

抗心律失常活性天然产物研究进展

李玉柱¹, 袁 虎¹, 罗序凯¹, 孙青龔^{1*}, 张卫东^{1,2*}

¹中国医药工业研究总院中药创新中心, 上海 201203; ²第二军医大学药学院, 上海 200433

摘要:心律失常作为一种心脑血管系统疾病, 严重危害人类健康。心律失常种类繁多, 发病机制复杂, 限制了安全有效的抗心律失常药物研发。目前抗心律失常药物研究进展缓慢, 临床在用药物治疗效果差且伴有不同程度的毒副作用, 故亟需开发新型安全有效的抗心律失常药物。天然产物是药物研发的先导化合物重要来源途径之一, 部分天然产物有良好的抗心律失常活性而越来越受关注。本文就目前具有抗心律失常活性的天然产物进行概述, 以期抗心律失常药物的研发提供借鉴。

关键词:抗心律失常药物; 天然产物; 研究进展

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.038

Advances in Research on Anti-arrhythmic Active Natural Products

LI Yu-zhu¹, YUAN Hu¹, LUO Xu-kai¹, SUN Qing-yan^{1*}, ZHANG Wei-dong^{1,2*}

¹China State Institute of Pharmaceutical Industry, Traditional Chinese Medicine Research Center, Shanghai, 201203, China;

²The Second Military Medical University, College of Pharmacy, Shanghai, 200433, China

Abstract: Arrhythmia threaten human health as a kind of cardiovascular system disease. Diverse types of arrhythmia and complex pathogenesis mechanism make it difficult to develop safe and effective anti-arrhythmic drugs. On the one hand, the development and research of anti-arrhythmic drugs makes slow progress. On the other hand, clinical anti-arrhythmic drugs have unsatisfied effect and different levels of side effects. In view of this, developing safe and effective anti-arrhythmic drugs is urgent. Natural products are important source of lead compounds for drug development and many natural products exhibit good anti-arrhythmic effect, which make them draw more and more attention. This review summarizes anti-arrhythmic natural products. Development of arrhythmia drugs are also discussed.

Key words: anti-arrhythmic drug; natural product; research progress

心律失常 (arrhythmia) 作为一种心脑血管系统疾病严重影响人类健康, 某些类型心律失常还增加中风、心力衰竭等其它疾病的发生风险^[1]。甚至一些类型心律失常如室颤等不及时治疗会导致死亡。心律失常主要机制为自律性异常、折返和触发活动。目前抗心律失常药物主要通过作用于心脏或者自主神经系统, 改善心脏病理状况下的触发活动、传导速度、动作电位时程达到治疗目的。针对快速型心律失常主要的治疗药物有 I 类钠通道阻滞剂、II 类 β 受体阻断剂、III 类钾通道阻滞剂、IV 类钙通道阻滞剂以及其他类如腺苷、地高辛等。针对缓慢型心律失常主要治疗药物有阿托品、异丙肾上腺素、氨茶碱等。心律失常种类繁多发病机制复杂, 为安全有效

抗心律失常药物研发带来了一定的困难, 使得该类药物研究进展缓慢。目前临床上使用的抗心律失常药物或存在一定的毒性, 或由于长期用药致代谢蓄积等而影响用药安全。就目前抗心律失常药物种种弊端, 近二三十年来药物研究者们一直致力于寻找高活性、低毒性新型抗心律失常药物。研究者们通过不同的途径寻找具有抗心律失常活性的先导化合物或药物, 包括研究具有治疗经验和基础的传统草药体系如中药、民间药、印度药等; 从药理活性显著的植物中提取获得活性成分也是发现抗心律失常先导化合物的重要途径。本文按结构分类对抗心律失常活性的天然产物展开综述, 以为抗心律失常药物的研究提供一定的启发。

1 抗心律失常天然产物

1.1 生物碱类

秋水仙碱 (Colchicine) 老药新用是发现新药的

重要策略之一。Colchicine 主要用于治疗急性痛风和家族性地中海热。随着研究深入进展,目前亦作为心包炎二线用药^[2,3]。Colchicine 治疗心包炎的作用引起人们对其在心血管疾病治疗方面的关注,有文献报道 colchicine 能够降低术后房颤发病率^[4]。心肌细胞内钙离子浓度的异常与心律失常发病密切相关。有研究表明 colchicine 降低 HL-1 细胞肌浆网钙含量,且减弱 HL-1 细胞因胶原诱导的动作电位时程(Action Potential Duration, APD)缩短。表明 colchicine 可能通过调节心房电活动、钙离子和减弱胶原蛋白的电学效应达到治疗心律失常目的^[5]。此外, colchicine 对心肌细胞钙火花振幅、钙离子达峰时间、钙瞬变方面有一定的影响^[6]。动物实验表明 colchicine 能够抑制家兔冠状动脉结扎诱导房颤模型的房颤发生率^[7]。随着人们对 colchicine 的研究深入开展,会发现其在心血管疾病领域更多的新用途。

金雀花碱(Sparteine), Stenhouse 于 1851 年提取获得 sparteine 并将其用于治疗心律失常疾病^[8]。Sparteine 抗心律失常机制为抑制钠通道降低心肌的兴奋性和传导性。在豚鼠右心室乳头肌试验中, sparteine 延长心肌有效不应期(Effective Refractory Period, ERP), 减慢传导速度, 有效终止氯化钡诱导的心脏纤颤症状^[9]。在奎尼丁作为抗心律失常药物之前, Sparteine 曾作为抗心律失常药物在临床使用。目前其硫酸盐(硫酸司巴丁)被批准用于心律失常的治疗, 但该药物的毒副作用大, 具有箭毒样作用, 能够引起实验动物肌肉松弛、呼吸麻痹等^[10]。今后可以通过结构修饰改造来降低其毒副作用。

生物碱类化合物在抗心律失常天然产物中占相当大的比例。除了上述介绍的外还有奎宁(Quinine)、乌头碱(Aconitine)、去甲乌药碱(Higenamine)、蝙蝠葛碱(Dauricine)、粉防己碱(Tetrandrine)、甲基莲心碱(Neferine)、小檗碱(Berberine)、小檗胺(Berberamine)、钩藤碱(Rhynchophylline)、苦参碱(Matrine)和氧化苦参碱(Oxymatrine)等都有抗心律失常活性相关文献报道。

1.2 黄酮类

金合欢素(Acacetin), Acacetin 是来源于菊科植物雪莲(*Saussurea tridactyla*)的黄酮类化合物。研究发现 acacetin 选择性抑制心房肌电活动, 对房颤有一定的治疗效果。Acacetin 与索他洛尔相比有更好的抗房颤作用, 没有索他洛尔引起 Q-T 间期延长的

缺点。Acacetin 能够抑制人心房肌细胞延迟整流钾电流(I_{Kur})、瞬时外向钾电流(I_{to})和乙酰胆碱激活钾通道(I_{KAcCh})等离子通道^[11]。Acacetin 的活性好, 不影响心脏 Q-T 间期, 且急性毒性小使之成为房颤治疗药物开发的潜力先导药物。

Dioclein, Dioclein 为来源于豆科植物(*Dioclea grandiflora*)的黄酮类化合物。大鼠离体心脏缺血再灌注模型结果显示 dioclein 纳摩尔浓度下能浓度依赖性降低动物心律失常严重程度指数, 降低缺血再灌注心脏活性氧的产生。Dioclein 作为一种有效的抗心律失常和抗氧化药物, 对缺血性心脏再灌注方面有优异的保护作用^[12]。

灯盏花素(Breviscapine), Breviscapine 由灯盏花甲素(Apigenin-7-glucuronide)与灯盏花乙素(Scutellarein-7-glucuronide)组成, 以 scutellarein-7-glucuronide 为主。Breviscapine 目前应用广泛, 临床主要用于治疗中风后遗症、冠心病和心绞痛。有文献报道 scutellarin 降低去氧肾上腺素诱导的小鼠心肌细胞内游离钙离子浓度的升高, 并且抑制磷酸化钙调蛋白激酶 II (CaMKII) 的表达^[13]。CaMKII 在调节心肌细胞内钙离子方面有重要作用, 作为新的心律失常靶点日益受关注^[14]。因此, scutellarin 作为 CaMKII 调节剂可能被开发为新型抗心律失常药物。

葛根素(Puerarin), Puerarin 具有扩张冠脉血管的作用, 临床上用于治疗冠心病。有文献报道 puerarin 剂量依赖性延长大鼠心室肌细胞 APD, 且对静息膜电位、动作电位振幅与最大除极化速度没有影响。Puerarin 对内向整流钾离子通道、缓慢延迟整流钾电流(I_{Ks})与电压门控钾电流($I_{Kr7.1}$)有抑制作用^[15]。另有文报道 puerarin 能有效地预防和逆转乌头碱诱导的大鼠心律失常模型心律失常症状, 并且指出 puerarin 通过阻断内向整流钾通道(I_{K1})发挥抗心律失常作用^[16]。Guo 等报道 puerarin 通过作用于心肌细胞钙通道、钠通道发挥抗心律失常作用^[17,18]。Puerarin 水溶性和脂溶性不好, 在其生物利用度方面存在一定缺陷。后期研究可以 puerarin 为先导化合物, 通过合理的结构修饰来提高其成药性。

1.3 香豆素类

前胡醇(Decursinol), Decursinol 是来源于伞形科植物朝鲜当归(*Angelica gigas*)的香豆素类化合物。Decursinol 能剂量依赖性地抑制钠电流、钙电流、钠钙交换电流, 降低心肌细胞动作电位幅度与内

外离子流。在氯化钙诱导的大鼠心律失常模型中 decursinol 的抗心律失常指数显著超过抗心律失常药物奎尼丁、普鲁卡因胺和利多卡因^[19]。

此外,蛇床子素(Osthole)、Obtusifol 等香豆素类化合物也有抗心律失常活性报道。

1.4 酚类抗心律失常天然产物

白藜芦醇(Resveratrol), Resveratrol 来源于多种植物,其活性广泛。本文重点关注其抗心律失常活性。文献报道 resveratrol 能够降低心律失常动物模型的心律失常发生率。Resveratrol 抗心律失常作用机制为在不影响快速激活延迟整流钾电流(I_{Kr})电流的前提下选择性增加 I_{Ks} 电流,以及抑制钙离子流(I_{Ca})而缩短 APD^[20]。有文献报道 resveratrol 能降低豚鼠心室肌细胞钙瞬变幅度、L-钙电流峰值及缩短 APD^[21]。另有文献报道 resveratrol 可能通过影响小鼠心室肌细胞蛋白酪氨酸激酶而抑制小鼠心室肌细胞 L-钙通道,并延长 L-钙通道失活态恢复时间而起到抗心律失常作用^[22]。

厚朴酚(Honokiol),和厚朴酚(Magnolol), Honokiol 和 magnolol 为木兰科植物厚朴(*Magnolia officinalis*)的活性成分。两者具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤和神经保护等活性。小鼠冠状动脉结扎实验显示这两种成分能够降低室性心动过速和心室纤颤的发生^[23,24]。其抗心律失常作用机制可能为通过抗氧化作用减少缺血再灌注损伤的发生,或是增加 NO 合成松弛血管效应^[25]。可见针对抗心律失常天然产物活性不能局限于某种离子通道阻滞作用,更要寻找导致心肌细胞离子通道功能紊乱的根本原因,并针对这根本原因有针对性地筛选抗心律失常活性先导化合物。

岩白菜素(Bergenin), Bergenin 来源于虎耳草科植物岩白菜(*Bergenia purpurascens* Engl)。大鼠氯化钡诱导的心律失常模型中 bergenin 与对照药物维拉帕米相比显著缩短恢复窦性心律时间。在大鼠冠脉结扎再灌注模型中 bergenin 与对照药利多卡因相比显著缩短室性早搏、室性心动过速和心室纤颤持续时间。家兔电刺激诱导房颤模型实验显示 bergenin 提高房颤诱导阈值^[26]。

此外,还有鞣花酸(Ellagic acid)等酚类化合物有抗心律失常活性报道。

1.5 皂苷类

黄芪甲苷(Astragaloside IV), Astragaloside IV 药理活性广泛,如增强机体免疫功能、抗炎、抗氧化等。此外, Astragaloside IV 还有抗心力衰竭与心肌缺血

再灌注损伤作用^{[27][28]}。心力衰竭、心肌缺血再灌注损伤疾病的发生往往伴随心律失常的发生。有文献报道 Astragaloside IV 在大鼠心肌缺血心律失常模型中能够降低心肌细胞内游离钙离子浓度而减少心律失常发生^[29]。此外有实验表明 Astragaloside IV 在蟾酥致小鼠心律失常模型中能够减少 QRS 时程的增宽及 T 波幅度的加大,减少实验动物室性心律失常发生率、延长存活时间^[30] 其作用机制与改善受抑制的心肌 Na^+/K^+ -ATPase 活力有关^[31]。

除了黄芪甲苷外,甘草酸(Glycyrrhizic acid)、人参皂苷 Rb1 (Ginsenoside Rb1)、人参皂苷 Rg1 (Ginsenoside Rg1)、酸枣仁皂苷 A (Jujuboside A)、刺五加皂苷 B (Eleutheroside B) 和强心苷类化合物等都有一定的抗心律失常活性,且不同的化合物作用于不同环节发挥抗心律失常作用。

1.6 其它类

3,4,5-三甲氧基肉桂酸甲酯(methyl-3,4,5-trimethoxycinnamate, M-TMCA)

M-TMCA 是一种肉桂酸类衍生物,也是小鼠口服给药中药材远志之后从血浆中鉴定出的主要活性成分之一^[32]。家兔心室肌细胞实验显示 M-TMCA 浓度依赖性地缩短 APD,在不影响瞬时外向钾电流(I_{to})和稳态钾电流(I_{Kss})的前提下抑制 L-型钙通道。M-TMCA 通过阻滞 L-钙通道、抑制细胞内钙瞬变、而抑制内瞬态电流(I_{ti})进而产生抗心律失常活性^[33]。

多聚不饱和脂肪酸(PUFAs)类二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic acid, DHA)、二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid, EPA)、 α -亚麻酸(α -Linolenic acid, ALA)、 ω -3-polyunsaturated fatty acids (ω -3-PUFA)

EPA 能够剂量、时间、电压依赖性地抑制乳鼠心肌细胞钠通道降低心肌细胞的兴奋性^[34]。DHA 能够浓度依赖性延长大鼠心室肌细胞 APD,并且浓度依赖性地阻滞大鼠心室肌细胞钠通道,使失活后的钠通道恢复时间延长,具有潜在的抗心律失常作用^[35]。ALA 浓度依赖性和电压依赖性抑制人心力衰竭心房肌细胞 I_{Kto} ,延长 APD,减少心律失常的发生^[36]。此外,还有报道 PUFAs 通过稳定缺血区心肌细胞降低其易感性,减少室性心律失常的发生。PUFAs 除了影响心脏离子通道方面,还能够影响心肌细胞间连接蛋白,改善心肌细胞电生理活性^[37]。犬心脏手术模型中显示给药 ω -3-PUFA 组手术前后炎症介质水平、炎症细胞浸润程度、术后心房表达的

诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、血浆心房内皮素-1(ET-1)以及左心耳中ET-1和肌醇三磷酸受体-2型蛋白的表达均低于空白给药组。给药组较对照组在延长术后心房APD、减慢心律和增加心率变异性方面均有改善作用^[38]。

2 展望

天然产物是药物研发的先导化合物重要来源途径之一。以天然产物为基础的抗心律失常药物的研发具有深远意义。目前抗心律失常药物主要通过作用于心肌细胞膜表面离子通道发挥抗心律失常作用。其中单一的离子通道阻滞剂如钠通道阻滞剂在临床应用中由于安全性差而逐渐减少使用。多离子通道阻滞剂如胺碘酮、决奈达隆等因为安全性好越来越受重视。与目前抗心律失常药物相比,部分天然产物具有通过多途径、多靶点调节心肌细胞病理状态发挥抗心律失常作用的优势。此外,有些天然产物除了直接对心肌细胞膜表面离子通道具有调节作用外,还能通过间接的途径如减少心肌细胞病理状态的炎症、氧化应激损伤等发挥抗心律失常作用。但天然产物植物资源含量少难以大量获取、活性相对较弱或成药性方面等存在一定的缺陷,这需要我们克服其弊端进行合理的结构修饰工作,开发出更加安全有效的抗心律失常药物。

参考文献

- Rosamond W, et al. Heart disease and stroke statistics-2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*, 2007, 115: 69-171.
- Woodcock J, et al. Incentives for drug development-the curious case of colchicine. *N Engl J Med*, 2010, 362: 2045-2047.
- Imazio M. Contemporary management of pericardial diseases. *Curr Opin Cardiol*, 2012, 27: 308-317.
- Duarte JH. Interventional cardiology: Colchicine therapy prevents postpericardiotomy syndrome but not postoperative atrial fibrillation. *Nat Rev Cardiol*, 2014, 11: 620-620.
- Yen YL, et al. Colchicine modulates calcium homeostasis and electrical property of HL-1 cells. *J Cell Mol*, 2016, 20: 1182-1190.
- Kerfant BG, et al. Microtubule disruption by colchicine reversibly enhances calcium signaling in intact rat cardiac myocytes. *Circ Res*, 2001, 88(7): 1-7.
- Singhal R, et al. Colchicine suppresses atrial fibrillation in failing heart. *Int J Cardiol*, 2014, 176: 651-660.
- Abtahi FS, et al. Effect of sparteine sulfate on uterine prosta-

- glandin F in the rat. *Prostaglandins*, 1978, 16: 473-482.
- Senges J, et al. Antiarrhythmic action of sparteine on direct and indirect models of cardiac fibrillation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharm*, 1973, 280: 265-274.
- Rüdel R, et al. Mammalian skeletal muscle: Reduced chloride conductance in drug-induced myotonia and induction of myotonia by low-chloride solution. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1972, 274: 337-347.
- Li GR, et al. Acacetin, a natural flavone, selectively inhibits human atrial repolarization potassium currents and prevents atrial fibrillation in dogs. *Circulation*, 2008, 117: 2449-2457.
- Vianna HR, et al. Antiarrhythmogenic and antioxidant effect of the flavonoid dioclein in a model of cardiac ischemia/reperfusion. *Planta Med*, 2006, 72: 300-303.
- Pan ZW, et al. Scutellarin exerts its anti-hypertrophic effects via suppressing the Ca^{2+} -mediated calcineurin and CaMKII signaling pathways. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharm*, 2010, 381: 137-145.
- Driessen HE, et al. New antiarrhythmic targets to control intracellular calcium handling. *Neth Heart J*, 2014, 22: 198-213.
- Xu H, et al. The effects of puerarin on rat ventricular myocytes and the potential mechanism. *Sci Rep*, 2016, 6: 35475.
- Zhang H, et al. Puerarin: a novel antagonist to inward rectifier potassium channel (I_{K1}). *Mol Cell Biochem*. 2011, 52: 117-123.
- Guo XG(郭晓纲), et al. Effect of puerarin on L-type calcium channel in isolated rat ventricular myocytes. *Chin J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2004, 29: 248-251.
- Zhang GQ, et al. Puerarin blocks Na^+ current in rat ventricular myocytes. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24: 1212-1216.
- Abyshv AZ, et al. Structure and biological properties of 2H-1-Benzopyran-2-one (coumarin) derivatives. *Pharm Chem J*, 2006, 40: 607-610.
- Zhang Y, et al. Resveratrol, a natural ingredient of grape skin: Antiarrhythmic efficacy and ionic mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340: 1192-1199.
- Liew R, et al. The red wine polyphenol, resveratrol, exerts acute direct actions on guinea-pig ventricular myocytes. *Eur J Pharm*, 2005, 519(1-2): 1-8.
- Zhang LP, et al. Effect of resveratrol on L-type calcium current in rat ventricular myocytes. *Acta Pharm Sin*, 2006, 27: 179-183.
- Hong CY, et al. Magnolol reduces infarct size and suppresses ventricular arrhythmia in rats subjected to coronary ligation. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1996, 23: 660-664.
- Tsai SK, et al. Myocardial protective effect of honokiol: an active component in *Magnolia officinalis*. *Planta Med*, 1996, 62: 503-506.
- Xiao GL(肖桂兰), et al. *Magnolia officinalis* efficacy and

- pharmacology. *Chinese Medicine Development* (中医药动态), 1995, (3): 23-24.
- 26 Pu H L, *et al.* Bergein is the antiarrhythmic principle of *Fluggea virosa*. *Planta Med*, 2002, 68: 372-374.
- 27 Li HX (李香华), *et al.* Effect of astragaloside IV in cardiovascular disease. *Adv Cardiovascular Dis* (心血管病学进展), 2011, 32: 132-136.
- 28 Zhao J, *et al.* Therapeutic effects of astragaloside IV on myocardial injuries: multi-target identification and network analysis. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44938.
- 29 Gong AD (龚奥娣), *et al.* The influence of astragaloside IV on myocardial ischemia and arrhythmia in rat model myocardial Ca^{2+} concentration and its anti-arrhythmia mechanism. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2013, 9(8): 11-12.
- 30 Lu WJ (陆文娟), *et al.* Effect of astragaloside IV ginsenoside and total saponins of *panax quinquefolium* on mice with arrhythmia caused by toad venom. *J Nangjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2012, 28(1): 61-64.
- 31 Yang HW (杨华伟). Experimental and clinic studies on curative effect of chronic heart failure and prevent digitalis toxicity by huangqi injection. Guang Zhou: Guang Zhou University of Traditional Chinese Medicine (广州中医药大学), PhD. 2005.
- 32 Wang S, *et al.* Pharmacological properties of galenical preparations (XVII): Active compounds in blood and bile of rats after oral administrations of extracts of *Polygalae Radix*. *Trad Med*, 1994, 11: 44-49.
- 33 Zhao Z, *et al.* Potential antiarrhythmic effect of methyl 3,4,5-trimethoxycinnamate, a bioactive substance from roots of *Polygalae radix*: suppression of triggered activities in rabbit myocytes. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36: 238-244.
- 34 Xiao YF, *et al.* Blocking effects polyunsaturated fatty acids on Na^+ channels of neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 11000-11004.
- 35 Lai LH (来利红), *et al.* Effects of docosahexaenoic acid on action potentials and sodium Channel current in rat ventricular myocytes. *Henan Med Res* (河南医学研究), 2010, 19: 396-400.
- 36 Ding GL (丁国良), *et al.* Effects of linolenic acid on transient outward current in atrial myocytes from patients with heart failure. *Chin J Cardiac Pacing Electrophysiol* (中国心脏起搏与心电生理杂志), 2001, 15: 249-251.
- 37 Radosinska J, *et al.* Myocardial NOS activity and connexin-43 expression in untreated and omega-3 fatty acids-treated spontaneously hypertensive and hereditary hypertriglyceridemic rats. *Mol Cell Biochem*, 2011, 347: 163-173.
- 38 Mayyas F, *et al.* Dietary omega-3 fatty acids modulate the substrate for post-operative atrial fibrillation in a canine cardiac surgery model. *Cardiovasc Res*, 2011, 89: 852-861.
- (上接第 297 页)
- 16 Jia JB (贾健斌), Yang ZX (杨正雄), Zhao WH (赵文华), *et al.* The protein intake and health status in cereal-based population. *Acta Nutrimenta Sinica* (营养学报), 2004, 26: 172-175.
- 17 Wei FQ (魏奉群). *Medical Chemistry* (医用化学). Shenyang: Liaoning Publishing House, 1992. 1-3
- 18 He PZ (何培之), Wang SJ (王世驹), Li XE (李续娥). *General Chemistry* (普通化学). Beijing: Science Press, 2001: 372-379
- 19 Xia M (夏敏). The biochemical and physiological action of trace elements. *Studies of Trace Elements and Health* (微量元素与健康研究), 2003, 20 (3): 41-44.
- 20 Wang LT (王丽涛), Zhang RK (张荣宽). Determination of selenium in black peanut. *Studies of Trace Elements and Health* (微量元素与健康研究), 2009, 26 (6): 64-65.
- 21 Shen EF (沈娥芬). Determination of selenium in edible fungi. *Modern Agricultural Science and Technology* (现代农业科技), 2011, (13): 329-330, 333.
- 22 He ZL (何志廉). *Human Nutriology* (人类营养学). Beijing: People's Medical Publishing House, 1988. 242-248.
- 23 Yuan Y (袁媛), Qiu X (邱霞). Advances in acute toxicity test. *J Navy Med* (海军医学杂志), 2013, 34: 360-361.
- 24 Chen YJ (陈奕君), Zhao W (赵薇), Zhai X (翟雪), *et al.* Determination of chlorogenic acid from *Acanthopanax giraldii* tender leaves by UPLC. *West China Med J* (华西药学杂志), 2016, 31: 199-201.
- 25 Shi FH (师风华), Zhao XS (赵祥升), Mo QC (莫乔程), *et al.* Determination of chlorogenic acid and luteoloside in *Lonicerae Flos* of different habitats and germplasms. *J Chin Med Mater* (中药材), 2014, 37: 1145-1148.
- 26 Liu F (刘放), Chen BB (陈冰冰), Wu XP (吴小平). Determination of chlorogenic acid in *Chrysanthemum morifolium* by HPLC. *Northwest pharm J* (西北药学杂志), 2010, 25: 350-352.
- 27 Zhao W (赵薇), Chen YJ (陈奕君), Liu CL (刘春林), *et al.* Determination of polysaccharide and its antioxidant activity in *Acanthopanax giraldii* tender leaves. *J Southwest Univ, Nat Sci* (西南大学学报, 自科版), 2017, 39: 190-196.