

· 基础研究 ·

金雀花碱对大鼠心室肌细胞钠通道的影响

沙毛毛¹ 匡 怡¹ 任静娜¹ 马宏昕¹ 饶本龙¹ 章海琴¹ 许 蒙¹ 许正新^{1,2}

摘要 目的 研究金雀花碱(Cy)对大鼠心室肌细胞钠离子通道电流(I_{Na})的影响,探索 Cy 在离子通道水平抗心律失常的作用机制。**方法** 使用 Langendorff 恒温恒压灌流装置,单酶解法分离 SD 大鼠心室肌细胞,将心室肌细胞分为对照组、100 $\mu\text{mol/L}$ Cy 组和 300 $\mu\text{mol/L}$ Cy 组。应用全细胞膜片钳记录技术,观察 Cy 对大鼠心室肌细胞 I_{Na} 的影响。**结果** Cy ($\geq 100 \mu\text{mol/L}$) 能显著抑制 I_{Na} ,其作用呈浓度依赖性。与对照组比较,100 $\mu\text{mol/L}$ 和 300 $\mu\text{mol/L}$ Cy 可使 I_{Na} -V 曲线明显上移, I_{Na} 峰值由 $(-32.81 \pm 3.93) \text{ pA/pF}$ 依次降为 $(-21.77 \pm 4.07) \text{ pA/pF}$ 和 $(-14.8 \pm 2.99) \text{ pA/pF}$ ($P < 0.01$),但不改变其激活电位、峰电位和反转电位;使稳态失活曲线显著左移,半数失活电压 $V_{1/2}$ 降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);失活后恢复曲线显著右移,恢复时间常数 γ 延长($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** Cy 对大鼠心室肌细胞的 I_{Na} 呈浓度依赖性的抑制作用,并可改变其失活及失活后恢复动力学特征,可能是其抗心律失常的作用机制。

关键词 金雀花碱; 钠通道; 心室肌; 膜片钳

Effects of Cytisine on Sodium Channel Currents of Rats' Ventricular Myocardial cells SHA Mao-mao¹, KUANG Yi¹, REN Jing-na¹, MA Hong-xin¹, RAO Ben-long¹, ZHANG Hai-qin¹, XU Meng¹, and XU Zheng-xin^{1,2} 1 Department of Pharmacy, Medical College of Yangzhou University, Jiangsu(225001); 2 Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research, Jiangsu(225001)

ABSTRACT Objective To study the effects of cytisine on the sodium ion channel currents (I_{Na}) of ventricular myocardial cells in rats, and to explore its anti-arrhythmic mechanisms at the ion channel level. **Methods** Ventricular myocardial cells were enzymatically isolated from SD rats by Langendorff with constant pressure and temperature. The ventricular myocardial cells were divided into control group, 100 $\mu\text{mol/L}$ cytisine group and 300 $\mu\text{mol/L}$ cytisine group. The whole-cell patch clamp techniques were used to observe the effects of Cy on sodium channel current of rat ventricular myocytes. **Results** Cytisine ($\geq 100 \mu\text{mol/L}$) inhibited sodium current significantly in a concentration-dependent manner. Compared with the control group, the $I-V$ curve of the sodium current was significantly up-shifted by 100 $\mu\text{mol/L}$ and 300 $\mu\text{mol/L}$ Cy, and the peak sodium current $(-32.81 \pm 3.93) \text{ pA/pF}$ was reduced to $(-21.77 \pm 4.07) \text{ pA/pF}$ and $(-14.8 \pm 2.99) \text{ pA/pF}$ ($P < 0.01$), but the activation potential, peak potential and reverse potential did not change. Cy could significantly shift the steady-state inactivation curve to the left and reduce the half-inactivation voltage $V_{1/2}$ ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Cy could significantly shift the recovery curve to the right and prolong the recovery time constant γ value ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** cytisine could significantly inhibit sodium current in a concentration-dependent manner, and could change the kinetics of inactivation and recovery after inactivation, which was probably related to its antiarrhythmic mechanisms.

KEYWORDS cytisine; sodium channel; ventricular myocardial cell; patch clamp

苦豆子(*Sophora alopecuroides*)是多年生半灌木植物,属豆科槐属,其全草、根及种子均可入药,是一

种常见的中药。苦豆子性苦寒,具有安五脏,定志益精,清热解毒,祛风燥湿,消炎止痢,止痛等作用^[1]。金

基金项目:扬州大学大学生学术科技创新基金项目(No. x20170868)

作者单位:1. 扬州大学医学院药系(江苏 225001); 2. 江苏省非编码 RNA 基础与临床转化重点实验室(江苏 225001)

通讯作者:许正新, Tel: 0514-87978877, E-mail: xuzhengxin405@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190531.052

雀花碱 (Cytisine, Cy) 为其主要生物活性成分之一^[2], 别名野靛碱、金雀花酮碱、乌乐碱, 是一种喹诺里西啶类 (quinolizidine) 生物碱化合物, 是临床常见的急救药、止咳药和戒烟药^[3]。近年来的研究表明, 该药尚具有抗心律失常^[4]、抗炎^[5]、抗癌^[6]等多种药理作用。研究报道 Cy 及 Cy 类生物碱能够在由乌头碱诱导的心律失常模型中显示出很高的抗心律失常活性^[4], 但有关其抗心律失常的分子机制尚不清楚。由于心律失常的产生必然伴有心肌细胞膜上离子通道功能的改变^[7]。因此, 本实验设计尝试以急性分离的大鼠心肌细胞为样本, 利用全细胞膜片钳技术, 系统探究 Cy 对大鼠心室肌细胞除极相的主要通道电流——钠离子通道电流 (I_{Na}) 及其动力学特征的影响, 为该药的进一步开发、利用及更好地指导临床用药提供理论依据。

材料与方法

1 动物 15 只成年 SD 大鼠, 约 2.5 月龄, 体重 0.2~0.3 kg, 雌雄不限, 从扬州大学比较医学中心购买, 清洁级大鼠, 动物合格证号: [SYXK (苏) 2017-0044], 常规饲养。本实验通过扬州大学实验动物伦理委员会的伦理审查 (No. 20190415006)。

2 药品 Cy (含量 20 mg, 纯度 98.3%), 采用 HPLC 法提取于披针叶黄芩, 购自成都普思生物科技有限公司, 批号: A0170047。

3 主要试剂 河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX, 批号: AF02) 购自 AFFIX 公司, N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸 (HEPES, 批号: 1001621577)、牛磺酸 (Taurine, 批号: 101282014)、氯化四乙胺 (TEA-Cl, 批号: 101394223) 购自美国 Sigma 公司, 谷氨酸 (L-glutamic acid, 批号: 405A096) 购自北京 Solarbio 公司, 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA, 批号: 8398F) 购于美国 ICN 公司, II 型胶原酶 (Collagenase II, 批号: 44N15308B) 购于 Worthington 公司, 乙二醇-双四乙酸 (EGTA, 批号: 101257840) 购于美国 Fluka 公司, NaCl、KCl、CaCl₂、KOH、NaOH、CsOH、MgCl₂、NaH₂PO₄、葡萄糖 (Glucose) 等皆为国产分析纯。

实验溶液氏液 (mmol/L): NaCl 135, MgCl₂ 1, KCl 5.4, HEPES 5, CaCl₂ 1.8, Glucose 10, NaH₂PO₄ 0.33, pH 值用 NaOH 调至 7.35。无钙台氏液: 配置时去除上述配方中 CaCl₂。酶溶液: 无钙台氏液中加入 1 g/L 的 BSA, 30 μmol/L 的 CaCl₂ 和 0.4 g/L 胶原酶 II。KB 液 (mmol/L): L-glutamic

acid 70, KCl 25, taurine 10, NaH₂PO₄ 10, HEPES 5, Glucose 11, EGTA 0.5, 用 KOH 调 pH 至 7.35。细胞外液 (mmol/L): NaCl 5, CsCl 140, MgCl₂ 1, CaCl₂ 1, CoCl₂ 1, Glucose 10, HEPES 10, 用 CsOH 调 pH 至 7.30。电极内液 (mmol/L): CsCl 133, NaCl 5, TEA-Cl 20, EGTA 10, HEPES 10, MgATP 5, 用 CsOH 调 pH 至 7.2。Cy 溶液以生理盐水为溶剂配置, 实验所选浓度均在安全剂量范围^[8]。

4 主要仪器 EPC-10 USB/Patchmaster 膜片钳放大器购自德国 HEKA 公司, IX71 倒置科研级显微镜购自日本 Olympus 公司, MP-225 显微操作器系统购自美国 Sutter 公司, P-97 微电极拉制仪购自美国 Sutter 公司。

5 大鼠心室肌细胞分离 参照参考文献[9], SD 大鼠心室肌细胞急性分离过程如下: 大鼠固定后腹腔注射肝素 2 000 IU/kg, 10 min 后腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 (8 mL/kg), 麻醉成功后快速开胸、取心脏置于 100% 氧饱和的 4℃ 台式液中, 简单整理、清洗并用丝线结扎固定于 Langendorff 装置。其灌流过程为: 先以台式液经主动脉逆行灌流约 1 min, 使心脏复跳泵出残余血液, 然后用无钙台氏液灌流至心脏静止, 最后用 100% 氧饱和的酶溶液 50 mL 循环灌流 23 min 左右, 直到心脏变软、滴速变快, 流出液浑浊并有黏稠感时停止消化。消化结束后取下心室组织, 剪碎后于 100 目滤网过滤得到单个心室肌细胞, 用 KB 液冲洗多次后置于 KB 液中, 充氧半小时并静置 2 h 后可用于膜片钳实验。

6 全细胞膜片钳记录 选用状态良好、边缘平整、横纹清晰、无自主颤动和收缩的细胞作为实验对象, 将细胞均匀铺于培养皿表面静置, 待细胞贴壁、状态稳定后换用细胞外液进行灌流以除去残存的 KB 液, 然后使用膜片钳放大器记录单细胞 I_{Na} , 其中钠通道单刺激、激活、失活、复活电流的刺激方案参考文献[9]。玻璃微电极的控制采用 P-97 型拉制仪, 电极入液电阻保持在 3 MΩ 左右, 串联电阻补偿 30%。

7 实验分组 本实验分为 3 个组, 分别为对照组、100 μmol/L Cy 组, 300 μmol/L Cy 组。并采取累积加药法给药, 分别观察 10、30、100、200、300、400、500 μmol/L Cy 对 I_{Na} 的影响。每个细胞采用细胞前后自身对照, 记录 Cy 给药前后 I_{Na} 的变化。为降低细胞个体大小差异引起的实验误差, 电流值用电流密度表示, 单位 pA/pF。

8 统计学方法 采用 PatchMaster 软件 (HEKA 公司, 德国) 对单个全细胞记录进行数据与图形转换, Origin 7.0 (Origin Lab 公司, 美国) 和 GraphPad

Prism 6 (GraphPad Software 公司, 美国) 对数据进行拟合分析, 其中 $I \sim V$ 曲线、失活曲线用 Boltzmann 方程拟合, 复活曲线用指数方程 $I/I_{\max} = 1 - \exp(-\gamma/t)$ 拟合。采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 涉及数据均表示为 $\bar{x} \pm s$, 药物作用前后比较采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 Cy 对大鼠心室肌细胞 I_{Na} 的影响 (图 1) 记录电流在给予特异性钠通道阻滞剂 (10 $\mu\text{mol/L}$ TTX) 后几乎被完全抑制, 证实该电流为 I_{Na} 。100 $\mu\text{mol/L}$ 和 300 $\mu\text{mol/L}$ Cy 作用 10 min 后, I_{Na} 峰值由 (-32.81 ± 3.93) pA/pF 分别降为 (-21.77 ± 4.07) pA/pF 和 (-14.8 ± 2.99) pA/pF ($P < 0.01$), 抑制率约为 32.5% 和 53.8%。当使用正常细胞外液灌流 5 min 后, I_{Na} 可部分恢复。

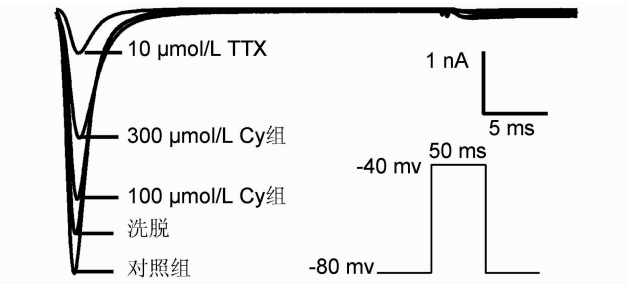
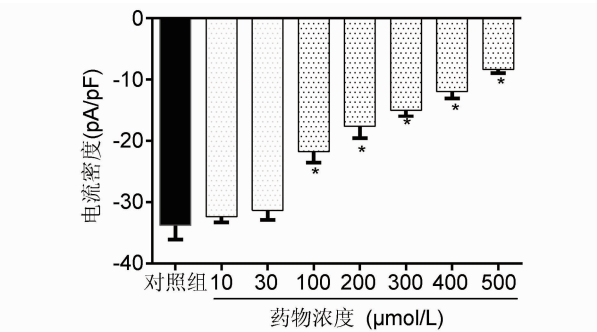


图 1 100 μmol 和 300 $\mu\text{mol/L}$ Cy 及洗脱后对 I_{Na} 的单刺激电流图 ($n=6$)

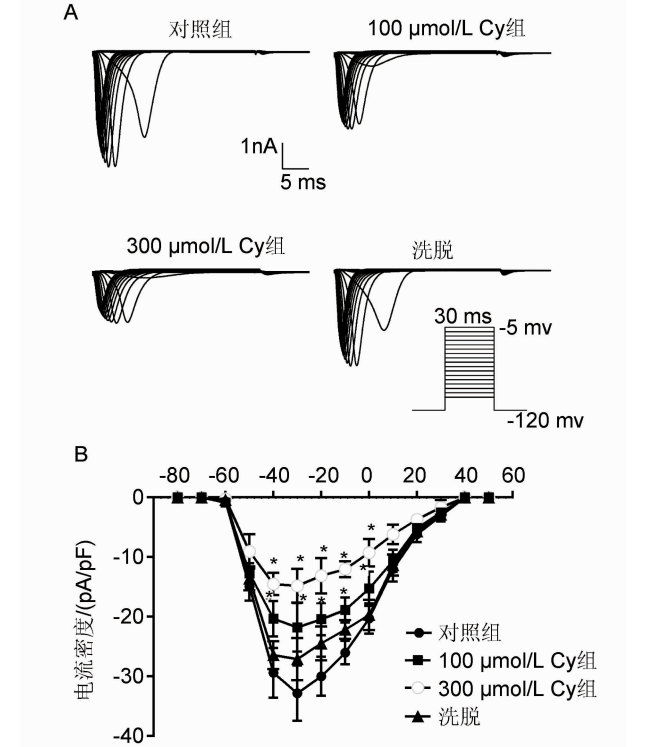
2 Cy 对大鼠心室肌细胞 I_{Na} 的浓度依赖性 (图 2) 与对照组比较, Cy 浓度为 10、30 $\mu\text{mol/L}$ 时差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 当浓度增加到 100 $\mu\text{mol/L}$ 之后, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 继续累积加药, Cy 对 I_{Na} 的阻滞效果也随之增强, 表现出显著的浓度依赖性抑制现象。



注: 与对照组比较, $*P < 0.01$; $n=6$

图 2 不同浓度 Cy 对 I_{Na} 的影响

3 Cy 对大鼠心室肌细胞 I_{Na} $I \sim V$ 曲线的影响 (图 3) 与对照组比较, Cy ($\geq 100 \mu\text{mol/L}$) 可使 I_{Na} 的 $I \sim V$ 曲线显著上移, 但 $I \sim V$ 曲线轨迹的变化趋势无改变, 包括其激活电位、峰电位和反转电位均未受影响。



注: A 为 Cy 作用于 I_{Na} 的激活电流图; B 为 Cy 对 I_{Na} $I \sim V$ 曲线的统计图; 与对照组比较, $*P < 0.01$; $n=6$

图 3 Cy 对 I_{Na} 激活电流的影响

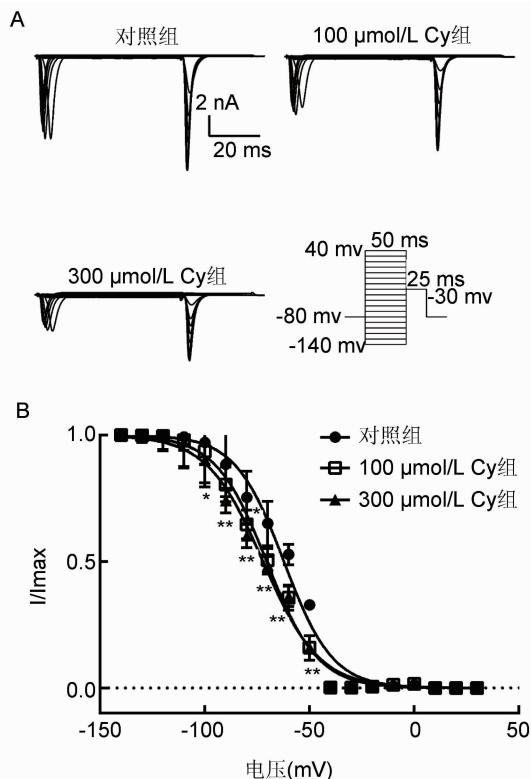
4 Cy 对 I_{Na} 失活动力学的影响 (图 4, 表 1) 与对照组比较, Cy 可使稳态失活曲线显著左移, 100、300 $\mu\text{mol/L}$ Cy 使半数失活电压 $V_{1/2}$ 向曲线向超极化方向偏移, $V_{1/2}$ 明显降低, 斜率 k 增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 加快 I_{Na} 的失活。

表 1 Cy 对 I_{Na} 动力学参数的影响

组别	n	失活电压依赖性		$\gamma(\text{ms})$
		$V_{1/2}(\text{mV})$	k	
对照	6	-62.22 ± 0.66	11.63 ± 0.11	21.79 ± 0.72
100 $\mu\text{mol/L}$ Cy	6	$-70.46 \pm 0.56^*$	12.20 ± 0.14	$23.56 \pm 1.23^*$
300 $\mu\text{mol/L}$ Cy	6	$-72.18 \pm 0.83^{**}$	$13.43 \pm 0.18^*$	$28.12 \pm 1.97^{**}$

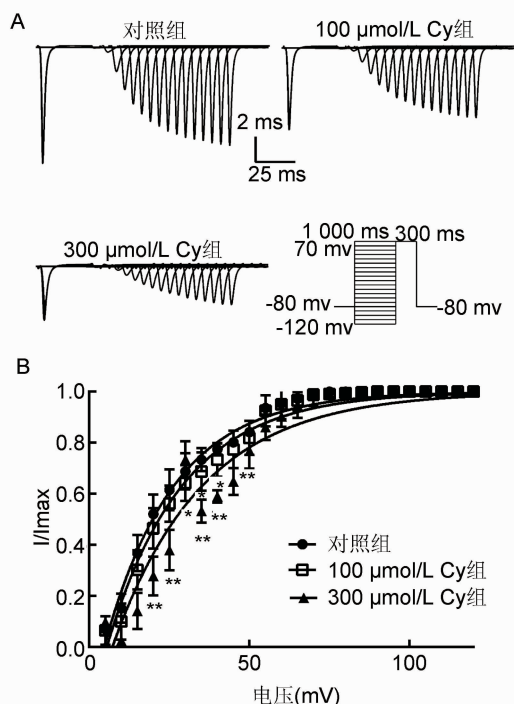
注: $V_{1/2}$ 为 50% 通道失活电压; k 为斜率; γ 为失活时间常数; n 为实验观察的细胞个数; 与对照组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$

5 Cy 对 I_{Na} 失活后恢复动力学的影响 (图 5, 表 1) 与对照组比较, Cy 使 I_{Na} 的失活后恢复曲线显著右移, 恢复时间常数 (γ) 值明显增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 即 Cy 能使钠通道失活后恢复时间显著延长。



注:A 为 Cy 作用于 I_{Na} 失活电流图;B 为曲线的统计图;与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n = 6$

图 4 Cy 对 I_{Na} 失活态的影响



注:A 为 Cy 作用于 I_{Na} 的失活后恢复电流图;B 为失活后恢复曲线的统计图;与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n = 6$

图 5 Cy 对 I_{Na} 失活后恢复态的影响

讨 论

心律失常是临床常见于中老年患者的心血管疾病,有调查显示近年来年轻患者的比例正在逐年提升,其中室性心动过速和室颤等恶性心律失常导致的心脏骤停可能是青少年猝死的主要原因。电生理膜片钳技术的飞速发展,使人们能够从分子水平解释离子通道的结构和功能与疾病的关系,并且发现心肌细胞上钠、钾、钙离子通道与心血管系统疾病密切相关^[7]。其中电压门控型钠离子通道主要分布于可兴奋细胞,在动作电位产生和传导中十分重要,于心肌、神经细胞的兴奋传导中发挥重要作用。心脏中的钠通道 Nav1.5 负责心肌细胞 0 相的快速去极化,其复合蛋白及相关调控分子一旦发生异常,即可导致多种心律失常综合征,如 LQT3 综合征^[10]、Brugada 综合征^[11]、进行性心脏传导障碍^[12]等。

本实验观察了不同浓度下 Cy 对 SD 大鼠心肌细胞 I_{Na} 峰值、 $I \sim V$ 曲线、失活和失活后恢复动力学特征的影响。结果表明,浓度于 0 ~ 100 μmol/L 时, Cy 对 I_{Na} 无明显作用。而在 100 ~ 500 μmol/L 范围内, Cy 能够浓度依赖性地抑制 I_{Na} , 显著上移了 $I \sim V$ 曲线,但曲线轨迹的变化趋势未改变,包括其激活电位、峰电位和反转电位均未受影响,指示 Cy 在不同的膜电位水平下对 I_{Na} 均有抑制作用。对于失活曲线, Cy 可使其显著左移,向超极化方向偏移,加快失活速度;而对于恢复曲线,可使其显著右移,使 I_{Na} 从失活态向激活态转变的时间延长。结合实验结果,作者发现 Cy 对钠通道的激活状态、失活状态,恢复状态均有作用,只是亲和力不同,共同结果就是增强了 Cy 对钠通道的抑制作用。

据报道, Tsypysheva IP 等^[4]发现 Cy 及 Cy 类生物碱能够在由乌头碱诱导的心律失常模型中显示出很高的抗心律失常活性,并通过取代某个官能团来筛选出新的具有抗心律失常活性的 Cy 衍生物^[13]。乌头碱诱导的心律失常模型是通过促进 Na 内流和去极化过程,使复极不均匀,形成折返而发生心律失常^[14,15]。推断出 Cy 的抗心律作用可能是通过抑制 Na 通道阻断折返机制。又因为引起了细胞内 Na^+ 浓度的升高,激活了 Na^+/Ca^{2+} 交换电流,造成钙超载从而引发迟后除极^[16]。进一步推断 Cy 有可能通过阻滞 I_{Na} , 抑制迟后除极的 0 相除极过程,提高动作电位的阈值,从而降低了心肌组织的异常自律性。这可能是 Cy 在乌头碱诱导的心律失常模型中表现出很高的抗心律失常活性的原因之一。

中国传统中药苦豆子和苦参均有广泛的心血管作用,常用于治疗心律失常。它们的主要成分为苦参碱型生物碱和 Cy 型生物碱^[17]。其中苦参碱型生物碱的研究比较广泛,而 Cy 型则少有报道。临床数据显示,苦参复律汤等以苦参为主的医药复方用于治疗快速型心律失常均具有良好的效果^[18]。研究发现苦参碱有非特异性“奎尼丁”样作用^[19];能拮抗乌头碱引起的室性心律失常;浓度依赖性地抑制 I_{Na} , 表现为双向调节作用。在苦参碱的作用机制已经基本明确的情况下, Cy 在其中起到了什么作用值得探讨。Cy 注射液临床用于治疗室性心动过速,结合实验结果推测其可能是通过抑制钠通道,阻断其折返机制,从而在复方治疗快速型心律失常中起到积极作用。鉴于苦参碱具有双向调节机制,反映出尽管同样作用于钠通道,但是具体作用于钠通道的哪些调控蛋白是不同的^[20],所以猜测在一定浓度下, Cy 可以起到协同作用,增加中药复方的治疗效果。

本实验结果发现 Cy 可以浓度依赖性地抑制 I_{Na} , 加快通道失活,延长通道恢复时间。有研究发现心律失常发生的机制非常复杂,与许多离子通道有关,且最佳靶点学说阐述了理想中的抗心律失常药物除了对这些离子通道靶点都有作用之外,还需要对诱发心律失常的最佳靶点作用最强,比如, I_{Na} 、 I_{K1} 、 I_{Kr} 、 I_{Ks} 、 I_{Ca} 等^[21]。为了更全面的阐述其作用机制,将在接下来的实验中进一步探究 Cy 对其他重要离子通道的影响。

利益冲突:作者声明无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 郝伟亮, 孟根达来, 解红霞. 苦豆子的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(13): 1848-1850.
- [2] 刘艳琴. 苦豆子综合开发利用生产工艺的研究[D]. 西安: 西北大学, 2015.
- [3] Castaldelli-Maia JM, Martins SS, Walker N. The effectiveness of Cytisine versus Nicotine replacement treatment for smoking cessation in the Russian Federation[J]. Int J Drug Policy, 2018, 58: 121-125.
- [4] Tsypysheva IP, Koval'Skaya AV, Khalilova IU, et al. New 12-N- β -Hydroxyethyl cytisine derivatives with potential antiarrhythmic activity[J]. Chem Nat Compd, 2014, 50(2): 333-336.
- [5] Yu L, Wang X, Chen ZF, et al. cytisine induces apoptosis of HepG2 cells[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(3): 3363-3370.
- [6] Yu L, Jiang B, Chen Z, et al. Cytisine induces endoplasmic reticulum stress caused by calcium overload in HepG2 cells[J]. Oncol Rep, 2018, 39(3): 1475-1484.
- [7] 姚岚, 方芳. 作用于心肌细胞离子通道的抗心律失常中药研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(9): 1057-1059.
- [8] 钱利武, 戴五好, 周国勤, 等. 金雀花型生物碱对小鼠的急性毒性研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2158-2160.
- [9] 许正新, 郑雪, 朱磊. 蛇床子素对大鼠心肌细胞钠通道的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(7): 1-5.
- [10] Cao XB, Zhu C, Dong Y, et al. The effect of allicin on the late sodium current associated with LQT3 syndromes caused by SCN5A mutation[J]. J Geriatr Cardiol, 2017, 14: E1-E6.
- [11] Turker I, Makiyama T, Vatta M, et al. A novel SCN5A mutation associated with drug induced Brugada type ECG[J]. PloS One, 2016, 11(8): e0161872.
- [12] 李小梅, 戈海延, 江河, 等. SCN5A 基因突变致进行性心脏传导障碍和 Brugada 综合征一家系两种表型[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(6): 461-462.
- [13] Shishkin DV, Baibulatova NZ, Dokichev VA. One-pot synthesis of 1, 3-bis(cytisinyl)propan-2-ol[J]. Russ J Org Chem, 2009, 45(12): 1879-1880.
- [14] 李进军, 肖桂林. 乌头碱致心律失常机制的研究进展[J]. 中国急救医学, 2017, 37(5): 477-480.
- [15] Opthof T, Janse MJ, Meijborg VMF, et al. Dispersion in ventricular repolarization in the human, canine and porcine heart[J]. Prog Biophys Mol Bio, 2016, 120(1-3): 222-235.
- [16] Bögeholz N, Schulte JS, Kaese S, et al. The effects of SEA0400 on Ca^{2+} transient amplitude and proarrhythmia depend on the Na^{+}/Ca^{2+} exchanger expression level in murine models[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 649.
- [17] 龙梅, 徐玲, 王欢. 苦参的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(99): 78-79.
- [18] 秦永锋. 苦参复律汤治疗快速性心律失常的疗效探讨[J]. 中西医结合心脑血管病电子杂志, 2016, 4(18): 142-143.
- [19] 韦祎, 唐汉庆, 李晓华. 苦参碱对豚鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20): 199-202.
- [20] 曾山, 洪葵. 心脏钠通道 Nav 1.5 及相关调控分子最新进展[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2016, 30(2): 154-157.
- [21] 杨宝峰, 单宏丽, 龚冬梅, 等. 抗心律失常药物作用最佳靶点研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2002, 18(4): 37.

(收稿: 2018-06-28 在线: 2018-08-02)

责任编辑: 白霞