

糖尿病状态下 Caco-2 细胞 CYP3A4 和 P-gp 功能的变化及其机制研究^Δ

邹素兰*, 胡楠(常州市第一人民医院药剂科, 江苏常州 213003)

中图分类号 R969 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3471-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.05

摘要 目的:考察糖尿病状态下 Caco-2 细胞色素 P₄₅₀(CYP)3A4 和 P 糖蛋白(P-gp)功能的变化及其机制。方法:分别在 Caco-2 细胞中加入 25、50、100 μmol/L 咪达唑仑(CYP3A4 探针底物)温孵 15、30、60、120、180 min,加入 0.1、0.2、0.4 μg/ml 罗丹明 123(P-gp 底物)温孵 15、30、60、90、120 min,以确定底物浓度及温孵时间;在 Caco-2 细胞中加入不同浓度胰岛素、葡萄糖和脂肪酸(软脂酸和油酸)后测定咪达唑仑的代谢产物 1'-OH 咪达唑仑的生成量和罗丹明 123 的摄取量,以考察对细胞 CYP3A4 和 P-gp 功能的影响。结果:底物浓度分别为咪达唑仑 50 μmol/L、罗丹明 123 0.1 μg/ml,均温孵 2 h。随着胰岛素、葡萄糖、软脂酸浓度的升高,1'-OH 咪达唑仑的生成量降低,CYP3A4 活性降低;罗丹明 123 的摄取增加,P-gp 外排功能降低。油酸对 1'-OH 咪达唑仑的生成量和罗丹明 123 的摄取量没有显著影响。结论:糖尿病状态下,胰岛素、葡萄糖和软脂酸水平的升高均可降低 CYP3A4 和 P-gp 的功能,但油酸对 CYP3A4 和 P-gp 的功能影响不大。

关键词 糖尿病;Caco-2 细胞;CYP3A4;P 糖蛋白;胰岛素;葡萄糖;脂肪酸;体外试验

Study on the Function Change of Caco-2 Cell CYP3A4 and P-gp under Diabetic Conditions and Its Mechanism

ZOU Sulan, HU Nan (Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Changzhou, Jiangsu Changzhou 213003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the function change of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein (P-gp) under diabetic conditions and its mechanism. METHODS: Caco-2 cells were respectively added with 25, 50 and 100 μmol/L midazolam (CYP3A4 probe substrate) for incubation for 15, 30, 60, 120, 180 min; with 0.1, 0.2, 0.4 μg/ml rhodamine 123 (P-gp substrate) for incubation for 15, 30, 60, 90, 120 min to determine the substrate concentrations and incubation time. Caco-2 cells were added with insulin, glucose and fatty acid (palmitic acid and oleic acid) at different concentrations, and then the production of 1'-OH-midazolam, the metabolite of midazolam, and the intake of rhodamine 123 were determined, in order to investigate the effect on the function of CYP3A4 and P-gp. RESULTS: The optimal substrate concentrations and incubation time were as follows as 50 μmol/L midazolam, 0.1 μg/ml rhodamine 123 and incubation for 2 h. With the increase in the concentration of insulin, glucose and palmitic acid, the production of 1'-OH-midazolam and the activity of CYP3A4 reduced; the intake of rhodamine 123 increased, and the efflux transport function of P-gp decreased. Oleic acid had no significant effect on the production of 1'-OH-midazolam or the intake of rhodamine 123. CONCLUSIONS: Under diabetes condition, the increase of insulin, glucose and palmitic acid may reduce the function of CYP3A4 and P-gp, while oleic acid has no effect on the function.

KEYWORDS Diabetes; Caco-2 cells; CYP3A4; P-glycoprotein; Insulin; Glucose; Fatty acid; *in vitro* test

肠细胞中细胞色素 P₄₅₀(CYP)3A4 介导的生物转化和肠道 P 糖蛋白(P-gp)介导的药物主动泵出是决定口服药物生物利用度的主要因素^[1]。多项研究表明糖尿病可影响肠道 CYP3A4 和 P-gp 的功能与表达^[2-7],但其作用机制迄今尚未阐明。一般来说,糖尿病状态下体内胰岛素、葡萄糖、脂肪酸代谢与分泌会发生紊乱,进而对代谢酶和转运体——如大鼠原代肝细胞上的 CYP2E1 的 mRNA 表达^[8]、猪冠状动脉内皮细胞上 CYP2C9 的酶活性和蛋白表达^[9]、HepG2 细胞上的转运体 ABCA1 蛋白的表达^[10]产生影响,但关于胰岛素、葡萄糖和脂肪酸对肠 CYP3A4 和 P-gp 的影响目前鲜有报道。Caco-2 细胞来源于人结肠腺癌细胞,结构和功能类似于分化的小肠上皮细胞,常用于药物在肠细胞上的吸收和转运研究。因此,本研究通

过体外试验考察胰岛素、葡萄糖、脂肪酸对 Caco-2 细胞 CYP3A4 和 P-gp 功能的影响,并对糖尿病状态下肠道 CYP3A4 和 P-gp 的变化机制进行初步研究。

1 材料

1.1 仪器

Synergy2 荧光酶标仪(美国 Bio-tek 公司);VCX130 超声破碎仪(美国 SONICS 公司);LC-10ADVP 高效液相色谱(HPLC)仪,包括 SCL-10A 系统控制器、SIL-10ADVP 自动进样器、LC-10AT 泵、CTO-10A 柱温箱、RF-10A XL 荧光检测器(日本岛津公司);HW-2000 色谱工作站 2.12 版(南京千谱软件有限公司);LC-20AD HPLC 系统、2020 HPLC-质谱(MS)联用系统(日本岛津公司)。

1.2 药品与试剂

咪达唑仑(MDZ)对照品(中国食品药品检定研究院,批号:171250-200401,纯度:99.0%);1'-OH 咪达唑仑(1'-OH MDZ)对照品(美国 Sigma 公司,货号:UC430,纯度:98.0%);

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81503136);常州市高层次卫生人才培养工程(No.2016CZBJ010)

* 主任药师。研究方向:临床药学。电话:0519-68870870。E-mail:zsl661104@163.com

地西洋对照品(中国食品药品检定研究院,批号:171225-200903,纯度:99.9%);精蛋白锌胰岛素注射液(江苏万邦生化医药股份有限公司,批号:1108231,规格:400 u:10 ml);软脂酸(货号:P5585,纯度:≥99%)、油酸(货号:S4751,纯度:≥98.5%)、罗丹明123(Rho123,货号:83702,纯度:≥85%)均购于美国Sigma公司;高糖DMEM培养基、低糖DMEM培养基(美国Hyclone公司);胎牛血清、非必需氨基酸、胰蛋白酶消化液(美国Gibco公司);无脂酸钠牛血清白蛋白(BSA,上海前尘生物科技有限公司,货号:219989905,纯度:98%);考马斯亮蓝G-250(美国Amersco公司);D-葡萄糖(南京化学试剂一厂,货号:G0020-500,纯度:>99.8%);水为超纯水;甲醇、乙腈为色谱纯(美国Merck公司);其他试剂均为分析纯。

1.3 细胞

Caco-2细胞购于上海中科院细胞库。

2 方法

2.1 细胞培养

将Caco-2细胞消化后,分散于T-75培养瓶中,用高糖DMEM培养基于37℃、含5%CO₂(相对湿度90%)的环境中培养,2~3d更换1次培养基,促使细胞融合。

2.2 底物浓度及温孵时间考察

2.2.1 底物MDZ的浓度及温孵时间考察 MDZ是CYP3A4的探针底物,通过测定MDZ在Caco-2细胞上的代谢物1'-OH MDZ的生成可评价CYP3A4的功能。取24孔细胞培养板上处于对数生长期的Caco-2细胞,当细胞生长融合成单层膜时,每孔细胞用1 ml 37℃ Hanks平衡盐溶液(HBSS液)预温孵15 min,以平衡体系并除去细胞表面杂质;吸去HBSS液后,每孔中加入含50 μmol/L MDZ的HBSS液1 ml,在37℃下分别温孵15、30、60、120、180 min。另取上述细胞每孔分别加入含MDZ 25、50、100 μmol/L的HBSS溶液1 ml,37℃温孵120 min。吸出HBSS温孵液,采用HPLC-MS法测定1'-OH MDZ含量。每孔加入1 ml超纯水,破碎细胞后测定细胞蛋白含量。

2.2.2 底物Rho123的浓度及温孵时间考察 Rho123是P-gp的底物,通过Rho123在Caco-2细胞上的稳态摄取可评价P-gp的功能。将细胞接种于24孔板,待细胞贴壁完全并融合成单层膜时,每孔细胞用1 ml 37℃ HBSS液预温孵15 min,以平衡体系并除去细胞表面杂质;吸去HBSS液后,每孔中加入含0.1 μg/ml Rho123的HBSS液1 ml,在37℃下分别温孵15、30、60、90、120 min。另取上述细胞每孔分别加入含Rho123的0.1、0.2、0.4 μg/ml的HBSS溶液1 ml,37℃温孵120 min。吸去HBSS温孵液,将细胞培养板移至冰板上,用4℃空白HBSS溶液清洗细胞3次后,每孔加入0.4 ml超纯水,破碎细胞后测定细胞蛋白含量;再取出200 μl,采用HPLC法测定Rho123的浓度。细胞内药物摄取量(ng/μg)=测得药物浓度/细胞悬液的蛋白浓度。

2.2.3 考马斯亮蓝测定Caco-2细胞中蛋白含量 取“2.2.1”和“2.2.2”项下细胞反复冻融3次,超声破碎(功率:200 W)15 s后,每孔吸取30 μl细胞悬液,另取浓度为50、100、200、400 μg/ml的BSA标准品各30 μl,分别与1.5 ml新制的考马斯亮蓝应用液振荡混匀,置于摇床中振荡温孵10 min。吸取200 μl至96孔板中,用酶标仪在595 nm波长处测定溶液的吸光度值。以30 μl超纯水加入1.5 ml新制的考马斯亮蓝应用液作为空白对照。绘制标准曲线并计算细胞样品的蛋白含量。

2.3 胰岛素、葡萄糖和脂肪酸对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响考察

2.3.1 胰岛素对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响 将Caco-2细胞传代于24孔板中,待细胞长满至80%左右时将其分为4组,用正常培养基(含5.2 μu/L胰岛素)为对照组,其他3组培养基中分别加入含不同浓度胰岛素(25、50、100 μu/L)的培养基培养48 h后,测定1'-OH MDZ含量和Rho123的摄取量。

2.3.2 葡萄糖对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响 将Caco-2细胞传代于24孔板中,待细胞长满至80%左右时将其分为3组,分别用含不同浓度葡萄糖(5.5、25、68 mmol/L)的培养基培养48 h后(5.5 mol/L作为对照组),测定1'-HO MDZ含量和Rho123的摄取量。

2.3.3 脂肪酸对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响 将Caco-2细胞传代于24孔板中,待细胞长满至80%左右时将其分为6组,其中2组作为对照组,其他4组分别加入含不同浓度的软脂酸(100、200 μmol/L)、油酸(100、200 μmol/L)的培养基培养48 h后,测定1'-HO MDZ含量和Rho123的摄取量。

2.3.4 细胞损伤试验 将Caco-2细胞接种于96孔培养板中,待细胞长满至80%时,吸出每个培养孔中的培养基,分别加入HBSS液200 μl,于37℃温孵15 min后吸去空白HBSS液;向每孔中加入“2.3.1”~“2.3.3”项下含不同浓度胰岛素、葡萄糖、脂肪酸的HBSS液200 μl,37℃温孵48 h后吸去药液;每孔加入含MTT的培养基200 μl,37℃继续温孵4 h;洗去MTT溶液,加入200 μl二甲亚砜(DMSO)温孵10 min。设定参比波长为690 nm,采用酶联免疫检测仪在490 nm波长处测定各孔吸光度,若给药组的吸光度值与空白对照组无显著性差异时,即认为所用试剂及其浓度对细胞没有损伤。

2.4 统计学方法

数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验进行比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 MDZ浓度及温孵时间考察结果

MDZ的代谢物1'-OH MDZ在Caco-2细胞中的生成具有时间依赖性和浓度依赖性,详见图1。

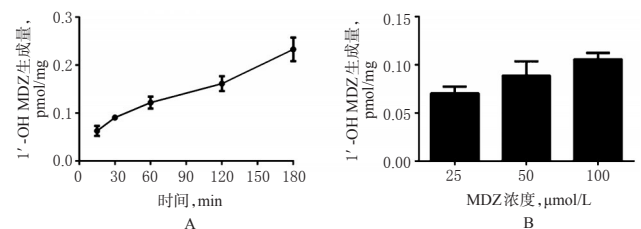


图1 不同浓度MDZ温孵Caco-2细胞不同时间后1'-OH MDZ生成量结果

A.时间;B.浓度

Fig 1 Productions of 1'-OH MDZ after Caco-2 cells were incubated with MDZ at different concentrations for different time

A. time; B. concentration

代谢物1'-OH MDZ的生成在15~180 min之间呈线性增长,且随着MDZ浓度的增加而增加,说明本研究所用的Caco-2细胞以及所用试验设计可用于检测CYP3A4酶的活性。综合MDZ在Caco-2细胞上代谢的时间及浓度依赖性试验结果,在考察胰岛素、葡萄糖、脂肪酸对CYP3A4功能影响的研究中,均选择50 μmol/L的MDZ作为底物浓度,孵育时间为2 h。

3.2 Rho123浓度及温孵时间考察结果

结果显示,随着Rho123质量浓度的增加,其在细胞中的摄取量均增加显著,并且在试验浓度范围内Caco-2细胞对Rho123的摄取近似呈线性关系,详见图2。

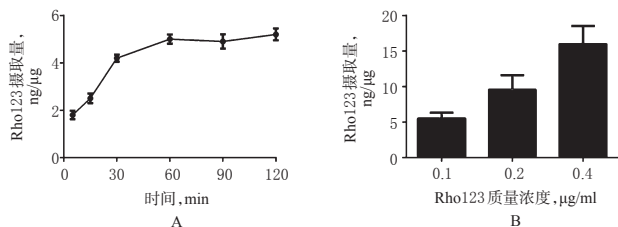


图2 不同质量浓度Rho123温孵Caco-2细胞不同时间后Rho123的摄取量结果

A. 时间; B. 质量浓度

Fig 2 Results of intakes of Rho123 after Caco-2 cells were incubated with Rho123 at different concentrations for different time

A. time; B. concentration

综合Rho123在Caco-2细胞上摄取的时间及浓度依赖性试验结果,在考察胰岛素、葡萄糖、脂肪酸对P-gp功能影响的研究中均选择0.1 μg/ml的Rho123作为底物浓度,孵育时间为2 h。

3.3 胰岛素对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响

随着培养基中胰岛素浓度的升高,Caco-2细胞1'-OH MDZ的生成量逐渐降低,即Caco-2细胞CYP3A4的活性降低。与对照组比较,50、100 μu/L的胰岛素培养的Caco-2细胞1'-OH MDZ的生成量显著下降($P < 0.05$),分别降低了21%、27%,详见图3A(图中设对照组为100%,其他组均为对照组的相对值,下同)。相反,随着培养基中胰岛素浓度的升高,Caco-2细胞对Rho123的摄取量逐渐增加,表明细胞P-gp的外排功能降低。与对照组比较,25、50、100 μu/L的胰岛素培养的Caco-2细胞对Rho123的摄取量显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),分别增加了18%、29%、40%,详见图3B。

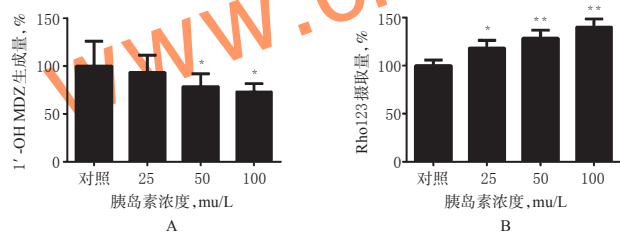


图3 不同浓度胰岛素培养Caco-2细胞后1'-OH MDZ生成量和Rho123摄取量结果

A. 1'-OH MDZ生成量; B. Rho123摄取量

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Fig 3 Productions of 1'-OH MDZ and intakes of Rho123 after Caco-2 cells were cultured by insulin at different concentrations

A. production of 1'-OH MDZ; B. intake of Rho123

Note: vs. control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.4 葡萄糖对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响

随着培养基中葡萄糖浓度的增加,Caco-2细胞1'-OH MDZ的生成量逐渐降低。与对照组比较,25 mmol/L葡萄糖培养的Caco-2细胞CYP3A4的酶活性有下降趋势,但没有显著性差异,而68 mmol/L葡萄糖培养的Caco-2细胞1'-OH MDZ生成量则显著降低了25% ($P < 0.05$),详见图4A。相反,随着

培养基中葡萄糖浓度的增加,Caco-2细胞对Rho123的摄取量逐渐增加。与对照组比较,68 mmol/L葡萄糖培养的Caco-2细胞对Rho123的摄取量显著增加($P < 0.05$),表明细胞P-gp的功能随着葡萄糖浓度的增加而降低,详见图4B。

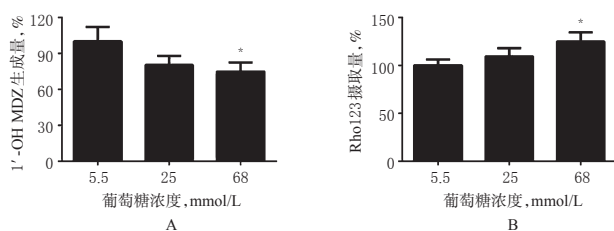


图4 不同浓度葡萄糖培养Caco-2细胞后1'-OH MDZ生成量和Rho123摄取量结果

A. 1'-OH MDZ生成量; B. Rho123摄取量

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

Fig 4 Productions of 1'-OH MDZ and intakes of Rho123 after Caco-2 cells were cultured by glucose at different concentrations

A. production of 1'-OH MDZ; B. intake of Rho123

Note: vs. control group,* $P < 0.05$

3.5 脂肪酸对Caco-2细胞CYP3A4和P-gp功能的影响

软脂酸可降低Caco-2细胞1'-OH MDZ的生成。与对照组比较,100、200 μmol/L的软脂酸分别使Caco-2细胞1'-OH MDZ生成量降低了20%、34% ($P < 0.05$),详见图5A。相反,100、200 μmol/L的软脂酸可增加Caco-2细胞对Rho123的摄取,且随浓度升高摄取量逐渐增加。与对照组比较,分别增加了57%、144% ($P < 0.01$),详见图5C。而另外一种不饱和脂肪酸油酸对CYP3A4和P-gp的功能则没有显著影响,详见图5B、图5D。

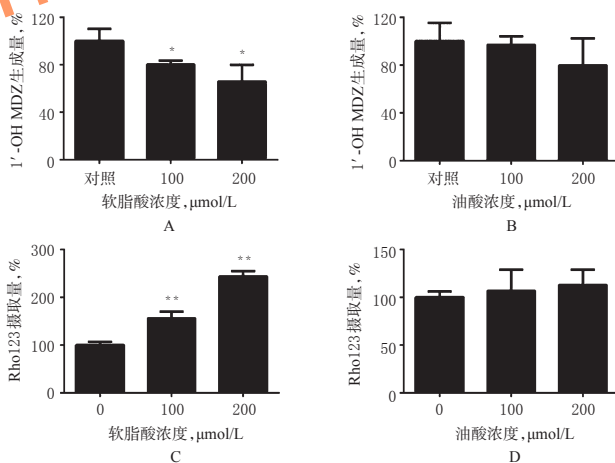


图5 不同浓度软脂酸和油酸培养Caco-2细胞后1'-OH MDZ生成量和Rho123摄取量结果

A. 软脂酸培养后1'-OH MDZ生成量; B. 油酸培养后1'-OH MDZ生成量; C. 软脂酸培养后Rho123摄取量; D. 油酸培养后Rho123摄取量

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Fig 5 Productions of 1'-OH MDZ and intakes of Rho123 after Caco-2 cells were cultured by palmitic acid and oleic acid at different concentrations

A. production of 1'-OH MDZ after the culture of palmitic acid; B. production of 1'-OH MDZ after the culture of oleic acid; C. intake of Rho123 after the culture of palmitic acid; D. intake of Rho123 after the culture of oleic acid

Note: vs. control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.6 细胞损伤试验结果

研究表明,各组吸光度与空白对照组比较差异均无统计学意义,表明本研究中Caco-2细胞孵育48 h所用的各浓度的胰岛素、葡萄糖、脂肪酸均未对细胞造成损伤。

4 讨论

本研究结果显示,高浓度的胰岛素、葡萄糖和软脂酸均可降低CYP3A4和P-gp的功能,而油酸对CYP3A4和P-gp的功能均未见有影响。CYP3A4和P-gp均受孕甾烷X受体调控,某些影响因素对肠CYP3A4和P-gp功能的调节方向一致。例如很多药物是CYP3A4和P-gp的共同诱导剂或共同抑制剂,在一些病理状态下,如糖尿病、慢性肾衰的大鼠肠细胞CYP3A4和P-gp的变化也是一致的^[9,11-12]。

饱和与不饱和脂肪酸对肠道CYP3A4和P-gp的调节作用并不相同,饱和脂肪酸软脂酸可下调肠细胞上CYP3A4和P-gp的功能,而不饱和脂肪酸油酸则无影响,提示这两种脂肪酸对肠道CYP3A4和P-gp的调控途径与作用机制可能不同。笔者前期研究了脂肪酸对肝细胞CYP3A4的影响,发现饱和与不饱和脂肪酸均诱导HepG2细胞CYP3A4的酶活性^[13],这提示脂肪酸对肝细胞和肠细胞CYP3A4酶的调节也并不相同。

链脲菌素诱导的I型糖尿病大鼠和小鼠与正常组比较,血中胰岛素含量降低,血糖和脂肪酸含量升高,其肠道CYP3A4和P-gp的功能和蛋白表达水平均低于正常组^[2-3,5]。谷氨酸钠诱导的II型糖尿病肥胖模型小鼠具有高血糖、高胰岛素血症以及血脂异常等症状,而这种模型小鼠的十二指肠和空肠细胞的P-gp表达与正常小鼠比较显著增加^[14]。无论I型还是II型糖尿病,血糖和血脂水平均显著升高,然而不同类型糖尿病以及糖尿病不同的病理过程中胰岛素水平的变化则有所区别。仅通过本研究中的体外研究结果并不能完全解释不同类型糖尿病状态下肠道CYP3A4和P-gp的变化差异。胰岛素、葡萄糖和脂肪酸只是糖尿病病理状态下异常指标中的一小部分^[15],其他生理生化指标、激素及转录因子水平等也有可能导导致肠细胞CYP3A4和P-gp的改变,需要进一步研究探索。且体外试验难以完全模拟体内代谢过程,因此该结论需要进一步研究证实。

本研究对糖尿病状态下肠道CYP3A4和P-gp变化机制进行了初步探索,发现胰岛素、葡萄糖以及脂肪酸浓度的异常变化可影响肠道CYP3A4和P-gp的功能改变。本试验为进一步深入探索糖尿病状态下肠道CYP3A4和P-gp变化机制提供了一定的基础。

参考文献

[1] Bezirtzoglou EE. Intestinal cytochromes P₄₅₀ regulating the intestinal microbiota and its probiotic profile[J]. *Microb Ecol Health Dis*, 2012, doi: 10.3402/mehd.v23i0.18370. eCollection 2012.

[2] Borbas T, Benko B, Dalmadi B, et al. Insulin in flavin-containing monooxygenase regulation. Flavin-containing monooxygenase and cytochrome P₄₅₀ activities in experimental diabetes[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 28(1/2): 51.

[3] Hu N, Xie S, Liu L, et al. Opposite effect of diabetes me-

llitus induced by streptozotocin on oral and intravenous pharmacokinetics of verapamil in rats[J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(3): 419.

[4] Yu S, Yu Y, Liu L, et al. Increased plasma exposures of five protoberberine alkaloids from *Coptidis Rhizoma* in streptozotocin-induced diabetic rats: is P-GP involved?[J]. *Planta Med*, 2010, 76(9): 876.

[5] Zhang LL, Lu L, Jin S, et al. Tissue-specific alterations in expression and function of P-glycoprotein in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(7): 956.

[6] Sugioka N, Sato K, Haraya K, et al. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on the pharmacokinetics of nelfinavir in rats[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2008, 29(8): 469.

[7] Marques MP, Coelho EB, Dos SN, et al. Dynamic and kinetic disposition of nisoldipine enantiomers in hypertensive patients presenting with type-2 diabetes mellitus[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2002, 58(9): 607.

[8] Woodcroft KJ, Hafner MS, Novak RF. Insulin signaling in the transcriptional and posttranscriptional regulation of CYP2E1 expression[J]. *Hepatology*, 2002, 35(2): 263.

[9] Tsai SH, Hein TW, Kuo L, et al. High glucose impairs EDHF-mediated dilation of coronary arterioles via reduced cytochrome P₄₅₀ activity[J]. *Microvasc Res*, 2011, 82(3): 356.

[10] Yang Y, Jiang Y, Wang Y, et al. Suppression of ABCA1 by unsaturated fatty acids leads to lipid accumulation in HepG2 cells[J]. *Biochimie*, 2010, 92(8): 958.

[11] Leblond FA, Petrucci M, Dube P, et al. Downregulation of intestinal cytochrome P₄₅₀ in chronic renal failure[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(6): 1 579.

[12] Naud J, Michaud J, Boisvert C, et al. Down-regulation of intestinal drug transporters in chronic renal failure in rats[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 320(3): 978.

[13] Hu N, Hu M, Duan R, et al. Increased levels of fatty acids contributed to induction of hepatic CYP3A4 activity induced by diabetes: in vitro evidence from HepG2 cell and Fa2N-4 cell lines[J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 124(4): 433.

[14] Nawa A, Fujita-Hamabe W, Tokuyama S. Altered intestinal P-glycoprotein expression levels in a monosodium glutamate-induced obese mouse model[J]. *Life Sci*, 2011, 89(23/24): 834.

[15] 刘薇芝,刘蔚,胡汉昆,等.苦荞黄酮提取物对2型糖尿病模型大鼠血糖与血脂的影响[J]. *中国药房*, 2015, 26(4): 470.

(收稿日期:2015-11-09 修回日期:2016-07-18)

(编辑:刘明伟)