黄连体外改善胰岛素抵抗活性与 HPLC 指纹图谱的相关性研究*

□唐光曦　黄彦珺　张　艺**　孟宪丽　（成都中医药大学　成都　611137）
罗维早　（重庆市中药研究院　重庆　400065）
李佳川　耿志鹏　（成都中医药大学　成都　611137）

摘　要：目的：探索黄连体外改善胰岛素抵抗活性与 HPLC 指纹图谱的相关性。方法：采用 RP-HPLC 法建立不同产地的黄连样品的指纹图谱，采用主成分分析法进行化学模式识别研究，并采用体外测定药物改善脂肪细胞胰岛素抵抗生物活性，对化学信息和生物效应进行灰色关联分析和多元相关分析，以探索两者的相关性。结果：不同产地黄连药材化学成分含量及生物效应的有一定的差异。HPLC 指纹图谱各共有峰中色谱峰 10、6、3、7 和巴马汀与改善胰岛素抵抗活性相关性较强。结论：基本明确了化学指纹图谱与改善胰岛素抵抗生物效应的相关性，有利于黄连改善胰岛素抵抗活性成分的筛选。

关键词：黄连　HPLC 指纹图谱　改善胰岛素抵抗　主成分分析　灰色关联分析

黄连为毛茛科植物黄连（Coptis chinensis Franch）、三角叶黄连（C. deltoiden C. Y. Cheng et Hsiao）或云南黄连（C. teeta Wall.）的干燥根茎[1]，其历史沿用品种丰富，产地较多。自魏晋时《名医别录》即有黄连“主……止消渴”之说。《唐本草》载：“蜀道者粗大节平，味极浓苦，疗渴为最，江东者节如连珠，疗痢大著。”梁代陶弘景在《本草经集注》中说：“俗方多用黄连治痢及渴。”可知历代本草所载黄连及其复方常用于治疗消渴，有充分实践依据[2]。现代相关研究也发现，黄连可有效改善胰岛素抵抗，用于 2 型糖尿病及其并发症的防治，但是其药效物质基础研究仅限于主要化学成分小檗碱，其他成分活性成分尚不明确。据此，以临床常用的中药黄连（味连）为研究对象，建立黄连 HPLC 化学指纹图谱，并采用体外试验检测药物对脂肪细胞改善胰岛素抵抗的生物活性，进行综合统计分析，初步探索化学指纹图谱与生物效应的相关性，以利于黄连的质量评价[3]。

一、药材样品来源及前处理

在实地调研的基础上，在黄连的主产区（四川、

收稿日期：2009-06-30
修回日期：2009-07-06
*　科技部国家“十一五”科技支撑计划地方专项课题（2007BAI40B05）：体现道地性与中医药特色相关的川贝母、白芷、黄连质量标准系统研究，负责人：张艺；科技部国家“十一五”科技支撑计划地方专项课题（2007BAI40B03）：川产道地药材川贝母、白芷、黄连的系统研究与开发，负责人：范昕建。
**　联系人：张艺，研究员，博士生导师，主要研究方向：中药药效物质基础与质量标准化研究，Tel：028-61800274，E-mail：9006zmy@cdutcm.edu.cn。

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

重庆、湖北的 8 个不同产区)收集具有代表性的黄连(味连)药材,所得 20 批药材均为栽培品。经成都中医药大学民族医药学院张艺研究员鉴定为毛茛科植物黄连(C. chinensis Franch.)的干燥根茎。除去黄连地上部分及泥土,弱日光下晾晒之后,采用烘干法,低温(<60℃)缓慢干燥。除去杂质,筛去碎屑,粉碎成粗粉。

二、仪器与试药

1. 主要仪器与设备

日本岛津 LC-2010A HT 型高效液相色谱仪(含自动进样器、四元泵、柱温箱、在线脱气机、紫外检测器);CLASS-VP 6.12 色谱数据工作站;KQ5200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);岛津 AUM-220D 型电子天平(d=0.01mg);SW-CJ-2F 型双人双面超净工作台(苏州净化设备有限公司);MCO-150A 型二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司);倒置相差显微镜(Olympus CK40-F200);SHH-W21-600 型三用电热恒温水箱(天津市泰斯特仪器有限公司);MLS-3020 型高压蒸汽灭菌仪(日本 SANYO 公司);DGX-9243B-2 型鼓风干燥箱(上海福玛实验设备有限公司);SN-3001 酶标仪(Thermo Formo 公司;PHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂);血球计数板(浙江玉环县求精医用仪器厂)。

2. 主要试剂与试药

盐酸小檗碱(批号:110713-200609);盐酸巴马汀(批号:110732-200506);盐酸药根碱(批号:0733-200005),均购自中国药品生物制品检定所。盐酸黄连碱,盐酸表小檗碱均为自制,经 HPLC 法检测纯度均大于 98%。DMEM 高糖培养基(Gibco 公司产品);优级新生牛血清(中美合资兰州民海生物工程有限公司);PBS(北京中杉金桥生物技术有限公司);胰蛋白酶,胰岛素,3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMX)(Sigma);地塞米松(北京 solarbio 科技有限公司);马来酸罗格列酮(ROS)(葛兰素史克(天津)有限公司);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

3T3-L1 前脂肪细胞株(American Type Culture Collection,ATCC)产品,购自四川大学华西医院卫生部移植工程与移植免疫重点实验室。

三、实验方法

1. 化学指纹图谱的建立[4~5]

(1)不同产地黄连药材水提物的制备。

称取不同产地黄连药材粗粉 10g,加 10 倍量蒸馏水煎煮提取 3 次(1.5h,1.5h,1h),趁热过滤,合并药液,减压浓缩。浓缩液置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,即得。

(2)供试品溶液的制备。

称取黄连水提浸膏粉末样品各约 50mg,精密称定,置 50mL 量瓶中,加入盐酸-甲醇(1:100)40mL,超声处理 20min,放冷,再以盐酸-甲醇(1:100)定容至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45μm)滤过,取续滤液,即得。

(3)色谱条件。

以 Dikma Platisil ODS (250mm×4.6mm,5μm)色谱柱,流动相 A:20mmol·L^{-1} 磷酸二氢钾(含 0.2%磷酸),流动相 B:乙腈-水(3:2)(含 12.5mmol·L^{-1} 十二烷基硫酸钠),进行梯度洗脱,梯度洗脱程序见表 1。检测波长:270nm,流速:0.8mL·min^{-1},柱温:30℃,进样量:10μL。

(4)化学指纹图谱的建立。

取不同产地黄连样品水提物,按供试品溶液制备方法分别制得供试品溶液,在上述色谱条件下,注入液相色谱仪,建立 20 批不同产地的黄连水提物化学指纹图谱。

2. 体外改善胰岛素抵抗活性测定

(1)3T3-L1 前脂肪细胞的接种培养。

将 3T3-L1 前脂肪细胞悬液按 5×10^5·mL^{-1} 的密度接种到 48 孔培养板,于含 10%小牛血清的 DMEM 高糖培养基中,在 37℃、5%CO_2、饱和湿度条件下培养。

(2)3T3-L1 前脂肪细胞的诱导分化。

待细胞达到接触抑制后换为分化培养基,其中含 1μmol·L^{-1} 的地塞米松、0.5mmol·L^{-1}IBMX 及 5mg·L^{-1} 胰岛素的 DMEM 完全培养液分化 48h 后,显微镜下观察。撤去地塞米松、IBMX,用 5mg·L^{-1} 胰岛素再继续作用 48h,直到细胞完全分化,显微镜下观察细胞

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	流速(mL·min^{-1})	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	0.8	70	30
15	0.8	35	65
35	0.8	10	90
40	0.8	34	66
50	0.8	10	90
60	0.8	0	100

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

数目、形态变化和细胞内脂肪含量的变化，直至出成熟脂肪细胞特征，约 8~12d。

（3）建立脂肪细胞胰岛素抵抗性质。

对分化好的脂肪细胞分组进行处理，设置阳性对照组、模型组、模型抵抗组和受试药物组，除模型组加正常培养基外，其他组同时加入 1μmol·L^{-1} 的地塞米松和 10nmol·L^{-1} 的胰岛素，作用 3d。

（4）受试药物作用。

①受试样品溶液的配制　前期预试发现，葡萄糖利用促进作用强度与浓度梯度的相关性并不一致。但各浓度比较可知，6mg 生药·mL^{-1} 剂量下促进葡萄糖利用作用最强，故以该剂量作为不同产地黄连样品促进葡萄糖利用活性横向比较的受试样品溶液浓度。

精密称取各产地黄连水提物，溶于适量 PBS 中配制成 6mg 生药·mL^{-1} 的受试样品溶液。

②受试药物处理　建立脂肪细胞抗性成立后，换用无酚红培养基，加入药物等体积 PBS，ROS（20μmol·L^{-1}）和受试样品作用 3d，改善胰岛素抵抗，取细胞培养上清液 505nm 比色测定葡萄糖的含量，计算葡萄糖利用变化率，评价各药物在体外对脂肪细胞 IR 模型葡萄糖利用的影响。

$$葡萄糖利用变化率(\%)=(1-\frac{实验组平均葡萄糖含量}{IR模型组平均葡萄糖含量})\times 100\%$$

3. 相关性分析

（1）灰色关联分析[6]。

灰色关联分析是通过对灰色系统中有限数据序列的分析，来寻求系统内部诸因素之间的关系，从而找出影响影响目标值的主要因素，进而从总体上把握系统动态运动的规律。关联系数和关联度是描述系统各因素之间相互关系的主要参数，它可从整体上或动态上定量分析事物之间的关联程度或影响程度，为确定事物发展变化的主要因素提供数量依据。对 n 个药材样品，每个样品有 m 项指纹图谱特征量化指标，故构成了 m 个子序列，再以不同样品的药效学指标作为母序列，依据母序列与子序列关联度的大小，可确定诸指纹特征对药效贡献的大小。

由于不同产地黄连水提物化学指纹图谱测定的药物浓度与改善胰岛素抵抗体外实验药物剂量（6mg 生药·mL^{-1}）相当，故基于灰色关联分析的理论和公式，探索葡萄糖利用改变率数据与化学指纹图谱 16 个共有峰之间的相关性。

（2）多元相关分析。

为明确不同产地黄连水提物化学指纹图谱与生物效应的相关性是否存在线性相关，故采用 MATLAB 数学软件及 SPSS 15.0 统计学软件，以葡萄糖利用改变率数据为应变量，化学指纹图谱共有峰数据为自变量，作多元相关分析。

四、实验结果与分析

1. HPLC 指纹图谱分析

（1）相似度分析。

采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件对 20 批不同产地黄连药材指纹图谱进行相似度评价，并生成不同产地的标准对照指纹图谱，见图 1。结果各产地的指纹图谱相似度均在 0.99 以上。所得到的标准对照指纹图谱共有 16 个共有峰，在 60min 内可较好反映其主要成分信息。同时采用对照品对照，确定其中 12~16 号峰分别为药根碱，表小檗碱，黄连碱，巴马汀，小檗碱。

（2）主成分分析[7]（PCA）。

主成分分析能综合信息，用于综合评价。由于分析的对象主要是化学指纹图谱的共有峰面积，故 C

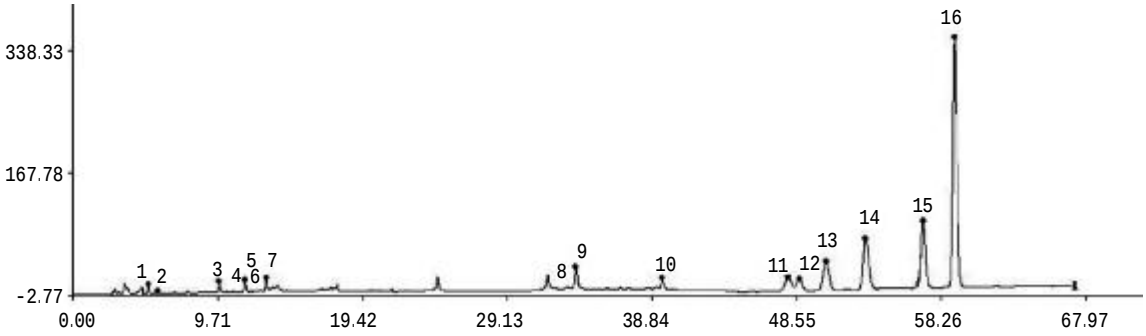

图 1　黄连药材水提物的 RP-HPLC 对照图谱（R）

12.药根碱；13.表小檗碱；14.黄连碱；15.巴马汀；16.小檗碱

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

值就能从化学层面反映不同产地的药材质量的优劣，即某样品 C 值越大，则表明该种药材从化学成分含量上来看质量越好。

对所建立的指纹图谱分析得到 4 个主成分，用这 4 个主成分代替原 16 个共有峰的信息，可以概括原共有峰的 80%以上的信息。故以累积贡献率大于 80%的这四个主成分的贡献率 λi/m 作为对应样品主成分得分 faci 的权重，建立样品综合评判函数：

$$C=(\lambda_1/m)\times fac_1+(\lambda_2/m)\times fac_2+(\lambda_3/m)\times fac_3+(\lambda_4/m)\times fac_4$$

用以上函数计算得出个各样品的综合评判分 C，以 C 值大小对样品进行综合评价。20 个不同产地的黄连样品的 C 值及排序结果见表 2。

可知，来自四川省洪雅县的 HL-019、HL-020，峨眉山市的 HL-017、HL-018 以及湖北省利川市汪营镇 HL-004 的 C 值较大，排在前 5 位，由此判断这些产地的药材从生物碱等化学成分含量上来看质量较好。

以主成分分析结果中前 3 个贡献率较大的主成分作三维主成分投影图，由各产地样品的空间分布密集程度，分析其化学成分相近程度，见图 2。

可见，四川产区的各样品位于样品空间分布的主体部分，小产地样品化学成分的差异未能得到有效区分；离群样品主要是产于重庆石柱的样品 HL-001，分析主要由于其第 2 个主成分与其他样品的差异较大；产于重庆石柱和湖北利川的 HL-002、HL-003 与 HL-005 与其他产地的样品有一定的差异，故聚在一起，但与主体部分有一定的距离。例外者 HL-004 与四川各样品距离较近，故分析其成分近似于四川各样品。

2. 体外改善胰岛素抵抗活性数据分析

采用 SPSS 15.0 统计软件进行统计学处理，所得结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。多组样本均数的比较采用单因素方差分析，实验结果如表 3。与 IR 模型组比较，除 HL-002，HL-003，HL-004，HL-005 外，不同产地黄连药材水提物均能显著促进脂肪细胞葡萄糖利用（P<0.05 或 P<0.01）。

表 2 20 批不同产地黄连样品综合评判分 C 及其排序

排序	样品编号	产地	综合评判分 C
1	HL-019	四川省洪雅县红石沟	0.9288
2	HL-020	四川省洪雅县石板沟	0.9191
3	HL-018	四川省峨眉山市龙池镇幺店村 3 组	0.4833
4	HL-004	湖北省利川市汪营镇	0.4473
5	HL-017	四川省峨眉山市龙池镇白果村 8 组	0.4229
6	HL-016	四川省崇州市鸡冠山乡琉璃村 1 组	0.3153
7	HL-008	四川省彭州市白鹿镇白鹿场甘树子山	0.2177
8	HL-011	四川省彭州市小渔洞镇中坝村 1 组	0.2133
9	HL-014	四川省邛崃市南宝乡常乐村	0.1901
10	HL-007	四川省大邑县斜源镇仰天窝林场	0.1314
11	HL-009	四川省彭州市白鹿镇金桥社区 8 组 14 号	-0.0591
12	HL-001	重庆市石柱县黄水镇黄水公司徐家院子	-0.1059
13	HL-013	四川省彭州市白鹿镇红华村 2 组	-0.1440
14	HL-010	四川省彭州市小渔洞镇中坝村 5 组 1 号	-0.2523
15	HL-006	四川省大邑县斜源镇九龙村	-0.4588
16	HL-005	湖北省利川市建南镇大刀角村	-0.4643
17	HL-012	四川省彭州市白鹿镇回水村 10 组	-0.5932
18	HL-015	四川省崇州市鸡冠山乡烂泥坝村	-0.6247
19	HL-003	重庆市石柱县黄水镇烟地湾队	-0.6947
20	HL-002	重庆市石柱县黄水镇中坪大队八号棚	-0.8721

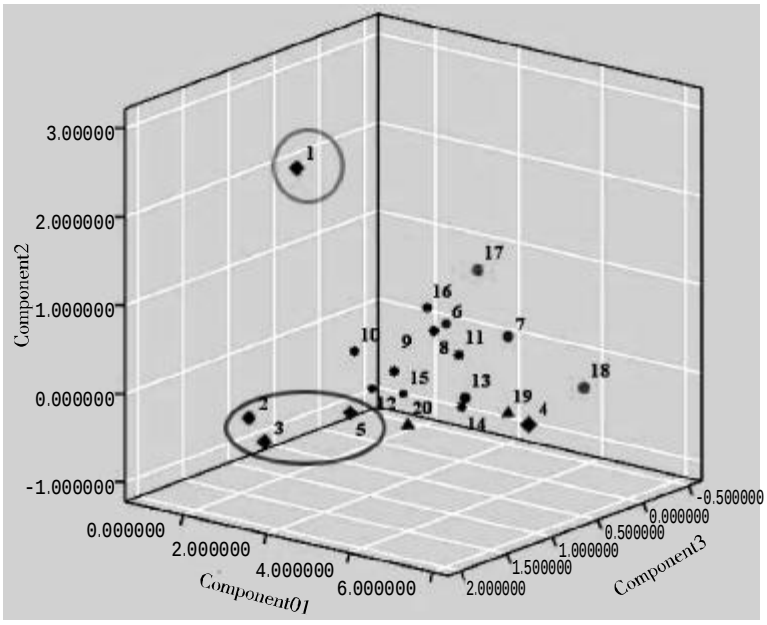

图 2 20 批黄连药材水提样品化学信息的三维主成分投影图

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

3. 化学信息与生物效应的相关性分析

(1)灰色关联分析。

灰色关联分析的灰色关联度和关联序见表 5。通过分析结果可知，指纹图谱各共有峰与改善胰岛素抵抗活性相关性较强的前 5 位排序为：

色谱峰 10>色谱峰 6>色谱峰 15(巴马汀)>色谱峰 3>色谱峰 7。

(2)多元相关分析。

①单因素相关分析，见表 5。

②多重相关分析，见表 6。

多元相关分析结果见表 5(仅列出相关系数具有统计学意义的色谱峰)，表可以看出，色谱峰 5 和色谱峰 12(药根碱)与改善胰岛素抵抗生物效应呈显著的正相关，色谱峰 9 与生物效应呈显著的负相关。但其他的成分与生物效应的相关性无统计学意义(P>0.05)，可见其余成分与生物效应的关联性并非简单的直线相关关系。

结合色谱峰的归属以及文献资料可知，色谱峰 1~9 主要是非生物碱成分，色谱峰 10~16 主要是生物碱成分。从多重相关系数(代表多个自变量和因变量的直线相关密切程度)表 6 可知，生物碱、非生物碱成分与改善胰岛素抵抗生物效应之间均有一定的直线相关性，而非生物碱成分的相关密切程度略大于生物碱成分。

表 3　不同产地黄连水提样品对脂肪细胞胰岛素抵抗模型葡萄糖利用的影响($\bar{x}\pm s$,n=4)

样品编号	培养液葡萄糖含量(mmol·L^{-1})	葡萄糖利用改变率(%)	样品编号	培养液葡萄糖含量(mmol·L^{-1})	葡萄糖利用改变率(%)
IR 模型对照组	10.279±0.406	-	ROS	6.116±0.507**	40.50
HL-001	7.490±0.421**	27.13	HL-011	8.169±0.517*	20.53
HL-002	8.502±0.490	17.29	HL-012	6.470±0.792**	37.06
HL-003	9.203±0.595	10.47	HL-013	8.700±0.398*	15.36
HL-004	8.608±0.690	16.26	HL-014	8.729±0.341*	15.08
HL-005	9.012±0.576	12.33	HL-015	8.410±0.544**	18.18
HL-006	7.575±0.268**	26.31	HL-016	8.141±0.552**	20.8
HL-007	8.226±0.523*	19.97	HL-017	7.766±0.261**	24.45
HL-008	6.633±1.169**	35.47	HL-018	7.738±0.572**	24.72
HL-009	8.297±0.749*	19.28	HL-019	6.810±0.566**	33.75
HL-010	7.490±1.084**	27.13	HL-020	6.704±0.763**	34.78

注：与 IR 模型对照组比较，*P<0.05，**P<0.01。

表 4　不同产地黄连水提物化学指纹图谱与生物效应的灰色关联度和关联序

峰号	关联度	关联序	峰号	关联度	关联序
P1	0.5353	15	P9	0.5959	11
P2	0.6295	8	P10	0.7612	1
P3	0.6925	4	P11	0.5960	10
P4	0.6364	6	P12	0.6170	9
P5	0.5723	13	P13	0.6311	7
P6	0.7315	2	P14	0.5945	12
P7	0.6898	5	P15	0.7002	3
P8	0.5535	14	P16	0.5032	16

表 5　单因素多元相关分析结果

色谱峰号	P5	P9	P12
简单相关系数	0.453*	-0.088	0.446*
偏相关系数	0.909**	-0.894*	0.369

注：*P<0.05，**P<0.01。

表 6　多重相关分析结果

色谱峰号	P1~ P9	P10~ P16
多重相关系数	0.862	0.696

四、小结与讨论

本文建立的 HPLC 指纹图谱并不仅是着眼于对生物碱成分的分离，在主要生物碱成分基本完全分离的基础上，保留时间靠前的大极性非生物碱物质也得到了有效分离，为分析与生物效应的相关性提供了更为丰富的化学成分信息。

通过灰色关联分析及多元相关分析结果可知，指纹图谱各共有峰中色谱峰 10、6、3、7 和巴马汀与改善胰岛素抵抗活性相关性较强。另外，色谱峰 5 和色谱峰 12(药根碱)与改善胰岛素抵抗生物效应呈显著的正相关，色谱峰 9 与生物效应呈显著的负相关。

黄连 5 个主要生物碱与改善胰岛素抵抗生物效应相关性排序为：巴马汀>表小檗碱>药根碱>黄连碱>小檗碱。可见，在黄连水提物的各共有成分中小檗碱与黄连的改善胰岛素抵抗生物效应相关性最低，故仅测定小檗碱的含量并不能完全反映黄连的药效，难以正确评价其质量。

在灰色关联度位于前 10 位的各成分可以看出，非生物碱成分占较大比例。从多重线性相关系数也可看出，生物碱和非生物碱成分与改善胰岛素抵抗生物效应之间均有一定的直线相关性，非生物碱成

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

分的相关密切程度略大于生物碱成分。可见,仅以化学方法测定黄连生物碱成分的质控方法，难以全面控制黄连药材的质量。而由各峰的灰色关联度相差不大(0.5032<y_{0i}<0.7612)可知,黄连改善胰岛素抵抗作用是多成分综合作用的结果。在非生物碱活性成分尚未明确的情况下，结合生物效应测定来评价药材质量显得十分必要和迫切。

从化学成分含量以及改善胰岛素抵抗作用综合评价,发现四川洪雅县、峨眉山市等产地的黄连样品质量显示出一定的优势,与李时珍《本草纲目》谓:黄连"今虽吴、蜀皆有,惟以雅州、眉州者为良。"《唐本草》:"蜀道者粗大,味极苦,疗渴为最,江东者节如连珠,疗痢大著。"的记载恰好有相合之处。但尚需要进一步增加样品量，综合评价才能确定其产地的道地性。

从研究结果可看出，不同产地黄连药材化学成分比例及生物效应均有一定的差异。表明药材道地性的外部影响因素-产地的生态因子、内部影响因素-化学成分表征和体现中医药特色的生物效应,这三者之间有一定的相关性,相互影响。只有将道地药材的整体性应用到中药品质评价中，结合对生态因子的进一步调查,才能对"道地"进行充分阐释。

本文研究对象主要是商品药材主流品种-味连,为以后对于雅连、云连等其他品种黄连展开进一步的研究提供思路和方法。

参考文献

1 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典.北京:化学工业出版社,2005:213~214.

2 刘继林.黄连治疗消渴病及其功能的本草学研究.四川中医,1999,17(11):17~19.

3 张艺,贾敏如,周厚成.试论药材生产质量管理规范与中药质量.世界科学技术-中药现代化,1999,1(4):39~41.

4 古锐,张艺,王平,等.HPLC 指纹图谱在中药及民族药品质评价中的应用.成都中医药大学学报,2006,29(2):40~45.

5 Wei-Jun Kong, Yan-Ling Zhao, Xiao-He Xiao, et al. Spectrum effect relationships between ultra performance liquid chromatography fingerprints and anti-bacterial activities of Rhizoma coptidis.Analytica Chimica Acta, 2009,634:279~285.

6 周霞,王鹏.灰色关联分析在医学中的应用.辽宁中医杂志,2006,33(8):938~939.

7 刘明芝,周仁郁主编.中医药统计学与软件应用.北京:中国中医药出版社,2006.

Correlation between HPLC Fingerprints and Activity of Rhizoma coptidis in Ameliorating Insulin Resistance in Vitro

Tang Guangxi[1], Huang Yanjun[1], Zhang Yi[1], Meng Xianli[1], Luo Weizao [2], Li Jiachuan[1], Geng Zhipeng[1]

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;
2. Chongqing Institute of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065, China)

Abstract: The fingerprints of Rhizoma coptidis from various producing areas were established by High performance liquid chromatography (HPLC), and the activity of R. coptidis in ameliorating insulin resistance in vitro was studied by colorimetry. The HPLC fingerprints were evaluated using the similarity analysis (SA) and the principal component analysis (PCA). The correlation between HPLC fingerprints and activity of of R. coptidis in ameliorating insulin resistance in vitro was investigated using the grey correlation analysis (GCA) and the multiple correlation analysis (MCA). Peak 10, peak 6, peak 3, peak 7 and palmatine in the HPLC fingerprints were found to be the main active constituents to ameliorate insulin resistance. Some ecological factors of the producing areas, such as the climate, the latitude and longitude, artificial factors might also influence the function of R. coptidis. This work primarily revealed the correlation between HPLC and amelioration of insulin resistance by R. coptidis, which may help to screen the active ingredients of R. coptidis to ameliorate insulin resistance.

Keywords: Rhizoma coptidis; HPLC fingerprints; Ameliorating insulin resistance; Principal component analysis; Grey correlation analysis

(责任编辑:王 瑀,责任译审:张立崴)

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn