

HPLC-PDA 同时测定不同品种及 产地蜈蚣中 8 种核苷类成分

张琪, 朱叶华, 文红梅*, 王欣之, 刘睿, 柴川
(南京中医药大学药学院, 南京 210023)

[摘要] 目的:建立同时检测不同品种、不同产地蜈蚣样品中 8 种核苷类成分(胞嘧啶,胞苷,次黄嘌呤,黄嘌呤,尿苷,胸腺嘧啶,2'-脱氧肌苷和胸苷)含量的高效液相色谱法。方法:不同品种及产地蜈蚣提取物的分析选用 Hedera ODS-2 C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相为甲醇-水,梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 254 nm,进样量 5 μL。结果:8 种核苷类成分分离良好;在一定质量浓度内线性关系良好($r > 0.999\ 9$);加样回收率在 95.73% ~ 102.6%;11 个批次蜈蚣样品中均含有 8 种核苷类成分,但含量存在差异。不同品种、不同产地的蜈蚣中核苷成分总量墨江蜈蚣含量最高,多棘蜈蚣其次,少棘巨蜈蚣和黑头蜈蚣中核苷类总成分比较接近。蜈蚣中次黄嘌呤和黄嘌呤明显高于其他核苷成分,少棘巨蜈蚣中次黄嘌呤的含量要高于其他品种。结论:该文所建立的方法快速简便,重复性、准确度良好,为蜈蚣的质量控制提供依据。

[关键词] 蜈蚣; 不同品种; 核苷; 含量测定; 高效液相色谱

[中图分类号] R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)14-0057-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017140057

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170427.1344.064.html>

[网络出版时间] 2017-04-27 13:44

Simultaneous Determination of Eight Nucleosides in Scolopendra of Different Varieties and Origins by HPLC-PDA

ZHANG Qi, ZHU Ye-hua, WEN Hong-mei*, WANG Xin-zhi, LIU Rui, CHAI Chuan
(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography method for simultaneous determination of eight nucleosides in Scolopendra. **Method:** Hedera ODS-2 C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used for determination of eight nucleosides. The analyses were eluted with methanol and water in a gradient mode. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the column temperature was set at 30 °C. The eight nucleosides were monitored and quantified at a wavelength of 254 nm, and the injection volume was 5 μL. **Result:** The investigated compounds, including cytosine, cytidine, hypoxanthine, xanthine, uridine, thymine, 2'-deoxyinosine and thymidine, in the samples were well separated. The eight nucleosides showed a good linearity at a certain concentration ($r > 0.999\ 9$), and the mean recoveries of the eight nucleosides ranged from 95.73% to 102.6%. The contents of nucleosides in Scolopendra from different varieties varied significantly. The highest of content of the eight nucleosides was in *Scolopendra mojiangica*, and the second was in *S. multidentis*. The content of the eight nucleosides in *S. subspinipes mutilans* and *S. negrocipitis* were close. The contents of hypoxanthine and xanthine in centipedes were significantly higher than those in other nucleosides, and the content of hypoxanthine in

[收稿日期] 20170305(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102563);高校博士学科点专项基金项目(20113237110001);江苏高校优势学科建设工程项目(YS2012ZYX309)

[第一作者] 张琪,在读硕士,从事中药成分分析与质量控制研究,Tel:15150513674,E-mail:291285600@qq.com

[通讯作者] *文红梅,博士生导师,教授,从事药物分析与代谢研究,Tel:025-85811839,E-mail:njwenhm@126.com

S. subspinipes mutilans was higher than that in other varieties. **Conclusion:** This high performance liquid chromatography method and quantitative analysis is simple, rapid, accurate and highly reproduced for simultaneous determination of eight nucleosides in *Scolopendra*, and helpful for its quality control.

[**Key words**] *Scolopendra*; different varieties; nucleoside; quantitative assay; high performance liquid chromatography (HPLC)

蜈蚣是蜈蚣科动物少棘巨蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* 的干燥体,以全虫入药。首载于《神农本草经》^[1]。具有息风镇痉、攻毒散结、通络止痛等功效^[2],是中医传统上一味较为常用的动物药材。目前,在我国蜈蚣药源品种有 4 种,即少棘巨蜈蚣 *S. subspinipes mutilans*,多棘蜈蚣 *S. multides*,黑头蜈蚣 *S. negrocipitis* 及墨江蜈蚣 *S. mojiangica*。其中少棘巨蜈蚣的产量占 95% 以上,是主要使用品种^[3],文献报道用对不同品种的蜈蚣形状微鉴别来区别蜈蚣的品种,从而避免药材的混淆和以次充好的不良现象^[4]。蜈蚣具有多种药理活性,如抗动脉粥样硬化^[5]、抗凝^[6]、抗菌^[7]、抗肿瘤^[8]等活性,此外还可以用于治疗异位妊娠^[9-10]、血管神经性头痛^[11]、周围性面瘫^[12]、中耳炎^[13]、痉咳^[14]等疾病。据前期文献研究,蜈蚣中主要成分有蛋白质、多糖、氨基酸、多肽、微量元素,此外也含有组织胺、脂肪胺及胆甾醇等成分,不同品种的蜈蚣,含有的化学成分也有所差别^[15-19]。但是,迄今为止,蜈蚣中许多活性成分还未被发现,其活性成分与药理作用之间关系尚不明确。

作为维持生物生命活动的基本组成单元,核苷类成分在 DNA 代谢过程中扮演重要角色。众所周知,核苷类成分参与体内各种生理过程的调节,并表现出多种生物活性,例如免疫应答的调节,抗血小板凝聚,抗心律失常,抗肿瘤,抗病毒,基因治疗等作用^[20-23]。因此,探索蜈蚣中核苷类成分将有助于提高蜈蚣这味动物药的潜在价值。目前,关于蜈蚣中核苷类成分的研究,文献主要报道了黄嘌呤、次黄嘌呤和尿苷的定量分析,蜈蚣中其他核苷类成分尚未见报道^[4,24]。本实验首次建立不同品种、不同产地及不同批次蜈蚣中 8 种核苷类成分的高效液相色谱分析方法,并对 11 个批次蜈蚣中核苷类成分进行含量检测以及差异分析,摸索蜈蚣内在质量控制方法,为今后深入研究蜈蚣的生物活性提供参考。

1 材料

2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,包含 2998 PDA 型检测器),KQ-500DE 型数控超声波清

洗器(昆山市超声仪器有限公司),TGL-16C 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂),MS105 型 1/10 万电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),XJA-10A 型高速粉粹机(姜堰市银河仪器厂),Milli-Q 型超纯水机(美国 Millipore 公司)。

核苷对照品胞嘧啶(批号 101186902),胞苷(批号 10106937),次黄嘌呤(批号 1001392976),黄嘌呤(批号 1001279304),尿苷(批号 1001290893),胸腺嘧啶(批号 101191717),2'-脱氧肌苷(批号 100852992),胸苷(批号 1001243313)均购自于美国 Sigma 公司(质量分数均 >99%),水为超纯水,甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯。

试验用蜈蚣样品来源信息见表 1,均购买于安徽丰原铜陵中药饮片有限公司,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定。

表 1 蜈蚣样品来源信息

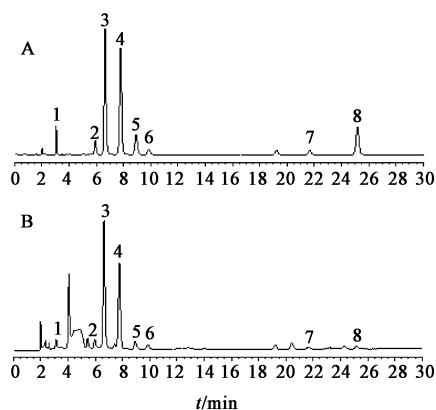
Table 1 Information of *Scolopendra* samples

No.	品种	拉丁名	产地	批号
1	少棘巨蜈蚣	<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i>	湖南	130816
2	少棘巨蜈蚣	<i>S. subspinipes mutilans</i>	湖北	130616
3	少棘巨蜈蚣	<i>S. subspinipes mutilans</i>	浙江	130508
4	少棘巨蜈蚣	<i>S. subspinipes mutilans</i>	四川	130701
5	多棘蜈蚣	<i>S. multides</i>	浙江	130522
6	多棘蜈蚣	<i>S. multides</i>	湖北	130920
7	墨江蜈蚣	<i>S. mojiangica</i>	云南	130616
8	墨江蜈蚣	<i>S. mojiangica</i>	云南	130819
9	黑头蜈蚣	<i>S. negrocipitis</i>	湖北	130616
10	黑头蜈蚣	<i>S. negrocipitis</i>	广西	130522
11	少棘巨蜈蚣	<i>S. subspinipes mutilans</i>	湖北	111001

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Heder ODS-2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,流动相为甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0 ~ 10 min, 0.3% A; 10 ~ 20 min, 0.3% ~ 5% A; 20 ~ 35 min, 5% ~ 15% A; 35 ~ 36 min, 15% ~ 0.3% A; 36 ~ 41 min, 0.3% A)。采用 Waters 2998 PDA 型检

测器,检测波长 254 nm,进样体积 5 μL 。混合对照品与蜈蚣样品(批号 111001)色谱图见图 1。



1. 胞嘧啶;2. 胞苷;3. 次黄嘌呤;4. 黄嘌呤;5. 尿苷;6. 胸腺嘧啶;
7. 2'-脱氧肌苷;8. 胸苷

图 1 混合对照品(A)与蜈蚣样品(B)中 8 种核苷类成分 HPLC
Fig.1 HPLC of 8 nucleosides in reference substances (A) and Scolopendra samples(B)

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取胞嘧啶,胞苷,次黄嘌呤,黄嘌呤,尿苷,胸腺嘧啶,2'-脱氧肌苷,胸苷对照品适量,加超纯水适量配制成单一核苷对照品储备液。量取对照品储备液适量,配制质量浓度分别为 7.64, 13.45, 81.60, 427.00, 21.30,

11.45, 9.84, 8.48, 10.70 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合核苷对照品溶液,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存,待用。

2.3 供试品溶液的制备 取蜈蚣样品数条,打粉,取蜈蚣粉末 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加水 10 mL,摇匀,超声提取(40 kHz, 250 W)3 次,超声时间分别为 60, 30, 30 min, 1 万 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,合并上清液,转移至 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。精密量取上述溶液 8 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,1 万 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液,过 0.45 μm 微孔滤膜滤过,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存,待用。

2.4 线性关系考察 精密吸取混合核苷对照品溶液适量,逐级稀释,加水使浓度分别为混合核苷对照品溶液的 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 倍,即得到 5 个不同质量浓度的混合核苷对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定。以质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),分别绘制标准曲线,建立回归方程,发现在一定范围内均呈良好的线性关系($r > 0.9999$)。取混合核苷对照品溶液适量,加超纯水稀释成一系列质量浓度的溶液,以信噪比 $S/N = 10$ 时的进样质量浓度为最低定量限(LOQ),以信噪比 $S/N = 3$ 时的进样质量浓度为最低检出限(LOD)。结果见表 2。

表 2 8 种核苷类成分对照品的回归方程、线性范围、相关系数、定量限和检出限

Table 2 Regression equation, correlation coefficients, linearity ranges, and limit of detection (LOD) and quantitation (LOQ) of 8 nucleosides

化合物	回归方程	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	r	LOQ/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	LOD/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
胞嘧啶	$Y = 13\ 692X + 200.48$	0.48 ~ 7.64	0.99995	0.1194	0.0597
胞苷	$Y = 8\ 975.2X - 513.21$	0.84 ~ 13.50	0.99997	0.2102	0.1051
次黄嘌呤	$Y = 15\ 720X - 12\ 573$	5.10 ~ 81.60	0.99991	0.3188	0.1594
黄嘌呤	$Y = 2\ 736.3X - 1\ 230$	26.70 ~ 427.00	0.99997	3.3360	1.6680
尿苷	$Y = 11\ 900X - 1\ 961.7$	1.33 ~ 21.30	0.99994	0.0832	0.0416
胸腺嘧啶	$Y = 6\ 869.2X - 2\ 174$	0.72 ~ 11.50	0.99992	0.1789	0.0895
2'-脱氧肌苷	$Y = 7\ 791.4X - 1\ 631$	0.53 ~ 8.48	0.99993	0.1325	0.0663
胸苷	$Y = 9\ 168.2X - 1\ 826.1$	0.67 ~ 10.70	0.99994	0.1672	0.0836

2.5 精密度试验 精密吸取同一质量浓度的混合核苷对照品溶液,在 2.1 项下色谱条件连续进样 5 次,记录 8 种核苷的峰面积,测定各峰面积的 RSD。结果,胞嘧啶,胞苷,次黄嘌呤,黄嘌呤,尿苷,胸腺嘧啶,2'-脱氧肌苷和胸苷峰面积的 RSD 分别为 0.59%, 1.4%, 0.65%, 0.49%, 1.2%, 0.65%, 1.8% 和 1.0%,表明仪器性能良好。

2.6 重复性试验 取同一批次蜈蚣样品(批号 111001)粉末 6 份,精密称定,按 2.3 项下方法制备

供试品溶液,在 2.1 项下色谱条件进样分析,测定各峰的峰面积,测定各成分的质量分数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)以及 RSD。结果,胞嘧啶,胞苷,次黄嘌呤,黄嘌呤,尿苷,胸腺嘧啶,2'-脱氧肌苷和胸苷的质量分数 RSD 分别为 2.6%, 2.7%, 2.5%, 2.7%, 1.3%, 2.2%, 1.9% 和 2.7%,表明方法的重复性良好。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的蜈蚣样品(批号 111001)粉末 0.25 g,平行 6 份,精密称定,等量精密加入 1/4 倍质量浓度的混合核苷对照品储备

液 15 mL,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,进样分析,结果,胞嘧啶,胞苷,次黄嘌呤,黄嘌呤,尿苷,胸腺嘧啶,2'-脱氧肌苷和胸苷的平均回收率(RSD)分别为 99.16% (0.98%),98.32% (1.3%),95.73% (1.5%),100.5% (2.1%),100.9% (2.1%),100.2% (1.9%),96.61% (2.3%) 和 102.6% (2.0%),表明该方法准确度较高。

表 3 11 批蜈蚣样品中 8 种核苷类成分的质量分数

Table 3 Contents of 8 nucleosides in 11 batches of Scolopendra samples

样品编号	胞嘧啶	胞苷	次黄嘌呤	黄嘌呤	尿苷	胸腺嘧啶	2'-脱氧肌苷	胸苷	核苷总量
1	0.164 2	0.199 8	3.276	5.397	0.287 5	0.202 9	0.109 2	0.134 1	10.010
2	0.108 8	0.163 9	2.737	5.163	0.243 2	0.189 9	0.324 0	0.078 7	9.203
3	0.145 6	0.279 9	3.144	4.483	0.362 6	0.146 7	0.127 3	0.183 2	8.988
4	0.122 9	0.228 6	2.342	3.665	0.316 7	0.137 8	0.101 6	0.133 1	7.255
5	0.200 3	0.226 0	2.134	12.400	0.400 3	0.191 4	0.117 6	0.205 2	15.970
6	0.153 9	0.343 9	2.623	7.267	0.424 8	0.193 0	0.077 6	0.153 7	11.330
7	0.201 3	0.202 7	2.066	8.075	0.374 1	0.116 9	0.479 2	0.072 5	12.030
8	0.090 8	0.274 7	1.031	18.770	0.384 7	0.614 1	0.061 4	0.121 5	21.600
9	0.098 7	0.276 1	2.419	7.546	0.386 5	0.246 3	0.065 9	0.101 8	11.240
10	0.088 8	0.294 0	2.172	5.710	0.367 3	0.235 7	0.072 2	0.123 5	9.236
11	0.079 5	0.202 0	1.549	7.311	0.311 7	0.188 0	0.117 8	0.134 8	10.010

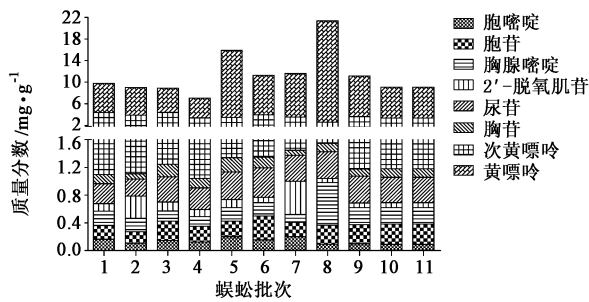


图 2 不同批次蜈蚣样品中核苷类成分质量分数

Fig. 2 Content of 8 nucleosides in different batches of Scolopendra samples

3 讨论

3.1 提取工艺的选择 本实验以 8 种核苷类成分的质量分数为指标,对提取溶剂[水和不同浓度甲醇(10%,20%,30%)],超声时间和超声次数进行考察,最后选择了以水为提取溶剂,超声提取 3 次,超声时间分别为 60,30,30 min 为宜。

3.2 色谱条件的优化 通过二极管阵列检测器中进行紫外全波长扫描,试验结果表明 8 种核苷类化合物在 254 nm 波长下有最大吸收,故选择 254 nm 为核苷类成分的检测波长。试验研究比较了

2.8 含量测定 精密称取 11 个批次蜈蚣样品粉末,分别按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样,测定胞嘧啶,胞苷,次黄嘌呤,黄嘌呤,尿苷,胸腺嘧啶,2'-脱氧肌苷和胸苷的峰面积,分别采用外标法计算 8 种核苷类成分的质量分数,结果见表 3。不同批次蜈蚣样品核苷类成分质量分数的比较见图 2。

Hedera ODS-2(4.6 mm × 250 mm,5 μm),Kromasil C₁₈(4.6 mm × 250 mm,5 μm),Inertsil ODS-SP(4.6 mm × 150 mm,5 μm)和 Thermo Acclaim 120 C₁₈(4.6 mm × 250 mm,5 μm)4 种色谱柱对蜈蚣中核苷类成分的分离效果,结果表明 Hedera ODS-2(4.6 mm × 250 mm,5 μm)色谱柱能使各种成分达到良好的分离,并且峰形较好,故选择了该色谱柱。

核苷类化合物具有较大的极性,是偏碱性的化合物,为了获得最佳分离体系,试验比较了甲醇-水、甲醇-甲酸水流动相系统。甲酸一定程度上增加了核苷类成分的解离,形成极性更强的离子,随流动相洗脱时不易保留,多个核苷类成分测定时,分离度不好。并且选用不含盐的流动相,也降低了对色谱柱的损害。最后实验采用甲醇-水作为流动相,峰形较好,分离度较好。同时还对流动相梯度洗脱条件进行了筛选优化,确定了 2.1 项下色谱条件,在该色谱条件下,各指定色谱峰峰形较好,分离良好,并且色谱峰保留时间适中。

3.3 成分比较 由表 3 与图 2 可知,不同品种、不同产地的蜈蚣中的核苷类成分总量均 > 7.255 mg·g⁻¹,其中墨江蜈蚣(批号 130819)含量最

高,达到 $21.60 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,多棘蜈蚣其次,少棘巨蜈蚣和黑头蜈蚣中核苷类成分总量比较接近。

由表3与图2可知,不同品种、不同产地的蜈蚣中次黄嘌呤和黄嘌呤明显高于其他核苷类成分,尤其是黄嘌呤的含量最高达到 $18.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,少棘巨蜈蚣的次黄嘌呤的含量要高于其余品种。黄嘌呤和次黄嘌呤具有扩张支气管的作用,特别是黄嘌呤还用于治疗哮喘症状。次黄嘌呤核苷可以进入细胞内,参与糖代谢和蛋白质合成,提高酶活性。有文献报道次黄嘌呤具有预防肿瘤恶病质脂耗竭的有效药物^[25]。

从单个核苷类成分看,墨江蜈蚣(批号130819)的胸腺嘧啶含量较高,远远高于其余品种;2'-脱氧肌苷的品种差异也较大,少棘巨和墨江蜈蚣的含量较高;墨江蜈蚣的黄嘌呤是4种品种中含量较高的;其余核苷类成分4种品种的含量相差不大。不同产地的同种蜈蚣成分差异明显,可能与当地的环境状况有关。

迄今为止,对于蜈蚣蛋白质、多肽、多糖成分及其药理作用的研究比较多,而对于核苷的研究甚少。本实验建立的HPLC分析方法较好地定量检测了蜈蚣中8种核苷类成分,样品中的各个成分均能较好的分离,考查的精密度、重复性、加样回收率较良好。本实验为研究蜈蚣提供质量控制依据。

[参考文献]

[1] 刘文军,解斌,杨春晓.关于药用蜈蚣本草考证的补充记述[J].长春中医学院学报,1994,10(40):46.
[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:357.
[3] 王克勤,方红,叶卯祥,等.蜈蚣药源调查及商品鉴定[J].中药材,1997,20(9):450-452.
[4] 胡云飞,鞠康,荣百玲,等.不同品种进口蜈蚣的微生物状鉴别[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(8):39-44
[5] WU Y, LI J, WANG J, et al. Anti-atherogenic effects of centipede acidic protein in rats fed an atherogenic diet [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 122(3):509-516.
[6] 刘瑞连,廖建萍,刘绍贵.蜈蚣不同部位抗凝活性的研究[J].中医药导报,2015,21(2):32-33.
[7] Lee W, Hwang J S, DONG G L. A novel antimicrobial peptide, scolopendin, from Scolopendra subspinipes mutilans and its microbicidal mechanism [J]. Biochimie, 2015, 118:176-184.
[8] MA W, ZHANG P, ZHANG L, et al. Potential roles of Centipede Scolopendra extracts as a strategy against EGFR-dependent cancers [J]. Am J Transl Res, 2015, 7(1):39-52.

[9] 肖敏,徐敏,李青,等.自拟蜈蚣汤治疗非破裂型异位妊娠,60例临床观察[J].西部医学,2013,25(5):665-667.
[10] 王虎良.蜈蚣花粉汤配合甲氨喋呤治疗异位妊娠临床观察[J].中医药学刊,2006,24(2):281-282.
[11] 纪东世.钩藤蜈蚣解痉汤治疗血管神经性头痛32例[J].陕西中医,2001,22(8):472-472.
[12] 张怡安.补阳还五汤加蜈蚣治疗周围性面瘫26例[J].中医研究,1998,11(5):25-26.
[13] 于广义,邵康美.蜈蚣油治疗化脓性中耳炎82例疗效分析[J].人民军医,1991(1):53-54.
[14] 姚建华,周惠芳.蜈蚣甘草粉治疗小儿咳嗽52例[J].南京中医学院学报,1987(3):62.
[15] 冉永禄,吴刚,叶文娟,等.墨江蜈蚣与少棘蜈蚣的比较研究-I.化学组成[J].动物学研究,1995,16(4):379-383.
[16] 迟程.墨江蜈蚣和少棘巨蜈蚣总油脂化学成分比较[J].中草药,1992,23(2):104-105.
[17] 方红,邓芬,王克勤.多棘蜈蚣化学成分的研究[J].中国药学杂志,1997,32(4):202-204.
[18] 方红,邓芬,严宜昌,等.黑头蜈蚣的化学成分[J].中药材,1999,22(5):226-228.
[19] 付银丹,李振麟,濮社班,等.多棘蜈蚣化学成分的研究(I)[J].中草药,2013,44(13):1726-1729.
[20] Kinahan J J, Kowal E P, Grindey G B. Biochemical and antitumor effects of the combination of thymidine and 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine against leukemia L1210 [J]. Cancer Res, 1981, 41(2):445-451.
[21] Morimoto C, Steinberg A D, Schlossman S F, et al. In vitro nucleoside specific immune response by lymphocytes from systemic lupus erythematosus [J]. J Clin Invest, 1983, 71(5):1402-1409.
[22] Iyú D, Glenn J R, White A E, et al. Adenosine derived from ADP can contribute to inhibition of platelet aggregation in the presence of a P2Y₁₂ antagonist [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(2):416-422.
[23] Headrick J P, Peart J N, Reichelt M E, et al. Adenosine and its receptors in the heart: regulation, retaliation and adaptation [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1808(5):1413-1428.
[24] 刘丽芳,金蓉鸾,徐国钧. HPLC法测定10种动物药中尿嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、腺苷的含量[J].中国中药杂志,1999,24(2):73-76.
[25] 吴耕书,张荔彦.五加皮的次黄嘌呤成分对癌性腹水中毒激素-L诱导的脂解反应的抑制作用[J].中草药,1997,28(10):604-605.

[责任编辑 邹晓翠]