

小檗碱对有机阴离子转运体抑制作用及双向跨膜转运研究

武卫党¹, 张星艳², 魏滋鸿¹, 慈小燕¹, 江立新³, 路江杰³, 刘昌孝^{1*}, 伊秀林^{1*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 释药技术及药代动力学国家重点实验室, 天津 300031

2. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032

3. 合肥天麦生物科技发展有限公司, 安徽 合肥 230000

摘要: **目的** 研究小檗碱对有机阴离子转运体(OATs)的抑制作用及其双向跨膜转运情况。**方法** 应用由转染试剂 Lipo 3 000 介导的动物细胞转基因方法、经筛选得到有机阴离子转运体 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 和 URAT1 高表达单克隆细胞株;以野生型(WT)细胞为对照组,用各转运体放射性同位素标记底物和抑制剂验证其转运活性;观察 100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱对各转运体的抑制作用,并测定小檗碱对 URAT1 转运活性的半数抑制浓度(IC_{50})。通过 Caco-2 细胞模型研究小檗碱的双向跨膜转运情况。**结果** 100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱使 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 和 URAT1 相对转运活性分别下降至(70.48 $\pm$ 4.23)%、(69.13 $\pm$ 1.28)%、(72.12 $\pm$ 3.28)%、(79.77 $\pm$ 6.49)%、(69.51 $\pm$ 5.99)%、(38.4 $\pm$ 2.67)%;小檗碱对 URAT1 抑制作用的 IC_{50} 为 13.6 $\mu\text{mol/L}$;在 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下,小檗碱在顶侧(AP 侧)-基底侧(BL 侧)方向的跨膜渗透率 $P_{\text{app(A-B)}}$ 分别为 $0.28 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ 和 $0.40 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$,其相对应的外排率分别为 3.18 和 3.15。**结论** 小檗碱对 URAT1 的抑制作用较强,对 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 抑制作用相对较弱,小檗碱是一些外排蛋白的底物,为预测小檗碱可能发生的药物-药物相互作用、解释生物利用度低提供了理论依据。

关键词: 小檗碱;有机阴离子转运体;跨膜转运;抑制作用;外排率;药物-药物相互作用(DDI)

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)06-0778-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.06.009

Inhibition of berberine on organ anion transporters and its bidirectional trans-membrane transport

WU Wei-dang¹, ZHANG Xing-yan², WEI Zi-hong¹, CI Xiao-yan¹, JIANG Li-xin³, LU Jiang-jie³,
LIU Chang-xiao¹, YI Xiu-lin¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Research Co. Ltd., State Key Laboratory of Drug Release Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300031, China

2. College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

3. Hefei Tianmai Biotechnology Development Co., Ltd., Hefei 230000, China

Abstract: **Objective** To study the inhibition of berberine on organ anion transporters (OATs) and its bidirectional trans-membrane transport. **Method** The transgene cell lines of the organ anion transporters including OAT1, OAT2, OAT3, OAT4, OAT7, and URAT1 were constructed and selected by animal cell transgenic method mediated by transporter Lipo 3000. Wild type (WT) cells were used as control group, and activity of OATs was verified by adding their radiolabeled substrates and inhibitors. The inhibition of 100 $\mu\text{mol/L}$ berberine on the transporters was investigated *in vitro*. The IC_{50} of berberine on URAT1 was also determined. The bidirectional transport of berberine was studied through the Caco-2 model. **Result** The results showed that 100 $\mu\text{mol/L}$ berberine inhibited the activity of OAT1, OAT2, OAT3, OAT4, OAT7 and URAT1 to (70.48 $\pm$ 4.23)%, (69.13 $\pm$ 1.28)%, (72.12 $\pm$ 3.28)%, (79.77 $\pm$ 6.49)%, (69.51 $\pm$ 5.99)% and (38.4 $\pm$ 2.67)% respectively, the IC_{50} of berberine to URAT1 was 13.19 $\mu\text{mol/L}$, the $P_{\text{app(A-B)}}$ of 50 $\mu\text{mol/L}$ and 100 $\mu\text{mol/L}$ berberine were separately 0.28×10^{-6} and $0.40 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$, and the efflux rates were separately 3.18 and 3.15. **Conclusion** Berberine shows a stronger inhibition to URAT1 compared to OAT1, OAT2, OAT3, OAT4 and OAT7. Berberine may be the substrate of

收稿日期: 2017-01-06

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81430096); 国家自然科学基金青年科学基金项目(81503154)

作者简介: 武卫党(1984—), 助理研究员。E-mail: wuweidang1985@126.com Tel: 022-84845243

*通信作者 伊秀林, 研究员。E-mail: yixl@tjpr.com Tel: 022-84845242

刘昌孝, 中国工程院院士。E-mail: Liucx@tjpr.com

some efflux transporters. This study provides theoretical basis for explaining the low bioavailability of berberine and forecasting the possible drug-drug interaction.

Key words: berberine; organ anion transporter; transmembrane transport; inhibition effect; efflux rate; drug-drug interaction (DDI)

药物转运体对药物的吸收、分布、排泄等动力学过程发挥了重要作用^[1-3],由药物转运体引起的药物-药物相互作用(drug-drug interference, DDI)对临床安全用药具有重要意义^[2]。人有机阴离子转运体(human organ anion transporters, hOATs)包括OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7和URAT1,这些转运体作用范围较为广泛,对药物的吸收、分布和排泄具有重要影响。Caco-2细胞株是研究小肠吸收最常用的细胞株,是研究药物跨小肠吸收的重要模型^[4-5]。小檗碱是一类含有异喹啉结构的生物碱,在治疗细菌和病毒感染、肿瘤、糖尿病、心血管疾病、中枢神经系统疾病和骨质疏松等方面具有重要的应用价值^[6-9],目前有关小檗碱与转运体相互作用方面的研究还较少。本实验研究小檗碱对各药物转运体转运活性的影响,对阐明小檗碱药动学行为有重要意义。

1 材料

1.1 主要仪器

BS124S 分析天平,瑞士 Sartorius 公司产品;HERAcell 150i 二氧化碳培养箱,美国 Thermo Scientific 公司产品;Tri-Carb 2910 TR α/β 射线计数器,美国 Perkin Elmer 公司产品;TR-2AR Thermal Robo,日本亚速旺株式会社产品;单人超净生物安全柜,力康生物医疗科技控股有限公司;跨膜电阻测试系统,Inno-Alliance Biotech。

1.2 主要试剂

小檗碱(Berberine, Sigma 公司,批号 141433-60-5,质量分数 98%);DPBS 缓冲溶液(批号 131I0212)、DMSO、100 $\times$ 青链霉素混合液(批号 20160624),均购自北京 Solarbio 公司;DMEM(Hyclone 公司,批号 AB10137517);胎牛血清(FBS, Gibco, 批号 1739463);¹⁴C-氨基马尿酸(¹⁴C-Aminohippuric acid, ¹⁴C-PAH, 批号 1558673)、³H-前列腺素 F2 α (³H-Prostaglandin F2 α , ³H-PF2 α , 批号 141403),均购自 PekinElmer 公司;³H-硫酸雌酮(³H-Estrone Sulfate, ³H-ES, 批号 140331)、¹⁴C-尿酸(¹⁴C-Uric acid, ¹⁴C-UA, 批号 120313),均购自 ARC 公司;DHEAS(dehydroepiandrosterone sulfate, 批号 079K4063)、利福平(Rifampicine,

批号 109K1417)、丙磺舒(Probenecid, 批号 BCBC7346V)、维拉帕米(Verapamil, 批号 021M1429V),均购自 Sigma 公司;ULTIMA Gold 闪烁液(PerkinElmer 公司,批号 77-15481);Hanks 缓冲盐溶液以及 Hanks(无 Cl⁻)缓冲盐溶液为实验室自制。

1.3 细胞株

人结肠癌细胞株(Caco-2)、马丁达比犬胚肾细胞(MDCK)、人胚肾细胞株(HEK293)、小鼠肾小管 S2 段分离细胞(S2),均由日本富士生物研究所友情赠予。

2 方法

2.1 有机阳离子药物转运体转运活性验证

通过由转染试剂 Lipo 3000 介导的动物细胞转基因方法将携带有 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 和 URAT1 转运体基因 CDS 序列的质粒 pcDNA3.1(+) 分别同贴壁培养的 MDCK、S2 和 HEK293 细胞按试剂盒说明书进行转基因操作,之后经过筛选培养得到各药物转运体过表达细胞株 S2-OAT1、S2-OAT2、S2-OAT3、MDCK-OAT4、S2-OAT7 和 HEK293-URAT1。各过表达人药物转运体的细胞株及各自野生型(wild type, WT)细胞株,经过复苏和传代培养后,选取生长良好的贴壁细胞用胰酶消化使其分散为单细胞悬液,之后用培养基调节细胞密度至 $(1.5 \sim 2.0) \times 10^5/\text{mL}$,将细胞悬液以 1 mL/孔的量接种至 24 孔细胞培养板,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂、饱和空气湿度的培养箱内培养 2~3 d 使细胞长满各孔^[9]。

先吸走培养板各孔中的培养液,用 DPBS 或 Hanks(无 Cl⁻)缓冲盐溶液清洗 1 次,之后每孔加入 37 $^{\circ}\text{C}$ DPBS 缓冲液或者 Hanks(无 Cl⁻)孵育 10 min;OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 和 URAT1 转运体的底物分别选择 5 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁴C-PAH、50 nmol/L ³H-PF2 α 、50 nmol/L ³H-ES、50 nmol/L ³H-ES、50 nmol/L ³H-ES 和 5 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁴C-UA^[4],然后以 500 μL 含放射性标记探针底物(放标底物)的溶液置换 DPBS 开始给药;给药 2 min 后,用冷 DPBS 缓冲液终止反应,并清洗细胞 3 次^[9-10];然后每孔添加 400 μL 0.1 mmol/L NaOH 裂解细胞;取细胞裂

解液于闪烁瓶中,添加3 mL的闪烁液,并用Tri-Carb 2910TR α/β 射线计数器测定样品中的放射性强度。

每个转运体细胞株及抑制剂组、阴性对照组设置3复孔,其中阴性对照为WT细胞株,抑制剂组为在各转运体细胞株的给药混合液中添加了相应的抑制剂(OAT1, 60 $\mu\text{mol/L}$ 丙磺舒; OAT2, 600 $\mu\text{mol/L}$ 丙磺舒; OAT3, 60 $\mu\text{mol/L}$ 丙磺舒; OAT4, 60 $\mu\text{mol/L}$ 丙磺舒; OAT7, 60 $\mu\text{mol/L}$ DHEAS)^[9-10]。

2.2 小檗碱对有机阴离子的抑制作用实验

实验所用细胞培养基为DMEM培养基添加10% FBS(含青霉素和链霉素),各过表达人药物转运体的细胞株(S2-OAT1、S2-OAT2、S2-OAT3、MDCK-OAT4、S2-OAT7和HEK293-URAT1)及未转基因细胞(用于测定本底值),经过复苏和传代培养后,选取生长良好的贴壁细胞用胰酶消化使其分散为单细胞悬液,之后用培养基稀释至 $2.0 \times 10^5/\text{mL}$ (S2细胞)或 $1.5 \times 10^5/\text{mL}$ (MDCK细胞和HEK293细胞),然后将细胞悬液以1 mL/孔的量接种至24孔细胞培养板,在33 $^{\circ}\text{C}$ 或37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、饱和空气湿度(95%)的培养箱内培养2~3 d使细胞长满各孔。

先移去培养板内培养液,用DPBS缓冲盐溶液或者Hanks(无 Cl^-)缓冲液清洗1次,之后每孔加入37 $^{\circ}\text{C}$ DPBS或者Hanks(无 Cl^-)缓冲液孵育10 min,然后以500 μL 含放标底物及100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱的缓冲盐溶液置换旧缓冲盐溶液开始给药;给药2 min后,用冷DPBS或者Hanks(无 Cl^-)缓冲液终止反应,并清洗细胞3次;弃上清,然后每孔添加400 μL 0.1 mmol/L NaOH裂解细胞;取细胞裂解液于上样瓶中,添加3 mL的闪烁液,并用Tri-Carb 2910 TR放射性液体闪烁仪测定样品中的放射性强度。

在小檗碱对URAT1转运活性半数抑制作用浓度(IC_{50})的测定中,培养HEK293-URAT1细胞,在含放标底物(5 $\mu\text{mol/L}$ ^{14}C -UA)的Hanks(无 Cl^-)溶液中分别添加0、0.3、1.0、3.0、10.0、30.0、100.0 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱,每个浓度设置3复孔。

2.3 双向跨膜转运试验

将Caco-2细胞复苏、传代培养2~3代,待细胞长满培养皿,消化细胞,使细胞分散开呈单细胞悬液,用细胞计数器测定出细胞浓度,之后用新鲜培养基将细胞悬液浓度调至 $4 \times 10^5/\text{mL}$,并接种于12孔板Transwell聚碳酸酯膜上,在Transwell小室

中,每孔接种0.5 mL细胞悬液,在Transwell大室中,每孔加1.5 mL新鲜培养基,每2天换一次新鲜培养基,连续培养21 d,得到完全分化的单层细胞层,并应用跨膜电阻检测仪测单层细胞两侧跨膜电阻(TEER),当TEER值在200~300 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ 时,说明细胞已经分化成功且单层细胞层完整可用。

分别在顶侧(Apical side, AP侧)或基底侧(Basolateral side, BL侧)给以0.5或1.5 mL含50、100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱的缓冲溶液,并在另一侧加入1.5 mL或0.5 mL Hanks缓冲盐溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡器培养10 min,振荡器转速为60 r/min;分别吸取BL侧或AP侧的转运液,通过高效液相色谱(HPLC)法(流动相为乙腈/0.34% $\text{KH}_2\text{PO}_4=30/70$, pH值为3.0, 15 min)测定转运液中化合物浓度,计算化合物跨膜转运量,并根据以下公式计算表观渗透系数(P_{app}):

$$P_{\text{app}} = (\int dQ/dt) / A \times C_0$$

公式中 $\int dQ/dt$ 为化合物跨膜转运总量;A为碳酸酯膜面积(1.12 cm^2); C_0 初始给药浓度。

外排率(PDA)为化合物BL-AP方向的 $P_{\text{app}}(\text{B-A})$ 与AP-BL方向的 $P_{\text{app}}(\text{A-B})$ 比值。

2.4 数据处理

将仅含放标底物的转运体细胞的转运值设为 U_c (单位为DPM),扣除本底组即Mock细胞的转运值 U_0 ,即 $(U_c - U_0)$ 定义为100%。以此为标准计算:阴性对照组、抑制剂组、加入待测化合物组的转运值设为U,相对转运活性= $(U - U_0) / (U_c - U_0)$ 。

每个数值代表一个实验组的平均值,用Microsoft Excel 2010软件中统计学公式计算。通过Prism 5.0软件计算小檗碱对各转运体转运活性的 IC_{50} 。各数值间的差异性分析采用t-test。

3 结果

3.1 各药物转运体转运活性验证

通过由阳离子脂质体介导的转基因方法,将携带有OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7和URAT1转运体基因CDS序列的质粒pcDNA3.1(+)分别同宿主细胞进行共培养,经过含G418的培养基进行筛选培养后,最终得到了S2-OAT1、S2-OAT2、S2-OAT3、MDCK-OAT4、S2-OAT7和HEK293-URAT1。各转运体过表达细胞株的转运活性均较阴性对照组提高了5~10倍(图1),且加入各药物转运体的抑制剂后,转运活性均明显下降,表明各转

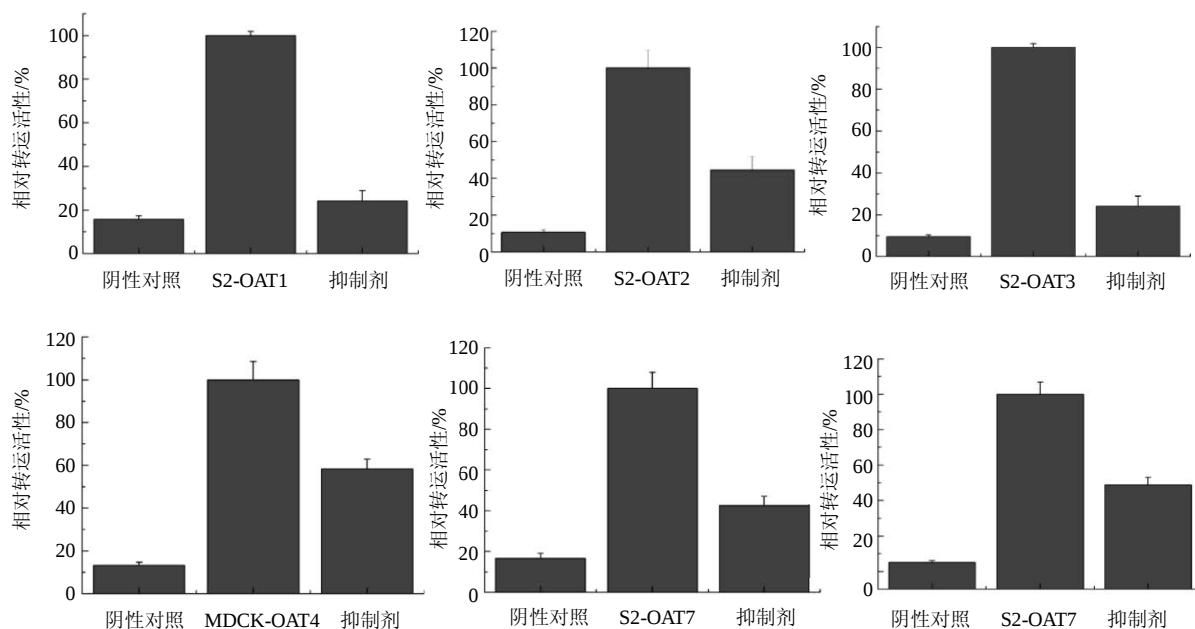


图1 有机阴离子转运体转基因细胞株经过筛选培养后功能确证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Activity test of cells overexpressing different organ anion transporters after screening culture ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

运体基因已经成功整合到在宿主细胞的染色体上并稳定表达,各转运体过表达细胞株的功能良好。

3.2 小檗碱对有机阴离子转运体抑制作用

加入 100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱后,OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 和 URAT1 跨膜转运活性分别为 $(70.48 \pm 4.23)\%$ 、 $(69.13 \pm 1.28)\%$ 、 $(72.12 \pm 3.28)\%$ 、 $(79.77 \pm 6.49)\%$ 、 $(69.51 \pm 5.99)\%$ 、 $(38.4 \pm 2.67)\%$,见图 2。由此可知小檗碱对 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 的抑制作用相对较弱,对尿酸转运体 URAT1 的抑制作用较强。由于小檗碱在正常剂量下血药浓度一般低于 1 $\mu\text{mol/L}$ ^[9],因此发生由 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 介导 DDI 的可能性较小,发生由 URAT1 介导的 DDI 的可能性较大,本研究进一步测定了小檗碱对 URAT1 抑制作用的 IC_{50} 。

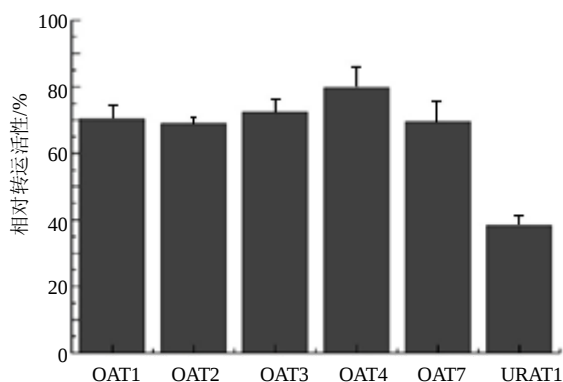


图2 100 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱对各转运体的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 2 Inhibition of 100 $\mu\text{mol/L}$ berberine on different transporters ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.3 不同浓度小檗碱对 URAT1 的抑制作用

不同浓度的小檗碱对尿酸转运体 URAT1 的抑制作用结果如图 3 所示。通过 Prism 5.0 软件计算显示,小檗碱对 URAT1 转运活性的 IC_{50} 为 13.19 $\mu\text{mol/L}$,表明小檗碱对 URAT1 具有较强的抑制作用。

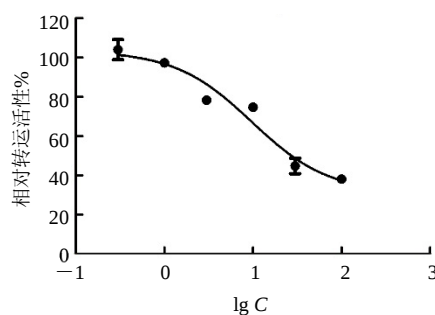


图3 不同浓度的小檗碱对 URAT1 抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Inhibition of different concentration of berberine on URAT1 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.4 小檗碱双向跨膜转运实验

小檗碱双向跨膜转运实验结果如表 1 所示。50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的小檗碱在 AP-BL 方向的 $P_{\text{app(A-B)}}$ 均较低 ($< 1 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$),这表明小檗碱在小肠中吸收较差;50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的小檗碱在 BL-AP 方向 $P_{\text{app(B-A)}}$ 分别为 $0.89 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ 和 $1.26 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$,高于 $P_{\text{app(A-B)}}$,表明小檗碱在 Caco-2 细胞中的外排作用较为明显;另外,50 和 100 $\mu\text{mol/L}$

的小檗碱的 PAD 分别为 3.18、3.15, 表明小檗碱是一些外排型转运体如 P-gp、BCRP、MRP2 等的底物。

表 1 小檗碱双向跨膜转运测定结果

Table 1 Result of bidirectional transporter assay of berberine

浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	$P_{\text{app}}/(10^{-6}\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$		PAD
	AP-BL	BL-AP	
50	0.28	0.89	3.18
100	0.40	1.26	3.15

4 讨论

小檗碱是黄连的主要有效成分, 又称黄连素, 是一种生物碱。目前已经被证明具有非常广泛的药理作用, 在抗炎、降糖、调血脂、降血压、抗肿瘤等方面具有潜在的应用价值^[11-13]。本研究结果表明, 小檗碱对有机阴离子转运体 OATs 抑制作用相对较弱, 这与小檗碱在生理条件下主要以阳离子形式存在的理化性质密切相关, 由于小檗碱在正常剂量下血药浓度一般低于 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ ^[10], 因此小檗碱发生由 OAT1、OAT2、OAT3、OAT4、OAT7 介导的 DDI 的可能性较小, 存在发生由 URAT1 介导的 DDI 的可能性。由不同浓度的小檗碱对 URAT1 抑制作用结果可知, 小檗碱在酸性条件下 (pH 6.0) 对尿酸转运体 URAT1 表现出了较强的抑制作用。由于 URAT1 在近端肾小管表皮细胞上表达量较高, 是尿酸重摄取的主要转运体, 对血液中尿酸水平的调节发挥了重要作用, 这表明小檗碱对降低高尿酸血症患者血尿酸水平具有潜在的作用。小檗碱双向跨膜转运结果显示, 小檗碱在小肠吸收方向 (AP-BL 方向) P_{app} 相对较低, 表明小檗碱的渗透性极低, 由于小檗碱 $\text{PDA}>2$, 因此它可能是一些外排蛋白的底物, 这为揭示小檗碱生物利用度较低提供了理论依据。

参考文献

- [1] 李波, 朱维良, 陈凯先. 小檗碱及其衍生物的研究进展 [J]. 药学学报, 2008, 43(8): 773-787.
- [2] 董艳, 武卫党, 慈小燕, 等. L-型氨基酸转运体 1 在肿瘤诊断和治疗中的研究进展 [J]. 天津医药, 2015,

43(12): 1456-1459.

- [3] Wu W, Dong Y, Gao J et al. Aspartate-modified doxorubicin on its N-terminal increases drug accumulation in LAT1-overexpressing tumors [J]. Cancer Sci, 2015, 106(6):747-756.
- [4] 慈小燕, 崔涛, 曾勇, 等. 应用 Caco-2 和 MDCK-MDR1 细胞模型的药物吸收机制评价研究 [C]. 国际 issx/cssx 联合学术会议, 2012.
- [5] 慈小燕, 夏媛媛, 曾勇, 等. 3-乙酰基-11-羧基- β -乙酰乳香酸在 Caco-2 和 MDCK 细胞模型中的吸收研究 [J]. 中草药, 2013, 44(9):1162-1167.
- [6] Geng F H, Li G H, Xing Z, et al. Berberine improves mesenteric artery insulin sensitivity through up-regulating insulin receptor-mediated signalling in diabetic rats [J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(10):1569-1579.
- [7] 张杨, 张振秋, 孙兆姝, 等. 黄柏、苍术药对提取物中盐酸小檗碱在大鼠体内的药代动力学研究 [J]. 中成药, 2009, 31(9):1351-1354.
- [8] 黄兴, 李艳芬, 寇冠军, 等. 小檗碱抗动脉粥样硬化作用机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(3): 469-473.
- [9] 丁阳平, 叶小利, 周洁, 等. 小檗碱降糖作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2013, 44(6): 763-769.
- [10] Shin H J, Anzai N, Enomoto A, et al. Novel liver-specific organic anion transporter OAT7 that operates the exchange of sulfate conjugates for short chain fatty acid butyrate [J]. Hepatology, 2007, 45(4): 1046-1055.
- [11] Mamidi R N, Dallas S, Sensenhauser C, et al. *In vitro* and physiologically-based pharmacokinetic based assessment of drug-drug interaction potential of canagliflozin [J]. Br J Clin Pharmacol, 2016, 11(10): 13186.
- [12] 王会玲, 李芮, 胡伟锋, 等. 小檗碱影响 AMPK/PGC-1 信号途径改善糖尿病胰岛素抵抗和线粒体功能 [C]. 2014 年全军肾脏病学专业委员会暨牡丹江市肾脏病学会学术年会论文集, 2014: 321-321.
- [13] 阮元, 任伟, 申进文, 等. 盐酸小檗碱对植物病原真菌抑制作用及其抑菌的生理指标分析 [J]. 河南农业大学学报, 2014(2): 194-198.
- [14] 张娟. 小檗碱抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. 医学综述, 2014, 20(4): 634-637.