

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90024

沙棘多糖对胰岛素抵抗 HepG2 细胞氧化应激的保护作用与机制

Study on the protective effect and mechanism of seabuckthorn polysaccharides on insulin-resistant HepG2 cells from oxidative stress

王秋丹 赵凯迪 林长青

WANG Qiu-dan ZHAO Kai-di LIN Chang-qing

(延边大学医学院中医系, 吉林 延吉 133000)

(Department of Traditional Chinese Medicine, School of Medicine,
Yanbian University, Yanji, Jilin 133000, China)

摘要:目的:研究沙棘多糖对胰岛素抵抗 HepG2 细胞氧化应激的保护作用与机制。方法:采用水提醇沉法对沙棘多糖进行提取,并用苯酚硫酸法测定多糖含量。CCK-8 法测定不同浓度沙棘多糖对 HepG2 细胞活力的影响,用含 5×10^{-8} mol/L 胰岛素的培养基诱导 HepG2 细胞 24 h,建立 HepG2 细胞胰岛素抵抗模型。采用试剂盒测定葡萄糖消耗量以及糖原相对含量,并测定超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量,Western Blot 法测定氧化应激相关蛋白的表达。结果:沙棘多糖含量为 88.46%,在沙棘多糖质量浓度达到 800 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞活力出现显著下降($P < 0.05$),后续安全剂量选择 400 $\mu\text{g/mL}$ 。经沙棘多糖处理后的葡萄糖消耗量以及糖原相对含量均显著提高($P < 0.05$),SOD 水平达到 (79.31 ± 2.16) U/mg,MDA 水平达到 (2.15 ± 0.12) nmol/mg。沙棘多糖处理后显著提高 Nrf2 和 HO-1 的表达水平($P < 0.05$),显著降低 Keap1 的表达水平($P < 0.05$)。结论:沙棘多糖能够改善胰岛素抵抗细胞模型异常糖代谢情况和氧化应激水平,并通过调控 Nrf2/Keap1/HO-1 通路起到改善胰岛素抵抗的作用。

关键词:沙棘多糖;胰岛素抵抗;氧化应激;Nrf2/Keap1/HO-1 通路

Abstract: Objective: The protective effect and mechanism of seabuckthorn polysaccharides on insulin-resistant HepG2 cells against oxidative stress was investigated. **Methods:** The seabuckthorn polysaccharide was extracted by water extraction and

alcohol precipitation method, and the polysaccharide content was determined by the phenol sulfuric acid method. The CCK-8 method was used to determine the effects of different concentrations of sea-buckthorn polysaccharides on the viability of HepG2 cells. HepG2 cells were induced with a medium containing 5×10^{-8} mol/L insulin for 24 hours to establish a HepG2 cell insulin resistance model. A kit was used to determine glucose consumption and relative glycogen content, and to determine the content of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA). Western Blot method was used to determine the expression of oxidative stress-related proteins. **Results:** The content of seabuckthorn polysaccharide was 88.46%. When the concentration of seabuckthorn polysaccharide reached 800 $\mu\text{g/mL}$, the cell viability decreased significantly ($P < 0.05$). The subsequent safe dose was 400 $\mu\text{g/mL}$. Glucose consumption and relative glycogen content after seabuckthorn polysaccharide treatment were significantly increased ($P < 0.05$), SOD level reached (79.31 ± 2.16) U/mg, MDA level reached (2.15 ± 0.12) nmol/mg. After seabuckthorn polysaccharide treatment, the expression level of Nrf2 and HO-1 was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression level of Keap1 was significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** Hippophae rhamnoides polysaccharide can improve the abnormal glucose metabolism and oxidative stress level of insulin resistance cell model, and can improve insulin resistance by regulating the Nrf2/Keap1/HO-1 pathway.

Keywords: seabuckthorn polysaccharide; insulin resistance; oxidative stress; Nrf2/Keap1/HO-1 pathway

基金项目:吉林省重点科技攻关项目(编号:20170204023YY)

作者简介:王秋丹,女,延边大学在读硕士研究生。

通信作者:林长青(1970—),男,延边大学副教授,博士。

E-mail: lincq0608@163.com

收稿日期:2021-09-24

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)是一种胡颓子科、沙棘属落叶性灌木,在世界各地均有种植。研究^[1]显示,沙棘多糖具有一定的缓解体力疲劳、增强小鼠运动能力

和抗氧化的作用。

植物多糖是植物细胞代谢产生的聚合度超过 10 个的聚糖。如今,植物多糖因其具有无毒、可生物降解、低成本、易获得的特性,已被广泛应用于食品、医药、农业和化妆品行业^[2-3]。但目前对于沙棘多糖的报道多是集中在沙棘多糖的提取工艺以及纯化研究^[4-5],在功能性方面报道过沙棘多糖抗疲劳、抗氧化、抗炎等^[6-8]。

2 型糖尿病(T2DM),一种内分泌代谢疾病,占糖尿病病例的大多数,已成为世界性的问题^[9-10]。据报道^[11],2019 年糖尿病病例数量达到 4.63 亿例,预计 2030 年将增至约 5.78 亿例,2045 年将增至 7.00 亿例。T2DM 主要是由于体内产生胰岛素抵抗,使机体代谢失调从而引发糖尿病的发生,因此对于 T2DM 的治疗可从胰岛素抵抗方面着手。目前市售治疗糖尿病的药物多为西药,如二甲双胍,此类药物依赖性强,且长期使用会有一些副作用^[12]。

沙棘富含多种营养活性成分,但目前对沙棘多糖改善胰岛素抵抗方面的报道较少,且仅停留于动物层面的研究^[13]。试验拟研究沙棘多糖对胰岛素抵抗细胞模型的改善作用及可能机制,旨在为开发沙棘成为新型治疗糖尿病产品提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

沙棘:延吉市海兰江药店;

盐酸吡格列酮:江苏万邦生化医药股份有限公司;

人肝细胞癌细胞系 HepG2:上海 ATCC 细胞库;

2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺酸苯)-2H-四唑单钠盐(CCK-8):上海碧云天生物技术有限公司;

重组人胰岛素、DMEM 高糖培养基、双抗、胰酶、糖原试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;

胎牛血清:美国 Gibco 公司;

葡萄糖试剂盒、一氧化氮合成酶(NOS)测定试剂盒:南京建成生物工程研究所;

离心机:TDZ5-WS 型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

电热恒温水浴锅:HWS-24 型,上海一恒科学仪器有限公司;

荧光倒置显微镜:Olympus IX73 型,奥林巴斯(中国)有限公司;

细胞培养箱:MCO-5AC 型,日本 SANYO 有限公司;

酶标仪:BK-EL10C 型,山东博科生物产业有限公司;

电泳仪:Western Blot 型,BIO-RAD Laboratories Inc.;

凝胶成像系统:BioSpectrum510 型,美国 UVP 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 沙棘多糖的提取 参考祝敏等^[14]的方法并稍作

改动,将沙棘烘干粉碎,过 40 目筛,超声波功率 300 W,料液比($m_{\text{沙棘粉}}:V_{\text{水}}$)为 1:30 (g/mL),提取时间 1 h,提取温度 80 °C 浸提两次,合并两次提取液,用 80%乙醇醇沉 24 h,Sevage 法除蛋白,1%活性炭脱色,冷冻干燥 24 h,冻干成粉,4 °C 保存备用。

1.2.2 沙棘多糖含量的测定 采用苯酚硫酸法^[15]。

1.2.3 细胞培养 取液氮中冻存的细胞,快速解冻后加入预先已添加 10 mL 含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基的 15 mL 离心管中,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,用 1 mL 完全培养基重悬细胞,将细胞接于培养皿中,加入含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基,于 37 °C、0.5% CO₂ 培养箱中进行培养。当细胞贴壁生长至 80%~90%且生长状态良好时,使用 0.25%的胰酶消化传代,并计数。

1.2.4 沙棘多糖对 HepG2 细胞活力的影响 采用 CCK-8 法。取对数期 HepG2 细胞,将其稀释成 5×10^4 个/mL 单细胞悬液,并接种于 96 孔板中,每孔 200 μ L。分别配制质量浓度为 50,100,200,400,800,1 600 μ g/mL 的沙棘多糖,对 HepG2 细胞进行干预 24 h,每孔加入 10 μ L CCK-8,在培养箱中继续培养 2 h,用酶标仪测定 450 nm 处的吸光值,计算各组细胞活力以筛选出沙棘多糖安全剂量。

1.2.5 胰岛素抵抗细胞模型的建立与分组 取生长状态良好,细胞贴壁生长达 90%的 HepG2 细胞,稀释成 5×10^4 个/mL 单细胞悬液,每孔 100 μ L 接种至 96 孔板中。细胞共分为 5 组,分别为正常组、模型组、沙棘多糖低剂量组(200 μ g/mL)、沙棘多糖高剂量组(400 μ g/mL)、阳性组(盐酸吡格列酮 200 μ g/mL)。除正常组外,其余各组用含 5×10^{-8} mol/L 胰岛素的培养基诱导 48 h^[16]。

1.2.6 葡萄糖消耗量测定 取培养基上清,用葡萄糖试剂盒检测培养基上清中葡萄糖含量,具体操作按说明书进行,并按式(1)计算葡萄糖消耗量。

$$\Delta G = G_0 - G_x, \quad (1)$$

式中:

ΔG ——各组细胞的葡萄糖消耗量,mmol/L;

G_0 ——未接种细胞的空白组中葡萄糖含量,mmol/L;

G_x ——测得各组培养液中葡萄糖含量,mmol/L。

1.2.7 糖原相对含量测定 收集 $5 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ 个细胞到离心管内,离心后弃上清,加入 0.75 mL 提取液超声波破碎细胞并转移至 10 mL 试管中,置于沸水浴中煮沸 20 min,冷却后,用蒸馏水定容到 5 mL,混匀,8 000 $\times g$ 、25 °C 离心 10 min,取上清液待测,按糖原试剂盒说明书进行后续操作。

1.2.8 SOD、MDA 测定 收集细胞上清液用于 SOD 检测,分别消化收集细胞用于 MDA 检测。按 SOD、MDA、ROS、SOD 试剂盒说明书操作,测定各指标,并计算结果。

1.2.9 相关蛋白测定 Western Blot 法。用 RIPA 强裂解液进行细胞蛋白的提取,12 000×*g* 离心 10 min,取上清并用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,5×蛋白上样缓冲液进行煮沸,-20℃保存备用。根据目标蛋白分子量大小选择合适的分离胶浓度,电压 100 V,电泳时间 120 min,电泳结束后以 100 V,60 min 进行转膜,之后于 5%的脱脂奶粉中封闭 1 h,一抗 4℃孵育过夜,二抗室温孵育 1 h,ECL 显影并拍照。

1.2.10 统计学分析 使用 SPSS 23.0 对整理后的试验数据进行统计学分析,计算各组均值与标准偏差,进行显著性差异分析。所得的数据以图表和均值±标准偏差的形式表示。 $P<0.05$ 表示有显著性差异, $P>0.05$ 表示无显著性差异即无统计学意义。

2 结果与分析

2.1 沙棘多糖含量

多糖得率为 9.15%,图 1 为葡萄糖标准液吸光度及标准曲线,标准曲线为 $y = 10.075x + 0.0094$ ($R^2 = 0.9964$)。由此算出沙棘多糖含量为 88.46%。

2.2 沙棘多糖对 HepG2 细胞活力的影响

根据细胞活力筛选出后续使用的安全剂量。图 2 为不同质量浓度沙棘多糖对 HepG2 细胞干预 24 h 后的细胞活力情况。由图 2 可知,在沙棘多糖质量浓度为 50~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞活力均在 80%以上,在沙棘多糖质量浓度达到 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞活力出现显著下降($P<0.05$),因此后续试验选择的最大安全质量浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。可见,当浓度超过一定范围后,沙棘多糖对细胞活力会出现显著性影响。

2.3 沙棘多糖对葡萄糖消耗量的影响

在正常机体内,细胞利用胰岛素将葡萄糖吸收并分解,以便为机体提供能量,当发生胰岛素抵抗时,由于细胞对胰岛素的敏感度降低,不能有效识别胰岛素传递的信号,导致细胞对血液内的葡萄糖摄取率下降,因此葡萄糖的消耗减少,而血液内的葡萄糖则增多^[17]。加入能够改善胰岛素抵抗的药物后,细胞对葡萄糖的消耗量有所增多。由图 3 可知,与正常组相比,模型组葡萄糖消耗量

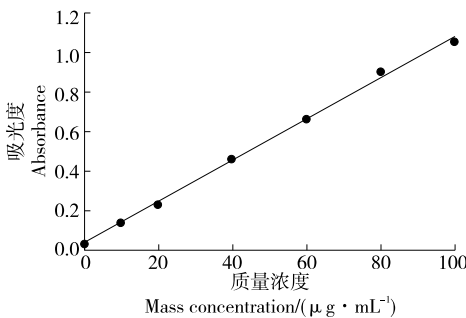


图 1 多糖标准曲线

Figure 1 Standard curve of polysaccharides

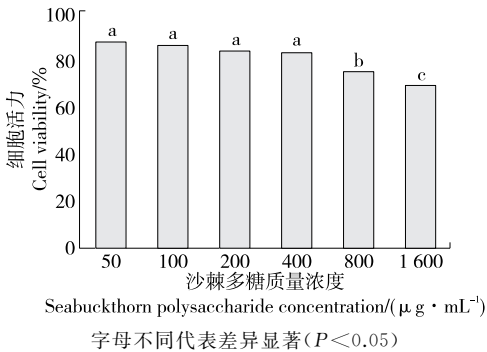


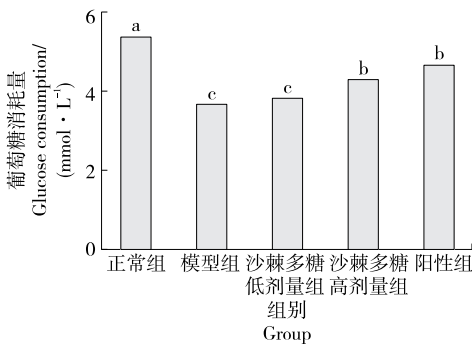
图 2 沙棘多糖质量浓度对 HepG2 细胞活力的影响

Figure 2 The effect of different concentrations of seabuckthorn polysaccharides on the viability of HepG2 cells

显著降低($P<0.05$),经沙棘多糖高剂量组处理后能够显著提高其葡萄糖消耗量($P<0.05$),且与阳性组间无显著性差异($P>0.05$)。可能是由于沙棘多糖调节了细胞识别胰岛素的敏感程度,从而提高了细胞对葡萄糖的吸收。因此推测,沙棘多糖能够调节胰岛素抵抗细胞对葡萄糖的摄取。Chen 等^[18]的研究也表明,仙人掌多糖能够提高胰岛素抵抗 HepG2 细胞对葡萄糖的吸收。

2.4 沙棘多糖对糖原含量的影响

糖原是机体储存糖的主要形式,糖原合成会使血糖升高,糖原分解会使血糖降低,因此其对维持血糖的相对稳定极为重要,同时能够指示胰岛素抵抗状况^[19]。如图 4 所示,模型组糖原的相对含量显著降低($P<0.05$),经沙棘多糖处理后能够显著提高糖原相对含量($P<0.05$)。这主要是由于沙棘多糖提高了细胞对葡萄糖的摄取,葡萄糖在各种酶的作用下合成糖原,最终导致糖原含量升高。由此可见,沙棘多糖能够改善胰岛素抵抗的 HepG2 细胞中糖代谢紊乱,减轻高糖高脂引起的糖原含量下降。Zhu 等^[20]研究了苦瓜中水溶性多糖和碱溶性多糖对胰岛素抵抗细胞模型的作用,发现其也能够提高糖原含量。



字母不同代表差异显著($P<0.05$)

图 3 沙棘多糖对葡萄糖消耗量的影响

Figure 3 The effect of seabuckthorn polysaccharides on glucose consumption

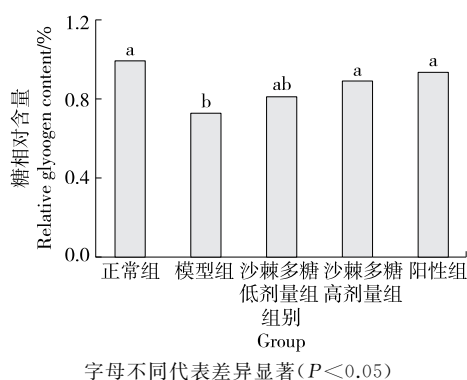
字母不同代表差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 沙棘多糖对糖原含量的影响

Figure 4 The influence of seabuckthorn polysaccharides on glycogen content

2.5 沙棘多糖对 SOD、MDA 水平的影响

表 1 为沙棘多糖对 HepG2 细胞中 SOD、MDA 水平的影响,与正常组相比,模型组细胞中 SOD 水平显著下降 ($P < 0.05$),MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较,经沙棘多糖处理后的 HepG2 细胞 SOD 水平得到显著提高 ($P < 0.05$),MDA 水平显著下降 ($P > 0.05$)。可能是由于沙棘多糖具有抗氧化活性,因此对细胞内的氧化应激相关酶起到了调控作用。说明沙棘多糖能够有效改善胰岛素抵抗细胞模型的氧化应激水平。Wei 等^[21]对沙棘浆果中的多糖进行了研究,发现其具有抗氧化活性,并能够提高小鼠 SOD 活力,降低 MDA 活力。

表 1 沙棘多糖对 HepG2 细胞中 SOD、MDA 水平的影响[†]

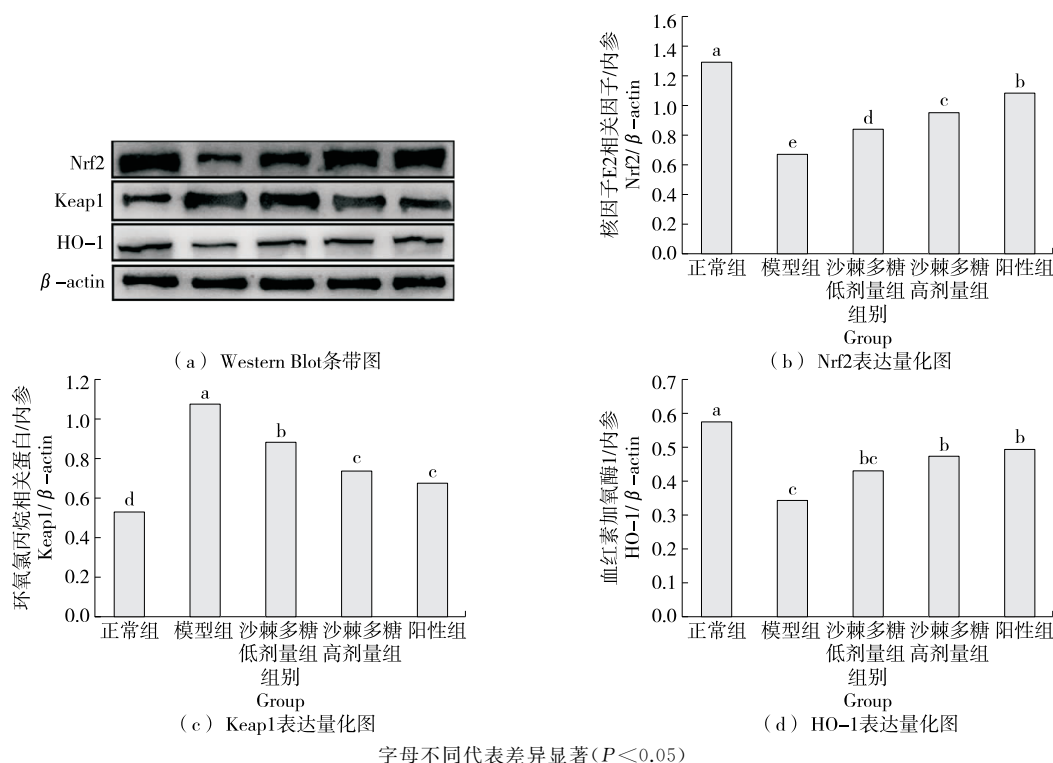
Table 1 The effect of seabuckthorn polysaccharides on the levels of SOD and MDA in HepG2 cells

组别	SOD/(U · mg ⁻¹)	MDA/(nmol · mg ⁻¹)
正常组	86.75 ± 3.54 ^a	2.38 ± 0.26 ^b
模型组	63.58 ± 2.87 ^d	4.82 ± 0.18 ^a
沙棘多糖低剂量组	72.94 ± 3.08 ^c	1.86 ± 0.34 ^c
沙棘多糖高剂量组	79.31 ± 2.16 ^b	2.15 ± 0.12 ^b
阳性组	80.25 ± 3.47 ^b	2.03 ± 0.09 ^b

[†] 同列字母不同代表差异显著 ($P < 0.05$)。

2.6 沙棘多糖对氧化应激蛋白表达的影响

环氧氯丙烷相关蛋白(Keap1)与核因子 E2(Nrf2)在细胞质中结合,激活血红素加氧酶 1(HO-1)的启动子,HO-1 蛋白表达会在受到氧化应激和细胞损伤后上调^[22]。由图 5 可知,模型组中 Nrf2 和 HO-1 二者表达量显著降低 ($P < 0.05$),Keap1 表达量显著升高 ($P < 0.05$),经沙棘多糖处理后能够显著提高 Nrf2 和 HO-1 的表达水平 ($P < 0.05$),显著降低 Keap1 的表达水平 ($P < 0.05$)。可见,沙棘多糖能够调控胰岛素抵抗细胞模型的氧化应激相关蛋白。其可能机制如图 6 所示,沙棘多糖通过膜蛋白将其转运进细胞内,Nrf2 与 Keap1 在细胞质中处于结合状态,在受到沙棘多糖刺激后,两者分开,Keap1 留



字母不同代表差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 沙棘多糖对氧化应激蛋白表达的影响

Figure 5 The effect of seabuckthorn polysaccharides on the expression of oxidative stress protein

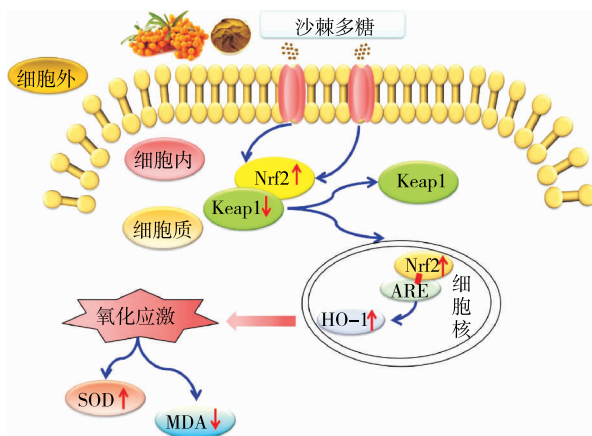


图6 沙棘多糖对胰岛素抵抗 HepG2 细胞氧化应激的保护作用可能机制

Figure 6 The possible mechanism of the protective effect of seabuckthorn polysaccharides on insulin-resistant HepG2 cells against oxidative stress

在细胞质中,而 Nrf2 到细胞核中与反应元件 ARE 结合,促进下游蛋白 HO-1 表达升高,进而导致氧化应激及相关酶的变化。因此推测沙棘多糖是通过调控 Nrf2/HO-1/Keap1 信号通路从而起到保护胰岛素抵抗 HepG2 细胞氧化应激的作用。

3 结论

沙棘多糖能够提高 HepG2 细胞胰岛素抵抗模型中葡萄糖消耗量以及糖原相对含量,提高其超氧化物歧化酶水平,降低丙二醛水平,改善胰岛素抵抗细胞模型异常糖代谢情况和氧化应激水平,并通过调控环氧氯丙烷相关蛋白/核因子 E2/血红素加氧酶 1 通路起到改善胰岛素抵抗的作用。该试验弥补了沙棘多糖在胰岛素抵抗细胞层面上的空白,但仅从细胞层面测定了糖代谢的基础指标以及不同氧化酶和氧化应激相关蛋白,未在动物层面对其胰岛素抵抗作用进行研究,后续将对沙棘多糖在动物水平的胰岛素抵抗作用进行深入研究。

参考文献

[1] 刘雅娜,包晓玮,王娟,等.沙棘多糖抗运动性疲劳及抗氧化作用的研究[J].食品工业科技,2021,42(10):321-326.
LIU Ya-na, BAO Xiao-wei, WANG Juan, et al. Research on anti-exercise fatigue and antioxidant effects of seabuckthorn polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(10): 321-326.

[2] 李静,樊佳妮,张龄芷,等.活性植物多糖在食品领域的应用综述[J].上海师范大学学报(自然科学版),2021,50(2):162-169.
LI Jing, FAN Jia-ni, ZHANG Ling-zhi, et al. Overview of the application of active plant polysaccharides in the field of food[J]. Journal of Shanghai Normal University (Natural Science Edition), 2021, 50

(2): 162-169.

[3] 杨玉红,郝慧敏.药用植物多糖的生物学功能及应用研究进展[J].生物学教学,2013,38(1):6-8.
YANG Yu-hong, HAO Hui-min. Research progress on the biological function and application of medicinal plant polysaccharides[J]. Biology Teaching, 2013, 38(1): 6-8.

[4] 武美馥.响应面优化闪式提取沙棘多糖工艺及其生物活性的研究[D].吉林:吉林化工学院,2019:24-26.
WU Mei-fu. Study on the flash extraction process and biological activity of Hippophae rhamnoides polysaccharide by response surface optimization[D]. Jilin: Jilin Institute of Chemical Technology, 2019: 24-26.

[5] 吕志琴,童军茂,陈国刚.沙棘多糖提取纯化工艺[J].农产品加工,2014(9):44-45.
LU Zhi-qin, TONG Jun-mao, CHEN Guo-gang. Extraction and purification process of seabuckthorn polysaccharides[J]. Agricultural Products Processing, 2014(9): 44-45.

[6] 刘明杰.沙棘多糖的分离纯化及其抗运动性疲劳作用[J].食品安全质量检测学报,2021,12(10):4009-4013.
LIU Ming-jie. Isolation and purification of sea buckthorn polysaccharides and its anti-exercise fatigue effect[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2021, 12(10): 4009-4013.

[7] 魏晨业,包晓玮,王娟,等.沙棘多糖分离纯化及抗氧化活性[J].食品科学,2021,42(4):227-232.
WEI Chen-ye, BAO Xiao-wei, WANG Juan, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of seabuckthorn polysaccharides[J]. Food Science, 2021, 42(4): 227-232.

[8] 王毅兵.沙棘多糖的响应面提取及抗炎作用研究[J].食品工业,2013,34(10):22-24.
WANG Yi-bing. Response surface extraction and anti-inflammatory effects of seabuckthorn polysaccharides[J]. Food Industry, 2013, 34(10): 22-24.

[9] GUNDMI S, MAIYA A G, BHAT A K, et al. Hand dysfunction in type 2 diabetes mellitus: Systematic review with meta-analysis[J]. Annals Phys Rehabil Med, 2018, 61(2): 99-104.

[10] FENG W, LIU Y, FEI F, et al. Improvement of high-glucose and insulin resistance of chromium malate in 3T3-L1 adipocytes by glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways and its mechanism[J]. RSC Adv, 2019, 9(1): 114-127.

[11] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the international diabetes federation diabetes atlas[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2019, 157: 107843.

[12] 励丽.扒一扒降糖药的副作用[J].大众健康,2021(4):58-59.
LI Li. Side effects of antidiabetic drugs for Pa Yipa[J]. Public Health, 2021(4): 58-59.

[13] 姚兰,蒋成霞,郭艳艳,等.沙棘多糖抑制 PERK/ATF4/CHOP 通路缓解糖尿病大鼠胰岛素抵抗和肝肾功能损伤[J].中国临床解剖学杂志,2021,39(2):187-191.
YAO Lan, JIANG Cheng-xia, GUO Yan-yan, et al. Hippophae rh-

- amnoides polysaccharide inhibits PERK/ATF4/CHOP pathway to relieve insulin resistance and liver and kidney damage in diabetic rats[J]. Chinese Journal of Clinical Anatomy, 2021, 39(2): 187-191.
- [14] 祝敏, 展俊岭, 杨洁, 等. 沙棘叶多糖提取方法及生物活性研究现状[J]. 化工时刊, 2018, 32(12): 36-38.
- ZHU Min, ZHAN Jun-ling, YANG Jie, et al. Research status of extraction methods and biological activity of seabuckthorn leaves polysaccharides[J]. Chemical Industry Times, 2018, 32(12): 36-38.
- [15] 罗春萍, 陆友利, 王星星. 苯酚—硫酸法快速测定多糖方法的优化[J]. 化工管理, 2021(3): 90-91, 94.
- LUO Chun-ping, LU You-li, WANG Xing-xing. Optimization of phenol-sulfuric acid method for rapid determination of polysaccharides[J]. Chemical Industry Management, 2021(3): 90-91, 94.
- [16] 刘迪迪, 邱军强, 程翠林, 等. HepG2 细胞胰岛素抵抗模型建立影响因素研究[J]. 食品与药品, 2018, 20(1): 1-6.
- LIU Di-di, QIU Jun-qiang, CHENG Cui-lin, et al. Study on the influencing factors of the establishment of HepG2 cell insulin resistance model[J]. Food and Drugs, 2018, 20(1): 1-6.
- [17] 周玉荣. 桃叶珊瑚苷对胰岛素抵抗的改善作用机制研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2021: 31-32.
- ZHOU Yu-rong. Study on the mechanism of aucubin in improving insulin resistance [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021: 31-32.
- [18] CHEN J C, LI L, ZHANG X, et al. Structural characterization of polysaccharide from *Centipeda minima* and its hypoglycemic activity through alleviating insulin resistance of hepatic HepG2 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 82: 104478.
- [19] 刘亚萍, 李雨蒙, 王梦, 等. 菊粉复配灵芝多糖对 HepG2 细胞胰岛素抵抗的调节作用[J]. 中国食品添加剂, 2018(12): 116-121.
- LIU Ya-ping, LI Yu-meng, WANG Meng, et al. The modulating effect of inulin compounded with *Ganoderma lucidum* polysaccharide on insulin resistance of HepG2 cells[J]. China Food Additives, 2018(12): 116-121.
- [20] ZHU Y, BAI J, ZHOU Y, et al. Water-soluble and alkali-soluble polysaccharides from bitter melon inhibited lipid accumulation in HepG2 cells and *Caenorhabditis elegans*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166: 155-165.
- [21] WEI E, YANG R, ZHAO H, et al. Microwave-assisted extraction releases the antioxidant polysaccharides from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 280-290.
- [22] WASIK U, MILKIEWICZ M, KEMPINSKA-PODHORODECKA A, et al. Protection against oxidative stress mediated by the Nrf2/Keap1 axis is impaired in primary biliary cholangitis[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 44769.
- (上接第 159 页)
- [20] LEI W, BIN Z, JIE X B, et al. Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit[J]. Food Chemistry, 2018, 249(2): 127-135.
- [21] 刘晓飞, 马京求, 侯艳, 等. 发芽糙米多糖的结构解析及降糖活性分析[J]. 中国食品学报, 2021, 21(8): 265-274.
- LIU Xiao-fei, MA Jing-qiu, HOU Yan, et al. Structural analysis and hypoglycemic activity analysis of germinated brown rice polysaccharide[J]. Chinese Journal of Food, 2021, 21(8): 265-274.
- [22] XU G Y, LIAO A M, HUANG J H, et al. Evaluation of structural, functional, and anti-oxidant potential of differentially extracted polysaccharides from potatoes peels[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129(9): 778-785.
- [23] LIANG X, GAO Y Y, PAN Y, et al. Purification, chemical characterization and antioxidant activities of polysaccharides isolated from *Mycena dendrobii* [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 203(12): 45-51.
- [24] SHEN S G, JIA A R, WU Y K, et al. Effect of culture conditions on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Nostoc flagelliforme*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 198(5): 426-433.
- [25] 王家腾, 王贺鹏, 刘蕾. 香菇多糖构效关系的研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(19): 363-369.
- WANG Jia-teng, WANG He-cong, LIU Lei. Research progress on structure-activity relationship of *lentinan*[J]. Food Science, 2019, 40(19): 363-369.
- [26] NWOKOCHA L M, WILLIAMS P A. Rheological properties of a polysaccharide isolated from *Adansonia digitata* leaves[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58(2): 29-34.
- [27] XU W B, ZHANG F, LUO Y B, et al. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 101(3): 213-219.
- [28] LI X L, ZHOU A G, HAN Y, et al. Anti-oxidation and anti-micro-organism activities of purification polysaccharide from *Salvinia natans* in vitro[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 66(1): 34-42.
- [29] 葛智超, 李燕, 施文正, 等. 裸藻多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(1): 186-191.
- GE Zhi-chao, LI Yan, SHI Wen-zheng, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of naked algae polysaccharide[J]. Food & Machinery, 2020, 36(1): 186-191.
- [30] 王帅, 赵冬雪, 韩成, 等. 6 种活性多糖的结构、性质及其抗氧化活性的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(16): 7-15.
- WANG Shuai, ZHAO Dong-xue, HAN Cheng, et al. Comparative study on the structure, properties and antioxidant activity of six active polysaccharides[J]. Food Research and Development, 2021, 42(16): 7-15.
- [31] YANG L, SUN Y Y, HUANG G L. Preparation and antioxidant activities of important traditional plant polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111(3): 780-786.