

黑树莓花色苷对HepG2细胞胰岛素抵抗作用研究

肖婷¹, 唐永瑜¹, 张道宏¹, 陶玲¹, 沈祥春¹, 郭正红²

1. 贵州医科大学药学院/贵州省天然药物资源高效利用工程中心/贵州省普通高等学校天然药物药理与成药性评价重点实验室/贵州省联合重点实验室/天然药物资源有效利用重点实验室, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025

摘要: 目的 探讨黑树莓花色苷 (ROAs) 对 HepG2 细胞胰岛素抵抗 (IR) 的影响。方法 MTT 法检测 3.75、7.50、15.00、30.00、60.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 ROAs 作用 24、48 h 对 HepG2 细胞存活率的影响, 确定 ROAs 的给药条件; 含高糖 ($4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、高胰岛素 (1.0×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} 、 $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 DMEM 培养基培养 HepG2 细胞 24 或 48 h, 采用葡萄糖氧化试剂盒检测每孔上清液中葡萄糖水平, 计算每孔细胞葡萄糖消耗量, 确定 IR 细胞模型的建立条件; HepG2 细胞分为对照组、模型组、二甲双胍 (阳性药, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组和 ROAs (7.5 、 15.0 、 25.0 、 $30.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 组, 除对照组外, 各组细胞培养 24 h 后建立 IR 模型, 模型建立后药物处理 24 h, 试剂盒法检测葡萄糖消耗量, HE 染色评价细胞形态学改变。**结果** 选择 7.5 、 15.0 、 25.0 、 $30.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作为 ROAs 后续给药质量浓度, 给药时间为 24 h; HepG2 细胞 IR 模型建立条件为: 含高糖 ($4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、高胰岛素 ($1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 DMEM 培养基培养 24 h。与对照组比较, 模型组细胞葡萄糖的消耗量明显降低, 具有统计学差异 ($P<0.001$); 与模型组比较, 质量浓度为 15.0 、 25.0 、 $30.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 ROAs 组细胞葡萄糖消耗量均显著增加, 具有统计学意义 ($P<0.05$ 、 0.001)。与对照组比较, 模型组细胞的形态不固定, 细胞核圆形, 胞浆不成型, 脂滴明显增多; ROAs 对 HepG2 细胞的胞浆形态有改善作用并且使脂滴明显减少。**结论** ROAs 能够改善高糖、高胰岛素诱导的 HepG2 细胞 IR。

关键词: 黑树莓花色苷; HepG2 细胞; 胰岛素抵抗; 葡萄糖吸收; 细胞形态

中图分类号: R282.75 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 09-1810-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.09.015

Anti-insulin resistance activity of *Rubus occidentalis* anthocyanins in HepG2 cells

XIAO Ting¹, TANG Yongyu¹, ZHANG Daohong¹, TAO Ling¹, SHEN Xiangchun¹, GUO Zhenghong²

1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University/Guizhou Engineering Center for Efficient Utilization of Natural Product Resources/Key Lab of Pharmacology and Druggability Evaluation Characteristics of Natural Product in Guizhou Province/Guizhou Medical University-Guiyang Joint Key Lab/Key Lab of Efficient Utilization of National Product, Guiyang 550025, China

2. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine School of Pharmacy, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To investigate the effect of *Rubus occidentalis* anthocyanins (ROAs) on insulin resistance (IR) in HepG2 cells.

Methods MTT assay was used to detect the effects of ROAs of 3.75, 7.50, 15.00, 30.00, and 60.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ on the survival rate of HepG2 cells for 24 and 48 h, and to determine the administration conditions of ROAs. HepG2 cells were cultured in DMEM medium containing high glucose ($4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and high insulin (1.0×10^{-7} , 1.0×10^{-6} , 1.0×10^{-5} , $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24 or 48 h. The glucose level in the supernatant of each well was detected by glucose oxidation kit, and the glucose consumption of cells in each well was calculated, to establish the conditions of IR cell model. HepG2 cells were divided into control group, model group, metformin (positive drug, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group and ROAs (7.5 , 15.0 , 25.0 , $30.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) group. Except for the control group, the IR model was established after 24 h of cell culture. After the establishment of the model, cells were treated with drugs for 24 h, Glucose consumption was detected by kit method, and morphological changes were evaluated by HE staining. **Results** 7.5 , 15.0 , 25.0 , $30.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ were selected as the following concentrations of ROAs, and the administration time was 24 h. The IR model of HepG2

收稿日期: 2022-03-25

基金项目: 贵州省科技计划项目[黔科合基础-ZK(2021)一般535]; 贵州医科大学国家自然科学基金培育项目(19NSP074)

第一作者: 肖婷(1989—), 女, 博士, 副教授, 主要从事天然产物功效成分及生物活性研究。E-mail: tingjinxiao@126.com

cells was established under the following conditions: DMEM medium containing high glucose ($4.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) and high insulin ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) for 24 h. Compared with the control group, the consumption of glucose in IR model group was significantly decreased ($P < 0.001$). Compared with the model group, the glucose consumption of cells in the ROAs groups with concentrations of 15.0, 25.0, and $30.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ was significantly increased ($P < 0.05, 0.001$). Compared with control group, the morphology of IR model cells was not fixed, the nucleus was round, the cytoplasm was not formed, and the lipid droplets increased significantly. ROAs could improve the cytoplasmic morphology of HepG2 cells and significantly reduce lipid droplets. **Conclusion** ROAs can improve the insulin resistance of HepG2 cells induced by high glucose and high insulin.

Key words: *Rubus occidentalis* anthocyanins; HepG2 cells; insulin resistance; glucose absorption; cell morphology

糖尿病是由于体内的胰岛素绝对或相对不足而引起的糖、脂肪及蛋白质代谢紊乱的疾病,主要分为胰岛素依赖型(1型)和非胰岛素依赖型(2型)。1型糖尿病(T1DM)主要是由于体内胰岛 β 细胞受损从而导致体内胰岛素分泌不足所引起的。2型糖尿病(T2DM)是胰岛素分泌正常甚至超过正常量,但机体对其不敏感即产生了胰岛素抵抗(IR)而引起的。

IR是指在人体体内胰岛素正常水平下,机体靶组织对胰岛素不敏感或低于正常敏感反应的一种病理性生理状态,是T2DM、高血压病、肥胖、动脉粥样硬化等常见疾病的共同危险因素^[1]。相关研究表明^[2-5],IR是T2DM发病的显著特征和重要原因,同时也是糖尿病各种并发症发病的共同根源。

黑树莓 *Rubus occidentalis* H. Lévl. 为蔷薇科悬钩子属植物空心莓组,黑树莓莓果中富含大量花色苷,是近年来国内外兴起的第3代“水果之王”^[6-7]。黑树莓具有丰富的生物活性,大量研究表明,其具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗血管生成、修复DNA损伤、降血脂、调节免疫等作用^[8-9]。黑树莓提取物还可作为天然色素添色剂,制成的饮品风味良好^[10],已被列为天然绿色食品,具有重要的研究价值。花色苷属黄酮类成分,分子中存在高度的共轭体系,具酸碱两性基团,易溶于醇、酸等大极性溶剂中,颜色随pH值的改变而改变,pH值由小变大,花色苷颜色由红色逐渐变浅,再变为蓝色,是天然的优质抗氧化剂。近年来研究发现,花色苷在对抗心脑血管、肿瘤、突变等方面展现出较强的作用^[11-15],是治疗现代慢性疾病,包括糖尿病及其并发症在内的优质天然候选药物。本研究体外培养HepG2细胞,采用高糖、高胰岛素构建IR模型,探讨黑树莓花色苷(*Rubus occidentalis* anthocyanins, ROAs)对IR的影响。

1 材料

1.1 主要仪器

D-35578倒置生物显微镜(德国Leica公司);超

净工作台(苏州净化设备有限公司);二氧化碳培养箱[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];KQ3200型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);脱色摇床(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);3020-426多功能全波长酶标仪(美国Thermo公司);医用离心机(湖南平凡科技有限公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);SHENAN立式高压蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);KQ3200型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ME104/02型分析电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];UPW型实验室专用纯水仪(成都天萃宁科技有限公司);700-SERIES超低温冰箱(Thermo SCIENTIFIC)。

1.2 主要药品与试剂

黑树莓鲜果(吉林三莓种苗合作社提供),经贵州医科大学药学院龙庆德副教授鉴定为蔷薇科悬钩子属植物黑树莓 *Rubus occidentalis* H. Lévl. 的成熟果实,编号为20200708;盐酸二甲双胍肠溶片(贵州圣济堂制药有限公司,批号20190224);DMEM培养基(美国Gibco公司);二甲基亚砜(DMSO天津市风船化学试剂科技有限公司,批号20181106);四甲基偶氮唑盐(MTT,北京Solarbio公司,批号911L051);牛胰岛素(上海翊圣生物科技有限公司);葡萄糖氧化试剂盒[葡萄糖氧化酶-过氧化物酶(GOD-POD)微板法,合肥博美生物科技有限公司];0.25%胰酶、胎牛血清、双抗(美国Gibco公司);磷酸缓冲液(PBS,北京Solarbio公司)。

1.3 细胞

人源HepG2细胞购自中国科学院细胞库。

2 方法

2.1 ROAs的提取

将黑树莓鲜果及时采用真空冷冻干燥技术进行冻干,准确称取黑树莓冻干果20.00 g,加入8倍量的75%乙醇超声提取,提取温度为35℃,每次提取时间为1.5 h,重复3次,提取功率为300 W,合并滤液,浓缩(38℃);冻干处理,得到棕红色粉末状

ROAs。采用pH示差法测定ROAs中花色苷的质量分数为24.9%。

2.2 ROAs对HepG2细胞活力的影响

采用PBS配制完全溶解后质量浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的ROAs母液(pH值为7),后用DMEM培养基稀释成ROAs系列质量浓度为3.75、7.50、15.00、30.00、60.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液。当HepG2细胞增殖到覆盖培养瓶85%~95%面积时,取对数生长期的细胞以每孔 8×10^4 的密度接种于96孔板内,24 h后吸去旧培养基,每孔加入含不同质量浓度ROAs的DMEM培养基100 μL ,对照组不加药,分别培养24、48 h。然后每孔加入20 μL 、质量浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的MTT溶液,放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱继续培养4 h,小心吸弃上清液后,加入DMSO,每孔150 μL ,于脱色摇床上振摇10 min,至甲臞沉淀充分溶解后用多功能酶标仪分析在490 nm处的吸光度(A)值,取均值并绘制生长曲线。

2.3 IR模型的建立

取对数生长期的HepG2细胞以每孔 8×10^4 个均匀接种于96孔板,每孔100 μL ,24 h后更换为含高糖($4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、高胰岛素(1.0×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} 、 $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的DMEM培养基培养24或48 h,每孔100 μL ,采用葡萄糖氧化试剂盒检测每孔上清液中葡萄糖水平,计算每孔细胞葡萄糖消耗量,评价IR细胞模型是否建立成功。

每孔细胞葡萄糖消耗量=未接种细胞的空白孔中葡萄糖含量-实验孔上清液中葡萄糖的含量

2.4 ROAs对胰岛素抵抗HepG2(IR-HepG2)细胞葡萄糖消耗的影响

实验设置对照组、模型组、二甲双胍(阳性药, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组和ROAs(7.5、15.0、25.0、30.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组。取对数生长期HepG2细胞以每孔 8×10^4 个铺于96孔板中,每孔100 μL ,24 h后弃去旧培养基,更换为含高糖($4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、高胰岛素($1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的DMEM培养基培养24 h,每孔100 μL 。ROAs组和二甲双胍组分别给予100 μL 含药培养基,对照组与模型组不加药。24 h后吸去旧培养基,PBS清洗2次,采用葡萄糖氧化试剂盒检测每孔细胞葡萄糖消耗量。

2.5 苏木素-伊红(HE)染色评价细胞形态

实验设置对照组、模型组、二甲双胍(阳性药, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组和ROAs(15、25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组。取对数生长期的HepG2细胞以每孔 2×10^5 个均匀接种于24孔板中,每孔300 μL ,24 h后弃去旧培养基,更

换为每孔300 μL 含高糖($4.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖)、高胰岛素($1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的DMEM培养基培养24 h。ROAs组和二甲双胍组分别给予100 μL 含药培养基,对照组与模型组不加药。24 h后吸去原培养基,PBS清洗2~3次,4%多聚甲醛固定18 min,PBS清洗2~3次,加入苏木素300 μL ,染色1.5 min,迅速吸净苏木素染液,用PBS洗2~3次,加入伊红染液300 μL ,染色30 s,迅速吸净伊红染液,PBS洗2~3次,后加入300 μL PBS于倒置显微镜下观察,拍照。

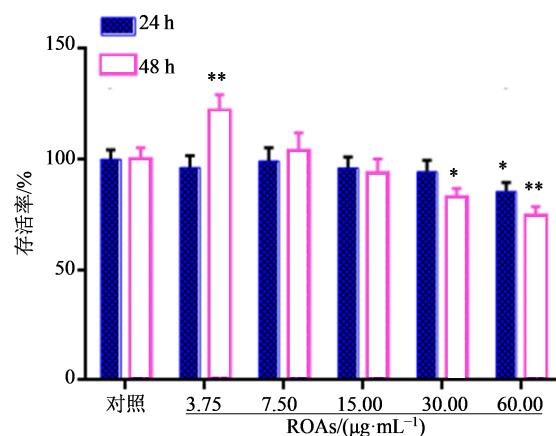
2.6 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件及GraphPad Prism 5软件进行统计分析,组间均数采用Two-Way ANOVA分析法进行方差齐性分析,并结合Dunnett's test(或Turkey's test)分析方法进行组间比较。

3 结果

3.1 ROAs对HepG2细胞活力的影响

结果如图1所示,与对照组比较,ROAs质量浓度为3.75、7.50、15.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理细胞24、48 h后,细胞存活率未出现显著降低,甚至3.75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 48 h组细胞存活率显著增加($P<0.05$);而质量浓度为60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的ROAs处理细胞24、48 h后,细胞存活率显著下降($P<0.05$)。选择7.5~30.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作为ROAs后续给药浓度,给药时间为24 h。



与相同给药时间对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

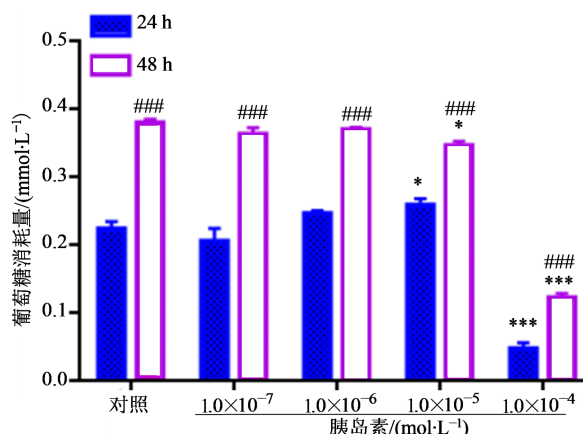
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group with same administration time

图1 ROAs对HepG2细胞存活率的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 1 Effect of ROAs on HepG2 cell viability ($\bar{x}\pm s, n=3$)

3.2 IR模型的建立

如图2所示,与对照组比较,胰岛素浓度为 1.0×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} 、 $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用于细胞24 h和48 h后,葡萄糖消耗量无统计学差



与相同造模时间对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$; 与相同浓度造模 24 h 比较: ### $P < 0.001$

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group with same modeling time;

$P < 0.001$ vs same concentration of 24 h

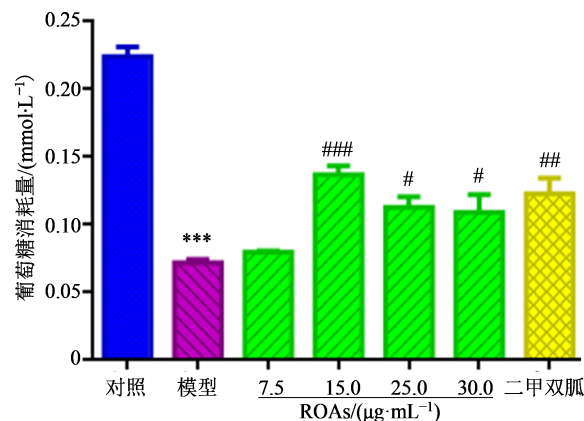
图2 不同浓度胰岛素作用于HepG2细胞不同时间后对葡萄糖消耗的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effects of different concentrations of insulin on glucose consumption in HepG2 cells at different time ($\bar{x} \pm s, n=3$)

异,提示此浓度下IR造模不成功。且胰岛素浓度为 1.0×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} mol·L⁻¹作用于细胞24 h后,葡萄糖消耗逐渐增加,可能是由于一定浓度的胰岛素可促进细胞对葡萄糖的消耗和吸收。而浓度为 1.0×10^{-4} mol·L⁻¹的胰岛素作用细胞24 h和48 h后,细胞葡萄糖消耗量低于对照组的50%,且具有统计学差异($P < 0.001$),故此浓度下IR模型造模成功。各组48 h细胞葡萄糖消耗量比24 h增加($P < 0.001$),为保证细胞造模完全,选择造模时间为24 h。因此,本实验选择的胰岛素造模浓度为 1.0×10^{-4} mol·L⁻¹,造模时间为24 h。

3.3 ROAs对IR-HepG2细胞葡萄糖消耗的影响

如图3所示,与对照组比较,模型组细胞葡萄糖



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group

图3 ROAs对IR-HepG2细胞葡萄糖消耗的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of ROAs on glucose consumption in IR-HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

的消耗量明显降低,具有统计学差异($P < 0.001$)。与模型组比较,质量浓度为15.0、25.0、30.0 μg·mL⁻¹的ROAs组细胞葡萄糖消耗量均显著增加,具有统计学意义($P < 0.05$ 、0.001);二甲双胍组细胞葡萄糖消耗量也显著增加($P < 0.01$)。其中15 μg·mL⁻¹ ROAs对IR的改善作用强于二甲双胍。

3.4 HE染色评价细胞形态

如图4所示,对照组细胞呈长条形,细胞核较大,呈圆球形,易观察;与对照组比较,IR模型细胞的形态不固定,细胞核圆形,胞浆不成型,脂滴明显增多;与模型组比较,二甲双胍对胞浆的形态有改善作用,且脂滴减少;质量浓度为15、25 μg·mL⁻¹的ROAs对HepG2细胞的胞浆形态亦有改善作用并且脂滴明显减少。

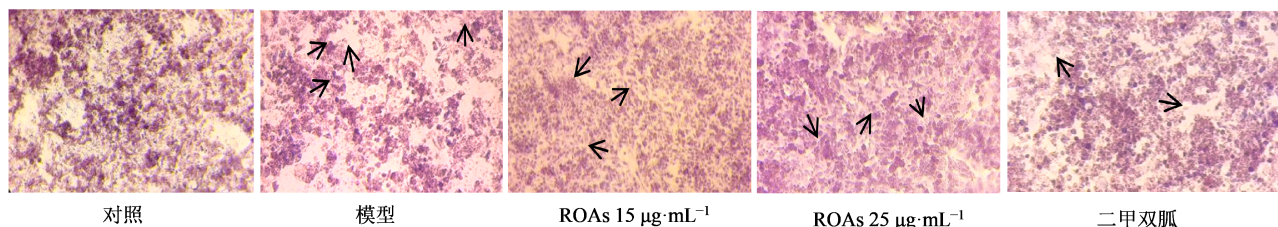


图4 ROAs对高糖高胰岛素诱导下HepG2细胞形态的影响($\times 20$)

Fig. 4 Effects of ROAs on morphology of HepG2 cells induced by high glucose and high insulin ($\times 20$)

4 讨论

IR是T2DM的主要发病因素之一,有效改善IR可防治T2DM。胰岛素最主要的生物学活性是促进机体组织细胞葡萄糖代谢,而IR是指机体内的靶组织对正常量的胰岛素的敏感性降低或不敏感。肝

脏作为胰岛素作用的主要器官,参与维持体内糖代谢平衡。本研究选择HepG2细胞作为实验对象,HepG2细胞是一种来源于人体的肝胚胎肿瘤细胞株,恶化程度高,其形态与肝细胞极为相似,是国内外用于研究IR机制最为常用的细胞之一。高浓度

的胰岛素作用HepG2细胞,使得HepG2细胞表面的胰岛素受体数目减少,且减少程度与胰岛素浓度及其作用时间呈正相关^[16]。

文献报道的造模方法繁多,本实验最终选用高糖高胰岛素造模,经浓度筛选,确定胰岛素的造模浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,造模时间为24 h。通常模型组细胞胰岛素结合率和葡萄糖摄取能力低于对照组细胞50%,则认为模型成功,其中对照组与模型组差值越大,IR效果越明显。另外造模的成功与否还与接种的细胞密度有关,同浓度胰岛素对不同细胞数造模所得结果也不同。

经葡萄糖消耗实验可知,ROAs可以促进IR-HepG2细胞的葡萄糖消耗量,与阳性药物二甲双胍组比较,质量浓度为 $15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的ROAs组中细胞葡萄糖消耗量高于阳性药物组,说明ROAs改善HepG2细胞IR的最佳质量浓度为 $15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右。邵江健^[17]研究了HepG2细胞形成IR模型时的细胞状态,显微镜下可观察到脂滴增加。在本实验中,HE染色后,在显微镜下可观察到模型组细胞与对照组比较脂滴明显增加,经过阳性药与ROAs处理后,脂滴有一定减少,说明ROAs能改善HepG2细胞的IR。

将HepG2细胞置于高糖($4.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、高胰岛素($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的环境中24 h,HepG2细胞可产生IR,即采用高糖高胰岛素诱导培养法可以复制得到稳定的HepG2细胞IR模型。ROAs在一定程度上可以改善IR。但本实验只进行了离体细胞研究,没有在动物体内进行研究,存在不足。后续将采用整体动物实验进行验证,并对ROAs促进IR-HepG2细胞的葡萄糖消耗量的机制进行研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 谢洁,杨瑞仪.地塞米松体外诱导胰岛素抵抗细胞模型的建立[J].科技通报,2015,31(10):31-33.
Xie J, Yang R Y. Insulin resistance model induced dexamethasone *in vitro* cell [J]. Bull Sci Technol, 2015, 31(10): 31-33.
- [2] 韦少玲,肖燕爽,李巧云.2型糖尿病胰岛素抵抗现代医学研究进展[J].实用糖尿病杂志,2011,7(1):9-11.
Wei S L, Xiao Y S, Li Q Y. Advances in modern medical research on insulin resistance in type 2 diabetes [J]. J Pract Diabetol, 2011, 7(1): 9-11.
- [3] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [4] Lau F C, Bagchi M, Sen C K, et al. Nutrigenomic basis of beneficial effects of chromium (III) on obesity and diabetes [J]. Mol Cell Biochem, 2008, 317(1/2): 1-10.
- [5] 蒋国彦.实用糖尿病学[M].北京:人民卫生出版社,1992.
Jiang G Y. *Practical Diabetes* [M] Beijing: People's Health Publishing House, 1992.
- [6] 韩晓波,陈晶.树莓对肝损伤的保护作用及机制的研究现状[J].中医药学报,2014,42(3):158-161.
Han X B, Chen J. Research status of protective effect and mechanism of raspberry on liver injury [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2014, 42(3): 158-161.
- [7] 张丽霞,周剑忠,顾振新,等.黑莓汁花色苷热降解动力学及降解机理[J].江苏农业学报,2011,27(5):1111-1116.
Zhang L X, Zhou J Z, Gu Z X, et al. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and its mechanisms [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2011, 27(5): 1111-1116.
- [8] Wang L S, Hecht S S, Carmella S G, et al. Anthocyanins in black raspberries prevent esophageal tumors in rats [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2009, 2(1): 84-93.
- [9] Zhang Z X, Knobloch T J, Seamon L G, et al. A black raspberry extract inhibits proliferation and regulates apoptosis in cervical cancer cells [J]. Gynecol Oncol, 2011, 123(2): 401-406.
- [10] 严奉伟,汤维东.黑树莓果汁饮料与果酱的研制[J].食品工业科技,2005,26(3):111-112.
Yan F W, Tang W D. Development of raspberry juice beverage and jam [J]. Sci Technol Food Ind, 2005, 26(3): 111-112.
- [11] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention [J]. Toxicology, 2000, 148(2/3): 187-197.
- [12] Blazs G, Gabor M, Rohdewald P. Antiinflammatory activities of procyanidin-containing extracts from *Pinus pinaster* Ait. after oral and cutaneous application [J]. Pharmazie, 1997, 52(5): 380-382.
- [13] Huynh H T, Teel R W. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF-7) by pycnogenol [J]. Anticancer Res, 2000, 20(4): 2417-2420.
- [14] del Bas J M, Fernández-Larrea J, Blay M, et al. Grape seed procyanidins improve atherosclerotic risk index and induce liver CYP7A1 and SHP expression in healthy rats [J]. FASEB J, 2005, 19(3): 479-481.
- [15] Siriwoharn T, Wrolstad R E, Finn C E, et al. Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus L. Hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(26): 8021-8030.

- [16] Gurnell M, Savage D B, Chatterjee V K K, et al. The metabolic syndrome: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its therapeutic modulation [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(6): 2412-2421.
- [17] 邵江健. 基于胰岛素受体信号转导通路探讨丹瓜方含药血清对胰岛素抵抗 HepG2 细胞的调控作用 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2019.
- Shao J J. Regulation of insulin receptor signal transduction pathway of the drug-containing serum of Dangua-Fang based on insulin resistance in HepG2 cells [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2019.

[责任编辑 兰新新]



•公益广告•

