

· 基础学科 ·

刺囊酸及其衍生物的体外化疗增敏作用及机制研究

谭敏¹, 曹旭², 徐侨², 张梦², 张驹², 韩旭¹, 赖朋^{2*}

(1. 西华大学西华学院, 四川 成都 610039; 2. 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039)

摘要:目的:探讨刺囊酸及其衍生物的体外化疗增敏作用及其机制。方法:体外培养人乳腺癌细胞 MCF-7 和人肝癌细胞 HepG-2 的敏感株和阿霉素耐药株,依次在阿霉素和受试化合物的作用下,以 MTT 法测定其 IC_{50} , 计算耐药倍数;随后,对耐药株加入不同浓度组合的阿霉素和受试化合物进行共培养,以 MTT 法测定各组细胞活力,计算刺囊酸及其衍生物的 MDR 逆转倍数。结果:刺囊酸及其衍生物在低浓度下无明显细胞毒性,但却能增强耐药细胞对化疗药阿霉素的敏感性,逆转倍数最高可达 15 倍以上,并且几种刺囊酸衍生物的作用具有剂量依赖性;ELISA 试验结果显示,刺囊酸及其衍生物抑制耐药株的 P-gp 表达,减少化疗药物从细胞中泵出,起到增敏作用。结论:刺囊酸及其衍生物具有化疗增敏作用,其机制来源于对 P-gp 的抑制。

关键词: 刺囊酸;化疗增敏;MTT 法;阿霉素;P-gp 抑制

中图分类号: R966;735.2 文献标志码: A 文章编号: 1673-159X(2019)03-0073-05

doi:10.3969/j.issn.1673-159X.2019.03.012

Study on Sensitization and Mechanism of EA and Its Derivatives in Vitro Chemotherapy

TAN Min¹, CAO Xu², XU Qiao², ZHANG Meng², ZHANG Ju², HAN Xu¹, LAI Peng^{2*}

(1. Xihua Academy, Xihua University, Chengdu 610039 China;

2. School of Food Science and Biotechnology, Xihua University, Chengdu 610039 China)

Abstract: The paper is to investigate the derivatives of echinocystic acid(EA) and their application as chemosensitizer in vitro and their mechanism. The sensitive and adriamycin resistant strains of human breast cancer cell line MCF-7 and human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2 were cultured in vitro and the IC_{50} of adriamycin and its test compounds were determined by MTT method and then the resistance times were calculated. Subsequently, resistant strains were co-cultured with different concentration of adriamycin and its test compounds, MTT assay was used to determine the cell viability of each group, the test compounds to calculate the reversal times of EA and its derivatives. The results show that EA and its derivatives had less cytotoxicity at low concentration, but they could significantly enhance the sensitivity of drug-resistant cells to the chemotherapeutic drug adriamycin, and the reversal times could reach more than 15 times; EA derivatives are dose-dependent; EA and its derivatives inhibit the delivery of P-gp in resistant strains, and reduce the pumping of chemotherapeutic drugs from the cells, thus enhancing the sensitivity of the chemotherapeutic drugs. In conclusion, EA and its derivatives have chemosensitization effect, and the mechanism is partly or wholly attribute to the inhibition of P-gp.

Keywords: echinocystic acid; chemosensitizer; MTT method; adriamycin; inhibition of P-gp

收稿日期: 2018-10-25

基金项目:西华大学校重点项目(Z1220529)。

* 通信作者:赖朋(1979—),男,副教授,博士,主要研究方向为心血管分子药理学研究和食品药品安全性评价。

ORCID:0000-0002-2376-5976 E-mail:lai211@sina.com

引用格式:谭敏,曹旭,徐侨,等.刺囊酸及其衍生物的体外化疗增敏作用及机制研究[J].西华大学学报(自然科学版),2019,38(3):73-77.

TAN Min, CAO Xu, XU Qiao, et al. Study on sensitization and mechanism of EA and its derivatives in vitro chemotherapy[J]. Journal of Xihua University (Natural Science Edition), 2019, 38(3): 73-77.

目前,化疗是恶性肿瘤的主要临床治疗手段,肿瘤细胞的多药耐药(MDR, multiple drug resistance)是导致化疗失败的重要原因。MDR 是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性的同时,对结构和作用机制不同的其他抗肿瘤药物也产生交叉耐药性^[1-2]。产生 MDR 最主要的原因是P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)对抗肿瘤药物的外排作用。P-gp 是 MDR1 基因表达产物,为 ABC(ATP-binding cassette)家族成员,含 2 个跨膜结构域,2 个 ATP 结合结构域。P-gp 的底物与结合位点结合,消耗两分子 ATP 泵出一分子药物^[3-4]。其他原因还有多药耐药相关蛋白(MRP)、肺耐药蛋白(LRP)、谷胱甘肽及谷胱甘肽-S-转移酶、PKC 和 TopoII 等^[5-6]。

P-gp 抑制剂是逆转 MDR 的常用药物^[7-8],包括:钙通道阻滞剂(维拉帕米)^[9]、环孢菌素 A^[10]、抗激素类化合物(他莫昔芬)^[11]等。这些逆转剂的作用机制并不相同,有些作用于 MDR1 基因,降低 P-gp 的表达^[12];有些与底物竞争结合 P-gp^[13];有些与 P-gp ATP 结合部位结合抑制其作用^[14]。近年来发现许多天然产物也有类似作用,如异喹啉类生物碱、粉防己碱等可通过抑制 P-gp 活性增强阿霉素或长春新碱等药物的抗癌效果,这些化合物被称为化疗增敏剂^[15-16]。

本研究从豆科植物皂荚(*Gleditsia Sinensis* Lam.)的棘刺中提取分离纯化得到刺囊酸作为先导化合物,经相应的化学反应制备了一系列衍生物(受试衍生物化学结构及编号分别见图 1 和表 1)^[17]。本实验选取刺囊酸及其衍生物作为实验对象,探索刺囊酸及其衍生物对肿瘤多药耐药的影响,并对其逆转多药耐药机制进行相关研究。

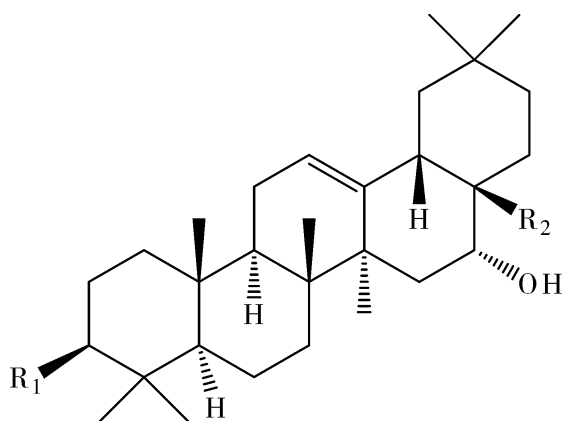


图 1 刺囊酸(EA)及其衍生物的化学结构

表 1 刺囊酸及其衍生物的编号

化合物及编号	R ₁	R ₂
刺囊酸(EA)	- OH	- COOH
化合物 2(TRSZ-2)	= O	- COOH
化合物 3(TRSZ-3)	= NOH	- COOH
化合物 4(TRSZ-4)	- OH	- COOCH ₃
化合物 5(TRSZ-5)	= O	- COOCH ₃
化合物 6(TRSZ-6)	= NOH	- COOCH ₃

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人乳腺癌细胞敏感株 MCF-7、人肝癌敏感株 HepG-2、10⁵ IU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI1640 培养基、阿霉素购自 Sigma Aldrich 公司; 10% 小牛血清购自浙江天航生物科技股份有限公司; ELISA 试剂盒购自 R&D Systems 公司。

1.2 仪器与设备

酶标仪购自北京普天新桥技术有限公司, ELISA 试剂盒购自上海科顺生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 肿瘤细胞的耐药实验

肿瘤细胞敏感株 MCF-7 和 HepG-2 用含 10% 小牛血清 + 10⁵ IU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI1640 培养基在恒温培养箱 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 条件下培养。相应阿霉素耐药株 MCF-7/DOX、HepG-2/DOX 连续培养在含 1.0 mg/L 的阿霉素的上述培养基,在恒温培养箱 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 培养。

取对数生长期的敏感细胞和耐药细胞接种于 96 孔板,每孔内 180 μL,约 5 × 10³ 个细胞,培养过夜。敏感株和耐药株分别以 10 倍稀释的方法由高到低加入 20 μL 不同浓度的阿霉素(10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷ mol/L)作为实验组,对照组只加等体积的培养基不加药物。

采用常规 MTT 实验方法,于全自动酶标仪上测定各孔在 490 nm 处吸光度(A)值,取 3 孔平均值计算细胞生长率和抑制率:生长率(%) = 实验组 A 值/对照组 A 值 × 100%;抑制率(%) = 100% - 生长率。使用 SPSS19.0 统计得出 IC₅₀。耐药倍数 = 耐药株 IC₅₀/敏感株 IC₅₀ 计算出耐药细胞株耐药倍数。

1.3.2 刺囊酸及其衍生物细胞毒测定

各平行 3 次取对数生长期的敏感细胞和耐药细胞接种于 96 孔板,每孔内 180 μL,约 5 × 10³ 个细

胞,培养过夜。敏感株和耐药株分别以 10 倍比稀释的方法由高到低加入 20 μL 不同浓度的刺囊酸及其衍生物 (10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} mol/L),对照组只加等体积的培养基不加药物。

采用常规 MTT 实验方法,于全自动酶标仪上测定各孔 490 nm 处吸光度(A)值,取 3 孔平均值计算细胞生长率和抑制率:生长率(%) = 实验组 A 值/对照组 A 值 $\times 100\%$;抑制率(%) = $100\% - \text{生长率}$ 。使用 SPSS19.0 统计得出 IC_{50} 。

1.3.3 MDR 逆转实验

各平行 3 次取对数生长期耐药株 HepG-2/DOX 和 MCF-7/DOX 接种于 96 孔板,每孔内 180 μL ,约 5×10^3 个细胞,培养过夜。再分别加入 10 μL 不同浓度的阿霉素 (2×10^{-3} 、 2×10^{-4} 、 2×10^{-5} 、 2×10^{-6} 、 2×10^{-7} mol/L),最后按高、中、低 3 种剂量加入 10 μL 不同浓度的刺囊酸及衍生物(设 3 个浓度,最高浓度为相应受试物 IC_{50} 的 1/10,细胞活力基本不受影响,此实验设为 2、0.5、0.1 $\mu\text{mol/L}$),对照组只加等体积的培养基不加药物。

采用常规 MTT 实验方法,于全自动酶标仪上测定各孔 490 nm 处吸光度(A)值,取 3 孔平均值计算细胞生长率和抑制率:生长率(%) = 实验组 A 值/对照组 A 值 $\times 100\%$;抑制率(%) = $100\% - \text{生长率}$ 。使用 SPSS19.0 统计得出 IC_{50} 。MDR 逆转倍数 = 耐药株 IC_{50} /加入逆转剂后 IC_{50} 计算受试化合物对 MDR 的逆转倍数。

1.3.4 测定 P-gp 的表达

采用 ELISA 法测定 P-gp 的水平。96 孔板中的 HepG-2/DOX 细胞与浓度为 2 $\mu\text{mol/L}$ 的受试物或空白培养基共培养 24 h 后,倒去培养基,加入 0.1% Tween-20/PBS 洗涤 (50 μL /孔) 30 s,敞开置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境中 30 min,加入固定液 (100 μL /孔),5 min 后加入 0.1% Tween-20/PBS 洗涤 (200 μL /孔) 20 min,PBS 洗涤 2 次,加入 1% 的 BSA-PBS (100 μL /孔) 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h,加入 ddH₂O 稀释的一抗 (100 μL /孔),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,PBS 连洗 3 次,加入用 1% 的 BSA-PBS 稀释的二抗 (100 μL /孔),室温 3 h,PBS 连洗 5 次,加入底物液 (100 μL /孔),10 min 后 1 mol/L H₂SO₄ 终止反应,490 nm 处读数。采用相同方法,不加受试化合物,测定 HepG-2 细胞中 P-gp 的表达。

1.3.5 统计方法

统计学分析采用 SPSS 19.0 统计软件包进行,结果以 $\bar{X} \pm \text{SD}$ 表示,各组数据比较采用 One-way ANOVA 方法,以 $P < 0.05$ 为有显著性差异,具有

统计学意义。

2 实验结果

2.1 肿瘤细胞耐药倍数

单独使用阿霉素 (DOX) 作用于敏感株和耐药株的 IC_{50} 有显著差异 (见表 2),经过计算得到耐药细胞株耐药倍数 MCF-7/DOX 为 32.8, HepG-2/DOX 为 32.7。

表 2 敏感株及耐药株对阿霉素的耐药测试结果

药物	细胞半数抑制浓度 (IC_{50} , $\mu\text{mol/L}$)			
	MCF-7	MCF-7/DOX	HepG-2	HepG-2/DOX
DOX	1.2 ± 0.4	39.4 ± 12.4	1.4 ± 0.2	45.8 ± 9.1

2.2 受试化合物的细胞毒作用

受试化合物对肿瘤细胞敏感株和耐药株的细胞毒作用测试结果 (见表 3)。

表 3 受试化合物对肿瘤细胞敏感株及耐药株的细胞毒作用测试结果

受试化合物	细胞半数抑制浓度 (IC_{50} , $\mu\text{mol/L}$)			
	MCF-7	MCF-7/DOX	HepG-2	HepG-2/DOX
EA	25.8 ± 5.6	37.7 ± 3.1	18.5 ± 3.9	34.1 ± 3.3
TRSZ-2	23.4 ± 3.4	36.8 ± 9.2	17.3 ± 2.6	37.5 ± 2.7
TRSZ-3	23.8 ± 3.5	38.0 ± 5.2	17.7 ± 4.4	29.4 ± 4.9
TRSZ-4	23.2 ± 8.1	36.1 ± 8.8	18.6 ± 8.9	39.2 ± 6.3
TRSZ-5	20.7 ± 2.7	31.1 ± 4.0	15.0 ± 6.5	18.3 ± 7.4
TRSZ-6	22.9 ± 2.4	35.5 ± 6.7	16.8 ± 6.1	15.6 ± 4.5

注:数据由 SPSS19.0 统计。

2.3 受试化合物的 MDR 逆转倍数

受试化合物对 MCF-7/DOX 和 HepG-2/DOX 2 种耐药株细胞均有剂量依赖性的增敏作用 (见图 2),其中 TRSZ-5 在 2 $\mu\text{mol/L}$ 剂量下最大逆转倍数对 MCF-7/DOX 达 7.3, HepG-2/DOX 为 6.5。

A-F 分别表示受试化合物 EA、TRSZ-2、TRSZ-3、TRSZ-4、TRSZ-5、TRSZ-6 逆转 MCF-7/DOX 和 HepG-2/DOX 细胞对阿霉素 (DOX) 耐药的结果。* 表示与单用阿霉素相比 $P < 0.05$ 。

2.4 P-gp 的表达

ELISA 法测定敏感株 HepG-2、耐药株 HepG-2/DOX 与受试化合物共培养后 P-gp 的表达,见图 3。结果表明,2 $\mu\text{mol/L}$ 剂量的 EA 及其衍生物显著的降低了 P-gp 在 HepG-2/DOX 细胞中的表达 (实验指标为 490 nm 处吸光度显著降低),其中化合物 TRSZ-5 的作用最明显,这与逆转耐药实验的结果是一致的。

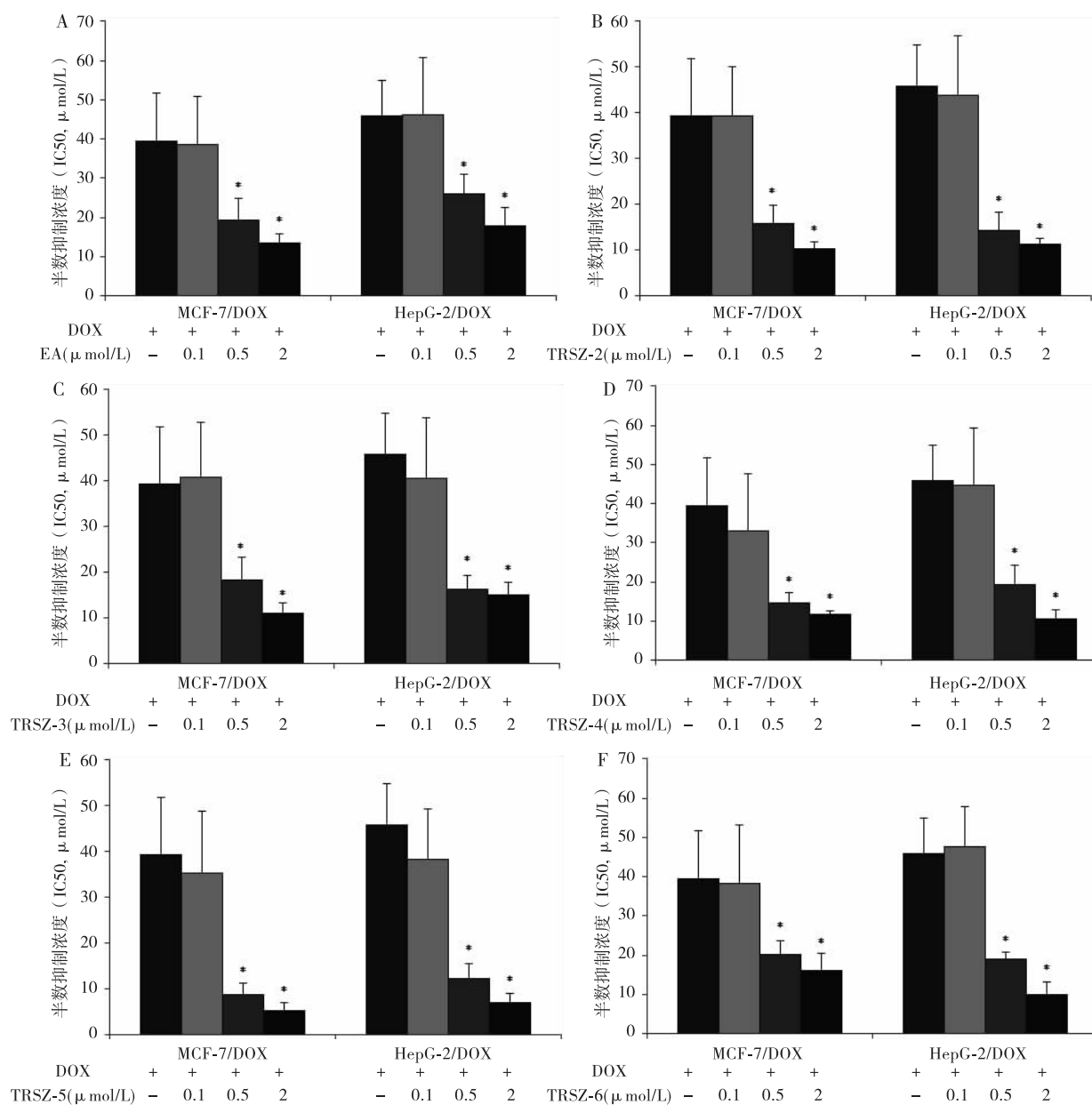


图2 刺囊酸及刺囊酸衍生物逆转 MCF-7/DOX 和 HepG-2/DOX 细胞对阿霉素 (DOX) 耐药的结果

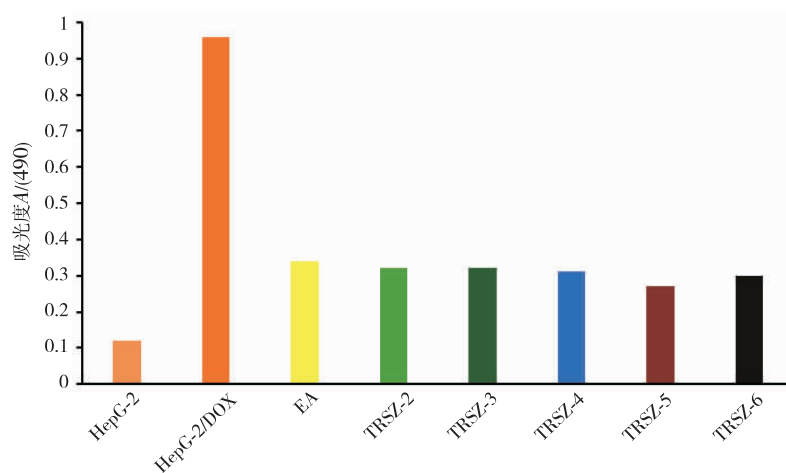


图3 EA 及其衍生物对肿瘤细胞 P-gp 表达的影响

测定 HepG - 2 敏感株中 P-gp 的表达使用 HepG - 2 敏感株,其余采用 HepG - 2/DOX 耐药株进行。

3 讨论

阿霉素对肿瘤细胞 MCF - 7 和 HepG - 2 具有杀伤作用,由表 2 可知,与肿瘤细胞敏感株相比,耐药株的 IC_{50} 显著增加,说明耐药株细胞对阿霉素的杀伤有明显抵抗作用,可以作为研究对象来研究刺囊酸及其衍生物的化疗增敏作用。

由表 3 可知,受试化合物是有一定细胞毒性的,为了避免由于受试化合物的细胞毒作用对实验结果造成干扰,实验选用了高、中、低 3 种浓度的受试化合物,分别为 2、0.5、0.1 $\mu\text{mol/L}$ 。由图 2 可知,相比于低浓度,在高浓度和中浓度时,耐药株的 IC_{50} 明显降低,即刺囊酸及其衍生物对耐药株的化疗增敏作用显著增强。但是由于刺囊酸及其衍生物是有细胞毒性的,所以浓度较高时,受试化合物对耐药株的细胞杀伤作用是不可忽略的;因此,在高浓度时阿霉素对肿瘤细胞的杀伤作用及其机制还有待进一步研究。

受试化合物对 MCF - 7/DOX 和 HepG - 2/DOX 2 种耐药株细胞均有剂量依赖性的增敏作用,其中化合物 TRSZ - 5 效果尤其突出。分析其化学结构发现,该化合物酯化了 EA 的羧基,且 3 - OH 被羰基取代,这样的结构衍生明显增加了化合物亲脂性。亲脂性强的化合物容易通过细胞膜,所以和其他受试化合物相比,亲脂性强的 TRSZ - 5 更易于跨膜转运进入细胞发挥化疗增敏作用。通过增加刺囊酸衍生物的亲脂性来增强化疗增敏作用可能是此后结构修改的一个方向。

ELISA 实验结果表明,耐药株的 P-gp 表达明显升高,这说明细胞内的化疗药物大量排出,产生耐药。刺囊酸及刺囊酸衍生物能逆转阿霉素耐药从而产生化疗增敏作用,同时此作用具有剂量依赖性。虽然 ELISA 实验的数据提供了 EA 及其衍生物作为化疗增敏剂的一种可能作用机制,即 EA 衍生物下调了耐药细胞 P-gp 的表达,减少化疗药物外排,但引起耐药的原因是多种多样的,相关研究表明多药耐药相关蛋白(MRP)^[18]、肺耐药蛋白(LRP)^[19]、谷胱甘肽及谷胱甘肽 - S - 转移酶^[20]、PKC 和 TopoII^[21]等均与多药耐药有关^[22];因此探讨 EA 及其衍生物与这些靶点的相互作用也是十分必要的,这也是以后研究的一个方向。

4 结论

本研究采用体外细胞研究的方法,考察了刺囊酸及其衍生物对 MCF - 7/DOX 和 HepG - 2/DOX 的影响。研究结果表明,受试化合物可通过降低耐药细胞 P - 糖蛋白表达而使阿霉素效果提升,起到逆转多药耐药、增加化疗药物敏感性的作用。

参 考 文 献

- [1] 吴亚琼,方伟蓉,李运曼. 肿瘤多药耐药机制及逆转药物的研究进展[J]. 药学与临床研究,2016,24(1):43 - 47.
- [2] 杨向东,杨文华. 中医药逆转肿瘤细胞多药耐药的研究进展[J]. 医疗装备,2016,29(16):203 - 204.
- [3] DEWANJEE S, DUA T K, BHATTACHARJEE N, et al. Natural products as alternative choices for p - glycoprotein (p - gp) inhibition[J]. Molecules, 2017, 22(6):871.
- [4] BRZOZOWSKA N, LI K M, WANG X S, et al. Abc transporters p - gp and bcrp do not limit the brain uptake of the novel antipsychotic and anticonvulsant drug cannabidiol in mice. [J]. Peer J, 2016, 4: 2081.
- [5] SAMIA A E, NADIA A S, EBTSAM R Z, et al. Role of mrp - 1 and gst - pi in mdr and their inhibition by indomethacin in aml[J]. Alexandria Journal of Medicine, 2016,53(3):251 - 259.
- [6] 王媛. P-gp、MRP、LRP、GST - π 和 TOPO II α 的表达与人 NSCLC 耐药相关性的临床研究[D]. 大连:大连医科大学,2012.
- [7] YANG X B, LIU K X. P-gp inhibition - based strategies for modulating pharmacokinetics of anticancer drugs: an update[J]. Curr Drug Metab, 2016, 17(8): 806 - 826.
- [8] CHEN C Y, LIU N Y, LIN H C, et al. Synthesis and bioevaluation of novel benzodipyrone derivatives as p - glycoprotein inhibitors for multidrug resistance reversal agents[J]. Eur J Med Chem, 2016,118(8):219 - 229.
- [9] 程涛. 钙调通路抑制剂通过影响脂筏抑制 P-gp 活性的作用机制研究[D]. 福州:福建中医药大学,2013.
- [10] 杨静,董艺宁,彭婷婷,等. 环孢素 A 与钙离子通道拮抗剂的相互作用及临床意义[J]. 中国现代应用药学,2015,32(7):891 - 895.
- [11] 黄圆. 氟维司群(ICI 182,780) 逆转 P-gp 介导乳腺癌多药耐药的体内外研究[D]. 杭州:浙江大学,2013.
- [12] 孙臻峰,沈斌,张佳,等. 耐药基因 MDR1 (P-gp) 和 ABCG2 在 Hep - 2 细胞耐药中的作用研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2015,29(11):1016 - 1019.
- [13] 潘显超. P-gp 底物和抑制剂结合模式与作用机理[D]. 重庆:重庆大学,2016.
- [14] 柳金金. 伐地那非逆转 MCF - 7/ADR 细胞阿霉素耐药的作用研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2017.
- [15] 刘盟. 化合物 T20 对 P-gp 介导的 K562/ADM 细胞阿霉素耐药性的逆转作用[D]. 开封:河南大学,2014.
- [16] 张旭. 粉防己碱对胃癌耐药细胞 ZNF139、MDR1 及 GST - π mRNA 的影响[J]. 东南大学学报(医学版),2018,37(3):467 - 470.

(下转第 81 页)

由表3可知,该方法回收率为79.29%~102.63%,相对标准偏差为2.5%~8.4%,结果表明该方法的精密度、准确度能够满足检测要求。

2.5 实际样品测定

用上述方法检测了购自超市的10批蜂王浆,均未检出7种磺胺类药物残留。

3 结论

本文建立了蜂王浆中7种磺胺类药物残留的超高效液相-串联质谱联用方法,检出限为0.5~8.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法灵敏度高、前处理较简单简便、仪器分析时间较短、结果准确,能够满足基层食品检验检测实验室的日常检测要求,具有较广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1]高慧,程妮,贾琪,等.蜂王浆冻干粉体外抗氧化作用[J].食品科学,2011,32(21):52-54.
- [2]付中民,李益武,缪晓青.不同水解度蜂王浆蛋白体外抗氧化活性的分析[J].食品科技,2012,37(9):54-57.
- [3]李利君,孙亮先,彭莺,等.蜂王浆对三种革兰氏阴性菌的抑菌特性[J].泉州师范学院学报,2008(2):96-99.
- [4]俞利平,徐小冬.三种蜂产品体外抑菌试验的研究[J].中国

蜂业,2009,60(3):13-16.

- [5]陈亚玲,张晶.蜂王浆的研究进展[J].食品研究与开发,2015,36(2):148-152.

- [6]徐慧,陈燕,王柯,等.液相色谱-串联质谱法同时测定蜂蜜中17种磺胺类药物的残留量[J].食品安全质量检测学报,2016,7(7):2727-2734.

- [7]盛雪飞,李小平,姚珊珊,等.超快速液相色谱-串联质谱联用法测定蜂蜜中20种痕量磺胺类药物残留研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(11):2690-2697.

- [8]阙广磊,王小娟,魏洪涛,等.液相色谱-串联质谱法检测蜂蜜中15种喹诺酮类和17种磺胺类药物残留[J].食品安全质量检测学报,2017,8(9):3571-3578.

- [9]卢坤,童群义.高效液相色谱法同时检测蜂蜜中的5类抗生素残留[J].分析测试学报,2011,30(11):1320-1323.

- [10]苗琼晨,聂晶,吴慧珍,等. QuEChERS 净化-高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中农药及抗生素的含量[J].理化检验:化学分册,2017,53(7):745-752.

- [11]吴黎明,张金振,李桂芬,等.蜂王浆中八种磺胺类药物残留测定方法研究[J].食品科学,2008,29(11):535-537.

- [12]周萍,胡福良,徐权华,等.高效液相色谱荧光检测器测定蜂王浆中磺胺类药物残留的研究[J].中国蜂业,2008,59(2):5-7.

- [13]吕斌.蜂王浆中9种磺胺类药物残留测定方法研究[J].食品研究与开发,2015,36(22):131-133.

(编校:叶超)

(上接第77页)

- [17]周德敏,王晗,叶敏,等.刺囊酸衍生物及其生物转化方法和用途:北京,CN102584930A[P].2012-07-18.

- [18]SUN S X,ZHAO J L. Formal workflow design analytics using data flow modeling - sciencedirect [J]. Decision Support Systems, 2013,55(1):270-283.

- [19]邓晓斌,王珊,邹琳,等.小儿恶性肿瘤化疗前后外周血多药耐药基因、多药耐药相关蛋白基因、肺耐药蛋白基因的变化及临床意义[J].第三军医大学学报,2010,32(10):1087-1090.

- [20]于莉莉,史梦婷,楚兰.多药耐药基因1和P糖蛋白及谷胱

甘肽S转移酶在难治性癫痫中的表达研究[J].中国全科医学,2015,18(32):3944-3947.

- [21]孙仁光,刘泽森.多药耐药基因1和谷胱甘肽-S-转移酶- π 在骨软组织肉瘤患者表达及其与化疗耐药关系[J].中国老年学杂志,2015,35(20):5823-5825.

- [22]孔易,胡占锋,胡瑞云,等.多种耐药蛋白的表达与大肠癌多药耐药的相关性研究进展[J].承德医学院学报,2014,31(3):243-245.

(编校:叶超)