

核桃中血清素的提取分离与抗心肌缺血活性研究

Extraction and isolation of serotonin from walnut and its anti-ischemic activity

陈 晨 徐德平 金 蒙 张晓娟

CHEN Chen XU De-ping JIN Meng ZHANG Xiao-juan

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

(Food Faculty of Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:核桃破碎后经体积分数为 70% 乙醇提取, 乙酸乙酯萃取、浓缩后, 经大孔树脂、MCI、ODS 等不同层析柱分离。采用 MTT 法和试剂盒法, 以乳鼠心肌细胞缺血/再灌注损伤模型检测各分离组分抗心肌缺血活性。结果从核桃中分离得到 5, 10-二羟色胺和 Shepherdine 化合物, 其中 5, 10-二羟色胺能显著提高心肌细胞存活率, 减少受损细胞肌酶(LDH、CK)的释放, 对心肌细胞具有保护作用。

关键词:核桃; 血清素; 5, 10-二羟色胺; 心肌细胞; 缺血/再灌注

Abstract: The functional components of anti-myocardial ischemic activity in walnut were studied. The walnuts were squashed and then extracted by 70% ethanol, and ethyl acetate. The ethyl acetate phase was concentrated and then separated by macroporous resin, MCI, and ODS columns. MTT assay and kit method were applied, along with the model of myocardial ischemia/reperfusion injury to detect the anti-ischemic activity of each isolated component. The results showed that 5, 10-dihydroxytryptamine and Shepherdine were separated from walnuts for the first time. Moreover, 5, 10-dihydroxytryptamine could significantly maintain the viability of myocardial cell and reduce the enzymes (LDH/CK) released by ischemia/reperfusion injury, having significant protective effects on myocardial ischemia/reperfusion injury.

Keywords: walnut; serotonin; 5, 10-dihydroxytryptamine; cardiomyocytes; ischemia/reperfusion

核桃(*Juglans regia* L)又名胡桃、羌桃。中医认为, 核桃具有健脑益智, 补肾固精, 温肺定喘的作用^[1]。现代

研究发现, 核桃还具有抗氧化^[2-3], 调节胆固醇, 降低血压, 预防心脑血管疾病的功效^[4-5], 是公认的“黄金圣果”。

有关核桃生理功能的研究报道较多, 相对应的功效成分报道却较少, 如核桃具有抗心脑血管疾病的功能, 大量文献^[6-7]表明是核桃油中不饱和脂肪酸起主要作用, 但李旭^[8]以大鼠高血压为模型, 对比脱脂核桃粉和核桃油的作用效果, 发现脱脂核桃粉的降血压效果明显优于核桃油, 说明脱脂核桃仁中含有抗心脑血管疾病的成分, 而有关此成分的研究尚未见报道。

试验拟以脱脂核桃仁为原料, 采用多种色谱法分离, 通过细胞体外功能评价来寻找核桃中抗心脑血管疾病的功能成分, 旨在明确核桃仁中除油以外预防心脑血管疾病作用的成分, 以期核桃资源的高效利用和深加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

脱脂核桃仁: 云南省林业科学院;

SD 乳鼠: 上海实验动物研究中心。

无水乙醇、正丁醇、茴香醛、冰醋酸、甲醇、硫酸: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

MMT 母液: 美国 Sigma 公司;

大孔吸附树脂 AB-8 型: 天津南开大学化学工厂;

MCI 填料(100 μm)、ODS-D 填料(50 μm): 日本三菱化学公司;

乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)试剂盒: 上海铭博生物科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

双层玻璃提取罐: RAT-100D 型, 无锡申科仪器有限公司;

真空泵: MP-201 型, 郑州长城科工贸有限公司;

旋转蒸发器: R-501 型, 郑州华特仪器设备有限公司;

CO₂ 培养箱: PYC-30 型、96 孔板, 上海化科实验器材

基金项目: 江苏高校品牌专业建设工程资助项目(编号: PPZY2015A052); 云南省重大科技专项计划项目(编号: 2018ZG003)

作者简介: 陈晨, 女, 江南大学在读本科生。

通信作者: 徐德平(1965—), 男, 江南大学副教授, 博士。

E-mail: xdp1219@sina.com

收稿日期: 2019-03-28

有限公司;

高压灭菌锅:LDZX-75KBS 型,苏州赛恩斯仪器有限公司;

倒置显微镜:XDS1C 型,上海万衡精密光学仪器厂;

冷冻高速离心机:Eppendorf 5810R 型,德国 Eppendorf 公司;

色谱仪:WATERS 2690 型,美国沃特世公司;

紫外检测器:WATERS 996 型,美国沃特世公司。

1.2 试验方法

1.2.1 核桃功能成分的提取 取 20 kg 脱脂核桃仁,粉碎后过 30 目筛,每次取 10 kg 放入提取罐中,按料液比 1:10(g/mL)加入体积分数 70%的乙醇,于 70 °C,120 r/min 搅拌提取 2 h,过滤,滤渣重复提取两次,合并滤液,于 70 °C 减压浓缩成浸膏,得 1.82 kg 乙醇提取物,冷藏备用。取 1.0 kg 乙醇提取物,加水溶解至 1 L,转移至分液漏斗中,用 1 L 乙酸乙酯萃取,重复操作 4 次,将乙酸乙酯相合并于 50 °C 减压浓缩至干,得核桃乙酸乙酯萃取物 173.1 g。

1.2.2 乙酸乙酯萃取物的分离 取 1.2.1 中全部乙酸乙酯萃取物,溶解于适量去离子水中,上大孔树脂柱 AB-8 (10 cm×150 cm),依次用体积分数为 30%,50%,70%乙醇洗脱,每梯度洗脱 2 000 mL。将各部分洗脱液减压浓缩,得 30%乙醇洗脱物 49.7 g,50%乙醇洗脱物 38.2 g,70%乙醇洗脱物 32.1 g。

1.2.3 大孔树脂柱分离组分的抗心肌细胞缺血活性的测定 取 20 只新生乳鼠,参照文献[9]的方法制备心肌细胞,平均分为正常对照组、缺血/再灌注模型组与体积分数 30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇洗脱物试验组。

(1) 心肌细胞存活率的测定:按照文献[10]配制模拟缺血液。先向缺血液中充入 95% N₂ 与 5% CO₂ 饱和 15 min,置换正常培养基,放入自制密封盒内,再通入 95% N₂ 与 5% CO₂,直至充分排尽盒中原有气体,密封,培养箱中培养 4 h,造成心肌细胞缺血缺氧。再灌注时以复氧血液置换缺血液,通入 95% O₂ 与 5% CO₂,培养箱中培养 2 h。采用 MTT 法^[11]测定心肌细胞存活率。将细胞转移至 96 孔板中,每组设置 5 个复孔,经缺血/再灌注和药液干预后,吸出培养液,细胞用磷酸缓冲液轻轻漂洗 3 次,再向每孔中加入 100 μL 含有 0.5 g/L MTT 母液的溶液,培养 4 h,再次吸培养液,转移至暗处操作,依次向每孔中加入二甲基亚砜(DMSO)溶液 150 μL,低速振荡 10 min,于酶标仪中测吸光度。

(2) 心肌细胞受损程度的测定:采用试剂盒测定心肌细胞酶水平,取每孔内的细胞培养上清液,参照说明书操作,比色法检测细胞上清中 LDH、CK 的含量。

1.2.4 大孔树脂柱分离的具有抗心肌缺血活性组分的分离 取大孔树脂分离的具有抗心肌缺血活性的 50%乙醇

洗脱物 35 g,用适量去离子水溶解,上 MCI Gel 柱(5 cm×100 cm,100 μm),依次用 500 mL 去离子水清洗,体积分数为 45%,50%,55%的乙醇各 500 mL 梯度洗脱,每梯度收集 25 支试管,20 mL 为一试管。洗脱液经薄层色谱(TLC)鉴定,用硫酸茴香醛染色,相同 R_f值和显色情况的洗脱液合并,分别得 45%,50%,55%的乙醇洗脱物 6.5,10.4,5.2 g。

1.2.5 MCI Gel 柱分离组分的抗心肌缺血活性检测 按 1.2.3 的方法对 MCI Gel 柱分离得到的 45%,50%,55%的乙醇洗脱物抗心肌缺血活性进行检测。

1.2.6 抗心肌缺血活性组分分析 采用高效液相色谱(HPLC)对 MCI Gel 柱分离得到的具有抗心肌缺血活性组分的洗脱物的化学组成进行分析。色谱条件:色谱柱 Symetry C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×150 mm,5 μm);流动相:0 min,100%水(含 0.2%甲酸);20 min 后,50%甲醇+50%水(含 0.2%甲酸);流速 0.3 mL/min;进样量 10 μL;紫外检测器波长 260 nm。

1.2.7 抗心肌缺血活性单体化合物纯化与结构鉴定 取 MCI Gel 柱 45%的乙醇洗脱物 5.8 g 溶于适量去离子水中,上样至 ODS 柱(3.5 cm×100 cm,50 μm),依次用体积分数 40%,45%,50%乙醇梯度洗脱,得两个纯的单体化合物 I、II,分别为 153.1,82.3 mg。将 I、II 用二甲亚砜(DMSO)溶解后进行¹H-NMR、¹³C-NMR 测定。

1.2.8 单体化合物的抗心肌缺血活性作用研究 参照文献[9]的方法制备心肌细胞,平均分为 10 组:正常对照组、缺血/再灌注模型组、试验组(8 组)。对照组为正常培养细胞,模型组经缺血再灌注过程,试验组经缺血再灌注过程后再分别灌注单体化合物 I、II,剂量为 50,100,150,200 mg/L。心肌细胞存活率及细胞培养液中 LDH、CK 含量测定方法同 1.2.3。

1.2.9 统计学分析 采用 SPSS 13.0 版统计分析软件进行处理,试验重复 6 次,所有数据均用($\bar{X} \pm s$)表示,用单因素方差分析比较各组均数之间的差异。

2 结果与分析

2.1 大孔树脂柱分离组分的抗心肌细胞缺血活性

由表 1 可知,各试验组中,体积分数 50%乙醇试验组的乳鼠心肌细胞存活率最大,LDH 和 CK 酶含量最低,表现出的抗心肌缺血活性最强,且与模型小鼠存在显著性差异($P < 0.01$)。而体积分数 30%,70%乙醇试验组的细胞存活率、LDH 和 CK 酶含量与模型组相比均无明显差异,说明不含抗心肌缺血活性成分。由此推断核桃乙醇提取物乙酸乙酯萃取物有抗心肌缺血活性,且有效成分位于体积分数 50%乙醇洗脱物中,故对体积分数 50%乙醇洗脱物进一步分离。

2.2 MCI Gel 柱分离组分的抗心肌细胞缺血活性

由表 2 可知,各试验组中,体积分数 45%乙醇洗脱物

表 1 大孔树脂柱分离组分对缺血/再灌注心肌细胞存活率及 LDH、CK 酶含量的影响[†]

Table 1 Effects of separation of different components on macroporous resin column on myocardial cell survival rate and LDH and CK enzyme contents in ischemia/reperfusion

组别	细胞存活率/%	LDH/(U·L ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)
对照组	95.47±2.28	2.25±0.49	1.88±0.35
缺血/再灌注模型组	24.49±2.91	43.27±3.11	23.67±0.49
体积分数 30%乙醇试验组	25.76±3.37	44.77±1.41	22.39±0.61
体积分数 50%乙醇试验组	73.25±3.93 [#]	6.54±2.37 [#]	4.21±0.38 [#]
体积分数 70%乙醇试验组	27.21±4.23	43.34±0.98	20.39±0.43

[†] # 表示与缺血/再灌注模型组比较差异显著(P<0.01)。

表 2 MCI Gel 柱分离组分对缺血/再灌注心肌细胞存活率及 LDH、CK 酶含量的影响[†]

Table 2 Effects of MCI Gel column separation components on myocardial cell survival rate and LDH and CK enzyme contents in ischemia/reperfusion

组别	细胞存活率/%	LDH/(U·L ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)
对照组	95.81±1.97	2.44±0.19	1.96±0.43
缺血/再灌注模型组	22.93±3.14	42.53±2.65	22.68±0.51
45%乙醇洗脱物试验组	75.44±4.01 [#]	6.17±2.54 [#]	4.09±0.47 [#]
50%乙醇洗脱物试验组	27.43±4.16	45.21±0.95	21.57±0.63
55%乙醇洗脱物试验组	29.45±4.63	44.78±0.76	21.03±0.26

[†] # 表示与缺血/再灌注模型组比较差异显著(P<0.01)。

作用后的乳鼠心肌细胞存活率最大,LDH 和 CK 酶含量最低,表现出的抗心肌缺血活性最强,且与模型小鼠存在显著性差异(P<0.01)。而体积分数 50%,55%乙醇洗脱物作用后,细胞存活率、LDH 和 CK 酶含量与模型组相比均无明显变化,说明不含抗心肌缺血活性成分。由此推断经 MCI Gel 柱分离的 45%乙醇洗脱物有抗心肌缺血活性,故对体积分数 45%乙醇洗脱物进行成分分析和分离纯化。

2.3 45%乙醇提取物组成成分

核桃抗心肌缺血活性成分存在于经 MCI Gel 柱分离的 45%乙醇洗脱物中,对该洗脱物进行 HPLC 分析,由图 1 可知,45%乙醇洗脱物主要由两个峰组成,保留时间分别为 1.56,1.94 min,推测该部分主要由两个化合物组成。

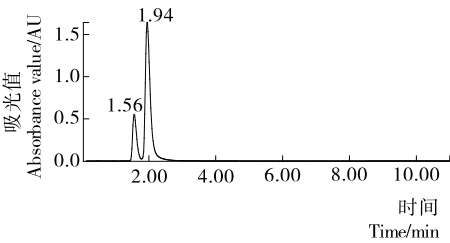


图 1 45%乙醇洗脱物液相色谱图
Figure 1 45% ethanol eluate in HPLC

2.4 核桃中抗心肌缺血活性单体化合物的分离

将 MCI Gel 柱 45%乙醇洗脱物反复上 ODS 柱,依次用 40%,45%,50%乙醇洗脱,直到分离出该组分所含的两个单体化合物 I、II,化合物 I 对应保留时间为 1.94 min,化合物 II 对应保留时间为 1.56 min。由图 2 可知,两个化合物的薄层色谱图均呈单一条带。

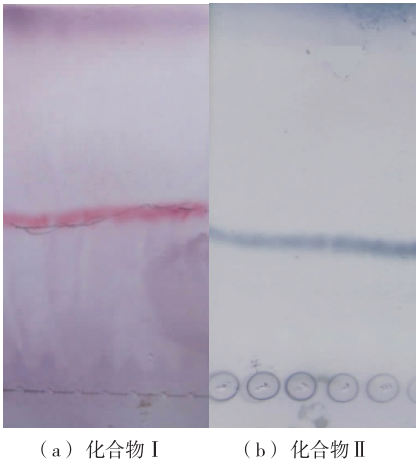


图 2 单体化合物薄层色谱图
Figure 2 Thin layer chromatography of compound I & II

2.4.1 化合物 I 的结构鉴定 化合物 I 为白色无定形粉末,溶于甲醇、乙醇,极易溶于水。ESI-MS 得出 m/z : 178 $[M+H]^+$, 化合物 I 分子量为 177, 表明含有奇数个 N 元素。

1H -NMR 谱可知: δ 3.72, 2.80 含两个各为三分峰的亚甲基, 偶合常数皆为 6.9, 表明两个亚甲基相连; 芳香区有 4 个氢信号, δ 6.76 (1H, dd, $J=2.3, 8.7$), δ 6.99 (1H, d, $J=2.3$), δ 7.23 (1H, d, $J=8.7$) 各含 1 个氢, 由偶合常数可知, 其构成一个 AMX 系统, 即苯环上三取代氢; δ 6.78 的氢为单峰氢。

^{13}C -NMR 谱中共 10 个碳: δ 151.5 为苯环上连氧碳, 判断有一 OH 基存在, δ 127.4, 115.4, 114.4, 105.8 为 4 个 $-CH$ 上的碳, δ 134.5, 130.7, 113.9 为 3 个季碳。 δ 64.8, 30.4 为 2 个 $-CH_2$ 上的碳, 从 δ 64.8 的化学位移来看 $-CH_2$ 上碳连有氧, 推断有一 $-CH_2CH_2OH$ 结构片段。综合分析并参照文献[12]得化合物 I 为 5, 10-二羟色胺, 其碳谱如图 3, 结构如图 4。

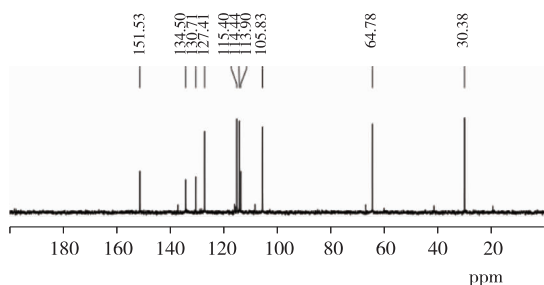


图 3 化合物 I 碳谱图

Figure 3 Carbon spectrum of compound I

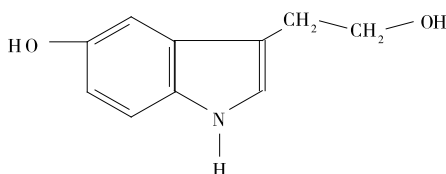


图 4 化合物 I 的结构

Figure 4 The chemical structures of compound I

2.4.2 化合物 II 的结构鉴定 化合物 II 为白色无定形粉末,溶于甲醇、乙醇,极易溶于水。ESI-MS 得出 m/z : 203 $[M+H]^+$, HR-ESI-MS 得出 m/z : 203.274 7 $[M+H]^+$, 对应的分子式为 $C_{12}H_{14}N_2O$ 。

1H -NMR 谱显示: 1 个双峰甲基 δ 1.57 ($J=5.4$), δ 4.60 处有 1 个四重峰质子 ($J=5.4$), 推测甲基与该质子相耦合; δ 2.83, 3.61 处各有 2 个质子 ($-CH_2-$), 皆呈三重峰 ($J=6.4$), 表明 $-CH_2$ 相邻; 在低场区 δ 6.78 (dd, $J=2.4, 8.7$), δ 6.91 (d, $J=2.3$), δ 7.27 (d, $J=8.7$) 各有 1 个氢, 从偶合常数来看, 其构成一个 AMX 系统, 即苯环上三取代氢。

^{13}C -NMR 谱显示该化合物共有 12 个碳: 其中 δ 151.0 为苯环上连氧碳, 判断苯环上有一 OH 存在; δ 114.4, 114.0, 104.7 为苯环上的 3 个 $-CH$ 上的碳; δ 133.4, 133.3, 128.2, 106.9 为 4 个季碳; δ 51.2 为 $-CH$ 上的碳, 从化学位移来看该碳与 N 元素相连; δ 43.1, 19.8 为两个 $-CH_2$ 上的碳, 结合氢谱来看两个 $-CH_2$ 上碳相连; δ 43.1 的碳可能也与 N 元素相连, 推断有一 $-CH_2CH_2N$ 结构片段; δ 18.6 为甲基。综合分析 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 和 MS 的图谱并参照文献[13-14]得出化合物 II 为 Shepherdine, 其碳谱如图 5, 结构如图 6。

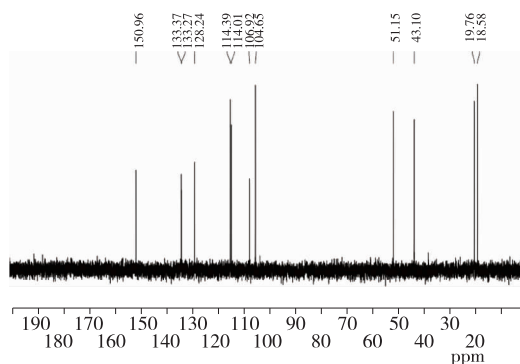


图 5 化合物 II 碳谱图

Figure 5 Carbon spectrum of compound II

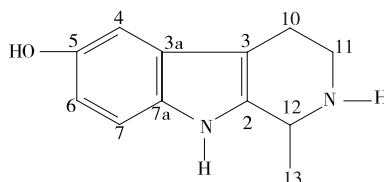


图 6 化合物 II 的结构

Figure 6 The chemical structures of compound II

2.5 单体化合物的抗心肌缺血活性

由表 3 可知, 模型组细胞存活率仅为 26.45%, 同时心肌细胞液中 LDH、CK 含量显著升高, 分别达到 45.68% 和 22.76%, 可见缺血/再灌注导致心肌细胞明显损伤。5, 10-二羟色胺剂量为 50 mg/L 时, 细胞存活率为 59.46% ($P<0.05$), LDH 和 CK 含量显著降低 ($P<0.05$); 5, 10-二羟色胺剂量为 150 mg/L 时, 心肌细胞存活率高达 87.79% ($P<0.01$), LDH、CK 含量达到最低 ($P<0.01$), 且呈剂量依赖关系; 在 200 mg/L 时, 心肌细胞存活率有所下降。表明 5, 10-二羟色胺对缺血/再灌注造成的心肌细胞损伤具有有效保护作用, 150 mg/L 时作用效果最佳。Shepherdine 组细胞存活率与模型组相当, 随着含量升高对缺血/再灌注损伤心肌细胞无明显作用。

表 3 化合物 I、II 对缺血/再灌注心肌细胞存活率及 LDH、CK 酶含量的影响[†]
Table 3 Effects of compounds I and II on myocardial cell survival rate and LDH and CK enzyme content in Ischemia/Reperfusion

组别	剂量/(mg · L ⁻¹)	细胞存活率/%	LDH/(U · L ⁻¹)	CK/(U · L ⁻¹)
对照组		97.43±2.71	2.36±0.25	1.94±0.47
缺血/再灌注模型组		26.45±3.23	45.68±2.37	22.76±0.31 * *
I 组	50	59.46±3.59 [#]	20.02±1.98 [#]	4.93±0.53 [#]
	100	75.47±4.06 [#]	6.31±2.17 ^{# #}	3.41±0.36 ^{# #}
	150	87.79±4.42 ^{# #}	4.67±0.64 ^{# #}	1.64±0.38 ^{# #}
	200	78.67±4.36 ^{# #}	4.73±1.12 ^{# #}	2.25±0.43 ^{# #}
II 组	50	25.29±3.71	44.86±2.12 [#]	22.38±0.37
	100	26.14±3.02	42.79±1.26 ^{# #}	21.56±0.56
	150	25.37±3.53	42.56±0.68 ^{# #}	21.34±0.41
	200	27.53±4.54	46.21±1.04 ^{# #}	22.47±0.60

[†] * 表示与对照组比较差异显著(P<0.05); * * 表示与对照组比较差异极显著(P<0.01); # 表示与缺血/再灌注模型组比较差异显著(P<0.05); # # 表示与缺血/再灌注模型组比较差异极显著(P<0.01)。

3 结论

试验利用乙醇提取,乙酸乙酯萃取,多种色谱法分离,采用乳鼠缺血再灌注损伤细胞模型筛选,从核桃中得到了血清素 5,10-二羟色胺与 Shepherdine 两个化合物,其中 5,10-二羟色胺对心肌细胞损伤具有良好的保护作用,能够提高细胞存活率,减少心肌细胞培养液上清中心肌酶(LDH、CK)的释放,缓解心肌细胞损伤,表明 5,10-二羟色胺是核桃仁中有益于心血管作用的功效成分,进一步表明核桃预防心脑血管疾病作用除多不饱和脂肪酸外,5,10-二羟色胺也是重要的活性成分。

有关 5,10-二羟色胺对心血管的作用已有较多的报道^[15-16],研究首次从核桃中分离鉴定出此成分,为核桃抗心血管疾病提供了新的思路。但该成分的量效关系和作用机制尚未明确,有待进一步研究。

参考文献

[1] 李俊南, 习学良, 熊新武, 等. 核桃的营养保健功能及功能成分研究进展[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(5): 60-64.
[2] BATIREL S YILMAZ A M, SAHIN A, et al. Antitumor and antimetastatic effects of walnut oil in esophageal adenocarcinoma cells[J]. Clinical Nutrition, 2018, 37(6): 2 166-2 171.
[3] WILMAN C, GOMEZ-RUIZ J A, RUIZ A L, et al. Anti-proliferative activity of walnut (*Juglans regia* L.) proteins and walnut protein hydrolysates[J]. Journal of Medicinal food, 2017, 20(11): 1 063-1 067.
[4] DIN J N, AFTAB S M, JUBB A W, et al. Effect of moderate walnut consumption on lipid profile, arterial stiffness and platelet activation in humans[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2011, 65(2): 234-239.

[5] 张亭, 杜倩, 李勇. 核桃的营养成分及其保健功能的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(7): 64-69.
[6] 殷姝君, 赵焕新, 王晓静. 核桃果化学成分及药理活性研究进展[J]. 食品与药品, 2018, 20(2): 147-152.
[7] 李照, 孙磊, 高飞, 等. 核桃仁营养成分及活性研究进展[J]. 药物生物技术, 2016, 23(5): 467-470.
[8] 李煦. 核桃仁抗氧化、降血压作用及提取工艺研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2015: 54-65.
[9] 刘博, 刘小雷, 潘桂兰, 等. 乳鼠心肌细胞的原代培养方法改良[J]. 中南药学, 2017, 15(1): 18-21.
[10] 杜毓菁, 徐一心, 王紫璇, 等. 细胞缺氧/复氧模型的建立方法与应用[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2015, 55(2): 88-91.
[11] 蔡文涛. MTT 法和 CCK-8 法检测中药抗病毒活性成分细胞毒性的比较[J]. 湖北大学学报: 自然科学版, 2017, 39(3): 305-310.
[12] 胡长鹰, 徐德平. 沙棘籽粕生物碱的提取分离及对乳鼠心肌细胞损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 234-237.
[13] 辛少鲲, 司南, 王宏洁, 等. 蟾皮中亲水性成分的化学研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3 767-3 772.
[14] AL-BARHAM M B, AL-JABER H I, AL-QUDAH M A, et al. New aristolochic acid and other chemical constituents of Aristolochiamaurorum growing wild in Jordan [J]. Natural Product Research, 2017, 31(1/3): 245-252.
[15] HOSFORD P S, MILLAR J, RAMAGE A G. Cardiovascular afferents cause the release of 5-HT in the nucleus tractus solitarii; this release is regulated by the low-(PMAT) not the high-affinity transporter (SERT) [J]. J Physiol, 2015, 593(7): 1 715-1 729.
[16] 陈莎莎, 陈浩宏. 5-羟色胺类物质与三尖瓣病变[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(31): 3 488-3 490.