

玛咖乙酸乙酯部位成分分离鉴定、靶点预测及分子对接研究

王江瑞¹,朱照静²,谈利红^{2*}¹贵州良济药业有限公司,贵阳 5512062;²重庆医药高等专科学校,重庆 401331

摘要:本文研究了玛咖乙酸乙酯部位的化学成分,并预测其作用靶标及可能药理作用。实验利用硅胶柱、Sephadex LH-20 柱色谱、HPLC 半制备等技术对玛咖乙酸乙酯部位进行分离纯化,并根据理化性质及波谱数据进行结构鉴定,随后运用 PharmMapper 数据库、AutoDock Tools、Pymol 软件及 RCSB 蛋白晶体数据库对分离得到的玛咖酰胺类化合物进行作用靶点预测和分子对接研究。结果分离得到 4 个化合物,分别鉴定为 2-(3-羟苯基)乙腈(1)、棕榈酰胺(2)、玛咖酰胺(3)、香兰素(4),其中化合物 1 和 4 为该植物中首次分得。分子对接结果显示化合物 2 与乙酰谷胱甘肽裂解酶、S-甲基-5-硫代腺苷磷酸化酶、激肽样蛋白 KIF11、3-氧代酰基-合酶 1 结合较好,化合物 3 与 SEC14 样蛋白 2 和激肽样蛋白 KIF11 结合紧密,预测化合物 2 和 3 有潜在的治疗类风湿性关节炎、白内障和缓解肌肉筋挛等药理功效,值得进一步研究。

关键词:玛咖;化学成分;玛咖酰胺;分离鉴定;分子对接

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)Suppl-0047-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.S.008

The isolation, identification, target prediction and molecular docking studies on Maca ethyl acetate extraction

WANG Jiang-rui¹, ZHU Zhao-jing², TAN Li-hong^{2*}

¹Guizhou Liangji Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 5512062, China;

²Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401332, China

Abstract: In this paper, the chemical constituents of Maca ethyl acetate extraction were studied, and its target proteins and possible pharmacological effects were predicted. In the experiment, silica gel column, Sephadex LH-20 column chromatography, HPLC semi-preparation were used to separate and purify the ethyl portion of Maca, and the structure was identified based on physical and chemical properties and spectral data. Then, PharmMapper database, AutoDock Tools, Pymol software and RCSB protein crystal database were used to perform target prediction and docking research on the isolated macamide compounds. Four compounds were isolated and identified as 2-(3-hydroxyphenyl) acetonitrile (1), hexadecanamide (2), *N*-benzylpalmitamide (3), and 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde (4). Compounds 1 and 4 were obtained from this plant for the first time. Results of molecular docking show that hexadecanamide binds well to lactyl glutathione lyase, *S*-methyl-5-thioadenosine phosphorylase, kinesin-like protein KIF11, and 3-oxoacyl-synthase 1, and compound 3 binds tightly to SEC14-like protein 2 and kinesin-like protein KIF11. Hence, compounds 2 and 3 are predicted to have potential pharmacological effects in treating rheumatoid arthritis, cataracts, and alleviating muscle spasms, and are worthy of further study.

Key words: Maca; chemical composition; macamide; isolation and identification; molecular docking

玛咖 (*Lepidium meyenii* Walp.), 又名玛卡 (Maca), 广泛分布于南美洲安第斯山脉和中国云贵高原, 作为一种药食两用的植物, 具有强身健体、提

高精子活力、抗抑郁、抗疲劳、补充体力等功效^[1-3]。化学研究发现, 玛咖中的主要活性成分是酰胺类生物碱^[4]。目前, 从玛咖中分离得到的酰胺类化合物仅有 22 种, 作为玛咖特有的成分^[5], 国内外对其结构和药理活性报道较少。因此, 本实验对玛咖酰胺类生物碱分布的乙酸乙酯部位进行了化学成分的分离鉴定, 并且进行靶点预测及分子对接研究。

收稿日期:2020-03-17 接受日期:2020-04-01

基金项目:重庆市卫生健康委员会“十三五”市级中医药重点学科建设项目(渝中医[2018]43号)

* 通信作者 Tel:86-23-61969195; E-mail:15310292980@163.com

1 实验材料

1.1 样品来源

玛咖采自云南会泽,经成都中医药大学药学院李敏教授鉴定为十字花科 Brassicaceae 独行菜属 *Lepidium* 玛咖 *Lepidium meyenii* Walp. 的干燥根茎。

1.2 仪器与试剂

Bruker 核磁共振仪;质谱仪:MicroTOF-Q II 质谱仪;柱层析及薄层层析用硅胶 GF254(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(瑞典 Amersham Pharmacia 公司);甲醇,乙腈为色谱级,其余试剂均为分析纯(成都科龙化工试剂);GF254 硅胶制备薄层板(烟台江友硅胶开发有限公司)。

1.3 相关软件及数据库信息

PharmMapper 数据库(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>);RCSB 蛋白晶体数据库(<https://www.rcsb.org/>);ChemBioDraw 14.0;ChemBio3D 14.0;AutoDock Tools-1.5.6;Pymol 2.3.3。

2 实验方法

2.1 提取与分离

玛咖粗粉 9 kg,用 60% 乙醇回流提取 5 次,每次 2 h,合并提取液减压回收乙醇,浓缩液加水适量分散成 6.25 L 溶液,置于分液漏斗中,依次用石油醚(60~90 °C)、乙酸乙酯、正丁醇萃取,分得不同萃取部位。取乙酸乙酯部位浸膏(75 g),以硅藻土拌样,进行硅胶柱色谱分离,用二氯甲烷-甲醇(1:0→0:1)梯度洗脱,洗脱液经薄层色谱检测合并,得 18 个洗脱部位(EA~ER)。将 EB、EC 部位合并(EBC 1.95 g),EF、EG 部位合并(EFG 3.55g),将 EBC 部位用石油醚-乙酸乙酯(100:1→0:1)梯度洗脱,得到 11 个洗脱部位(EBC1~11),将 EFG 部位用石油醚-乙酸乙酯(30:1→0:1)梯度洗脱,得到 9 个洗脱部位(EFG1~9),将 EBC7 部位通过凝胶 LH-20 柱和制备液相得到化合物 3 和 4;EFG1 和 EFG6 两个部位分别通过制备液相分离提纯得到化合物 2 和 1。

2.2 化合物结构鉴定

单体化合物分别用重水(D₂O)溶解,利用 MicroTOF-Q II 和 Waters Synapt G2 Tof-HDMS 质谱仪,进行分子量和碎片测定;利用 Bruker 核磁共振仪,测定其¹H NMR、¹³C NMR 和 DEPT 图谱,由此确定化学结构。

2.3 化合物靶点预测

通过 ChemBioDraw 14.0 和 ChemBio3D 14.0 软件得到了上述化合物 2 和 3 的 3D 结构,并保存为

mol2 格式。将化合物 2 和 3 的 mol2 格式文件导入 PharmMapper 数据库进行靶点预测,条件设置为:“Generate Conformers”选择“Yes”;“Max Generated Conformations”选择“300”;数据库选择“All Targets”;“Number of Reserved Matched Targets”选择“300”。靶标预测结果根据“Fit Score”按递减方式排序,得分越高化合物与靶点的匹配程度越高。本研究重点关注了排名前 20 且与疾病相关的靶点蛋白。

2.4 化合物与相关靶点蛋白分子对接

靶点蛋白大分子根据“2.3”中的结果进行选择,并从 RCSB 蛋白晶体数据库中下载靶点蛋白的 3D 晶体结构,保存 pbd 的格式。通过 ChemBioDraw、ChemBio3D 软件得到了上述化合物 2 和 3 的 3D 结构,并保存为 pbd 格式。采用 Pymol 2.3.3 软件删除蛋白分子中的无关小分子后,将蛋白分子导入 AutoDock Tools-1.5.6 软件删除水分子并添加氢原子,保存为 pdbqt 文件。将小分子化合物导入 AutoDock Tools-1.5.6 软件,添加原子电荷、分配原子类型,所有柔性键默认可旋转,保存为 pdbqt 文件。Gridbox 坐标及大小按完全囊括蛋白分子为标准,采用 AutoDock 进行分子对接,“Search parameters”选择“Genetic Algorithm”,对接结果可视化采用 Pymol 2.3.3 软件进行处理。

3 结果

3.1 化合物结构鉴定结果

化合物 1 黄色油状液体;易溶于氯仿;HR-ESI-MS: m/z 134 [M + H]⁺; m/z 156 [M + Na]⁺; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.19 ~ 7.16 (1H, t, J = 7.8 Hz), 6.82 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz), 6.81 (1H, s), 6.79 (1H, d, J = 7.8 Hz), 3.62 (2H, s); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 155.2, 131.0, 130.3, 119.8, 118.2, 115.2, 114.9, 23.0。以上数据与文献^[6]报道的 2-(3-羟苯基)乙腈数据一致。

化合物 2 淡黄色油状液体;易溶于氯仿;¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 2.34 (2H, t, J = 6.6 Hz), 1.63 (2H, m), 1.25 (24 H, m), 0.88 (3H, t, J = 7.2 Hz); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 180.4, 34.3, 32.1, 29.9, 29.9, 29.9, 29.9, 29.8, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 24.9, 22.9, 14.3。以上数据与文献^[7,8]报道的棕榈酰胺数据一致。

化合物 3 白色固体;易溶于氯仿;HR-ESI-MS: m/z 368 [M + Na]⁺; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.31 ~ 7.34 (2H, m), 7.28 ~ 7.26 (3H, m), 5.75

(1H, br s), 4.44 (2H, d, $J = 5.4$ Hz), 2.21 (2H, t, $J = 8.4$ Hz), 1.64 ~ 1.66 (2H, m), 1.25 ~ 1.31 (24H, m), 0.88 (3H, t, $J = 7.8$ Hz); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.1, 138.5, 128.8, 127.9, 127.6, 43.7, 36.9, 32.0, 29.8, 29.8, 29.7, 29.7, 29.6, 29.4, 29.4, 25.9, 22.8, 14.2。以上数据与文献^[9]报道的玛咖酰胺数据一致。

化合物 4 白色固体; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.80 (1H, br s), 7.41 ~ 7.39 (2H, m), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.26 (1H, s), 3.94 (3H, s)。以上数据与文献^[10]报道的香兰素数据一致。

3.2 化合物作用靶点预测结果

根据 PharmMapper 数据库得到了棕榈酰胺

(2)、玛咖酰胺(3)的蛋白靶标,并以“Fit Score”得分递减排序后,将筛选结果中排序前 20 与人体疾病相关的蛋白靶标罗列表 1 及表 2 中。通过对相关的蛋白靶标进行分析,我们可以得到,化合物 2 有价值的靶标包括乳酰谷胱甘肽裂解酶、S-甲基-5-硫代腺苷磷酸化酶、激肽样蛋白 KIF11、3-氧代酰基-合酶 1 等,说明化合物 2 可能与癌症、营养不良、急性白血病等疾病有关。化合物 3,密切相关的蛋白有 SEC14 样蛋白 2 和激肽样蛋白 KIF11,对应哮喘、类风湿性关节炎、阿尔兹海默症、白内障、糖尿病、经前综合征、缓解肌肉筋挛、肿瘤等相关疾病。这些作用靶点是解释化合物 2 和 3 药理功效和预测潜在药理活性的关键,值得深入研究。

表 1 化合物 2 的蛋白作用靶标
Table 1 Protein-target of compound 2

序号 No.	蛋白库编号 PDB ID	靶蛋白 Target name	拟合分数 Fit score	可能参与的疾病 Possible diseases
6	1bh5	乳酰谷胱甘肽裂解酶 Lactoylglutathione lyase	4.121	调节细胞生长
7	1cg6	S-甲基-5-硫代腺苷磷酸化酶 S-methyl-5-thioadenosine phosphorylase	4.096	用于营养补充及治疗营养不良 黑色素瘤;霍奇金淋巴瘤;急性白血病;乳腺肿瘤;
11	2fky	激肽样蛋白 KIF11 Kinesin-like protein KIF11	3.945	头颈部肿瘤;肝细胞癌;卵巢肿瘤; 前列腺肿瘤;实体瘤;非霍奇金淋巴瘤;癌症; 非小细胞肺癌;肾细胞癌;结直肠肿瘤
15	1fj4	3-氧代酰基-合酶 1 3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 1	3.901	可以减轻动物体重

表 2 化合物 3 的蛋白作用靶标
Table 2 Protein-target of compound 3

序号 No.	蛋白库编号 PDB ID	靶蛋白 Targets name	拟合分数 Fit score	可能参与的疾病 Possible disease
7	1o6u	SEC14-样蛋白 2 SEC14-like protein 2	4.121	可用于哮喘、类风湿性关节炎、阿尔兹海默症、白内障、糖尿病、经前综合征、缓解肌肉筋挛等
18	2fky	激肽样蛋白 KIF11 Kinesin-like protein KIF11	4.096	黑色素瘤;霍奇金淋巴瘤;急性白血病;乳腺肿瘤;头颈部肿瘤; 肝细胞癌;卵巢肿瘤;前列腺肿瘤;实体瘤;非霍奇金淋巴瘤; 癌症;非小细胞肺癌;肾细胞癌;结直肠肿瘤

3.3 分子对接结果

根据 2.4 中的对接方法,可得到小分子和蛋白质大分子共 50 种对接模式,根据最低结合能(lowest binding energy, LBE)的对接模式进行可视化分析。结合能越小说明小分子化合物与蛋白质大分子之间的亲和能力越好。对接结果具体数字见表 3 和表 4,三维对接图见图 1 和图 2。表 3 和图 1 为棕榈酰胺与 4 种靶标蛋白药效团的匹配情况,棕榈酰胺与

乳酰谷胱甘肽裂解酶的药效团的结合类型中,有 8 个疏水特征和 2 个氢键受体;与 S-甲基-5-硫代腺苷磷酸化酶的药效团的结合类型中,有 7 个疏水特征和 2 个氢键受体;与激肽样蛋白 KIF11 药效团的结合类型中,有 5 个疏水特征和 2 个氢键受体;与 3-氧代酰基-合酶 1 药效团的结合类型中,有 3 个疏水特征和 1 个氢键受体。表 4 和图 2 显示,玛咖酰胺与 SEC14 样蛋白 2 的关键氨基酸 Leu 160(C)、Leu 320

(C)、Val 336(C)、Val 336(C)、Leu 337(C)、Leu 353 (C)、Asp 357(C)、Tyr 361(C)发生疏水作用,与 Trp 305(C)氨基酸发生 π - π 共轭作用;与激肽样蛋白 KIF11 关键氨基酸 Phe 28(A)、Pro 45(A)、Pro 45(A)、Met 70(A)、Phe 72(A)、Phe 72(A)、Ala 74(A)发生疏水作用,没有氢键受体。

表 3 化合物 2 的靶点蛋白对接结果

Table 3 Target protein docking results for compound 2

序号 No.	蛋白库编号 PDB ID	最低结合能 LBE(kcal/mol)	结合残基(A/B链) Binding residues(A/B chain)	结合类型 Combination type	
6	1bh5	-2.66	Phe 67(A)	疏水键 Hydrophobic interaction	
			Leu 69(A)		
			Phe 71(A)		
			Lys 150(B)		
			Leu 160(B)		
			Phe 162(B)		
			Phe 162(B)		
			Trp 170(B)		
			Lys 156(B)		氢键 Hydrogen bonds
			Met 157(B)		
7	1cg6	-3.59	Pro 175(A)	疏水键 Hydrophobic interaction	
			Phe 177(A)		
			Phe 177(A)		
			Phe 177(A)		
			Ile 194(A)		
			Val 233(A)		
			Val 236(A)		
			His 65(A)		氢键 Hydrogen bonds
Ile 67(A)					
11	2fky	-2.65	Ala 267(A)	疏水键 Hydrophobic interaction	
			Asn 271(A)		
			Asn 289(A)		
			Leu 292(A)		
			Tyr 352(A)		
			Ser 348(A)		氢键 Hydrogen bonds
Arg 355(A)					
15	1fj4	-1.92	Arg 279(A)	疏水键 Hydrophobic interaction	
			Lys 282(A)		
			Met 285(A)		
			Ile 292(A)		氢键 Hydrogen bonds

表 4 化合物 3 的靶点蛋白对接结果

Table 4 Target protein docking results for compound 3

序号 No.	蛋白库编号 PDB ID	最低结合能 LBE(kcal/mol)	结合残基(A/B链) Binding residues(A/B chain)	结合类型 Combination type	
7	1o6u	-2.83	LEU 160(C)	疏水键 Hydrophobic interaction	
			LEU 320(C)		
			VAL 336(C)		
			VAL 336(C)		
			LEU 337(C)		
			LEU 353(C)		
			ASP 357(C)		
			TYR 361(C)		
			TRP 305(C)		π -堆积 π -stacking
			PHE 28(A)		
18	2fky	-3.88	PRO 45(A)	疏水键 Hydrophobic interaction	
			PRO 45(A)		
			MET 70(A)		
			PHE 72(A)		
			PHE 72(A)		
			ALA 74(A)		

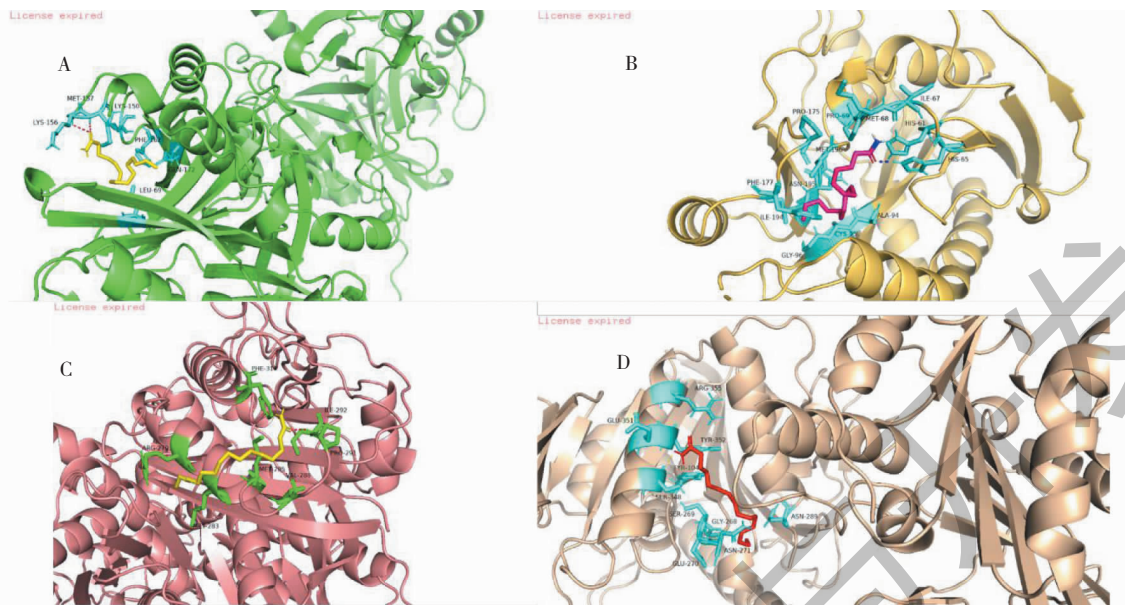


图1 化合物2与靶点蛋白的分子对接

Fig. 1 The molecular docking of compound 2 with target proteins

注: A、B、C、D 分别表示化合物2与1bh5、1cg6、1fj4 和2fky 蛋白的3D 结合模式。Note: A、B、C、D represent the 3D binding patterns of compound 2 with 1bh5, 1cg6, 1fj4 and 2fky proteins, respectively.

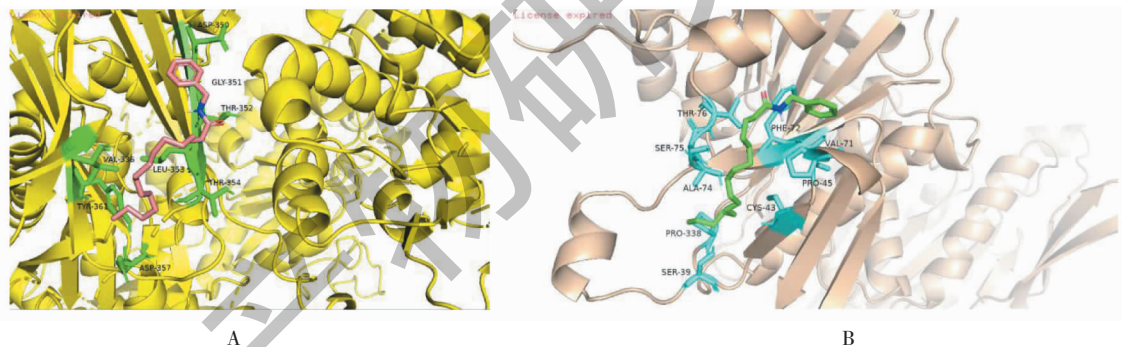


图2 化合物3与靶点蛋白的分子对接

Fig. 2 The molecular docking of compound 3 with target proteins

注: A 和 B 分别表示玛咖酰胺与1o6u 和2fky 蛋白的3D 结合模式。Note: A and B represent the 3D binding patterns of compound 3 with 1o6u and 2fky proteins, respectively.

4 讨论

本研究对玛咖乙酸酯部位进行了分离鉴定,共分离出12个化合物,已鉴定出4个化合物,化合物1和4为该植物中首次得分。其余8个化合物通过其显色反应及质谱已确定其结构类型为酰胺类生物碱,而此类化合物由于其脂肪链的不饱和位置暂时还不能确定,将在后续研究中通过其他谱图进一步确定其结构。另外在本次实验中分离得到了2个酰胺类化合物(化合物2和3),玛咖酰胺类化合物为玛咖的特征性化合物,据相关文献报道具有神经

保护、神经调节,防治骨质疏松的作用^[11-13],是否能改善性功能 and 生育力还存在较大争议^[14],对于其他潜在的药理作用,目前未见报道。所以本文通过计算机辅助药物设计和分子对接技术预测了化合物2和3的潜在药理作用,并且进行了相关靶点的对接研究。

通过分子对接研究发现,棕榈酰胺能够强烈结合乳酰谷胱甘肽裂解酶,该蛋白与小鼠焦虑样行为有关^[15,16]。Zhou等^[17]发现玛咖酰胺类化合物可以提高脑内乙酰胆碱和丁酰胆碱的水平,体内体外均

验证了其神经保护功效。S-甲基-5-硫代腺苷磷酸化酶和 3-氧代酰基-合酶 1 蛋白与能量代谢有关, Zheng 等^[18]发现玛咖酰胺提取物能够缓解体力疲劳,其机制可能在于调节运动中能量代谢过程,加速脂肪酸的氧化供能,减轻运动中对骨骼肌和心肌细胞膜的损伤。另外棕榈酰胺和玛咖酰胺都可以较好的结合 Kinesin-like protein KIF11 蛋白,通过查询 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>),可知该蛋白与多种肿瘤发病及其预后不良密切相关。Wang 等^[19]发现玛咖生物碱可以通过提高小鼠免疫力抑制 CT-26 细胞的成瘤。Wang^[20]发现玛咖生物碱对 Bel-7402 细胞具有抗肝癌活性,其他抗肿瘤活性暂未见报道。SEC14-样蛋白 2 可以与玛咖酰胺密切结合,该蛋白与哮喘、类风湿性关节炎、阿尔兹海默症、白内障、糖尿病、经前综合征、缓解肌肉筋挛、肿瘤等疾病相关,并且其中大部分药理作用已经得到证实^[21-23],但是关于玛咖作用于类风湿性关节炎、白内障和缓解肌肉筋挛等疾病的药理机制还未见报道,值得进一步研究。

上述结果表明棕榈酰胺、玛咖酰胺的关键靶点与分子对接基本一致,预测到的药理作用与文献报道基本吻合,对于玛咖的其他药理功效,需要通过相关实验验证。本研究也为植物化合物的分离鉴定、药效筛选、机制研究提供了新的思路与方法。

参考文献

- León J. The Maca (*Lepidium meyenii*), a little-known food plant of Peru[J]. Econ Bot, 1964, 18:122-127.
- Cha SH, Wang N, Zhao QSH, et al. Effect of Maca Epimedium compound on relieving physical fatigue in mice[J]. Food Sci Technol(食品科技), 2015, 40(2):264-268.
- Nie DSH, Qi F, Li S, et al. Research progress on the effect of Maca on sexual function and related health effects[J]. Chin J Human Sex(中国性科学), 2013, 22(9):10-12.
- Zhao Xuefei. Study on the chemical composition and activity of Maca[D]. Shandong: Jinan University(济南大学), 2018.
- Zhu LB, Zhan ZL, Hao QX, et al. Research progress on chemical constituents and bioactivities of *Lepidium meyenii* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44:4142-4151.
- Schmidt U, Lieberknecht A, Griesser H, et al. Synthesis of peptide alkaloids. 5. New method for synthesis of ansa peptides, amino acids and peptides. 34[J]. J Org Chem, 1982, 47:3261-3264.
- Vandevoorde S, Jonsson KO, Fowler CJ, et al. Modifications of the ethanolamine head in *N*-palmitoylethanolamine; synthesis and evaluation of new agents interfering with the metabolism of anandamide[J]. J Med Chem, 2003, 46:1440-1448.
- Ikedo M, Kusaka T. Liquid chromatography-mass spectrometry of hydroxy and non-hydroxy fatty acids as amide derivatives[J]. J Chromatogr A, 1992, 575:197-205.
- Wu H, Kelley CJ, Pino-Figueroa A, et al. Macamides and their synthetic analogs; evaluation of *in vitro* FAAH inhibition [J]. Bioorg Med Chem, 2013, 21:5188-5197.
- Jiang JA, Du JL, Liao DH, et al. Efficient Co(OAc)₂-catalyzed aerobic oxidation of EWG-substituted 4-cresols to access 4-hydroxybenzaldehydes [J]. Tetrahedron Lett, 2014, 55:1406-1411.
- Zheng BL, He K, Kim CH, et al. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats [J]. Urology, 2000, 55:598-602.
- Bogani P, Simonini F, Iriti M, et al. *Lepidium meyenii* (Maca) does not exert direct androgenic activities [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 104:415-417.
- Liu H. Screening of anti-osteoporotic active substances in Maca (*Lepidium meyenii*) and its mechanism [D]. Hubei: Huazhong University of Science and Technology(华中科技大学), 2016.
- Lewis S, Pino-Figueroa A. Neuroprotective effects of Maca extract and macamides against amyloid β peptide induced neurotoxicity in B-35 neuroblastoma cells [C]. Joint Annual Meeting of the ASPET/BPS at Experimental Biology, 2013.
- Hovatta I, Tennant RS, Helton R, et al. Glyoxalase I and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice [J]. Nature, 2005, 438:662-666.
- Krömer SA, Kessler MS, Milfay D, et al. Identification of glyoxalase-I as a protein marker in a mouse model of extremes in trait anxiety [J]. J Neurosci, 2005, 25:4375-4384.
- Zhou YY. Analysis of Maca's chemical composition and its neuroprotective mechanism [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences(中国中医科学院), 2017.
- Zheng Y. Study on extraction and isolation of Maca amide and relief of physical fatigue activity [D]. Anhui: Hefei University of Technology(合肥工业大学), 2018.
- Wang YJ, Hu Q, Qiao W, et al. Study on ability of Maca alkaloids to inhibit tumor formation in colon cancer by regulating mouse immunity [J]. Mod Food Sci Technol(现代食品科技), 2019, 35(10):38-43.
- Wang AH, Liu YM, Wang LL, et al. Inhibition of Bel-7402 human hepatoma cells and H22 tumor-bearing mice by Maca alkaloids [J]. Mod Food Sci Technol(现代食品科技), 2018, 34(11):52-56.