

酸浆苦素 L 在大鼠体内的药动学研究

沈旭¹, 郑运亮^{2*}, 申屠建中² (1. 浙江工业大学, 杭州 310014; 2. 浙江大学医学院附属第一医院, 杭州 310003)

摘要: 目的 建立一种特异、灵敏、快速地检测酸浆苦素 L 在大鼠体内的药动学特征的 LC-MS/MS 方法。方法 采用 Waters XBridgeTM-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 3.5 μm), 含有 0.1% 甲酸的水溶液-乙腈(45:55)为流动相, 等度洗脱, 流速为 0.6 mL·min⁻¹。采用负离子模式、MRM 模式进行检测。结果 酸浆苦素 L 浓度在 0.492~493 ng·mL⁻¹ 与峰面积呈良好线性关系, 最低定量限为 0.492 ng·mL⁻¹; 批间、批内 RSD 均<7.86%, 平均回收率为 99.23%~106.73%, 方法重复性良好。药动学结果表明, 每只 SD 雄性大鼠灌胃 2.0 mg 酸浆苦素 L 后, 酸浆苦素 L 在大鼠体内平均达峰时间 $t_{\max}$ 为 0.69 h, 平均药峰浓度 $C_{\max}$ 为 77.48 ng·mL⁻¹, 药时曲线下面积 $AUC_{0\rightarrow t}$ 为 280.78 ng·h·mL⁻¹, 平均半衰期 $t_{1/2}$ 为 2.89 h。结论 本研究探明了酸浆苦素 L 在大鼠体内的药动学特征, 为锦灯笼在动物体内的血药监测提供了一个新的指标, 利于研究人员对锦灯笼(尤其是酸浆苦素类化合物)药理活性与药动学的深入研究。

关键词: 酸浆苦素 L; 液质联用; 定量分析; 药动学

中图分类号: R969.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2017)12-1663-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.12.004

引用本文: 沈旭, 郑运亮, 申屠建中. 酸浆苦素 L 在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(12): 1663-1667.

Pharmacokinetic of Physalin L in Rat Plasma

SHEN Xu¹, ZHENG Yunliang^{2*}, SHENTU Jianzhong² (1. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a specific, sensitive, efficient method for the quantitative determination of physalin L in rats plasma using LC-MS/MS system, and provide a detection means for its pharmacokinetic characteristic. **METHODS** The separation of physalin L was performed on a Waters XBridgeTM-C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm) with a mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile (45:50). The assay was based on a negative MRM scan. **RESULTS** The linear range of the calibration curve (0.492~493 ng·mL⁻¹) was obtained with a good correlation coefficient. The lower limit of quantification was 0.492 ng·mL⁻¹. The average recovery was 99.23%~106.73% and the RSD of intra- and inter-day precision were <7.86%. The repeatability of the method was good. After intragastric administration of 2.0 mg physalin L to each rat, the mean peak time ($t_{\max}$) was 0.69 h and the mean maximum concentration ($C_{\max}$) was 77.48 ng·mL⁻¹. The area under the curve ($AUC_{0\rightarrow t}$) was 280.78 ng·h·mL⁻¹, its $t_{1/2}$ was 2.89 h. **CONCLUSION** This study provides the physalin L characteristics of pharmacokinetics in rats, which is good for researchers on Physalis Calyx Seu Fructus (especially physalin compounds) in-depth study of pharmacological activity and pharmacokinetics.

KEY WORDS: physalin L; LC-MS/MS; quantitative analysis; pharmacokinetic

中药的药动学研究有利于让世界其他国家肯定中药治疗疾病的药效, 是中药现代化进程中必须面对的重要课题。酸浆苦素类化合物是中药锦灯笼(又名酸浆、灯笼草等)的主要化学成分之一, 为高度含氧的甾体化合物, 基本结构为 13,14-裂环-16,24-环麦角甾烷^[1]。

酸浆苦素 L 是酸浆中主要的特异性酸浆苦素类化合物, 化学结构见图 1a。中国药典 2010 年版将酸浆苦素 L 作为锦灯笼质量控制的定量指标

(2015 版药典无该指标), 但是近年来, 有关锦灯笼含量测定的研究多以黄酮类化合物为指标, 对酸浆苦素类成分含量的研究较少^[2-4], 尤其缺少此类成分在生物体内的吸收、分布、代谢和排泄的信息, 从而阻碍了此类成分的进一步开发和利用。

本实验采用与酸浆苦素 L 结构相似的酸浆苦素 H(化学结构见图 1B)为内标, 成功建立 LC-MS/MS 测定 SD 大鼠血浆中酸浆苦素 L 药物浓度的方法, 在中药化学成分的定性、定量分析方

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81402807); 高等学校博士学科点专项科研基金(新教师类)(20130101120136)

作者简介: 沈旭, 女, 硕士生 Tel: (0571)87236560 E-mail: shenxu0630@163.com *通信作者: 郑运亮, 男, 博士 Tel: (0571)87236560 E-mail: ylzhen1984@zju.edu.cn

面均有较强的应用价值,为锦灯笼在动物体内的血药监测提供了一个新的指标,有利于研究人员对酸浆苦素类化合物的药理活性与药动学的深入研究。

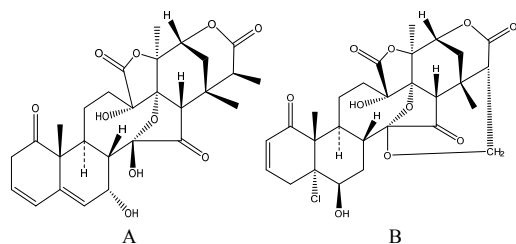


图1 酸浆苦素 L(A)和酸浆苦素 H(B)的化学结构图

Fig. 1 Chemical structure of physalin L (A) and physalin H (B)

1 材料

1.1 仪器

LC20 液相色谱仪(日本岛津); API 4000 三重四级杆质谱、Analyst® software 工作站 V1.5(美国应用生物系统公司); Waters XBridge™-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 3.5 μm); Eppendorf 移液器、Eppendorf 高速离心机(德国 Abbott 公司); 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

1.2 药物

乙腈和甲醇为色谱纯(德国 Merck 公司); 乙酸乙酯为分析纯; Milli Q 超纯水; NG1000 氮气发生器(上海析维生物医药科技有限公司); 酸浆苦素 L(上海同田生物技术股份有限公司, 批号: E-2607, 纯度: 98.0%); 内标(酸浆苦素 H)由本实验室制备, 纯度均>96%(HPLC 峰面积归一化法测得)。

1.3 动物

SD 大鼠 6 只, ♂, 体质量(108±25)g。实验大鼠购自浙江省实验动物中心[许可证号: SCXK(浙)2014-0001], 体质量均衡, 动物每笼 2 只, 动物实验符合动物伦理委员会相关标准。给药前动物适应性饲养 24 h, 禁食不禁水。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱: Water XBridge™-C₁₈(4.6 mm×150 mm, 3.5 μm); 流动相: 0.1%的甲酸水溶液(A)-乙腈(B)(45:55); 流速: 0.6 mL·min⁻¹, 等度洗脱; 柱温箱温度 40 °C; 进样室温度 4 °C, 避光; 进样量为 5 μL。

2.2 质谱条件

采用岛津 LC20 液相色谱仪和 API 4000 三重

四级杆质谱联用。LC 接口为大气压电喷雾离子源(ESI), 负离子检测模式; 干燥气温度为 500 °C; 喷雾电压(Ion spray voltage, IS)为-4 500 V; 气帘气(curtain gas, CUR): 20 psi; 碰撞气(collison gas, CAD): 10 psi; 离子源气体(GSP1、GSP2): 55 psi。扫描方式为多重反应选择离子监测负离子模式(multi reaction monitoring, MRM), 定量分析的离子(*m/z*)分别为 527.2→509.1(酸浆苦素 L, CE 为-17 V, DP 为-105 V, CXP 为-17 V)和 561.2→497.2(酸浆苦素 H, CE 为-25 V, DP 为-95 V, CXP 为-15 V)。

2.3 对照品溶液与质控样品的制备

2.3.1 酸浆苦素 L 储备液的制备 精密称取酸浆苦素 L 对照品 9.85 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 获得 0.985 mg·mL⁻¹ 的储备液, 置 4 °C 冰箱保存。临用时用甲醇逐步稀释得标曲(4 930, 1 970, 985, 493, 98.5, 49.3, 19.7, 4.92 ng·mL⁻¹)及质控(3 940, 197, 9.85 ng·mL⁻¹)的工作液。

2.3.2 内标储备液的制备 精密称取酸浆苦素 H 对照品 5.360 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 获得 0.536 mg·mL⁻¹ 的储备液, 置 4 °C 冰箱保存。临用时用甲醇稀释成 10.72 μg·mL⁻¹ 的内标工作液。

2.3.3 灌胃液的配制 精密称取酸浆苦素 L 15.01 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用羧甲基纤维素钠水溶液(0.5%)混悬并定容, 得 3.0 mg·mL⁻¹ 的混悬液, 置于 4 °C 冰箱保存, 备用。

2.4 血浆样品的预处理

取大鼠血浆 50 μL, 加入 5 μL 内标酸浆苦素 H(10.72 μg·mL⁻¹), 加入 200 μL 乙酸乙酯, 涡旋 1 min, 13 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后取乙酸乙酯层, 用氮气吹干, 吹干后的 EP 管用 50 μL 的 50%乙腈水溶液复溶, 再 13 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后取上清 5 μL 进样。

2.5 大鼠的灌胃处理

将 6 只♂SD 大鼠以每只 2.0 mg 的给药量灌胃给药, 分别于给药前及给药后 0, 5, 10, 20, 40, 60 min; 1.5, 2.5, 4.0, 6.0, 9.0, 12, 24 h 各取尾静脉血 0.3 mL, 置于肝素抗凝的离心管中, 采集后血样避光、冰浴暂存。血样采集完后, 3 000 r·min⁻¹, 4 °C, 离心 10 min, 分离出血浆立即置聚丙烯试管中置于-70 °C 冰箱保存待测。

3 结果

3.1 方法专属性

分别取空白血浆、空白血浆加酸浆苦素 L(0.492 ng·mL⁻¹)、大鼠用药 1.5 h 的血浆样品 50 μL 置于 1.5 mL 的离心管中,按照“2.4”项下方法处理,取上清 5 μL 进样;同时,用“空白血浆加内标工作液”替换“空白血浆加酸浆苦素 L”,重复上述操作。观察、比较色谱图,色谱图见图 2。结果表明,空白血浆的内源性物质不干扰酸浆苦素 L($t_R=4.41$ min)和内标的测定($t_R=5.09$ min)。

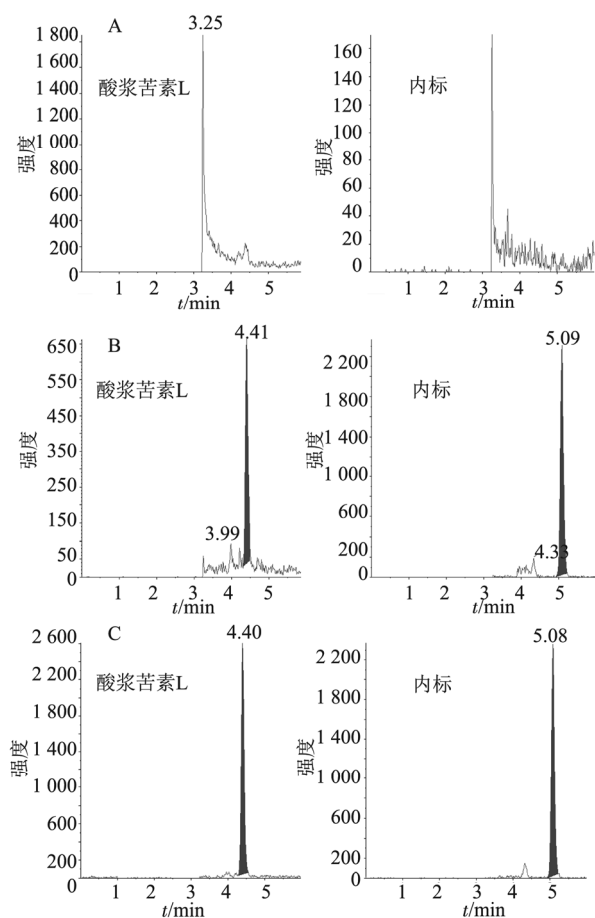


图 2 酸浆苦素 L 和内标的典型色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆加酸浆苦素 L(0.492 ng·mL⁻¹)和内标(1.072 μg·mL⁻¹); C-给药后 1.5 h 大鼠血浆。

Fig. 2 Representative MRM chromatograms of physalins L and IS

A-blank sample; B-blank sample + physalin L (0.492 ng·mL⁻¹) + internal standard(1.072 μg·mL⁻¹); C-1.5 h after administration in rat plasma.

3.2 线性范围和最低定量限

精密移取空白大鼠血浆 50 μL,加入酸浆苦素 L 对照品工作液各 5 μL,得到分别含酸浆苦素 L 493, 197, 98.5, 49.3, 4.93, 1.97, 0.492 ng·mL⁻¹

的样品;同样方法配制得到含酸浆苦素 L 394, 19.7, 0.985 ng·mL⁻¹的质控样品。再按“2.4”项下方法处理与测定。以酸浆苦素 L 的浓度 X (ng·mL⁻¹)为横坐标,以酸浆苦素 L 与内标峰面积之比 Y 为纵坐标,以加权(1/ X)最小二乘法进行回归,得到回归方程为 $Y=0.137+0.0723X(r=0.9953)$,实验表明酸浆苦素 L 在血浆中浓度 0.492~493 ng·mL⁻¹ 内呈良好线性关系。最低定量限为 0.492 ng·mL⁻¹。

3.3 基质效应、提取回收率

取 SD 大鼠空白血浆 50 μL,加入 200 μL 乙酸乙酯,涡旋 1 min, 13 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后取全部上清液,加酸浆苦素 L(3 940, 197, 9.85 ng·mL⁻¹)、内标(10.72 μg·mL⁻¹)各 5 μL,涡旋混匀后氮气吹干,吹干后的 EP 管用 50 μL 的 50% 乙腈水溶液复溶,再 13 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 取上清 5 μL 进样,获得相应峰面积,记为 B。同时,另取 50 μL 水代替空白血浆,按上述处理获得相应峰面积,记为 A。以每一浓度 2 种处理方法的峰面积比值计算基质效应。

按“2.4”项下方法处理低(0.985 ng·mL⁻¹)、高(394 ng·mL⁻¹)2 个浓度的质控血浆样品,每一浓度进行 6 个样品分析,峰面积为 C。提取回收率(RE)= $A/B \times 100\%$,基质效应(ME)= $B/C \times 100\%$,计算结果见表 1。

表 1 基质效应与提取回收率结果

Tab. 1 Results of matrix and recovery

配制浓度/ ng·mL ⁻¹	基质效应/%		提取回收率/%	
	酸浆苦素 L	内标	酸浆苦素 L	内标
0.985	95.34	107.96	99.23	100.94
394	105.55	107.13	104.16	106.73

3.4 精密度

按“2.4”项下方法处理最低定量下限(0.492 ng·mL⁻¹)、低(0.985 ng·mL⁻¹)、中(19.7 ng·mL⁻¹)、高(394 ng·mL⁻¹)4 个浓度的质控血浆样品,每一浓度进行 6 个样品分析,考察精密度(RSD)($n=6$);按此方法测定 3 个批次,计算批间 RSD。批间、批内 RSD 均<7.86%,可见该方法重复性良好,结果见表 2。

3.5 稳定性考察

取低、中、高(0.985, 19.7, 394 ng·mL⁻¹)3 种不同浓度的质控样品各 3 份,按“2.4”项下方法

处理、测定，之后这些样品于室温下放置 4 h，按同样方法进行测定，考察其短期稳定性；按“2.4”项下方法处理低、中、高 3 个浓度的质控全血样品各 3 份，考察样品上样液在自动进样器(室温)放置 18 h 的稳定性；低、中、高 3 个浓度的质控样品各 3 份在-70℃冰箱反复冻融 3 次后按“2.4”项下方法操作并立即进行 LC-MS/MS 分析，考察反复冻融 3 次的稳定性；低、中、高 3 个浓度的质控样品各 3 份在-70℃冰箱放置 1 个月，按“2.4”项下方法操作并立即进行 LC-MS/MS 分析，考察长期冻存稳定性。结果表明样品在各种条件下能保持稳定，结果见表 3。

表 2 精密度结果

Tab. 2 Results of precision

配置浓度/ ng·mL ⁻¹	精密度 RSD/%		回收率/%	
	批内	批间	批内	批间
0.492	5.98	7.86	101.43	99.99
0.985	1.88	4.74	109.30	106.70
19.7	3.42	3.02	110.33	110.44
394	3.78	7.47	94.50	99.40

3.6 残留效应

实验过程中，最高浓度校正标样后连续分析的 2 个空白基质样品在分析物保留时间处干扰峰响应均低于定量下限中分析物响应的 20%，内标保留时间处的干扰峰的响应均低于零浓度样品中内标响应的 5%。结果表明，残留可忽略，不影响定量分析。

4 药动学研究

采用 WinNolin 6.3 计算酸浆苦素 L 的药动学参数。6 只 SD 大鼠以每只 2.0 mg 的给药量灌胃后药动学参数为： $t_{1/2}$ 为 (2.89 ± 1.14) h、 $t_{\max}$ 为 (0.69 ± 0.26) h、 $C_{\max}$ 为 (77.48 ± 28.30) ng·mL⁻¹、 $AUC_{0 \rightarrow t}$ 为 (280.78 ± 86.48) ng·h·mL⁻¹， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 为

(313.10 ± 101.24) ng·h·mL⁻¹、 $(AUC_{0 \rightarrow \infty} - AUC_{0 \rightarrow t}) / AUC_{0 \rightarrow \infty} \times 100\%$ 为 $(9.49 \pm 5.78)\%$ 、 $MRT_{0 \rightarrow t}$ 为 (3.13 ± 0.63) h、 $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ 为 (4.33 ± 1.50) h、Vd 为 $(25\,391.92 \pm 7\,401.59)$ mL、CL 为 $(5\,427.64 \pm 1\,241.68)$ mL·h⁻¹，平均血药浓度-时间曲线见图 3。(AUC 等参数可通过 WinNolin 6.3 计算得到，不需要建立隔室模型进行计算，故未建立隔室模型)。

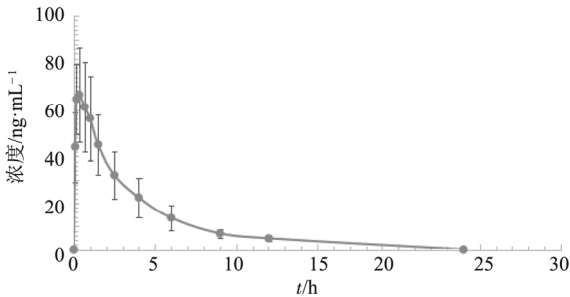


图 3 给药 1.5 h 后酸浆苦素 L 的平均药时曲线($n=6$, $\bar{x} \pm s$)
Fig. 3 Mean blood concentration-time curve of physalin L after given 1.5 h($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

5 讨论

锦灯笼是一种常用中药，具有清热解毒、清肺止咳、利湿化痰等作用，现代医药学研究发现，锦灯笼还具有治疗食管癌症、治疗糖尿病等疾病的功效。锦灯笼中的酸浆苦素类成分是目前发现的我国仅有的番茄内酯药物资源，它使得锦灯笼具有抗菌、抗炎、镇痛、降血糖、降血脂等作用，在一定的剂量下，酸浆果实的水提液、带果实的宿萼水提液及醇提液，具有明显的降血糖作用；锦灯笼甲醇提取物对小鼠髓磷脂类白血病细胞生长有抑制作用^[5-9]。

锦灯笼的现代化研究始于 1969 年，多集中于锦灯笼的药理活性或者少数几种已经分离出来的酸浆苦素类化合物(例如酸浆苦素 A、B、D 等)的提取分离方法与其药理活性研究，酸浆苦素 B 可通过抑制 PMN-H₂O₂ 的产生、释放，从而产生抗

表 3 稳定性考察结果($n=3$)

Tab. 3 Results of stability study($n=3$)

浓度	室温放置 4 h			进样室放置 18 h			-70℃ 3 次冻融			长期冻存		
	L	M	H	L	M	H	L	M	H	L	M	H
$\bar{x} \pm s$	1.01±0.02	21.9±1.31	367±4.03	0.95±0.06	21.8±0.36	372.3±10.5	0.92±0.02	21.5±0.54	421±3.77	0.95±0.08	21.3±0.12	414±13.9
RSD/%	2.26	6.0	1.10	6.13	1.63	2.83	2.22	2.49	0.9	8.81	0.58	3.36
RE/%	-2.6	-10.0	7.26	3.21	-9.63	5.82	7.34	-8.37	-6.34	4.01	-7.66	-4.75

注：L=0.985 ng·mL⁻¹；M=19.7 ng·mL⁻¹；H=394 ng·mL⁻¹。

Note: L=0.985 ng·mL⁻¹；M=19.7 ng·mL⁻¹；H=394 ng·mL⁻¹。

炎作用；酸浆苦素 B 抑制 PSC 小鼠淋巴白血病细胞的生长；酸浆苦素 M 拮抗 Hela 癌细胞；酸浆苦素 X 有堕胎的作用；酸浆苦素 B、D、G、H 等均具有较好的体外抗肿瘤活性^[10-15]，但是对酸浆苦素 L 在动物体内的药理学研究较少，对其药理活性了解甚微。

本研究报道了给每只 SD 雄性大鼠灌胃 2.0 mg 的酸浆苦素 L 后，其平均达峰时间 $t_{\max}$ 约 0.69 h，平均药峰浓度 $C_{\max}$ 为 77.48 ng·mL⁻¹，0~24 h 时间段药时曲线下面积 AUC_{0→t} 为 280.78 ng·h·mL⁻¹，平均半衰期 $t_{1/2}$ 为 2.89 h。

本研究以锦灯笼中酸浆苦素 L 作为药动学研究的代表性指标，首先，建立了定量测定大鼠血浆中酸浆苦素 L 的 LC-MS/MS 的分析方法，并经过一系列的方法学验证证明本方法不但出峰速度快，而且具有较好的专属性、灵敏度，方法的精密度和准确度；随后将此方法成功地应用于灌胃给药后酸浆苦素 L 药动学研究。该研究为锦灯笼在动物体内的血药监测提供了一个新的指标，有利于研究人员对锦灯笼(尤其是酸浆苦素类化合物)药理活性与药动学的深入研究。

REFERENCES

- [1] MA Z, ZHANG Y. The research of nuclear magnetic resonance spectral characteristics on physalin [J]. J Math Med(数理医药学杂志), 2014, 27(5): 583-585.
- [2] SHI R, JIA L Y, SUN Q S, et al. RP-HPLC determination of there active components in *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(2): 260-262.
- [3] XU L, XU Q Y, WANG B, et al. Content determination of luteolin in Jindenglong by HPLC [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2006, 17(4): 575-576.
- [4] YANG W J, JING S Q, YANG J X. Study on determination method of total flavonoid in *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino in Xinjiang [J]. J Xinjiang Univ (Nat Sci Ed)(新疆大学学报), 2007, 24(3): 339-341.
- [5] GE Y, DUAN Y F, FANG G Z, et al. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii*: isolation, purification, structural features and antioxidant activities [J]. Carbohydr Polym, 2009, 77(2): 188-193.
- [6] LV C P, WANG H F, LI J. Study on anti-inflammatory effects of the extract of *Physalis alkekengi* var. *franchetii* (Mast) [J]. Mod Prev Med(现代预防医学), 2007, 34(12): 2213-2214.
- [7] VIEIRA A T, PINHO V, LEPSCH L B, et al. Mechanisms of the anti-inflammatory effects of the natural secosteroids physalins in a model of intestinal ischaemia and reperfusion injury [J]. Br J Pharmacol, 2005, 146(2): 244-251.
- [8] TONG H, WANG R F, LIU X M, et al. Structural characterization and *in vitro* inhibitory activities in P-selectin-mediated leukocyte adhesion of polysaccharide fractions isolated from the roots of *Physalis alkekengi* [J]. Int J Biol Macromol, 2011, 49(2): 210-217.
- [9] HELVACI S, KÖKDİL G, KAWAI M, et al. Antimicrobial activity of the extracts and physalin D from *Physalis alkekengi* and evaluation of antioxidant potential of physalin D [J]. Pharm Biol, 2010, 48(2): 142-150.
- [10] MOHANA K, UMA R, PURUSHOTHAMAN K K. Abortifacient activity of Physalin-X.[J]. Indian J Exp Biol, 1979, 17(7): 690-691.
- [11] KAWAI M, YAMAMOTO T, MAKINO B, et al. The structure of physalin T from *Physalis alkekengi* var. *franchetii* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2001, 3(3): 199-205.
- [12] SUNAYAMA R, KUROYANAGI M, UMEHARA K, et al. Physalin and neophysalins from *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and their differentiation inducing activity [J]. Phytochemistry, 1993, 34(2): 529-533.
- [13] KANG H, KWON S R, CHOL H Y. Inhibitory effect of *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* extract and its chloroform fraction on LPS or LPS/IFN- γ -stimulated inflammatory response in peritoneal macrophages [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(1): 95-101.
- [14] FANG C S, YANG Y J. Study on anti-tumor activities of physalins B *in vitro* [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2015, 32(4): 652-655.
- [15] CASTRO D P, MORAES C S, GONZALEZ M S, et al. Physalin B inhibits Trypanosoma cruzi infection in the gut of *Rhodnius prolixus* by affecting the immune system and microbiota [J]. J Insect Physiol, 2012, 58(12): 1620-1625.

收稿日期: 2017-04-07

(本文责编: 李艳芳)