

蒲公英水提取物对链脲佐菌素致糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制

李雪石¹, 张彦文²

1. 天津市环湖医院 药剂科, 天津 300060

2. 天津医科大学药学院, 天津 300071

摘要: 目的 研究蒲公英水提取物降低链脲佐菌素(STZ)致糖尿病大鼠餐后血糖水平的作用及其机制。方法 考察蒲公英水提取物 400、200、100 mg/kg 对 STZ 致糖尿病模型大鼠餐后血糖水平的影响, 并采用 ELISA 法检测各组大鼠血清胰岛素水平; 正糖钳实验考察蒲公英水提取物对正常大鼠胰岛素敏感性的影响, 检测葡萄糖输注率(GIR); 以 pNPG 为底物, 测定蒲公英水提取物 400 mg/kg 体外对 α -糖苷酶活性的影响; 采用 Caco-2 细胞单层模拟的小肠上皮模型, 评价蒲公英水提取物 200、100 mg/L 对小肠麦芽糖水解和葡萄糖吸收能力的影响。结果 蒲公英水提取物 400、200、100 mg/kg 给药 7 d, 可显著降低正常大鼠及 STZ 致糖尿病大鼠餐后血糖水平, 但对血清胰岛素水平、GIR 均无影响。蒲公英水提取物对 α -糖苷酶活性具有抑制作用, 但半数抑制浓度(IC₅₀)高于阳性药阿卡波糖; 蒲公英水提取物 200 mg/L 可同时抑制 Caco-2 细胞单层对麦芽糖的水解和对葡萄糖的转运。结论 蒲公英水提取物具有降低餐后血糖的作用, 其作用机制与抑制小肠对麦芽糖的水解和对葡萄糖的吸收有关。

关键词: 蒲公英水提取物; 降血糖; 葡萄糖输注率; 胰岛素敏感性; α -糖苷酶; Caco-2 细胞

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)07-0863-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.07.017

Hypoglycemic effects of aqueous extract from *Taraxaci Herba* on diabetic rats induced by Streptozotocin and its mechanism

LI Xue-shi¹, ZHANG Yan-wen²

1. Department of Pharmacy, Tianji Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

2. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300071, China

Abstract: Objective To evaluate the hypoglycemic effect of aqueous extract from *Taraxaci Herba* (AETH) on postprandial blood glucose (PBG) in diabetic rats induced by Streptozotocin (STZ) and to explore the mechanism. **Methods** The PBG within 120 min was measured after 7 d ig administration of AETH (400, 200, and 100 mg/kg) in normal rats and diabetic model rats induced by STZ, and ELISA was performed to detect the serum insulin of rats in each group. The euglycemic clamp assay was performed to investigate the effect of AETH (400 mg/kg) on the insulin sensitivity in normal rats, and the glucose infusion rate (GIR) was detected. The 50% inhibiting concentration (IC₅₀) against α -glucosidase was measured *in vitro*, using pNPG as substrate. Caco-2 cells were preincubated for 72 h with AETH (200 and 100 mg/L), and then the capacities of Caco-2 monolayer on maltose hydrolysis and glucose absorption were measured. **Results** The 7 d ig administration of AETH decreased the PBG significantly in diabetic rats induced by STZ, but had no effect on serum insulin level and GIR. AETH inhibited α -glucosidase *in vitro*, and the IC₅₀ was higher than that of acarbose. AETH (200 mg/L) inhibited the capacities of Caco-2 monolayer on both maltose hydrolysis and glucose absorption. **Conclusion** AETH has the hypoglycemic effect on PBG in diabetic rats, and the mechanism is related to the inhibition of maltose hydrolysis and glucose absorption in small bowel.

Key words: aqueous extract from *Taraxaci Herba*; hypoglycemic effects; glucose infusion rate; insulin sensitivity; α -glucosidase; Caco-2 cells

蒲公英, 别名黄花地丁、黄花郎, 为菊科植物
蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz.、碱地蒲

公英 *T. borealisinense* Kitam 或同属数种植物的干燥
全草, 具有清热解毒、消肿散结、利胆利尿、消乳

收稿日期: 2012-11-21

作者简介 李雪石(1972—), 女, 本科, 毕业于成都中医药大学中药药理专业, 现任天津市环湖医院药剂科主管药师。

Tel/Fax: (022)23359857 E-mail: lixueshi92@163.com

痛等功效, 以及抑菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调血脂等药理作用^[1-2]。而蒲公英降血糖作用的研究报道较少, 故本实验考察蒲公英水提取物对链脲佐菌素 (STZ) 致糖尿病模型大鼠血糖水平的影响, 并初步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

蒲公英购自河北康派中药材有限公司, 经天津市百兴医药批发有限责任公司吕芳鉴定为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz. 的全草; 阿卡波糖片, 拜耳医药保健有限公司, 批号 117731; 盐酸二甲双胍片, 北京四环制药有限公司, 批号 20110107; 胰岛素注射液, 江苏万邦生化医药股份有限公司, 批号 1106109。麦芽糖, 海蓝季科技发展有限公司; STZ (质量分数 $\geq 98\%$)、 α -糖苷酶、4-硝基酚- α -D-吡喃葡萄糖苷 (pNPG, 质量分数 $\geq 98\%$)、3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one (PMP, 质量分数 $\geq 98\%$)、D-(+)-半乳糖、Hepes、根皮苷 (质量分数 $\geq 98\%$), Sigma 公司; 葡萄糖, 天津市大茂化学试剂厂; DMEM 培养基, Gibco 公司; 胎牛血清、非必需氨基酸, HyClone 公司; 青霉素-链霉素溶液, 碧云天生物技术研究所; 胰蛋白酶 (1:250), Biosharp 公司; 乙二胺四乙酸, 天津博迪化工有限公司。Hanks' 平衡盐溶液 (HBSS, 本实验室配制: 8 g/L NaCl, 0.4 g/L NaCl, 1 g/L 葡萄糖, 60 mg/L KH_2PO_4 , 47.5 mg/L Na_2HPO_4 , 调 pH 7.2)。

1.2 动物与细胞

Wistar 大鼠, 雄性, 体质量 180~220 g, 北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证号: SCXK (京) 2011-0007。所有动物每日实验前禁食、自由饮水 12 h 以上。

Caco-2 细胞, 购自中国科学院上海细胞库, 细胞传代数 20~30 代。

1.3 仪器

测利得超优血糖仪, 台湾厚美德生物科技股份有限公司; 大鼠胰岛素 ELISA 试剂盒, 南京建成生物工程研究所; Thermo Scientific MK3 型酶标仪, Thermo Fisher 公司; Transwell Permeable Supports (聚碳酸酯膜, 24 孔, 孔径 0.4 μm , 直径 6.5 mm), Corning Incorporated 公司; Millicell-ERS 电阻仪, Millipore 公司; LC-10P 液相泵、LC-10UV 检测器, 大连江申分离科学技术公司; Diamonsil C_{18} (2) 反相色谱柱 (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm), Dikma

Technologies 公司; Easy3000 工作站, 中辉科学器材有限公司。

2 方法

2.1 药物制备

2.1.1 蒲公英水提取物制备 称取干燥的蒲公英药材, 加入 30 倍质量纯净水, 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 4 h, 滤过后减压蒸馏浓缩、冷冻干燥, 得蒲公英水提取物, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。根据蒲公英有效成分的水溶性推测, 其水提取物中主要成分可能为黄酮类和酚酸类^[2]。

2.1.2 阿卡波糖溶液制备 每片阿卡波糖片 (含阿卡波糖 50 mg) 加纯净水 50 mL, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜, 搅拌后滤过, 即得 1 g/L 阿卡波糖水溶液。

2.2 对正常大鼠餐后血糖与胰岛素水平的影响

50 只大鼠以空腹血糖为准均衡分为 5 组: 对照组 (生理盐水), 阿卡波糖 (40 mg/kg) 组, 蒲公英水提取物 400、200、100 mg/kg 组。各给药组每天 ig 给药 1 次, 连续给药 7 d, 末次给药 1 h 后 ig 给予麦芽糖 2 g/kg。分别于给予麦芽糖前及给予麦芽糖后 30、60、90、120 min, 大鼠尾部取外周血, 血糖仪测定血糖水平; 给药后 1 h, 采集对照组和蒲公英水提取物组大鼠外周血 30 μL (因阿卡波糖对胰岛素水平无明显影响, 故仅对这 4 组大鼠胰岛素水平进行检测), 按 ELISA 试剂盒说明书方法测定胰岛素水平^[3]。

2.3 对 STZ 致糖尿病大鼠餐后血糖水平的影响

取 80 只大鼠, 其中 10 只作为对照组, 给予正常饲料, 其余 70 只大鼠喂饲高脂饲料 4 周后, 一次性 ip 给予 STZ 50 mg/kg, 继续给予高脂饲料, 3 d 后测空腹血糖, 选取空腹血糖高于 12 mmol/L 的 50 只大鼠用于实验。以空腹血糖为准将大鼠均衡分为 5 组: 模型组 (生理盐水), 阿卡波糖 (40 mg/kg) 组, 蒲公英水提取物 400、200、100 mg/kg 组, 每天 ig 给药 1 次, 连续给药 7 d。末次给药后 1 h, 各组大鼠 ig 给予麦芽糖 2 g/kg, 分别于给予麦芽糖前及给予麦芽糖后 30、60、90、120 min, 大鼠尾部取外周血, 血糖仪测血糖水平^[4]。

2.4 正糖钳实验

正糖钳实验按文献报道的方法^[5]进行。30 只健康大鼠随机分为对照组 (生理盐水)、盐酸二甲双胍 (200 mg/kg) 组和蒲公英水提取物 (400 mg/kg) 组, 每组 10 只, 每天 ig 给药 1 次, 连续给药 7 d。末次给药后 1 h 开始手术, 胰岛素灌流速率为 10 mU/(kg \cdot min), 葡萄糖注射液质量浓度为 100 g/L,

每 10 min 测 1 次颈动脉血样中的葡萄糖水平,并据此调节葡萄糖灌注速率。使血糖水平在 1 h 内均保持在 (8 ± 1) mmol/L 的某个固定的葡萄糖输注率 (GIR), 记为该动物的 GIR。

2.5 对 α -糖苷酶活性的影响

采用文献报道方法^[6]检测蒲公英水提取物对 α -糖苷酶活性的影响。本实验所用溶液均以 pH 6.8、67 mmol/L 磷酸盐缓冲液配制。将蒲公英水提取物或阳性对照阿卡波糖溶液 (0.054~1.739 mg/mL) 2 mL、0.5 U/mL α -糖苷酶 0.1 mL 以及 1 mg/mL 的谷胱甘肽 (GSH) 0.1 mL 混合, 37 °C 培养 10 min, 加入 16 mmol/L 的 pNPG 0.1 mL, 37 °C 再培养 10 min。检测混合液 400 nm 处的吸光度 (A) 值, 计算 α -糖苷酶抑制率 (IR), 采用 Bliss 法计算 α -糖苷酶半数抑制浓度 (IC_{50})。

$$IR = (A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{空白}}$$

2.6 对 Caco-2 细胞麦芽糖水解与葡萄糖吸收功能的影响

2.6.1 色谱条件 采用 Diamonsil C_{18} (2) 反相色谱柱, 流动相为乙腈-0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (20 : 80), pH 值 7.0, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 20 μ L, 柱温 30 °C, 紫外检测器波长 254 nm。

2.6.2 细胞培养与处理 Caco-2 细胞置于含 10% 胎牛血清、10 mmol/L HEPES、1% 非必需氨基酸、100 U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 DMEM (pH 7.4) 中, 于 Transwell Permeable Supports 上培养 21 d^[7], 最后 3 d 顶面培养液中分别加入阳性药阿卡波糖 (α -糖苷酶抑制剂^[8], 终质量浓度 250 mg/L)、根皮苷 (Na^+ -葡萄糖同向转运体抑制剂^[9], 终质量浓度 200 mg/L)、蒲公英水提取物 (终质量浓度分别为 200、100 mg/L), 跨上皮电阻 $\geq 200 \Omega \cdot cm^2$ 表示形成紧密细胞单层。开始实验时, 弃去各孔顶面及底外侧面的 HBSS 溶液, 将含有底物麦芽糖 (终浓度为 28 mmol/L) 200 μ L 和各药物的 HBSS 加到顶面作为供给池 (各药物终浓度与上述最后 3 d 预培养时的相同), 同时底外侧面加入无葡萄糖、无底物的 HBSS 溶液 800 μ L 作为接收池。将 Transwell 培养板置于恒温水浴振荡仪中, 在振荡速率 50 r/min、温度 37 °C 下作用 40 min, 分别吸出顶面和底外侧面的全部溶液, 并将顶面溶液用纯净水稀释 4 倍后, 所有样品于 -20 °C 保存备 HPLC 检测用。

2.6.3 葡萄糖测定 葡萄糖检测采用 PMP 柱前衍生化 HPLC 法^[10]进行。柱前衍生化主要步骤: 配制

1 mmol/L 葡萄糖水溶液作为对照品, 与待测样品平行检测。将待测样品或葡萄糖对照品 200 μ L、1 mmol/L 半乳糖 200 μ L (内标物)、1.5 mol/L 的 NaOH 水溶液 100 μ L、0.5 mol/L 的 PMP 甲醇溶液 500 μ L 混合均匀, 70 °C 下水浴 30 min, 水浴后放置至室温, 加 1.5 mol/L 盐酸 100 μ L 中和, 再加 1 mL 氯仿涡旋振荡 20 s, 取上层水相 700 μ L, 再加 700 μ L 氯仿涡旋振荡 20 s, 取上层水相 400 μ L, 以 10 000 $\times g$ 离心 15 min 使微粒沉淀, 备 HPLC 进样。

记录 Easy3000 色谱工作站给出的葡萄糖峰和半乳糖峰的峰面积, 用内标法计算样品中葡萄糖的量。用得出的所有样品中的葡萄糖浓度计算培养板中每个孔的 $C_{AG} + C_{BG}$ 值、 $C_{BG} / (C_{AG} + C_{BG})$ 值 (C_{AG} 为供给池中葡萄糖浓度, C_{BG} 为接收池葡萄糖浓度)。

$$C_X = f \times A_X / (A_S / C_S)$$

$$f = (A_S / C_S) / (A_R / C_R)$$

C_X 为各样品中葡萄糖浓度, f 为校正因子, A_X 为各样品中葡萄糖的峰面积, A_S 为内标物峰面积, C_S 为内标物浓度, A_R 为对照品中葡萄糖的峰面积, C_R 为对照品中葡萄糖的浓度

2.7 统计学处理

所有数据统计均用 SPSS 13.0 软件进行分析, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 对正常大鼠餐后血糖与胰岛素水平的影响

与对照组相比, 阿卡波糖、蒲公英水提取物 400 mg/kg 连续给药 7 d, 使正常大鼠麦芽糖餐后血糖水平在 30、60、90 min 显著降低 ($P < 0.05$), 蒲公英水提取物 200 mg/kg 使餐后血糖在 90 min、100 mg/kg 使餐后血糖在 60 min 显著降低 ($P < 0.05$)。结果见图 1。蒲公英水提取物 400、200、100 mg/kg 连续给药 7 d, 对正常大鼠血清胰岛素水平无显著影响。结果见图 2。

3.2 对 STZ 致糖尿病大鼠餐后血糖水平的影响

与对照组相比, 模型组大鼠血糖水平显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 阿卡波糖、蒲公英水提取物 400 mg/kg 使糖尿病大鼠麦芽糖餐后血糖水平在 30、60、90、120 min 显著降低 ($P < 0.05$), 蒲公英水提取物 200 mg/kg 使餐后血糖在 30 min 显著降低 ($P < 0.05$)。结果见图 3。

3.3 对正常大鼠 GIR 的影响

正糖钳实验显示, 与对照组相比, 盐酸二甲双胍显著升高正常大鼠的 GIR ($P < 0.05$), 而蒲公英水提取物 400 mg/kg 对正常大鼠 GIR 无显著影响。

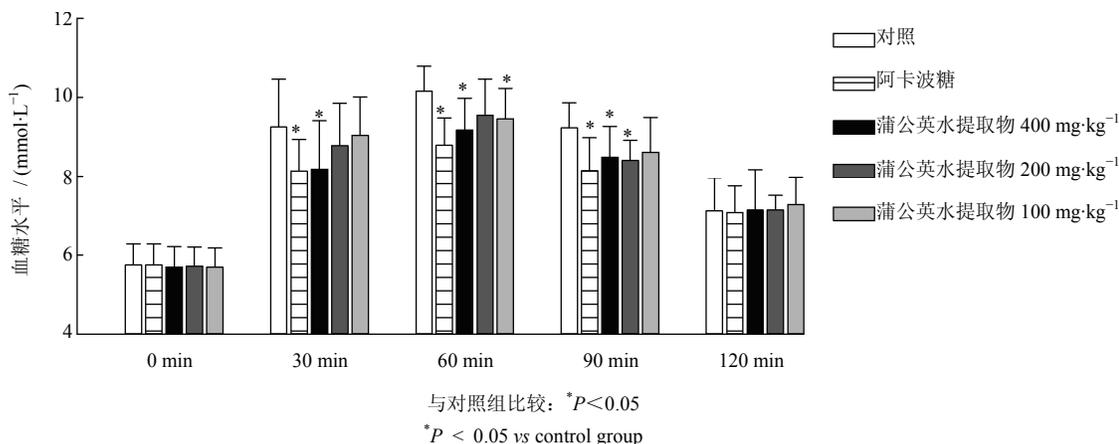


图1 蒲公英水提取物对正常大鼠餐后血糖水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effects of AETH on PBG in normal rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

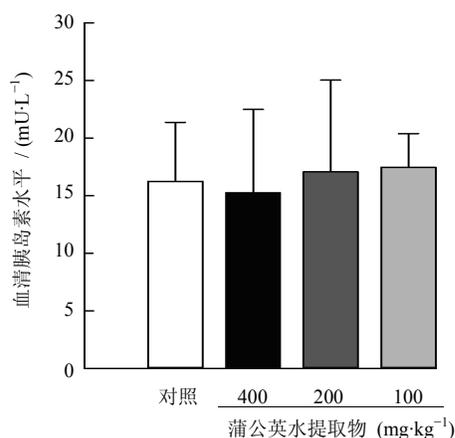


图2 蒲公英水提取物对正常大鼠血清胰岛素水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Effects of AETH on serum insulin level in normal rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

结果见图4。

3.4 对 α -糖苷酶活性的影响

蒲公英水提取物和阿卡波糖对 α -糖苷酶活性均显示抑制作用, 并与质量浓度有良好的相关性。以 IR 为纵坐标 (Y), 药物质量浓度为横坐标 (X), 得蒲公英水提取物对 α -糖苷酶的抑制曲线方程为 $Y = 22.715 \ln X + 81.047, r^2 = 0.9844, IC_{50}$ 为 0.477 mg/mL , 95%可信限为 $0.412 \sim 0.559 \text{ mg/mL}$; 阿卡波糖对 α -糖苷酶的抑制曲线方程则为 $Y = 24.337 \ln X + 69.308, r^2 = 0.9790, IC_{50}$ 为 0.251 mg/mL , 95%可信限为 $0.211 \sim 0.296 \text{ mg/mL}$ 。结果见图5。

3.5 对 Caco-2 细胞麦芽糖水解与葡萄糖吸收功能的影响

PMP 柱前衍生化 HPLC 检测葡萄糖浓度结果显示, 待测物葡萄糖与内标物半乳糖实现基线分离,

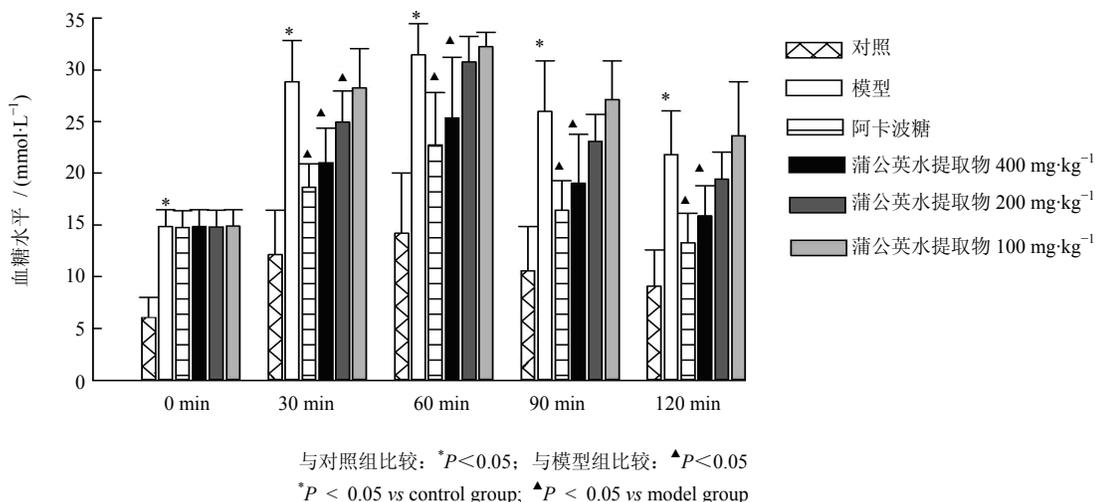
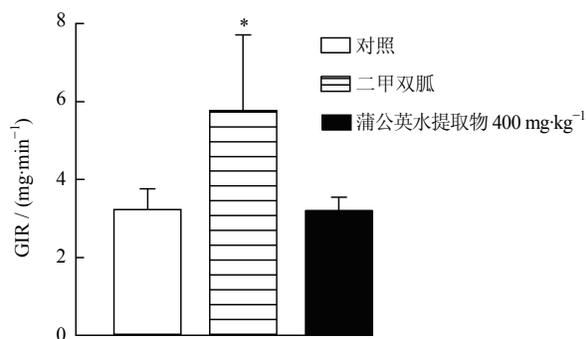


图3 蒲公英水提取物对 STZ 致糖尿病大鼠餐后血糖水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Effects of AETH on PBG in diabetic rats induced by STZ ($\bar{x} \pm s, n = 10$)



与对照组比较: * $P < 0.05$, 下图同
* $P < 0.05$ vs control group, same as below

图4 蒲公英水提取物对正常大鼠 GIR 的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Effects of AETH on GIR in normal rats
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

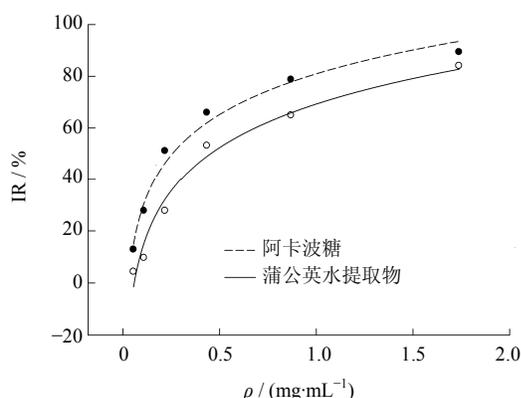


图5 蒲公英水提取物对 α -糖苷酶活性的影响

Fig. 5 Effects of AETH on activities of α -glucosase

经与不含葡萄糖和半乳糖的顶面 HBSS 图谱对比,二峰所在保留时间均无其他杂质峰干扰。

与对照组相比,阿卡波糖 250 mg/L 组和蒲公英水提取物 200 mg/L 组 $C_{AG} + C_{BG}$ 值显著降低 ($P < 0.05$); 根皮苷 200 mg/L 组与蒲公英水提取物 100 mg/L 组则无显著改变。结果见图 6。

与对照组相比,根皮苷 200 mg/L 组和蒲公英水提取物 200 mg/L 组的 $C_{BG} / (C_{AG} + C_{BG})$ 值显著降低 ($P < 0.05$); 阿卡波糖 250 mg/L 组与蒲公英水提取物 100 mg/L 组则无显著改变。结果见图 7。

4 讨论

王东亮等^[11]用蒲公英水煎液给小鼠 ig 15 d, 未观察到其能降低小鼠空腹血糖水平; 而宋晓勇等^[12]的实验证实蒲公英多糖在体外可抑制 α -糖苷酶活性。 α -糖苷酶是食物中淀粉、寡糖和双糖水解为单

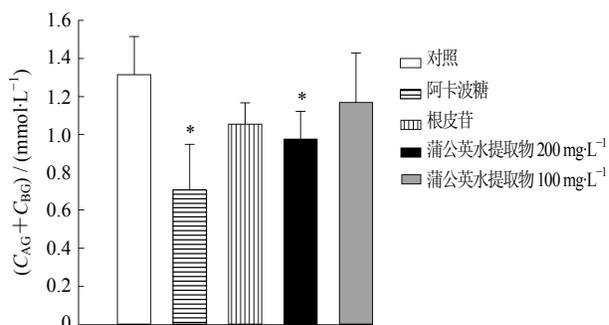


图6 蒲公英水提取物对 Caco-2 细胞培养体系中 $C_{AG} + C_{BG}$ 值的影响

Fig. 6 Effects of AETH on $C_{AG} + C_{BG}$ values in Caco-2 cell culture system

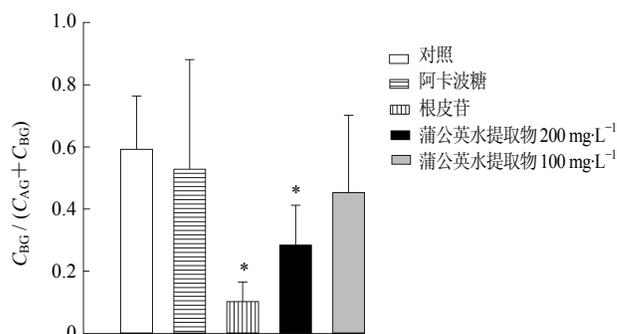


图7 蒲公英水提取物对 Caco-2 细胞培养体系中 $C_{BG} / (C_{AG} + C_{BG})$ 值的影响

Fig. 7 Effects of AETH on $C_{BG} / (C_{AG} + C_{BG})$ value in Caco-2 cells culture system

糖的必需酶, 而只有单糖才可从肠道吸收入血。 α -糖苷酶活性被抑制, 可以减少葡萄糖在肠道的生成从而降低餐后血糖。因此推测蒲公英水提取物可能具有与阿卡波糖阻碍糖类在肠道吸收相类似的作用。本实验旨在验证这种推测。实验结果表明, 蒲公英水提取物连续给药 7 d, 可降低大鼠餐后血糖水平。正糖钳实验中测定的 GIR 是某个组织对胰岛素敏感性的定量评价指标。本实验结果显示, 蒲公英水提取物对大鼠血清胰岛素和 GIR 均无影响, 表明其在不升高胰岛素、不增加组织对胰岛素敏感性的前提下降低大鼠餐后血糖, 因此推测蒲公英水提取物降血糖作用可能是减少了肠道吸收葡萄糖入血的缘故。

药物减少葡萄糖经肠道入血, 可能是阻碍了糖类的水解或葡萄糖在小肠上皮细胞的转运。体外实验证实蒲公英水提取物对 α -糖苷酶活性有抑制作用。采用 Caco-2 细胞进行糖类在小肠消化吸收的研

究较多^[13],但较少见采用可渗透支持膜进行 Caco-2 细胞培养,并在考察糖类水解的同时研究葡萄糖转运的。鉴于可渗透支持膜在药物吸收研究中普遍应用^[14-15],以及 Caco-2 细胞有葡萄糖转运体的表达^[16],本实验尝试将 Caco-2 细胞培养在 Transwell 聚碳酸酯膜上,同时考察蒲公英水提取物是否具有抑制麦芽糖水解和(或)抑制葡萄糖转运的作用,评估这两种作用同时存在时分别对药物总降糖作用所作出的贡献。在带有可渗透支持膜的 Caco-2 细胞培养体系中,顶面相当于小肠的肠腔面,底外侧面相当于小肠的基底侧面。因此顶面和底外侧面葡萄糖量之和($C_{AG}+C_{BG}$)即可反映麦芽糖水解能力。而底外侧面葡萄糖的量与顶面+底外侧面葡萄糖的量的比值 $[C_{BG}/(C_{AG}+C_{BG})]$ 可以反映葡萄糖转运能力。另外为了简化计算,将收集的顶面样品稀释4倍,达到与底外侧面样品同体积之后再行葡萄糖浓度测定,这样就可以用葡萄糖浓度来代替其量。在对葡萄糖的测定中,选择 PMP 柱前衍生化的 HPLC 法并加以改进(省略3处减压干燥以节约时间和设备,分别是在加盐酸中和以及2次氯仿萃取。另外采用成本低且容易得到的半乳糖代替鼠李糖作为内标物),因为这种方法检测限低,适合检测细胞培养液中浓度较低的葡萄糖。结果证明实验方法可行。

综上所述,蒲公英水提取物具有降低正常大鼠和 STZ 致糖尿病大鼠餐后血糖的作用。其机制与抑制小肠内麦芽糖水解和葡萄糖吸收有关,而抑制麦芽糖水解的作用与其抑制 α -糖苷酶活性有关,但其具体降血糖物质基础与作用机制仍需深入研究。

参考文献

- [1] 吉枫,丛晓东,张云,等. 蒲公英药理作用综述 [J]. 亚太传统医药, 2011, 7(9): 173-175.
- [2] 林云,江林,蒋健,等. 蒲公英的药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(8): 42-47.
- [3] 陈新龙,夏照帆,韦多,等. 烧伤后胰岛素抵抗的实验研究 [J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(10): 1049-1051.
- [4] 李成军,陈鹏. 当归多糖对 STZ 诱导的糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(10): 1158-1161.
- [5] 龚文波,陈霞波,周建扬,等. 正糖钳技术观察降糖剂对大鼠胰岛素敏感性的影响 [J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(2): 144-145.
- [6] 陈浙江,袁萍,叶晓平,等. 治疗糖尿病常用中药对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制活性研究 [J]. 中成药, 2008, 30(11): 1661-1664.
- [7] Sambuy Y, De Angelis I, Ranaldi G, et al. The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: Influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2005, 21(1): 1-26.
- [8] Huang Y N, Zhao Y L, Gao X L, et al. Intestinal alpha-glucosidase inhibitory activity and toxicological evaluation of *Nymphaea stellata* flowers extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(2): 306-312.
- [9] Yamaguchi K, Kato M, Suzuki M, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of the effect of an sodium-glucose cotransporter inhibitor, phlorizin, on renal glucose transport in rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(10): 1801-1807.
- [10] Honda S, Akao E, Suzuki S, et al. High-performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives [J]. *Anal Biochem*, 1989, 180(2): 351-357.
- [11] 王东亮,李延杰. 蒲公英对糖尿病小鼠模型降血糖作用的研究 [J]. 吉林农业, 2011(4): 108.
- [12] 宋晓勇,刘强,王子华. 蒲公英多糖降糖药理作用研究 [J]. 中国药房, 2009, 20(27): 2095-2097.
- [13] Mizuma T, Fuseda N, Hayashi M. Kinetic characterization of glycosidase activity from disaccharide conjugate to monosaccharide conjugate in Caco-2 cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57(5): 661-664.
- [14] Foglieni C, Cavarelli M, Piscopiello M, et al. Mn bioavailability by polarized Caco-2 cells: comparison between Mn gluconate and Mn oxyprolinate [J]. *Nutr J*, DOI: 10.1186/1475-2891-10-77.
- [15] Smetanova L, Stetinova V, Svoboda Z, et al. Caco-2 cells, biopharmaceutics classification system (BCS) and biowaiver [J]. *Acta Med (Hradec Kralove)*, 2011, 54(1): 3-8.
- [16] Harris D S, Slot J W, Geuze H J, et al. Polarized distribution of glucose transporter isoforms in Caco-2 cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(16): 7556-7560.