

两种血管紧张素转化酶抑制肽 作用于靶标的分子机理

郭慧青¹, 毛 慧¹, 赵 波¹, 潘道东^{1,2,*}

(1. 南京师范大学 国家乳品加工技术研发分中心, 江苏 南京 210097;

2. 宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘 要: 采用脱脂乳为原料, 利用四步反相高压液相色谱从 *Lactobacillus helveticus* 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 制作的酸乳中分离到两种血管紧张素转化酶 I (angiotensin I -converting enzyme, ACE) 抑制肽 VPP 和 IPP, 测得它们抑制 ACE 活性的 IC₅₀ 分别为 8.89 μmol/L 和 5.17 μmol/L。根据氨基酸序列分析的结果, 构建 VPP 和 IPP 的分子结构, 通过分子柔性对接方法研究它们与 ACE 相互作用的分子机理, 确定它们的作用位点、作用力类型及相互作用能。结果表明: VPP、IPP 和 ACE 的活性口袋之间均形成 3 个氢键, 且存在疏水, 亲水等作用力, IPP 与 ACE 之间的结合较 VPP 更稳定, 与 IPP 比 VPP 具有较低的 IC₅₀ 值的实验结果相一致。

关键词: VPP; IPP; ACE 抑制肽; 分子模拟

Molecular Mechanism Study of Targeting of Two Angiotensin-converting Enzyme Inhibitory Peptides

GUO Hui-qing¹, MAO Hui¹, ZHAO Bo¹, PAN Dao-dong^{1,2,*}

(1. Branch Center of National Dairy Processing Technology Developing, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China

2. Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Two angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides VPP and IPP were purified from the sour milk fermented with *Lactobacillus helveticus* JCM1004 and *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 by using four-step reverse-phase HPLC. VPP and IPP had 50% inhibition of ACE (IC₅₀) of 8.89 μmol/L and 5.17 μmol/L, respectively. According to their amino acid sequence, the molecular structure of VPP and IPP were simulated, and the molecular mechanism for the function position, type and energy of the interaction between ACE inhibitory peptides and ACE were investigated by the flexible molecule docking technology. It was shown from the theoretical calculation that the three hydrogen bonds existed between the bioactive peptides poses of VPP and IPP. Hydrophobic and hydrophilic interactions also existed between residues at the ACE active site and the peptide poses. The binding between IPP and ACE was more stable than VPP with ACE. This is in good agreement with the experimental result that the IC₅₀ value of IPP is lower than that of VPP.

Key words: VPP; IPP; ACE inhibitory peptides; molecular modeling

中图分类号: Q518.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)23-0001-05

血管紧张素转化酶 I (angiotensin I - converting enzyme, ACE, EC 3.4.15.1) 是一种哺乳动物组织中普遍存在的 Zn²⁺ 依赖型羧基二肽酶, 为膜整合的单链糖蛋白。它可将无升压活性的血管紧张素 I (Asp-Arg-Va-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu) 末端的二肽(His-Leu)切割下来, 使

之转变为有较强血管收缩调节活性的血管紧张素 II (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe); 同时, 该酶还能使缓激肽失活, 转变为没有活力的缓释肽, 从而使血管平滑肌收缩, 导致血压升高^[1-6]。ACE 抑制肽是经蛋白质分解酶的作用而产生的一类具有抑制 ACE 活性的多肽物质,

收稿日期: 2010-03-18

基金项目: 国家“863”计划项目(2007AA10Z320); 江苏省自然科学基金项目(BK2009403);

宁波市自然科学基金项目(2009A610180)

作者简介: 郭慧青(1983—), 女, 硕士研究生, 主要从事乳品科学研究。E-mail: qqnjnu@163.com

* 通信作者: 潘道东(1964—), 男, 教授, 博士, 主要从事乳品科学研究。E-mail: daodongpan@163.com

它通过抑制 ACE 的活性,阻止血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II 反应的发生以及缓激肽的裂解,从而起到降低高血压的作用。

乳蛋白是一种全价蛋白质,除了作为人类主要的膳食蛋白外,还是多种生物活性物质的主要来源。近年来,国内外的研究表明,乳源性 ACE 抑制肽具有安全性高、无副作用等优点^[4]。对乳源性 ACE 抑制肽的研究也因此成为了一个新的热点,但研究多集中在 ACE 抑制肽的生产方法和分离途径上,对 ACE 抑制肽的构效关系和抑制机理鲜有报道。

本研究从具有较强蛋白分解酶系统的 *Lactobacillus helveticus* JCM 1004 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 所制作的酸乳中分离出具有较强抗高血压作用的活性肽 VPP 和 IPP,进行氨基酸序列分析并测试它们的抑制 ACE 活性的 IC₅₀;根据氨基酸序列分析的结果,采用分子模拟的方法,构建 VPP 和 IPP 的分子结构,研究其与 ACE 作用的分子机理,这方面的研究对于了解其关键结构,设计活性更高的抑制剂都具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

脱脂乳粉 市售; *Lactobacillus helveticus* JCM 1004、*Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 实验室筛选保藏菌株; hippuryl-l-histidyl-l-leucine (HHL)、angiotensin- I converting enzyme (ACE)、4-(2-hydroxyethyl) piperazine-1-erhanesulfonic acid (HEPES) Sigma 公司;其他试剂购自于南京生兴生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

超净工作台 上海上净净化食品有限公司; PHS-3C 精密 pH 计 上海雷磁仪器厂; 722 可见分光光度计 上海棱光技术有限公司; CL-22M 高速冷冻离心机 赛特湘仪离心机仪器有限公司; 立式压力蒸汽灭菌器 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; μ Bondasphere C₁₈ (3.9mm × 150mm) 色谱柱 美国 Waters 公司; YMC-Pack ODS-AP-303 (4.6mm × 250mm) 色谱柱、TSK- Octadecyl 4PW (3.9mm × 150mm) 色谱柱、YMC-Pack ODS-100S (3.9mm × 150mm) 色谱柱 日本 YMC 公司; Discovery Studio 2.1 (DS 2.1) 软件包 创腾科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 酸乳的制备及预处理

取 10g/100mL 脱脂乳在 90℃ 条件下杀菌 15min, 杀菌结束后冷却到 37℃, 无菌操作条件下, 接种体积分数 4.0% 的 *Lactobacillus helveticus* JCM1004 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 所制作的发酵剂, 在 40℃ 条件下培养发酵 10h, 培养发酵结束后用 50% 的乳酸将其 pH 值调节至 3.4~3.6, 8000r/min 离心 10min, 收

集上清液, 再用 10g/100mL 的氢氧化钠溶液调 pH8.3, 8000r/min 离心 10min, 收集上清液冷冻干燥后, 用于抑制 ACE 活性及多肽含量的测定。多肽含量的测定采用 Church 等^[7]的方法。

1.3.2 抗高血压肽的分离^[8]

将酸乳冻干粉溶于洗脱液 A (乙腈 - 水 - 三氧乙酸的体积比 100:900:1), 再用孔径为 0.2 μ m 的过滤膜过滤, 除去大分子物质, 滤液再经四步反相高压液相色谱^[8]分离精制得抗高血压活性肽。将 1.0mL 上述滤液通过以下 4 个色谱柱, μ Bondasphere C₁₈ 采用梯度洗脱, 在 0~40min 洗脱时间内, 洗脱液 B (乙腈 - 水 - 三氧乙酸体积比 100:900:1) 的体积分数从 0% 上升至 45%, 在 41~70min 洗脱时间内, B 的体积分数从 45% 升至 75%, 在 71~90min 洗脱时间内, B 的体积分数从 75% 升至 100%。YMC-Pack ODS-AP-303、YSK-Octadecyl 4PW 色谱柱的洗脱液、洗脱梯度同上。将第 3 个色谱柱所得活性较高样品溶于洗脱液 A (乙腈 - 水 - 三氧乙酸体积比 100:900:0.8), 过 YMC-Pack ODS-100S 色谱柱, 洗脱液 B (乙腈 - 水 - 三氧乙酸体积比 100:900:0.8) 梯度如下, 在 0~45min 洗脱时间内, 从 0% 升至 40%, 在 46~75min 洗脱时间内, 从 41% 升至 70%, 在 76~90min 洗脱时间内, 从 71% 升至 100%。各阶段洗脱液的流速均为 1.0mL/min, 检测波长为 215nm, 收集各个峰的洗脱液, 冷冻干燥后进行抑制 ACE 活性实验。

1.3.3 抑制 ACE 活性测定

抑制 ACE 活性的测定采用 Cushman 等^[9]的方法做适当改进^[6,10]。用含有 0.3mol/L NaCl 的 0.1mol/L 硼酸盐缓冲液 (pH8.3) 将 Hip-His-Leu 配成 5.0mmol/L 的溶液。在 10mL 试管中分别加入 200 μ L 的 5mmol/L Hip-His-Leu 溶液和 80 μ L 的酸乳上清液 (或溶于蒸馏水的多肽溶液), 于 37℃ 条件下保温 3min 后, 再加入 20 μ L ACE 溶液 (溶解于蒸馏水中, 活力为 0.1U/mL), 混匀后在 37℃ 下保温 30min, 再加入 250 μ L 的 1.0g/100mL 盐酸溶液以终止反应, 再加入 1.7mL 醋酸乙酯, 经 15s 振荡混匀后, 静置 5min, 用移液管吸取 1.0mL 的醋酸乙酯层, 真空冷冻干燥后, 加入 1.0mL 蒸馏水, 混匀后在 228nm 波长处测定吸光度。在上述条件下, 抑制 50% 的 ACE 活性 (IC₅₀) 为样品的一个活性单位。IC₅₀ 为抑制 50% 的 ACE 活性所需抑制剂的浓度。

$$\text{ACE 抑制率} / \% = \frac{B-A}{B-C} \times 100$$

式中: A 为含有酸乳乳清 (或溶于蒸馏水的多肽溶液) 和 ACE 溶液的吸光度; B 为不含发酵乳乳清 (或溶于蒸馏水的多肽溶液) 样品, 但含有 ACE 溶液; C 为含脱脂乳乳清 (或蒸馏水) 和 ACE 溶液。

1.3.4 肽的氨基酸组成及序列测定

将多肽溶解于 6g/100mL HCl 中, 在真空下于 110℃ 条件下水解 24h, 用高压液相色谱系统测定其氨基酸的组成, 肽的氨基酸序列分析采用序列分析仪。

1.3.5 分子模拟方法

分子力学与分子动力学模拟采用 Discovery Studio 2.1 (DS 2.1) 软件包, 在 CHARMm 力场下完成^[11-16]。ACE 结构来自 PDB 结构数据库(PDB code: 1UZE.pdb), 将 ACE 配合物中的抑制剂分子依那普利(enalaprilat)和水分子去掉, 保留辅因子 Zn^{2+} 和 Cl^{-} 得到 ACE 对接结构。将小肽对接范围设定为 8Å, 用 Flexible Docking 工具将配体 (VPP, IPP) 柔性对接到受体 ACE 中, 通过比较对接结果的打分值来获得最终的稳定构象, 最后计算配体-受体配合物的相互作用结合能。

2 结果与分析

2.1 酸乳中 ACE 抑制肽的分离鉴定

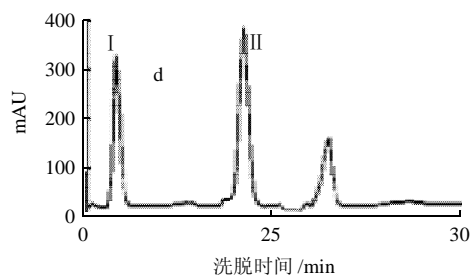


图1 酸乳中ACE抑制肽的反相高压液相色谱图

Fig.1 Reversed-phase HPLC elution profiles detected at 215 nm of sour milk

酸乳中抗高血压肽的分离结果如图1所示。上述四步色谱柱分离进行完毕后, 色谱图上呈现3个单独吸收峰, 经测定, 其中峰I和峰II具有较强的抗ACE活性功能, 将这两个峰的收集液分别用其他色谱柱分离均显示单一吸收峰, 这表明, 经上述四步反相高压液相色谱分离得到的样品已比较纯净。且峰I和峰II的ACE抑制活性分别为419U和496U, 而原冻干酸乳粉为1342U, 峰I和峰II抗ACE活性回收率之和占原分离样品(酸乳粉)抗ACE活性的68.18%, 由此表明酸乳的抗ACE活性主要是峰I和峰II所含活性肽所起的作用。

表1 ACE活性抑制物质的氨基酸序列及其 IC_{50} 值

Table 1 Amino acid sequence of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitor and the concentration of ACE inhibitor need to inhibit 50% of the ACE activity (IC_{50})

峰	氨基酸序列	氨基酸比率	$IC_{50}/(\mu\text{mol/L})$
I	Val-Pro-Pro	1.00:1.95(Val:Pro)	8.89
II	Ile-Pro-Pro	1.00:2.06(Ile:Pro)	5.17

由表1肽的氨基酸组成及序列分析可知, 峰I的氨基酸组成为Val 1.0和Pro 1.95, 峰I为Val-Pro-Pro (VPP); 峰II的氨基酸组成为Ile 1.0和Pro 2.06, 它为Ile-Pro-Pro(IPP)。VPP和IPP的 IC_{50} 值分别为 $8.89\mu\text{mol/L}$ 和 $5.17\mu\text{mol/L}$ 。VPP和IPP的分子结构如图2所示。

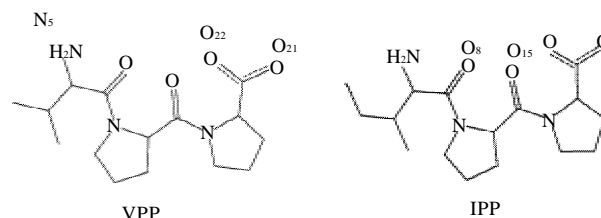
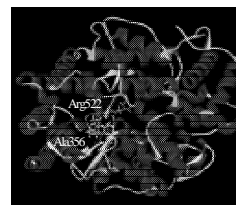


图2 VPP与IPP的分子结构

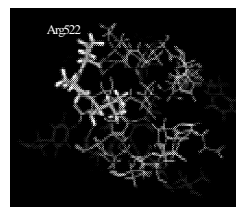
Fig.2 Chemical structural formula of VPP and IPP

2.2 ACE抑制肽的分子模拟

为了在分子水平上了解ACE抑制肽与ACE相互作用的机理, 用DS 2.1软件包Flexible Docking模块, 采用分子动力学柔性对接的方法模拟相互作用的具体情况。对接结果以LibDockScore、LigScore1、LigScore2、PLP1、PLP2、Jain、PMF、PMFO4等打分函数的打分, 同时综合考虑配体与受体形成氢键的数目以及二者相互作用能量的高低, 来判断最稳定的构象。经计算总共获得了64种不同构象, 以打分最高的前20种构象为研究对象, 选取最稳定的构象(VPP和IPP)如图3、4所示。



a. VPP与ACE相互作用整体图



b. VPP与ACE相互作用局部图

线状模式显示出来的氨基酸为ACE活性口袋周围的氨基酸残基, 棒状模式显示的为小肽分子。苯丙氨酸(Phe391, 527)、丙氨酸(Ala356, 354, 412)、缬氨酸(Val380, 518)、异亮氨酸(Ile413)等8个氨基酸残基是ACE整个活性口袋周围的疏水性氨基酸残基; 组氨酸(His353, 383, 387, 410, 513)、谷氨酸(Glu384, 411)、天冬氨酸(Asp415)、精氨酸(Arg522)等9个氨基酸残基是活性口袋周围的亲水性氨基酸残基; 虚线为分子间氢键。图4同。

图3 VPP与ACE的相互作用图

Fig.3 Interaction schemes of VPP and ACE

研究表明, VPP 与 ACE 活性口袋周围的氨基酸残基存在氢键、疏水、亲水等作用。在 VPP 与 ACE 的对接结果中, 按 LibDockScore 降序排列, 再综合比较各个打分函数的打分值, 构象 10 是最优构象, 如表 2 所示。

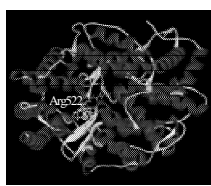
表 2 VPP 与 ACE 之间形成氢键的键长与键角

Table 2 Length and angle of hydrogen bond between VPP and ACE

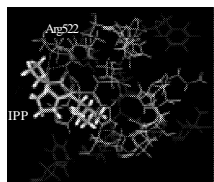
X—H...Y	d(X—H)	d(H...Y)	d(X...Y)	(XHY)
Ala356: O...H ₃₂ —N ₅	1.013	2.081	2.810	127.0°
Arg522: NH ₁ —HH ₁₂ ...O ₂₂	1.070	2.229	2.859	115.6°
Arg522: NH ₁ —HH ₁₂ ...O ₂₁	1.070	1.738	2.793	167.8°

注: X、Y 为氢键成键原子; d. 原子间距离; (XHY). 氢键键角。表 3 同。

VPP 与 ACE 活性口袋之间形成 3 个氢键, ACE 356 位的丙氨酸与 VPP 的 N₅ 原子通过 H₃₂ 形成氢键, 键长 2.810Å, 键角 127.0°; 522 位的精氨酸的 NH₁ 与 VPP 的 O₂₂ 原子通过 HH₁₂ 形成氢键, 键长 2.859Å, 键角 115.6°; 精氨酸的 NH₁ 与 VPP 的 O₂₁ 原子通过 HH₁₂ 也形成氢键, 键长 2.793Å, 键角 167.8°, 可以看出, 3 个氢键中, 通过 O₂₁ 原子形成的氢键键长最短, 键角最大, 作用力最强, 在 VPP 与 ACE 的相互作用中起着关键作用。总之, VPP 与 ACE 所形成的氢键较强。VPP 中的缬氨酸、脯氨酸都为疏水性氨基酸, 与 ACE 活性口袋周围的疏水性氨基酸形成疏水作用力。VPP 分子中的亲水性基团(氨基、羰基、羧基)与 ACE 活性口袋周围的大量亲水性氨基酸形成很强的亲水作用力。氢键、亲水、疏水等作用力共同稳定了 VPP 与 ACE 复合物的构象(图 4)。



a. IPP 与 ACE 相互作用整体图



b. IPP 与 ACE 相互作用局部图

图 4 IPP 与 ACE 的相互作用图

Fig.4 Interaction schemes of IPP and ACE

在 IPP 与 ACE 的对接结果中, 按 LibDockScore 降序排列, 再综合比较各个打分函数的打分值, 构象 11 是最优构象。

表 3 IPP 与 ACE 之间形成氢键的键长与键角

Table 3 Length and angle of hydrogen bond between IPP and ACE

X—H...Y	d(X—H)	d(H...Y)	d(X...Y)	(XHY)
Arg522: NH ₁ —HH ₁₂ ...O ₈	1.070	2.335	2.729	99.8°
Arg522: NH ₁ —HH ₁₂ ...O ₁₅	1.070	2.000	2.939	144.7°
Arg522: NH ₂ —HH ₂₂ ...O ₁₅	1.070	2.145	3.039	139.5°

如表 3 所示, IPP 与 ACE 活性口袋之间也形成 3 个氢键, ACE 522 位精氨酸的 NH₁ 与 IPP 的 O₈ 原子通过 HH₁₂ 形成氢键, 键长 2.729Å, 键角 99.8°; 同时, 精氨酸的 NH₁ 还通过 HH₁₂ 与 O₁₅ 形成氢键, 键长 2.939Å, 键角 144.7°; 精氨酸的 NH₂ 通过 HH₂₂ 与 O₁₅ 形成氢键, 键长 3.039Å, 键角 139.5°。3 个氢键中, 综合键长键角的情况, NH₁ 与 O₁₅ 原子形成的氢键作用力最强, 在 IPP 与 ACE 的相互作用中起着关键作用。总之, IPP 与 ACE 形成的氢键作用较强。IPP 中的异亮氨酸和脯氨酸均为疏水性氨基酸, 与 ACE 活性口袋周围的疏水性氨基酸形成了疏水作用力。IPP 分子中的亲水性基团(氨基、羰基、羧基)也与 ACE 活性口袋周围的大量亲水性氨基酸形成了很强的亲水作用力。氢键、亲水、疏水等作用力共同稳定了 IPP 与 ACE 复合物的构象。

表 4 生物活性肽与 ACE 活性位点相结合, 通过分子对接所产生的最稳定构象的结合能值

Table 4 Affinity energy values for the best poses obtained by automated molecular docking of bioactive peptides (VPP and IPP) at the ACE-binding site

ACE 抑制肽	结合能值/(kJ/mol)	IC ₅₀ /(μmol/L)
VPP	-46.71	8.89
IPP	-50.06	5.17

VPP 与 IPP 都为三肽, 无论在体内还是体外, 都具有较强的 ACE 抑制活性。它们只有第一个氨基酸残基是不同的, 结构极其相似(图 2), 这就决定了它们与 ACE 作用的相似性, 它们都与 ACE 522 位的精氨酸形成很强的氢键, 可见 ACE 522 位的精氨酸为其活性口袋内的关键氨基酸, 在配体与受体的结合中起着重要的作用。VPP 与 IPP 结构中, IPP 第一个氨基酸中比 VPP 多一个甲基, 这可能是其性质略有差异的主要原因。另外, 结合能是衡量一组配体和目标受体结合强弱的最重要的参数, 如表 4 所示, VPP 最稳定构象(构象 10)的结合能为 -46.71kJ/mol, IPP 最稳定构象(构象 11)的结合能为 -50.06kJ/mol, 表明配体 VPP、IPP 与受体 ACE 之间均有很强相互作用。但 IPP 的结合能值较 VPP 更低, 表明 IPP 与 ACE 的结合比 VPP 与 ACE 的结合更稳定。这也与实验中所得出的 IPP 比 VPP 具有较低的 IC₅₀ 的实验结果相一致。

3 结 论

以脱脂乳为原料,通过四步反相高压液相色谱从 *Lactobacillus helveticus* 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 制作的酸乳中分离到两种抗高血压肽 VPP 和 IPP。经测定,它们抑制 ACE 活性的 IC_{50} 分别为 8.89mol/L 和 5.17mol/L; 根据氨基酸序列分析的结果,构建了 VPP 和 IPP 的分子结构,通过分子柔性对接方法研究了它们与 ACE 相互作用的分子机理,确定了它们的作用位点、作用力类型及相互作用能。结果表明,VPP、IPP 和 ACE 的活性口袋之间均形成三个氢键,且存在较强的疏水、亲水等作用力,相互作用的结合能分别为 -46.71、-50.06kJ/mol,IPP 与 ACE 之间的结合较 VPP 更稳定,与 IPP 比 VPP 具有较低的 IC_{50} 值的实验结果相一致。

参考文献:

- [1] 吴炜亮,吴国杰,梁道双,等. ACE抑制肽的生理功能和研究进展[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 251-254.
- [2] 张艳,胡志和. 乳蛋白源ACE抑制肽的研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 634-640.
- [3] FITZGERALD R J, MEISEL H. Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme[J]. British Journal of Nutrition, 2000, 84(Suppl1): 33-37.
- [4] 赵树平. 乳杆菌发酵乳中ACE抑制活性和 μ -氨基丁酸的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008.
- [5] HAQUE E, CHAND R. Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins[J]. Eur Food Res Technol, 2008, 227(1): 7-15.
- [6] 郭宇星. 微生物发酵法水解乳清粉制备生物活性肽的研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2006.
- [7] CHURCH F C, SWAISGOOD H E, PORTER D H, et al. Spectrophotometric assay usingo-phthalaldehyde for determination of proteolysisin milk an disolated milk protein[J]. J Dairy Sci, 1983, 66(6): 1219-1227.
- [8] 潘道东. 酸乳中抗高血压肽的分离及其特性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 205-210.
- [9] CUSHMAN D W, CHEUNG H S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung[J]. Biochem Pharmacol, 1971, 20(7): 1637-1648.
- [10] 田俊英,潘道东,郭宇星. 瑞士乳杆菌蛋白酶水解酪蛋白制备血管紧张素转化酶抑制肽的条件优化[J]. 食品科学, 2009, 30(11): 170-174.
- [11] 毛慧,蔡炳锋,赵波,等. 5-硝基-1H-咪唑-2-羧酸与牛血红蛋白相互作用的分子模拟与光谱研究[J]. 化学研究与应用, 2009, 21(5): 675-679.
- [12] 毛慧,蔡炳锋,赵波,等. 苏丹红 II 与肌红蛋白相互作用的分子模拟与实验[J]. 应用化学, 2009, 26(11): 1332-1335.
- [13] PINA A S, ROQUE A C. Studies on the molecular recognition between bioactive peptides and angiotensin converting enzyme[J]. Mol Recognit, 2009, 22(2): 162-168.
- [14] 赵钰岚,许传莲. 血管紧张素转换酶的结构功能及相关抑制剂[J]. 生物工程学报, 2008, 24(2): 171-176.
- [15] 王伟,沈生荣,冯凤琴,等. 基于药效团的血管紧张素转换酶抑制肽的结构优化[J]. 中国科学, 2008, 38(4): 357-364.
- [16] 郑清川,楚慧郢,牛瑞娟,等. 人类乙酰胆碱酯酶(AChE)与抑制剂小分子的对接研究[J]. 中国科学 B 辑: 化学, 2009, 39(11): 1454-1460.