

美洲大蠊提取物C II -3的抗肝癌谱效关系研究[△]

周姣姣^{1*},何正春²,夏从龙^{2,3#},张成桂²,刘湘¹,刘光明²(1.湘潭市中心医院药学部,湖南湘潭 411100;2.大理大学药学与化学学院,云南大理 671000;3.云南省高校滇西道地药材资源开发重点实验室,云南大理 671000)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)16-1944-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.16.05

摘要 目的:研究美洲大蠊提取物C II -3与其体外抗肝癌活性的谱效关系,并初步明确其抗肝癌活性成分。方法:在已建立10批C II -3样品的超高效液相色谱(UHPLC)指纹图谱的基础上,借助超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用法(UHPLC-Q-TOF/MS),通过标准品和相关文献定性鉴定各色谱峰对应的化合物;以各批C II -3样品对人肝癌细胞HepG2的半数抑制浓度(IC₅₀)为抗肝癌活性指标,采用灰色关联度分析法(GRA)与正交偏最小二乘法(OPLS)建立并分析指纹图谱与抗肝癌活性之间的谱效关系。结果:10批C II -3样品的UHPLC指纹图谱中有共有峰25个,指认出其中10个,分别为环(酪氨酸-脯氨酸)(峰24)、环(甘氨酸-苯丙氨酸)(峰15)、次黄嘌呤(峰3)、腺嘌呤(峰7)、苯丙氨酸(峰10)、肌苷(峰11)、N-乙酰多巴胺(峰16)、环(脯氨酸-丙氨酸)(峰13)、2-羟基马尿酸(峰22)、环(脯氨酸-丝氨酸)(峰6)。10批C II -3样品对HepG2细胞的IC₅₀为70.550~200.303 μg/mL。25个共有峰中,以抗肝癌活性的GRA分析关联度(*r*)排序为峰20>23>24>15,且其*r*值均大于0.7;以OPLS分析变量重要性投影(VIP)值排序为峰23>18>15>24>7>14>6>2>20,且VIP值均大于1,其中峰7、15、20、23、24的标准回归系数均大于0,峰2、6、14、18的标准回归系数均小于0。联合分析显示,C II -3样品抗肝癌活性主要成分依次为峰20>23>24>15。结论:C II -3中两个未知化合物(峰20、23)和环(酪氨酸-脯氨酸)(峰24)、环(甘氨酸-苯丙氨酸)(峰15)可能是其抗肝癌活性的主要成分。

关键词 美洲大蠊;抗肝癌作用;灰色关联度法;正交偏最小二乘法;谱效关系;超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用法

Study on Spectrum-effect Relationship of Anti-hepatoma Effect of C II -3 Extract from *Periplaneta americana*

ZHOU Jiaojiao¹, HE Zhengchun², XIA Conglong^{2,3}, ZHANG Chenggui², LIU Xiang¹, LIU Guangming² (1. Dept. of Pharmacy, Xiangtan Municipal Central Hospital, Hunan Xiangtan 411100, China; 2. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Yunnan Dali 671000, China; 3. Yunnan Universities Key Lab of Genuine Medicinal Materials Resources Development in West Yunnan, Yunnan Dali 671000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the spectrum-effect relationship of anti-hepatoma effect of C II -3 extract from *Periplaneta americana*, and to preliminarily clarify the anti-hepatoma active components of it. METHODS: Based on UHPLC fingerprints of 10 batches of C II -3 samples, with the help of UHPLC-Q-TOF/MS, the compounds corresponding to each chromatographic peak were identified qualitatively by standard substances and related literatures. Using the IC₅₀ value of each batch of C II -3 sample against human hepatoma cells HepG2 as anti-hepatoma activity index, the spectrum-effect relationship of fingerprint and anti-hepatoma effect was established and analyzed by the combination of grey relational analysis (GRA) and orthogonal partial least squares (OPLS). RESULTS: There were 25 common peaks in UHPLC fingerprints of 10 batches of C II -3 samples, and 10 chemical compounds were identified, which were cyclo-(Tyr-Pro) (peak 24), cyclo-(Gly-Phe) (peak 15), hypoxanthine (peak 3), adenine (peak 7), phenylalanine (peak 10), inosine (peak 11), N-acetyldopamine (peak 16), cyclo-(Pro-Ala) (peak 13), 2-hydroxy propionyl (peak 22), cyclo-(Pro-Ser) (peak 6). The IC₅₀ of 10 batches of C II -3 samples to HepG2 cells was 70.550-200.303 μg/mL. Among 25 common peaks, the order of GRA correlation (*r*) of anti-hepatoma activity was peak 20>23>24>15, all of *r* values were greater than 0.7; the order of variable importance projection (VIP) of OPLS analysis was peak 23>18>15>24>7>14>6>2>20, all of VIP values were greater than 1. The standard regression coefficients of peak 7, 15, 20, 23, 24 were all greater than 0; while the standard regression coefficients of peak 2, 6, 14, 18 were all less than 0. Conjoint analysis shows that the order of

anti-hepatoma activity was peak 20>23>24>15. CONCLUSIONS: unknown chemical ingredients (peak 20, 23), cyclo-(Tyr-Pro)(peak 24) and cyclo-(Gly-Phe)(peak 15) in C II -3 may be main anti-hepatoma active components.

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81660605)

* 硕士。研究方向:天然药物化学。E-mail:ZJJ107@163.com

通信作者:教授,博士。研究方向:中药资源与品质评价。E-mail:long7484@126.com

KEYWORDS *Periplaneta americana*; Anti-hepatoma effect; Grey relational analysis; Orthogonal partial least squares; Spectrum-effect relationship; UHPLC-Q-TOF/MS

美洲大蠊(*Periplaneta americana* L.)为蜚蠊科大蠊属昆虫,俗称蟑螂。其药用历史悠久,始载于《神农本草经》,主治“小儿疳积、症瘕积聚和疮痍肿毒”^[1]。近年来,美洲大蠊的药用价值得到学者的广泛认同,大量研究表明其具有明显的促进组织修复再生、抗氧化、抗肿瘤、抗肝炎和免疫调节等功效^[2-5]。本课题组前期研究表明,以美洲大蠊提取物C II -3为原料的美蠊精胶囊具有显著的抗肝癌作用^[6-7],并建立了10批C II -3样品的指纹图谱^[8]。但其抗肝癌的活性成分尚未明确,且缺乏药效物质基础方面的相关研究。为此,本研究采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用法(UHPLC-Q-TOF/MS),通过标准品比对和文献检索对C II -3所含化合物进行分析鉴定;以C II -3对人肝癌细胞HepG2的半抑制浓度(IC₅₀)为抗肝癌活性指标,采用灰色关联度分析法(GRA)和正交偏最小二乘法(OPLS)联合建立指纹图谱与抗肝癌活性之间的谱效关系,旨在为美洲大蠊提取物C II -3的抗肝癌物质基础研究和临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Dionex UITiMate 3000型UHPLC仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);MALDI-TOF MS系统(德国Bruker公司);FDU-2100型冷冻干燥机(昆明倍捷科技有限公司);SB25-12D型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);AL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];NU-5510E型CO₂培养箱(美国NuAire公司);SN255939型酶标仪(美国BioTek公司);DT5-6型台式低速离心机(北京时代北利离心机有限公司);DW-86L388型超低温冰箱(青岛海尔股份有限公司);ES-315型高压灭菌锅(日本Tomy Digital Biology公司);WTE-PW8-5012型超级纯水机(格力电器制造有限公司)。

1.2 药品与试剂

美洲大蠊提取物C II -3由大理大学药学院刘光明教授提供(编号:S1~S10,每克C II -3样品相当于100 g干燥的美洲大蠊);肌苷标准品和次黄嘌呤标准品(中国食品药品检定研究院,批号:NUAD-SQW2、B96L-VFAP,纯度均大于98%);DMEM培养基和胎牛血清(美国Gibco公司);噻唑蓝(MTT)和二甲基亚砷(DMSO)均购自美国Sigma公司;磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4,天津市福晨化学试剂厂);乙腈(德国Merck公司,色谱纯);其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

1.3 细胞

人肝癌HepG2细胞株由齐氏生物科技有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 C II -3样品体外抗肝癌试验

2.1.1 样品制备 分别精密称取10批C II -3样品各6.00 mg,溶于含10%胎牛血清的DMEM培养基(以下简称“完全培养基”)10 mL中,得到质量浓度为600.00 μg/mL的母液,再用完全培养基稀释成400.00、300.00、200.00、100.00、50.00 μg/mL等5个质量浓度的C II -3溶液,备用。

2.1.2 细胞培养 用完全培养基于37℃、5%CO₂培养箱中培养HepG2细胞(培养条件下同)。培养过程中,1~2 d换一次细胞培养液,3~4 d传一代细胞。

2.1.3 C II -3样品对肝癌HepG2细胞活性的影响 取对数生长期HepG2细胞,用完全培养基调整细胞密度至1×10⁵个/mL,按100 μL/孔接种至96孔板中,培养24 h后,吸出培养液,PBS清洗2次,加入“2.1.1”项下5个质量浓度的C II -3溶液(给药浓度依据前期试验设置),同时设置空白对照组(不含细胞、不含药物)和溶剂对照组(不含药物、只含细胞),每组设5个复孔。给药后继续培养72 h,吸弃孔内培养液,PBS清洗2次,再加入MTT溶液20 μL,轻轻拍匀,继续培养4 h后,每孔添加DMSO 150 μL,低速振荡10 min,使用酶标仪在490 nm波长下检测各孔的吸光度。每组试验重复3次,取平均值,计算C II -3样品对HepG2细胞的抑制率:细胞抑制率(%)=(溶剂对照组吸光度-给药组吸光度)/(溶剂对照组吸光度-空白对照组吸光度)×100%。

2.1.4 统计学分析 采用Excel 2003进行线性回归分析,通过回归方程预测10批C II -3样品对HepG2细胞的半数抑制浓度(IC₅₀),结果见表1。结果显示,各批C II -3样品对HepG2细胞的IC₅₀为70.550~200.303 μg/mL。

表1 10批C II -3样品对HepG2细胞的IC₅₀值

Tab 1 IC₅₀ values of 10 batches of C II -3 samples against HepG2 cells

样品	IC ₅₀ , μg/mL	样品	IC ₅₀ , μg/mL
S1	150.202	S6	140.314
S2	200.303	S7	95.708
S3	70.550	S8	118.194
S4	116.335	S9	183.227
S5	83.875	S10	148.154

2.2 C II -3样品的化学成分分析

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex Gemini C₁₈ 110A

(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0.0~11.0 min, 1.0% A→3.5% A; 11.0~37.3 min, 3.5% A→8.0% A; 37.3~90.0 min, 8.0% A→22.0% A; 90.0~104.0 min, 22.0% A→28.0% A; 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 28 ℃; 检测波长: 214 nm; 进样量: 8 μL。

2.2.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI)以正、负离子两种模式分别进行检测; 扫描范围: m/z 50~1 200, 以甲酸钠进行质量实时矫正; 喷雾气体和干燥气体均为高纯度氮气; 碰撞气体: 氩气; 离子喷雾电压: 4 500 V; 检测电压: 2 000 V; 脱溶剂气温度: 180 ℃; 锥孔气流量: 8.0 mL/min; 离子源温度: 200 ℃。

2.2.3 UHPLC 指纹图谱生成和共有峰指认 按本课题组前期已建立的指纹图谱研究方法, 按“2.2.1”项下色谱条件对 10 批 C II -3 样品的指纹图谱进行分析。相关方法学考察内容已发表文献^[8]。10 批 C II -3 样品的 UHPLC 指纹图谱和对照指纹图谱见图 1, C II -3 样品在正、负离子模式下的基峰离子流图见图 2。根据标准品和相关文献^[9-15]定性鉴定出 10 个化合物, 结果见表 2。从图 1 和表 2 可知, C II -3 的指纹图谱中有 25 个共有峰, 其中峰 7、10、11、15 分别为腺嘌呤、苯丙氨酸、肌苷、环(甘氨酸-苯丙氨酸), 由于其峰面积相对较大, 推测均为 C II -3 样品的主要成分。

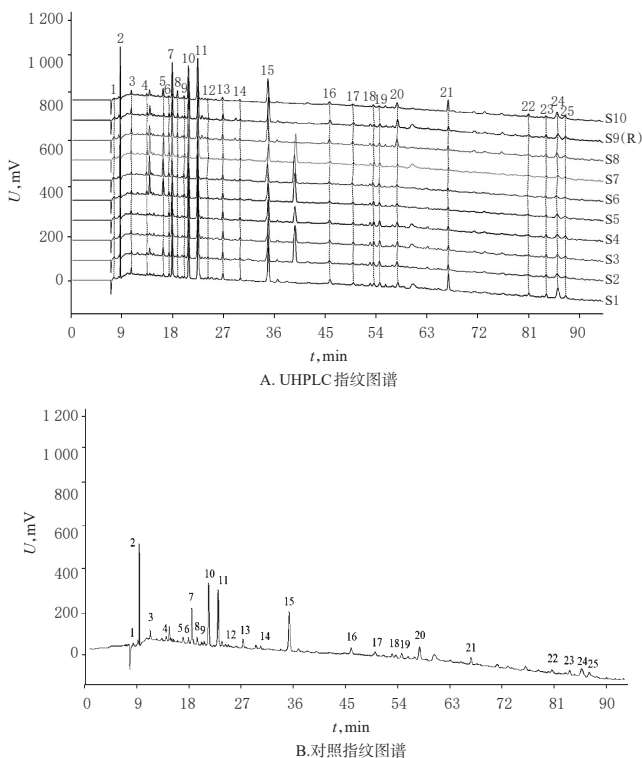


图 1 10 批 C II -3 样品的 UHPLC 指纹图谱和对照指纹图谱
Fig 1 UHPLC fingerprints of 10 batches of C II -3 samples and control fingerprint

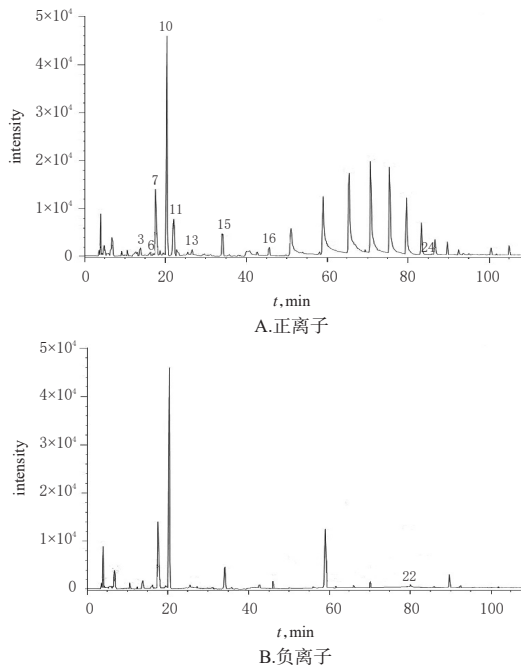


图 2 C II -3 样品在正、负离子模式下的基峰离子流图
Fig 2 BPC diagrams of C II -3 samples under positive and negative ion mode

2.3 C II -3 样品谱效关系的建立

2.3.1 GRA 以 UHPLC 指纹图谱的共有峰峰面积为比较序列, 以 C II -3 样品对 HepG2 细胞的 IC_{50} 为参考序列, 采用均值化法对上述序列数据进行无量纲化处理; 数据经处理后, 比较序列记为 $\{X_i(m)\}$, 参考序列记为 $\{X_0(m)\}$, 计算关联度(r)。 r 值越大, 表明该色谱峰对药理活性影响越大^[16]。 C II -3 的 25 个共有峰中, 以 r 值排序, 峰 20、23、24、15 对 C II -3 样品的抗肝癌活性贡献较大, r 均大于 0.7; 峰 21、17、3、7、10、1、11、16、13、19、25、8、9、22 的贡献次之, r 大于 0.6 且小于 0.7; 峰 5、14、2、4、12、6、18 的贡献较小, r 均小于 0.6, 详见表 3。

2.3.2 OPLS 分析 以 UHPLC 指纹图谱的共有峰峰面积为自变量, 以 C II -3 样品对 HepG2 细胞的 IC_{50} 为因变量, 将峰面积做归一化处理导入 Simca 13.0 软件中, 计算 25 个共有峰与 IC_{50} (药效) 的标准化回归系数和变量重要性投影 (VIP), 结果见图 3。

由图 3B 可知, 以 VIP 值排序, 峰 23、18、15、24、7、14、6、2、20 的 VIP 值均大于 1, 说明这些峰对 C II -3 样品的抗肝癌活性有重要影响。结合图 3A 可知, 在 VIP 大于 1 的色谱峰中, 峰 23、15、24、7、20 的标准化回归系数大于 0, 其与 C II -3 样品的抗肝癌活性成正相关, 峰 18、14、6、2 的标准化回归系数小于 0, 两者成负相关。

2.3.3 GRA 和 OPLS 的联合分析 将 $r > 0.7$ 和 $VIP > 1$ 的峰整合, 发现 C II -3 样品抗肝癌活性的主要成分依次为峰 20 (未知化合物) > 23 (未知化合物) > 24 [环(酪氨酸-脯氨酸)] > 15 [环(甘氨酸-苯丙氨酸)], 且均与药理活性成正相关。

表2 C II-3样品中化学成分的分析结果

Tab 2 Chemical constituent analysis results of C II-3 samples

序号	峰号	t, min	分子式	实测值m/z	理论值m/z	误差, ×10 ⁻⁶	加和离子峰	二级碎片离子m/z	化合物	文献
1*	3	13.8	C ₈ H ₇ N ₃ O	137.045 1	137.045 8	4.8	[M+H] ⁺	119.035 0, 94.039 9, 82.039 8, 67.029 2	次黄嘌呤	
2	6	17.1	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃	185.091 5	185.092 1	0.5	[M+H] ⁺	98.059 3, 70.064 3	环(脯氨酸-丝氨酸)	[10]
3	7	17.7	C ₈ H ₇ N ₃	136.061 1	136.061 8	5.6	[M+H] ⁺	119.034 9, 92.024 3, 65.013 9	腺嘌呤	[11]
4	10	20.3	C ₉ H ₉ NO ₂	166.085 6	166.086 3	4.1	[M+H] ⁺	120.080 2, 103.053 6, 91.053 7, 77.038 0	苯丙氨酸	[12]
5*	11	22.1	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃	269.086 8	269.088 0	4.7	[M+H] ⁺	137.045 5	肌苷	
6	13	26.7	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃	169.097 3	169.097 2	-1.0	[M+H] ⁺	98.060 4, 70.065 5	环(脯氨酸-丙氨酸)	[12]
7	15	34.2	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₂	205.095 7	205.097 2	7.2	[M+H] ⁺	170.058 8, 118.064 4, 91.054 1	环(甘氨酸-苯丙氨酸)	[13]
8	16	45.7	C ₁₀ H ₁₃ NO ₃	196.096 7	196.096 8	0.8	[M+H] ⁺	137.059 5, 91.054 1, 65.038 5	N-乙酰多巴胺	[14]
9	22	80.6	C ₈ H ₉ NO ₄	194.048 1	194.045 9	-11.4	[M-H] ⁻	93.037 0, 65.044 5	2-羟基马尿酸	[15]
10	24	85.6	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₃	261.127 7	261.128 5	3.2	[M+H] ⁺	172.110 5, 154.073 0, 98.059 6, 70.064 9	环(酪氨酸-脯氨酸)	[16]

注：“*”代表通过与标准品比对鉴定

Note: “*” indicates identified by comparison with the reference substance

表3 GRA结果

Tab 3 GRA results

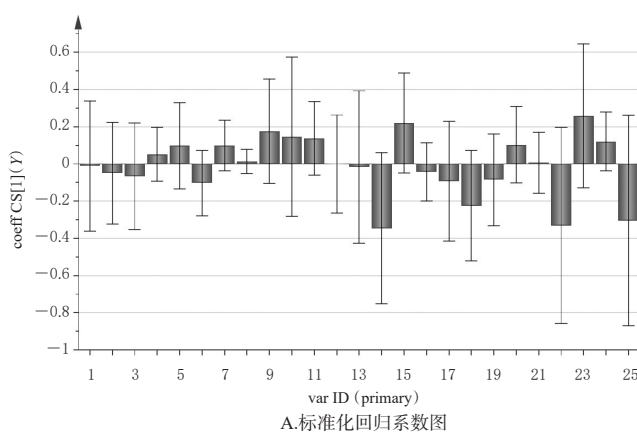
关联度排序	峰号	t, min	r	化合物
1	20	57.7	0.737 8	-
2	23	83.9	0.731 6	-
3	24	85.6	0.709 8	环(酪氨酸-脯氨酸)
4	15	34.2	0.700 7	环(甘氨酸-苯丙氨酸)
5	21	66.7	0.693 5	-
6	17	49.8	0.687 7	-
7	3	13.8	0.685 5	次黄嘌呤
8	7	17.7	0.679 4	腺嘌呤
9	10	20.3	0.670 4	苯丙氨酸
10	1	7.6	0.668 7	-
11	11	22.1	0.662 0	肌苷
12	16	45.7	0.640 0	N-乙酰多巴胺
13	13	26.7	0.627 8	环(脯氨酸-丙氨酸)
14	19	54.5	0.625 4	-
15	25	87.4	0.620 4	-
16	8	18.8	0.617 3	-
17	9	20.0	0.607 8	-
18	22	80.6	0.603 3	2-羟基马尿酸
19	5	16.3	0.595 5	-
20	14	29.9	0.584 3	-
21	2	8.7	0.576 6	-
22	4	13.4	0.573 0	-
23	12	24.2	0.571 5	-
24	6	17.1	0.556 3	环(脯氨酸-丝氨酸)
25	18	53.5	0.547 9	-

注：“-”表示化学物未知

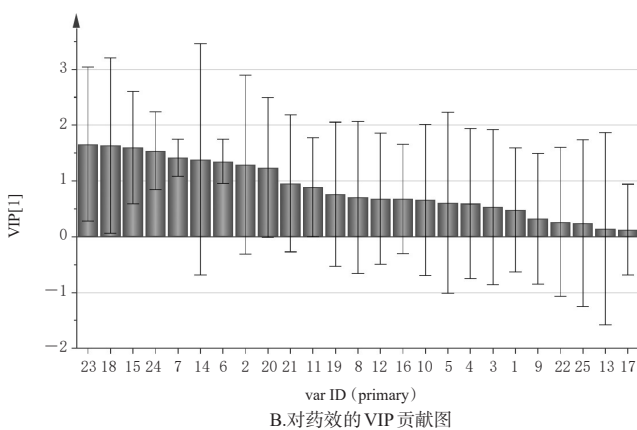
Note: “-” represents that unknown chemical ingredients

3 讨论

有研究表明,以美洲大蠊为原料制得的美蠊精胶囊等药品的药理活性显著且临床应用广泛^[7-8],但其化学成分研究较为薄弱,尚未找到特异性的活性物质,亦无其真正发挥临床疗效活性物质的相关报道。基于此,本课题组结合前期UHPLC指纹图谱,采用UHPLC-Q-TOF/MS技术在正、负离子模式下对10批美洲大蠊提取物C II-3进行整体分析,共得25个共有峰并鉴定出10个化合物,多为环二肽类和核苷类成分。据报道,环二肽类是具有抗癌、抑菌、抗凝和抗氧化等作用的一类活性物



A. 标准化回归系数图



B. 对药效的VIP贡献图

图3 C II-3样品的OPLS标准化回归系数图和对药效的VIP贡献图

Fig 3 OPLS normalized regression coefficient of C II-3 samples and VIP contribution graphs of it to pharmacodynamics

质^[17-19],核苷类物质多具有抗病毒、抗肿瘤和肝损伤修复等作用^[20]。可见,美洲大蠊提取物C II-3的抗肝癌作用可能与这两类物质紧密相关。

GRA法常用于预测中药或复方中各成分与药效的相关性,具有对样本容量和数据分布规律要求低、计算简便且易程序化的特点^[21]。但该方法计算出的关联度只具有相对意义,只能反映化合物与药效间相关性的

小,不能判断出正负关联,而OPLS法则可弥补GRA法的这一不足^[22]。因此,本研究采用两种方法联合分析C II-3与抗肝癌活性之间的谱效关系。结果表明,25个共有峰中有18个特征峰与C II-3样品抗肝癌活性的 r 值大于0.6,证明其具有相关性。但所有峰的 r 值均未超过0.8,表明其相关性不显著。其中,峰20、23、24、15的 r 值大于0.7、VIP值大于1且标准化回归系数均大于0,说明其对药效贡献相对较大并成正相关。曾瑶波等^[23]研究表明,环(酪氨酸-脯氨酸)(峰24)有良好的抗肝癌活性,可能是C II-3抗肝癌的活性成分。

综上所述,本研究通过谱效分析初步阐明了美洲大蠊提取物C II-3体外抗肝癌的活性物质,为该药的物质基础研究和临床应用提供了实验依据,亦为以美洲大蠊为原料的相关药品或有效部位的化学成分及作用机制的进一步研究提供了参考。

参考文献

- [1] 孙星衍.神农本草经[M].北京:商务印书馆,1955:90.
- [2] 何正春,胡明辉,王晓雨,等.美洲大蠊提取物对3株人及小鼠白血病细胞的细胞毒性研究[J].云南中医中药杂志,2009,30(5):56-57.
- [3] 肖小芹,汪世平,罗臣,等.美洲大蠊抗胃溃疡作用的初步研究[J].热带医学杂志,2006,6(12):1274-1276.
- [4] 夏超,王佳佳,李芳群,等.美洲大蠊水提取物对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用[J].安徽医科大学学报,2016,51(2):199-204.
- [5] 张丹,孙玉红,李茂,等.美洲大蠊多肽提取物对荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响[J].中国新药杂志,2015,24(6):681-686.
- [6] 张蕊,袁发璐,李婷,等.美洲大蠊提取物对人肝癌HepG2细胞的作用机制研究[J].中国现代医学杂志,2017,27(12):1-8.
- [7] 李娇,郭美仙,张冰清,等.美洲大蠊提取物C II-3对肝癌H22荷瘤小鼠作用研究[J].中华肿瘤防治杂志,2017,24(11):739-744.
- [8] 周姣姣,夏从龙,张成桂,等.美洲大蠊提取物C II-3 UPLC指纹图谱研究[J].大理大学学报,2019,4(2):27-32.
- [9] 高允,梁柳春,王瑞,等.美洲大蠊化学成分的研究[J].中成药,2018,40(2):375-378.
- [10] 郑丽红,黄丽英,陈瑜,等. LC-MS法分析野生、种植和组培3种金线莲药材中的核苷类物质[J].中药材,2015,38(11):2269-2273.
- [11] 廖勤俭,安明哲,李杨华,等.酒糟黄水中二肽和环二肽的研究[J].酿酒科技,2018(10):17-23.
- [12] 邓霞玲,练顺才,谢正敏,等.白酒中环二肽成分的分析研究[J].酿酒科技,2017(9):27-32.
- [13] 蒋文贤,罗世林,王英,等.美洲大蠊的化学成分[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2015,36(4):294-301.
- [14] 司金光,张涛,李凌宇,等.美洲大蠊的化学成分研究[J].中国药学杂志,2018,53(3):178-181.
- [15] 晏永明,朱宏杰,向斌,等.美洲大蠊愈创活性成分研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(4):591-596.
- [16] 邓聚龙.灰色系统基本方法[M].武汉:华中理工大学出版社,1987:17-43.
- [17] 刘贝,王淑美,王佰灵,等.三棱的环二肽类成分抗凝活性[J].中成药,2015,37(1):34-39.
- [18] FU H, KATSUMURA Y, LIN M, et al. Free radical scavenging and radioprotective effects of carnosine and anserine[J]. *Radiat Phys Chem*, 2009, 78(12):1192-1197.
- [19] 苏磊,姜艳艳,刘斌.《中国药典》收录的植物类中药中含有的寡肽类成分[J].中国中药杂志,2016,41(16):2943-2952.
- [20] 丁兴杰,熊亮,周勤梅,等.天然核苷类成分的化学结构和药理活性研究进展[J].成都中医药大学学报,2018,41(2):102-108.
- [21] 梁成军,张红英.相关系数与关联度在体育科研中的应用对比[J].高师理科学刊,2002,22(1):52-54.
- [22] 李力,潘倩雯,刘宏.灰色关联度分析法在中药谱效学研究中的应用[J].中国药房,2018,29(11):1581-1584.
- [23] 曾瑶波,刘晓玲,李创军,等.斑蝥化学成分及体外抗肿瘤活性研究[J].中国中药杂志,2016,41(5):859-863.

(收稿日期:2020-04-04 修回日期:2020-07-03)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅