

新疆金鸡菊提取物对 2 型糖尿病小鼠 氨基酸代谢谱的影响

韩雪¹, 马晓丽², 李琳琳¹, 王烨¹, 王丽凤¹, 焦谊¹, 易金阳¹, 毛新民^{3*}

(1. 新疆医科大学基础医学院药理教研室, 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学分析测试中心, 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的:**研究新疆金鸡菊(*Xinjiang Coreopsis tinctoria*)乙酸乙酯提取物对 2 型糖尿病小鼠血清氨基酸代谢谱的影响。**方法:**高脂高糖喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立 2 型糖尿病模型,造模成功后随机分组,灌胃给予新疆金鸡菊提取物 $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,阳性药二甲双胍 $0.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,每周测空腹血糖(FBG),给药 4 周后处死,收集小鼠血清,检测甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。采用柱前衍生高效液相色谱法(HPLC)检测小鼠血清中氨基酸代谢谱的变化。**结果:**结合 SIMCA-P 软件的偏最小二乘法判别(PLS-DA)对氨基酸数据进行分析,结果显示新疆金鸡菊乙酸乙酯提取物给药后对血清氨基酸代谢谱的改变较模型组有很大区别,有 4 种氨基酸对组间贡献较大(牛磺酸、天冬氨酸、苏氨酸、蛋氨酸)。小鼠成模后体内氨基酸发生了明显变化。与空白组、模型组、阳性组相比,新疆金鸡菊乙酸乙酯给药组小鼠血清氨基酸代谢谱发生了显著变化。**结论:**新疆金鸡菊乙酸乙酯提取物显著影响小鼠血清中与糖尿病相关的氨基酸代谢标志物,为进一步阐释新疆金鸡菊抗糖尿病药理作用的研究提供了依据。

[关键词] 新疆金鸡菊; 2 型糖尿病; 代谢轮廓分析; 高效液相色谱

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0220-05

Metabonomics Study on the Serum Amino Acid in Type 2 Diabetes Mice Treated by Extract of *Coreopsis tinctoria*

HAN Xue¹, MA Xiao-li², LI Lin-lin¹, WANG Ye¹, WANG Li-feng¹, JIAO Yi¹, YI Jin-yang¹, MAO Xin-min^{3*}

(1. Department of Pharmacology, Basic Medicine College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. Analytical & Testing Center of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

3. Traditional Chinese Medicine College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the serum amino acid variation in diabetic mice. **Method:** SPF mice were fed with high-fat diet for 4 weeks and then injected with streptozotocin (STZ). Mice were successively administrated with ethyl acetate extract *Coreopsis tinctoria* ($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) for 30 days. HPLC was used for the analysis of amino acid metabolites in serum samples. These data were analyzed by partial least square-discriminant analysis (PLS-DA). **Result:** Compared with the control mice, the metabolism profiles of amino acid in the model mice were significantly different from that of the control mice. Pattern recognition method was applied and 4 amino acid markers were different between all the groups. **Conclusion:** The amino acid metabolism profiling may reflect to certain extent the pathological changes of type 2 diabetic mice. This work can provide basis for further researches on the interpretation of drug property of evidence.

[Key words] *Xinjiang Coreopsis tinctoria*; type 2 diabetes; metabonomics study; HPLC

代谢组学(metabonomics)是一门研究生物整体变化规律的系统生命学科,它所具有的整体观概念

[收稿日期] 20120505(010)

[第一作者] 韩雪,在读研究生,从事抗糖尿病新药研究, E-mail:1090_student@sina.com

[通讯作者] *毛新民,教授,博士生导师,从事糖尿病药理学研究, E-mail:mxm3277@sina.com

与中医的系统体论非常相近,因此越来越多的被应用于中医疾病诊断及中药治疗效果评价中^[1-2]。代谢轮廓分析是将与机体代谢密切相关的糖类、脂肪酸类、核苷类、氨基酸等按照类的概念进行定量分析,再结合模式技术对其进行区分判断,找出差异变量进而深入研究。朱晓伟等通过代谢轮廓分析,用主成分分析(PCA)法对高血压病人及正常人尿液中的氨基酸进行分类研究,2种主成分提取方法均能将高血压组和正常对照组有效区分开,认为通过尿液的氨基酸分析能辨识高血压状态^[5]。

糖尿病是代谢紊乱性疾病,常伴有氨基酸、脂肪酸、电解质等代谢异常,用代谢组学方法寻找糖尿病标记物已成为研究的重要方向^[8]。新疆金鸡菊,又名“雪菊”,主要分布于新疆和田高海拔地区,是具有独特功效的稀有高寒植物。维吾尔医将其作为一种维药材应用,具有清热解毒、活血化瘀、和胃健脾之功。民间长期冲泡饮用新疆金鸡菊,发现其对高血压、高血脂有降低和稳定的作用。本实验基于HPLC的代谢轮廓分析方法,结合模式识别技术研究新疆新疆金鸡菊乙酸乙酯提取物给药后与正常组、模型组及阳性药(二甲双胍)小鼠血清氨基酸代谢谱变化,从整体观角度评价新疆金鸡菊对机体氨基酸代谢的影响。

1 材料

1.1 药物 新疆金鸡菊于2009年10月采自新疆和田地区昆仑山区,由新疆雪菊生物科技有限公司采摘并提供;由新疆医科大学药学院天然药物化学教研室的胡君萍博士鉴定为菊科两色金鸡菊品种 *Coreopsis tinctoria*,本实验所用的为其干燥的花序。将新疆金鸡菊干燥花序粉碎,过50目筛备用。

1.2 动物 SPF级昆明种小鼠,雄性,60只,体重(25.0±2.0)g,新疆医科大学动物实验中心提供,生产许可证SCXK(新)2011-0004。饲养环境模拟自然昼夜条件,温度(21±2)℃,湿度40%~45%,自由饮水。

1.3 试剂 链脲佐菌素(STZ, Sigma公司,批号82K1506),总胆固醇(TC)测定试剂盒(批号20111003),甘油三酯(TG)测定试剂盒(批号20111011),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒(批号20111112),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(批号20111103),均购自北京北化康泰临床试剂有限公司。氨基酸对照品:天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、天冬酰胺(Aspa)丝氨酸(Ser)、组氨酸(His)、甘氨酸(Gly)、苏氨酸(Thr)、

精氨酸(Arg)、丙氨酸(Ala)、脯氨酸(pro)、酪氨酸(Tyr)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、胱氨酸(cys)、亮氨酸(Leu)、苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)、赖氨酸(Lys)、牛磺酸(Tau)(生化试剂,纯度均大于98%);乙酸钠(天津市光复精细化工厂,优级纯);正己烷、三乙胺(TEA)(天津市富宇化工有限公司,分析纯);异硫氰酸苯酯(PITC)(上海金山亭新化工有限公司),乙腈和甲醇为色谱纯;milli-Q超低有机物超纯水机制备超纯水(美国Millipore公司生产)。

1.4 仪器 高效液相色谱仪(Waterse2695),UV-2489紫外检测器(Shim-pack),VP-ODS色谱柱,(4.6 μm×25 cm,5 μm,岛津),Empower 3色谱工作站;BS 110S(分析天平,Sartorius),HSC-12A氮吹仪(天津恒奥科技);SK-1快速混匀器(金坛市医药仪器厂)。

2 方法

2.1 新疆金鸡菊提取物的制备 称取500g过50目筛的新疆金鸡菊干燥花序粉末,用60%乙醇,按料液比1:25,80℃回流提取2次,每次2h。合并2次的提取液,减压浓缩回收溶剂得流浸膏。流浸膏用等体积乙酸乙酯萃取3次,分别合并3次萃取液,萃取液经旋转蒸发器浓缩得流浸膏;恒温干燥箱干燥得到乙酸乙酯萃取物粉末。

2.2 动物造模与分组 小鼠,60只,10只作为正常对照组给予基础饲料,其余进行糖尿病造模。高糖高脂饲料喂养1周后禁食10h,ip链脲佐菌素溶液180 mg·kg⁻¹(正常对照组给予相同体积的无菌柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液)。72h后,禁食10h,进行葡萄糖口服耐受实验(OGTT),选择OGTT 2h血糖≥11.1 mmol·L⁻¹,显示造模成功。将成模后的小鼠随机分为模型组、新疆金鸡菊提取物组、阳性药组。灌胃给予新疆金鸡菊提取物8 g·kg⁻¹·d⁻¹,给予阳性药二甲双胍0.16 g·kg⁻¹·d⁻¹,实验期间,小鼠自由饮水。每日观察小鼠的外观、饮水量、进食量及垫料潮湿程度,每周测量体重、FBG 1次。

2.3 空腹血糖、血脂测定 给药4周后禁食12h取血,3 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清分装,各组小鼠TG,TC,HDL-C,LDL-C,FBG用试剂盒测定。其余存于-80℃待测。

2.4 血清中氨基酸的HPLC测定 精密吸取血浆200 μL,加入乙腈600 μL,振摇涡旋后,以12 000 r·min⁻¹于4℃离心15 min。取上清液置于2 mL离心管,40℃水浴中氮气吹干,用100 μL水复溶,再加入三乙胺乙腈溶液50 μL,0.1 mmol·L⁻¹异硫氰

酸苯酯乙腈溶液 50 μL ,混匀,室温放置 1 h,加入正己烷 400 μL ,振荡,10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取下层溶液(萃取 2 次),经 0.22 μm 滤膜过滤后,进样 10 μL 进行色谱分析。

2.5 色谱条件 流动相 A:称取 15.2 g 无水乙酸钠,加水 1 850 mL,溶解后用冰醋酸调 pH 6.5,然后加乙腈 140 mL,混匀,用 0.45 μm 滤膜过滤。流动相 B:甲醇:乙腈:水 20:60:20 (线性梯度洗脱:0.0 min, 0% B; 5 min,2% B; 6 min,6% B; 15 min, 9% B; 19 min, 21% B; 32 min,45% B; 34 min,55% B; 38 min,100% B; 45 min,0% B。流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长 254 nm;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;进样量 10 μL 。

2.6 统计学处理 生化数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。使用计算机软件 SPSS 16.0 进行统计学分析,组间均数比

较用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

各样本氨基酸峰面积以 Excel 文件贮存,导入到 SIMCA-P11.0 软件包(Umetrics, Ume, Sweden),采用最小方差判别分析法(partial least square-discriminant analysis, PLS-DA)进行统计分析。PLS-DA 可以鉴别引起差异的主要变量,获得各组之间血清氨基酸代谢差异。

3 结果

3.1 糖尿病小鼠生化指标 连续给药 4 周后,模型组 FBG 明显升高,与空白组比较差异均有显著性($P < 0.01$),说明造模成功。新疆金鸡菊提取物组、阳性药组与模型组相比 FBG,TC 和 TG 均显著降低($P < 0.05$)。结果表明,新疆金鸡菊提取物给药后具有良好的降糖调脂作用。见表 1。

表 1 新疆金鸡菊提取物对 TG,TC,HDL,LDL 和 FBG 的影响($\bar{x}\pm s,n=10$)

$\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	TC	TG	HDL-C	LDL-C	FBG
空白	-	$2.56\pm 0.49^{2)}$	$0.52\pm 0.07^{2)}$	2.28 ± 0.51	$1.28\pm 0.17^{2)}$	$5.63\pm 0.61^{2)}$
模型	-	3.92 ± 0.5	0.78 ± 0.24	1.92 ± 0.35	2.09 ± 0.27	19.78 ± 1.64
二甲双胍	0.16	$2.87\pm 0.39^{2)}$	$0.55\pm 0.07^{1)}$	2.01 ± 0.42	$1.41\pm 0.21^{2)}$	$9.89\pm 2.34^{2)}$
新疆金鸡菊提取物	8	$2.97\pm 0.53^{1)}$	$0.52\pm 0.14^{2)}$	1.97 ± 0.39	1.92 ± 0.19	$10.61\pm 1.28^{2)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

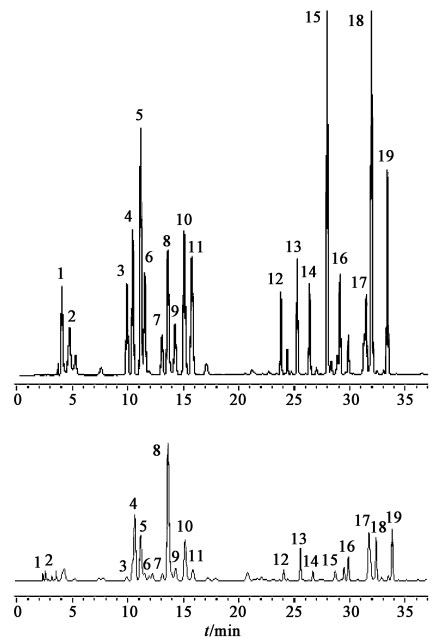
3.2 血清氨基酸代谢谱研究

3.2.1 专属性实验^[1] 在 1.4 项色谱条件下测定混合氨基酸标准溶液及小鼠血清中的氨基酸色谱图。见图 1。

3.2.2 线性关系考察 分别精密量取氨基酸混合对照品溶液适量,用水稀释,得到 19 种氨基酸的系列标准溶液,分别取 200 μL 系列标准溶液,按照 1.4 项下处理后,进行分析记录色谱图。以进样浓度 C 为横坐标 X ,进样峰面积 A 为纵坐标 Y 进行最小二乘法线性回归,得回归方程。结果表明,19 种氨基酸检测质量浓度分别在 2.0 ~ 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好,见表 2。

3.2.3 方法精密性、重复性及回收率、稳定性试验

取混合氨基酸对照品,按照 1.4 项方法衍生后连续进样 5 次,计算各氨基酸衍生物色谱峰峰面积的相对标准偏差(RSD)为 2.01% ~ 8.44%,表明进样精密性良好。取同一份血样,按 1.4 项下方法处理,平行制备 6 份。在 1.4 项色谱条件下,分别进样分析,计算各氨基酸浓度的 RSD 为 3.65% ~ 7.66%,表明方法重复性良好。在加标回收实验中,参照文献,对照加入量约为样品氨基酸含量的 0.8 倍和 2 倍,平均回收率在 77.08% ~ 123%。对照品经过衍生生化后分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样,以色谱峰



1. 天冬氨酸(Asp); 2. 谷氨酸(Glu); 3. 天冬酰胺;
4. 丝氨酸(Ser); 5. 甘氨酸(Gly); 6. 组氨酸(His);
7. 牛磺酸; 8. 精氨酸(Arg); 9. 苏氨酸(Thr);
10. 丙氨酸(Ala); 11. 脯氨酸(Pro); 12. 酪氨酸(Tyr);
13. 缬氨酸(Val); 14. 蛋氨酸(Met); 15. 胱氨酸(Cys);
16. 亮氨酸(Leu); 17. 苯丙氨酸(Phe);
18. 色氨酸(Trp); 19. 赖氨酸(Lys)。

图 1 异硫氰酸苯酯衍生生化测定 19 种氨基酸对照品 HPLC 色谱图

表2 19种氨基酸的线性方程

氨基酸	回归方程	r	线性范围 /mg·L ⁻¹
天冬氨酸	A = 25 810C + 12 668	0.991 8	2 ~ 100
谷氨酸	A = 42 623C + 19 1211	0.994 8	2 ~ 200
天冬酰胺	A = 19 029C + 154 452	0.998 2	2 ~ 200
丝氨酸	A = 58 258C + 326 680	0.997 8	2 ~ 200
甘氨酸	A = 57 675C + 144 903	0.999 1	2 ~ 200
组氨酸	A = 26 365C + 46 415	0.999 6	2 ~ 200
牛磺酸	A = 42 920 + 298 994	0.994 8	2 ~ 200
精氨酸	A = 30 999C + 159 152	0.998 9	2 ~ 200
苏氨酸	A = 51 244C + 231 131	0.999 1	2 ~ 200
丙氨酸	A = 46 559C + 59 065	0.998 1	2 ~ 200
脯氨酸	A = 39 148C + 181 630	0.999 1	2 ~ 200
络氨酸	A = 25 862C + 8 598	0.999 3	2 ~ 200
缬氨酸	A = 35 399C - 49 589	0.999 6	2 ~ 200
蛋氨酸	A = 32 538C + 88 968	0.999 1	2 ~ 200
胱氨酸	A = 15 116C - 201 276	0.992 3	2 ~ 200
亮氨酸	A = 72 895C + 103 254	0.999 6	2 ~ 200
苯丙氨酸	A = 28 054C + 474 294	0.999 7	2 ~ 200
色氨酸	A = 25 236C + 65 888	0.999 5	2 ~ 200
赖氨酸	A = 43 006C - 5 063	0.999 5	2 ~ 200

表3 仪器精密度、方法重复性、回收率及衍生产物稳定性 %

氨基酸	精密度	重复性	回收率	回收率	衍生产物
	RSD	RSD	1/%	2/%	稳定性 RSD
天冬氨酸	2.92	7.66	101.41	99.52	3.36
谷氨酸	4.27	5.74	79.34	75.24	4.34
天冬酰胺	5.89	3.63	1.04.83	109.12	5.48
丝氨酸	3.30	5.42	100.29	109.37	3.82
甘氨酸	2.01	4.13	101.24	113.96	2.85
组氨酸	6.79	5.21	106.76	115.48	4.59
牛磺酸	2.78	4.82	102.44	112.01	4.82
精氨酸	7.03	5.20	105.26	113.34	6.88
苏氨酸	7.48	4.29	109.83	117.35	5.31
丙氨酸	4.82	5.70	104.73	114.06	5.98
脯氨酸	2.04	7.37	102.86	119.85	3.59
络氨酸	9.06	6.62	101.83	115.28	7.50
缬氨酸	7.19	5.30	123.04	127.68	8.67
蛋氨酸	3.99	7.47	101.51	114.85	3.35
胱氨酸	5.90	6.06	77.08	73.18	8.60
亮氨酸	2.95	4.78	81.81	103.67	7.52
苯丙氨酸	8.44	5.21	107.41	119.08	7.62
色氨酸	6.41	5.05	127.49	123.71	8.63
赖氨酸	6.54	6.42	110.27	118.04	7.14

峰面积为指标计算 RSD, 考察其稳定性, RSD 2.85% ~ 8.60% (n = 5)。

3.3 血清氨基酸代谢轮廓分析及模式识别处理
 样本经过前处理、衍生化和色谱方法测定,得到氨基酸谱中各氨基酸的相对峰面积;在数据输入 Excel 中,导入 SIMCA-P 软件中进行偏最小二乘法-判别分析。得到 score plot。见图 2。

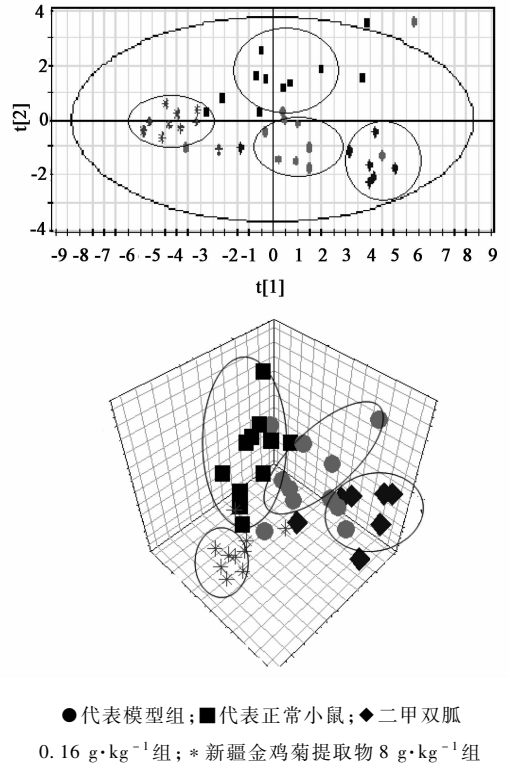


图2 PLS-DA 模式识别分析得分图

将 HPLC 分析得到的各氨基酸数据以峰面积格式导入到 SIMCA-P 软件中进行模式识别分析,试验中采用了 PLS-DA,通过这种监督的方法建立的模型,可以很好的区分正常小鼠、2型糖尿病小鼠及各给药组,见图 2。结果表明,除个别数据外,造模后的糖尿病小鼠与正常小鼠可以明显聚类,反映了造模后小鼠的氨基酸代谢模式发生了显著改变。模型中重要参数 $R^2X = 0.753, R^2Y = 0.616, Q^2 = 0.425$ 。而给药组尤其是新疆金鸡菊提取物组明显向正常组靠近,说明其氨基酸代谢发生了转归。因此进一步比较了差异性氨基酸变量。

样本的 PLS-DA 分析是一种有监督的多维统计方法,他可以反映不同动物代谢物之间的总体差异,通过这种模式识别方法还可以找到对组间影响较大的氨基酸代谢物变量,由图 3 可知,牛磺酸、苏氨酸、天冬氨酸、蛋氨酸等是影响本次实验组间变化最大的氨基酸,它们可以同时作为反映整体代谢变化的标志物。

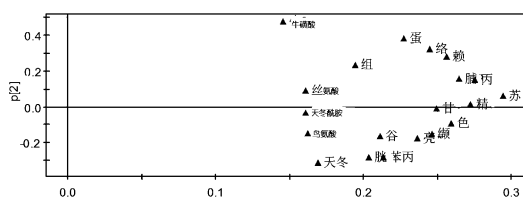


图 3 PLS-DA 负载图

4 讨论

本研究对实验性 2 型糖尿病小鼠进行了氨基酸的定量轮廓分析,数据处理显示模型组与空白组小鼠血清氨基酸含量差异较大,利用 PLS-DA 可以很好的区分两组,每组样本形成聚类表示该组样本存在特定的代谢模式。由图 2 可知,尽管存在样本间的个体差异,但每组样本都能分别聚类,说明模型组和正常对照组血清氨基酸存在特定的代谢模式。从 PLS-DA 图中看出,新疆金鸡菊提取物给药组小鼠血清氨基酸谱有了明显的转归,模型中各参数表明模型成立,虽然本试验结果显示正常组与模型组存在个别重叠现象,可能是由于小鼠间的个体差异造成,而新疆金鸡菊提取物给药组位于空白组与模型组之间,说明新疆金鸡菊提取物给药后对 2 型糖尿病小鼠氨基酸代谢有着较好的影响效果,而阳性药组效果不明显。文献报道雪菊提取物具有很好的调节糖脂代谢作用,氨基酸作为生理活性物质参与众多糖脂代谢通路,因此本试验结果也证明了新疆金鸡菊提取物能够调节氨基酸代谢的能力。通过血清氨基酸轮廓分析能够在一定程度上辨识中药提取物对 2 型糖尿病小鼠血糖血脂改变的影响。

通过负载图还找出了差异变量,确定了包括牛磺酸、天冬氨酸、蛋氨酸、苏氨酸的在两组中存在显著差异,这与糖尿病病理状况相符,说明两组血浆氨基酸代谢谱的差异可能主要来自这些氨基酸。糖尿病是机体内外环境共同作用下引起的疾病,氨基酸的代谢异常可以一定程度反映糖脂代谢紊乱,它们可以作为反映药物干预后小鼠代谢变化的标志物组。但其和血糖血脂的关系还应从多个方面如饲料中膳食蛋白比例以及其他营养水平相互关联加以考虑。

[参考文献]

[1] 任志艳,敬思群.新疆金鸡菊活性成分定性分析[J].食品工业,2011(7):92.

[2] Guy P A, Tavazzi I, Bruce S J, et al. Global metabolic profiling analysis on human urine by UPLC-TOFMS: issues and method validation in nutritional metabolomics [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2008, 871(2): 253.

[3] Wang T J, Larson M G, Vasan R S, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes [J]. Nat Med, 2011, 17(4): 448.

[4] 徐国良,马晓雪,张启云.代谢组学评价黄连对大鼠药理作用的初步研究[J].中国中药杂志,2009,34(14):1845.

[5] 杨智,阳利龙,祝文兵,等.异硫氰酸苯酯柱前衍生化 RP-HPLC 法测定人血浆中 10 种氨基酸的浓度[J].中国临床药理学与治疗学,2011(5): 549.

[6] Jiang Z., Liang Q, Luo G, et al. HPLC-electrospray tandem mass spectrometry for simultaneous quantitation of eight plasma aminothiols: application to studies of diabetic nephropathy [J]. Talanta, 2009, 77(4): 1279.

[7] 徐国良,马晓雪,张启云.茺菘水提取物给药大鼠尿液代谢组学研究[J].中国中药杂志,2010,35(1):99.

[8] 汤喜兰,徐国良,李冰涛.花椒水提取物给药大鼠尿液代谢组学研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(5):127.

[9] Bao Y, Zhao T, Wang X, et al. Metabonomic variations in the drug-treated type 2 diabetes mellitus patients and healthy volunteers [J]. J Proteome Res, 2009, 8(4): 1623.

[10] Gatti R, Gioia M G. Liquid chromatographic fluorescence determination of amino acids in plasma and urine after derivatization with phanquinone[J]. Biomed Chromatogr, 2008, 22(2): 207.

[11] Checa-Moreno R, Manzano E, Miron G, et al. Revisitation of the phenylisothiocyanate-derivatives procedure for amino acid determination by HPLC-UV [J]. J Sep Sci, 2008, 31(22): 3817.

[12] 刘双梅,李桂林,汤晓丽,等.甲基莲心碱对 2 型糖尿病模型大鼠作用的代谢组学研究[J].中国药理学通报,2012(4): 490.

[13] Pozdeev V K, Pozdeev N V. Determination of total aminothiols and neuroactive amino acids in plasma by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Biomed Khim, 2010, 56(6): 726.

[责任编辑 聂淑琴]