外, 还可以与小分子化合物的苯环结构发生  $\pi$ - $\pi$  共轭作用, 从而使得与 SGLT2 的结合更为牢固。

与达格列净类似, 葛根素较好地占据了 SGLT2



黄色碳骨架-葛根素; 绿色碳骨架-达格列净; 蓝色虚线-氢键  
yellow carbon scheme - puerarin; green carbon scheme - dapagliflozin;  
blue dotted line - hydrogen bond

图3 葛根素和达格列净与SGLT2的作用模式图

Fig. 3 Superposition of puerarin and dapagliflozin on SGLT2

受体的活性口袋, 其六元糖环及相连的苯环与达格列净叠合较好, 糖环的4个羟基分别与Asn75、Glu99、Asn101和Trp291形成5个氢键。另外, 葛根素的末端苯环的羟基还与Asp294的羧基形成一个氢键, 这也使得葛根素与SGLT2受体的静电作用略强于达格列净。但由于葛根素的疏水占据情况不如达格列净, 使得葛根素与SGLT2的总体作用强度不及达格列净。

### 3.2 体外抑制SGLT2对葡萄糖的重吸收作用

如图4所示, 葛根素在体外可较强抑制hSGLT2, 最大效应为84%左右, 抑制活性随着剂量的增大而增大, 呈现一定的正相关性, 其 $IC_{50}$ 为0.40  $\mu\text{mol/L}$ , 与上市的达格列净( $IC_{50}$ 为1.1  $\text{nmol/L}$ <sup>[5]</sup>)相比其活性仍有不如。

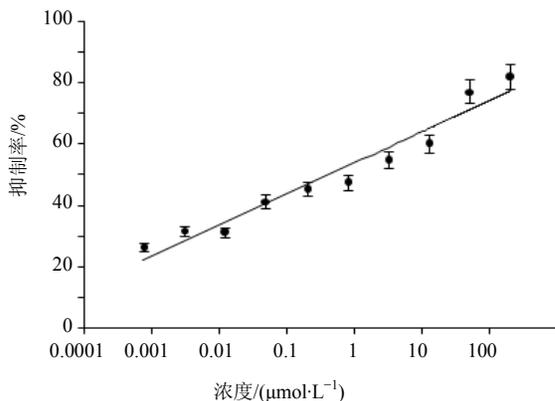


图4 葛根素体外抑制hSGLT2活性( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 4 Inhibition for hSGLT2 of puerarin ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3.3 对大鼠口服糖耐量和尿糖的影响

如表2所示, 葛根素在UGE和OGTT实验中分别表现出良好的促尿糖活性和抑糖率。在OGTT实验中, 葛根素的抑糖率呈现一定的剂量相关性, 在10和30  $\text{mg/kg}$ 时抑糖率只有5.1%和6.5%, 变化较小, 当剂量增加至60和120  $\text{mg/kg}$ 时, 抑糖率增至16%和22%, 变化逐渐增大; 在UGE实验中, 模型组则表现出较强的促尿糖活性, 与对照组比较差异显著( $P < 0.05$ ); 随着葛根素剂量的增大, 尿糖量增强, 与模型组比较, 30、60和120  $\text{mg/kg}$ 剂量组差异显著( $P < 0.05, 0.01$ )。对比同一剂量下, 随着尿糖活性增强, 葛根素的抑制率也增强, 说明葛根素可通过抑制肾脏SGLT2的活性, 促进尿糖, 从而降低血糖, 但是葛根素各项活性数据都远远低于达格列净(10  $\text{mg/kg}$ )。

表2 葛根素和达格列净对大鼠OGTT和UGE的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 2 OGTT and UGE for puerarin and dapagliflozin ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	抑糖率/%	尿糖量/ ( $5 \times \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
对照	—	/	6.49±0.35
模型	—	/	21.92±2.25 <sup>△</sup>
达格列净	10	52.79±4.51	1257.03±63.27**
葛根素	10	5.16±0.23	26.14±4.98
	30	6.53±0.40	51.57±8.31*
	60	16.08±2.33	253.47±23.85**
	120	22.57±3.82	312.69±46.15**

与对照组比较: <sup>△</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

<sup>△</sup> $P < 0.05$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group

## 4 讨论

SGLT2可介导肾脏原尿中99%葡萄糖的重吸收, 对机体血糖水平有非常重要的影响, 是治疗糖尿病的一个新型靶标。SGLT2抑制剂主要通过抑制大部分葡萄糖在肾近端小管的重吸收, 使血液中的葡萄糖排出体外, 从而控制血糖水平。临床研究表明, SGLT2抑制剂具有高效、安全和耐受的特点, 已成一种新的有效控制血糖水平的治疗方法, 单独使用或者联合其他降糖药使用时药效温和, 耐受性好, 低血糖风险低, 可降低体质量, 不依赖胰岛素, 临床表现良好<sup>[12-13]</sup>。

目前对葛根素的降糖作用机制有多种解释, 如葛根素可增加葡萄糖转运蛋白-4 (GLUT-4) 在肌肉

等组织的表达<sup>[11]</sup>, 或者下调肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 及瘦素的水平, 改善机体对胰岛素的敏感性<sup>[14]</sup>; 或者上调 PPAR $\gamma$ , 增加葡萄糖的利用<sup>[15]</sup>; 然而, 葛根素与 SGLT2 抑制剂分子结构相似, 属 C-芳基- $\beta$ -D-葡萄糖苷化合物。计算机模拟研究显示, 葛根素与模建的 SGLT2 受体的对接得分和作用模式与达格列净类似, 推测其可能具有抑制 SGLT2 的作用; 体外抑制 hSGLT2 的 IC<sub>50</sub> 为 0.40  $\mu$ mol/L; 对 STZ 诱导的糖尿病大鼠进行 OGTT 和 UGE 实验, 其中 OGTT 实验显示葛根素具有明显的降血糖作用, UGE 实验显示葛根素具有较强的促进葡萄糖排泄作用, 并且葛根素的降血糖作用和其促进尿糖排泄作用基本呈正相关, 故葛根素可能成为一类新型结构的 SGLT2 抑制剂的先导化合物。

致谢: 感谢天津药物研究院有限公司天津市新药设计与发现重点实验室孟凡翠博士在论文中对分子对接部分的悉心指导。

#### 参考文献

- [1] Su S L. Sodium-glucose transporter [J]. *Formosan J Endocrinol Metab*, 2009, 1(1): 1-5.
- [2] Washburn W N. Development of the renal glucose reabsorption inhibitors: a new mechanism for the pharmacotherapy of diabetes mellitus type 2 [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(7): 1785-2162.
- [3] Rossetti L, Smith D, Shulman G I, et al. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats [J]. *J Clin Invest*, 1987, 79(79): 1510-1515.
- [4] Adachi T, Yasuda K, Okamoto Y, et al. T-1095, a renal Na<sup>+</sup>-glucose transporter inhibitor, improves hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Metabolism*, 2000, 49(8): 990-995.
- [5] Meng W, Ellsworth B A, Nirschl A A, et al. Discovery of Dapagliflozin: a potent, selective renal sodium-dependent glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor for the treatment of type 2 diabetes [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(5): 1145-1149.
- [6] Jesus A R, Vila-Viçosa D, Machuqueir M, et al. Targeting type 2 diabetes with C-glucosyl dihydrochalcones as selective sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors: synthesis and biological evaluation [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(2): 568-579.
- [7] 白玉蓉, 胡桃红, 裴育, 等. 葛根素注射液致高血压患者尿糖和血糖变化的观察 [J]. *药物不良反应杂志*, 2007, 9(6): 381-383.
- [8] Meezan E, Meezan E M, Jones K, et al. Contrasting effects of puerarin and daidzin on glucose homeostasis in mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(22): 8760-8767.
- [9] Prasain J K, Peng N, Moore R, et al. Tissue distribution of puerarin and its conjugated metabolites in rats assessed by liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(1): 65-71.
- [10] Link J T, Sorensen B K. A method for preparing C-glycosides related to phlorizin [J]. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41(48): 9213-9217.
- [11] Feng-Lin H, I-Min L, Dai-huang K, et al. Antihyperglycemic effect of puerarin in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(6): 788-792.
- [12] Vallon V, Thomson S C. Targeting renal glucose reabsorption to treat hyper-glycaemia: the pleiotropic effects of SGLT2 inhibition [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(2): 215-225.
- [13] Faustino BDS, Junior ADRC, Bortolon LNM, et al. The benefits of SGLT2 inhibitors in cardiovascular prevention, glycemic control and weight loss, in the treatment of diabetes [J]. *Open J Endocr Metab Dis*, 2016, 6(1): 87-94.
- [14] 陈伯文, 曹莉, 顾振伦. 葛根素对高脂饮食诱导的胰岛素抵抗大鼠血浆肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、瘦素及血脂的影响 [J]. *苏州大学学报: 医学版*, 2009, 29(5): 882-884.
- [15] Ok-Hwan L, Dong-Ho S, Cheon-Seok P, et al. Puerarin enhances adipocyte differentiation, adiponectin expression, and antioxidant response in 3T3-L1 cells [J]. *Biofactors*, 2010, 36(6): 459-467.