

抗菌肽在中药生物工程中的应用前景

董燕, 周联, 王培训

(广州中医药大学 免疫与分子生物学研究室, 广东 广州 510405)

摘要: 中药栽培中的病害问题以及农药的施用都对中药品质造成不良影响。抗菌肽是具有广谱抗微生物活性的小分子肽, 已成为植物基因工程抗病育种研究的热点, 并在多种植物中实现了表达, 获得了抗菌性增强的植株。将外源抗菌肽基因转入中药植株中, 增强其抗微生物活性, 在中药的种植和中药新品种的开发上展现出诱人的前景。

关键词: 中药; 抗菌肽; 基因工程

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)05-0780-04

Application and prospect of antimicrobial peptides in biological engineering of Chinese materia medica

DONG Yan, ZHOU Lian, WANG Pei-xun

(Department of Immunology and Molecular Biology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Key words: Chinese materia medica; antimicrobial peptides; gene engineering

我国是中药的发源地和最大的生产使用国, 犹如其他经济作物, 中药的大面积栽培同样存在病害问题, 且某些中药植株的病害较为严重, 导致罹病株成片枯死。在病害防治中, 常常需先清除病叶残体, 再施用化学农药, 不仅耗费人力、物力, 还造成土壤环境的污染以及残毒对中药品质的影响。而且, 化学农药的经常使用也会导致病菌、害虫耐药性的逐渐产生和增强。

按照《中药材生产质量管理规范》(GAP)的生产绿色中药材的目标, 在病害防治中应优先选用抗病品种, 但以常规育种手段难以获得, 利用基因工程技术有可能在传统中药材中引入有用的新遗传特性, 提高植株抗病能力。而目前大多数可利用的抗病基因的抗性谱不广, 如抗细菌的溶菌酶、番茄 pto 基因等, 抗真菌的几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶基因等, 抗病毒的病毒外壳蛋白(cp)、动物来源的干扰素基因等。由于抗菌肽具有广谱抗菌活性和快速杀菌能力, 不易产生耐药突变株, 对耐药性菌同样具有杀灭活性^[1], 与其他抗病基因相比具有独特的优势, 因而已成为植物基因工程抗病育种研究的热点之一, 并且已获得抗真菌、抗细菌、抗病毒的转基因植株。本文就抗菌肽的结构、活性及其在中药生物工程中的应用前景作一综述。

1 抗菌肽的分类与结构

抗菌肽是一类具有广谱抗微生物活性的小分子多肽, 是机体先天非特异性免疫中起重要作用的一类免疫效应因子, 广泛存在于哺乳动物、鸟类、两栖类、昆虫、植物等生物体内。

这些抗菌肽绝大部分都是带正电荷的阳离子型。

阳离子型抗菌肽种类繁多, 不同生物来源和结构特点的抗菌肽, 其抗微生物活性有所不同^[2], 名称也有不同。目前研究较多的主要有4类: 来源于昆虫的天蚕素类抗菌肽(cerropin), 富含甘氨酸的蜂毒素(melittin), 富含半胱氨酸、存在于昆虫和动植物的防御素(defensin), 富含脯氨酸、来源于青蛙的蛙皮素(magainin)。

抗菌肽通常由不到50个氨基酸残基组成, 含有多个碱性氨基酸残基使其带有净正电荷, 还有占50%或更多的疏水残基^[3]。总体来看, 各种抗菌肽的一级结构有一定的保守性, 其N端富含赖氨酸或精氨酸, C端富含丙氨酸、甘氨酸等非极性氨基酸, 中间部分则富含脯氨酸。

基于抗菌肽的二级结构可分为4种类型: ① α -螺旋型, 如天蚕素类抗菌肽、蛙皮素等; ②以二硫键固定的 β -折叠型, 如动物 α -防御素、 β -防御素; ③伸展结构型(线性); ④环状结构型。前两类结构普遍存在于天然抗菌肽中, 而不论是 α -螺旋型还是 β -折叠型, 抗菌肽的共同特点是能够形成两亲结构, 且通常是在与细胞膜或膜的类似物发生相互作用时形成^[3]。

2 抗菌肽的活性与作用机制

抗菌肽具有广谱抗微生物活性, 它不仅能杀死细菌、真菌、原虫等病原微生物, 抑制病毒的繁殖与扩散, 而且也能杀死癌细胞。某些抗菌肽又只对原核生物和突变细胞起作用, 而对真核生物无作用。其最小抑制浓度(MIC)为0.25~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[4], 特别对一些耐药菌, 如伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌

收稿日期: 2004-09-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30271651); 广东省自然科学基金资助项目(04300450)

作者简介: 董燕(1969-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为分子生物学技术在中医药研究中的应用。

Tel: (020)36585479 E-mail: dondy001@163.com

等同样敏感。

抗菌肽的作用机制独特,微生物不易对其产生耐药性,而且能与抗生素发生协同作用,逆转细菌耐药。目前主要认为是带正电的抗菌肽与带负电的微生物细胞膜作用,使细胞膜产生穿孔现象,造成内容物溢出胞外而死亡。大部分抗菌肽都在5 min内迅速引起细胞膜损伤,导致细胞死亡^[5]。某些抗菌肽并不破坏膜结构,而是穿过细胞膜或核膜,作用于胞内大分子^[6],如DNA、RNA和蛋白质分子,导致其合成受抑制,某些酶也是抗菌肽的作用靶标。

抗菌肽能抑制被膜病毒的繁殖与扩散,在抗菌肽对疱疹病毒(HSV-1)^[7]、烟草花叶病毒(TMV)^[8]、I型人免疫缺陷病毒(HIV-1)^[9]的研究中,发现抗菌肽可以从核酸复制到病毒颗粒包装的全过程进行干扰,抑制病毒基因表达,起到抑制细胞内病毒复制、快速抵御病毒扩散的作用。

真菌属于真核细胞,与细胞不同,具有甲壳质或纤维素构成的细胞壁,研究发现,正在萌发的真菌孢子比非萌发的真菌孢子对抗菌肽要敏感得多,因而推测真菌孢子在萌发时为抗菌肽与膜作用提供了机会。

3 抗菌肽的转基因植物研究

由于抗菌肽的广谱抗微生物活性,将抗菌肽基因转入植物,提高其抗细菌、抗真菌及抗病毒的能力已成为植物基因工程的研究热点。在植物基因工程抗病育种中研究较多的是天蚕素和防御素,且人工设计的抗菌肽在转基因植物中表现出了更好的活性。

3.1 天蚕素:天蚕素是来源于昆虫的抗菌肽,在体外实验中表现出较强的广谱抑菌活性,在几种肽对引起梨树火烧病的欧文氏菌 *Erwinia amylovora* Winslow 的抗性实验中发现,与来自谷物的噁吩硫素、动物的溶菌酶和微生物的T4溶菌酶相比,天蚕素具有更强的抗菌活性,尤其能有效抵御一些植物病原菌,而且在杀菌浓度下未表现出对植物细胞的毒性^[10],可作为转基因研究中的备选基因。

天蚕素由31~39个氨基酸组成,相对分子质量约为4 000,具有两性 α -螺旋结构,其N端带正电荷,C端为疏水区。天蚕素已在烟草、马铃薯、水稻、大白菜和苹果等植株中进行了转化研究,并首先在转基因烟草和马铃薯研究中获得了抗病性增强的植株,但也有报道在天蚕素B以及天蚕素B/天蚕素A杂合肽的转基因植物中抗病性没有变化,其原因在于宿主蛋白酶的降解作用^[11]。

不同作物对抗菌肽的降解率不同^[12],天蚕素B在马铃薯中的半衰期为3 min,在烟草中为2.5 h,在水稻中为25.5 h。在转基因水稻中,将天蚕素B与水稻的几丁质酶信号肽序列融合表达,有利于提高天蚕素B的转录水平,且天蚕素B分泌至细胞间隙,有助于防止细胞内的降解^[13]。用梨的叶片提取液处理几种昆虫抗菌肽,也观察到抗菌肽的降解和抗菌活性降低^[14]。由于抗菌肽在不同植物中的稳定性不同,为保持抗菌肽在细胞外空间的抑菌浓度,要设计合理的表达策略才能获得抗病植株。

3.2 防御素:防御素是一类富含半胱氨酸、具有分子内二硫

键、相对分子质量约在4 000左右的阳离子抗菌肽,分布于哺乳动物、昆虫和植物体内。

在来源于植物的防御素DmAMP1(来自光滑大丽花 *Dahlia mercki* Lehm. 种子)和RsAFP2(来自萝卜 *Raphanus sativus* L. 种子)的转拟南芥研究中,可观察到DmAMP1、连接肽和RsAFP2作为一个编码区的表达水平明显高于DmAMP1单体的表达水平,提示多聚蛋白表达策略可能是一个有效的表达小分子多肽的方法^[15]。在来源于苜蓿种子的防御素alfAFP基因转化马铃薯研究中获得了对轮枝孢菌 *Verticillium dahliae* Klebahn 的抗性株,并且在田间种植情况下仍能保持很好的抗菌活性^[16]。

哺乳动物防御素具有更为广谱的抗微生物活性,同时也具有细胞毒性。兔防御素NP-1(neutrophil peptide-1)是迄今表现出抗微生物最广泛、活性最强的防御素之一,还可抑制杀肿瘤细胞,尤其与其他抗菌肽相比,NP-1表现出对多种真菌有明显的抑制作用,对番茄青枯病、小麦赤霉病和棉花枯萎病等的病原菌具有很好的抑菌效果^[17]。对兔防御素NP-1基因的转化烟草^[18]和番茄^[17,19]研究中,培育出了抗烟草花叶病毒的转基因植株,转基因番茄植株的蛋白粗提液表现出明显的抑菌效果。由于NP-1对靶细胞的杀伤作用与靶细胞膜的脂质成分有关^[20],而原核细胞与真核细胞的结构,尤其是膜结构的不同,所以,在植物中表达防御素对植物细胞本身具有杀伤作用的担心可能是不必要的,且在防御素转基因植物的研究中也未观察到对植物细胞的毒性。

3.3 人工设计抗菌肽:在揭示抗菌肽结构与功能关系的基础上,可对天然抗菌肽进行人工改造和设计,这类抗菌肽往往具有更好的靶细胞特异性和抗菌活性,与其天然来源的抗菌肽相比,对植物蛋白酶降解作用的敏感性降低。

人工设计的抗菌肽D4E1在对植物病原菌的杀菌浓度下对哺乳动物红细胞的溶血活性极低,在体外实验中可抑制约20种植物病原菌,包括细菌和真菌,且不易被蛋白酶降解。Cary等将D4E1抗菌肽的基因转入烟草,转基因株表现出明显的对炭疽病的抗性,表达D4E1的植物蛋白粗提液能显著抑制产黄曲霉毒素真菌和 *V. dahliae* Klebahn 的生长。在对蛋白酶敏感性实验中发现,在烟草粗提液中添加蛋白酶抑制剂后,再加入D4E1,其抗真菌活性无变化,说明D4E1的稳定性较好,不易被蛋白酶降解^[21]。

有些抗菌肽的抗菌活性强但又具有溶血作用,可对其分子进行人工设计和改造,如杂合肽CEMA的C端是来自天蚕素A的8个氨基酸残基,N端则是来自蜂毒素的16个氨基酸,其后又添加2个带正电荷的赖氨酸,既保留了强抗菌活性,又降低了蜂毒素的溶血活性。然而前期研究工作显示CEMA对植物仍然具有毒性^[22]。Osusky等利用软件设计了MsrA1肽,即在CEMA的N端添加了6个氨基酸,并预测可形成两性 α -螺旋结构。体外抑菌实验表明MsrA1具有广谱抗菌活性,但活性低于CEMA。将其编码基因msrA1转入马铃薯Desiree和Russte Burbank品系,获得的转基因植株在抗病性实验中表现出对植物病原菌 *Phytophthora cacto-*

rum Schroter, 镰刀菌 *Fusarium solani* Saccardo 和欧文氏菌具有明显的抗性。马铃薯块茎长期贮存于 4℃ 达 1 年时仍保持了对病原菌的抗性, 也说明块茎中 MsrA1 可以保持一定的浓度并具有生物活性, 而且以这种块茎喂养小鼠未观察到毒性反应。但研究中发现 Russet Burbank 品种的转基因马铃薯植株在形态上有所改变, 出现所谓模拟性损害 (lesion-mimic), 包括叶片拳曲和块茎缩小; 而 Desiree 品种的转基因植株未出现形态学和产量上的变化, 表达 MsrA1 的转基因烟草也同样表现出广谱抗菌活性和正常的形态, 并具有遗传稳定性。由此说明, 模拟性损害的出现与植物种类有关^[22]。

4 抗菌肽在中药生物工程中的应用前景

自 20 世纪 90 年代初首次报道在烟草和马铃薯中进行转抗菌肽基因研究以来, 迄今已在多种植物中实现了外源抗菌肽的表达, 其蛋白提取液具有抗微生物活性, 而且已有转抗菌肽基因植物在田间种植时仍具有抗菌活性的报道。因此, 利用生物技术将外源抗菌肽基因转入中药植株中, 赋予其有利的遗传特性, 在中药的种植和中药新品种的开发上具有诱人的前景。

一方面, 利用外源抗菌肽培养出中药抗病新品种, 可减少农药的施用, 将有利于实现中药的规范化种植和“绿色药材”的生产。目前, 抗菌肽基因转化中药植株培养抗病新品种的研究已有报道。为提高广藿香植株抗病能力, 防治青枯病, 张家明等将昆虫抗菌肽天蚕素 B 和 D 基因克隆到双元表达载体 pBin19 上, 构建成双价抗菌肽基因表达载体, 通过农杆菌介导转化广藿香, 获得的转基因植株在与病原菌假单胞菌 *Pseudomonas solanacearum* Yabuuchi 的盆栽接菌试验中表现出较强的抗病性^[23]。

另一方面, 在转基因中药植株中表达外源抗菌肽, 有可能获得新增的活性成分。抗菌肽被称为天然抗生素^[24], 特别对一些难治性疾病的病原微生物, 如爱滋病毒、疱疹病毒、肝炎病毒等具有抑制作用, 某些抗菌肽还能特异性地抑制肿瘤细胞的生长, 而对正常细胞无害。此外, 抗菌肽还具有免疫调节、免疫增强活性, 能促进伤口愈合, 其药用价值不言而喻, 某些抗菌肽已进入临床试验阶段。但天然抗菌肽来源极为有限, 化学合成的成本很高, 不适于大规模生产, 且由于抗菌肽的抗菌活性, 应用基因工程技术在微生物中成功表达抗菌肽的例子很少。植物反应器具有上游生产成本 (包括发酵生产) 较低, 转基因植物自交后得到的同质后代的新遗传性状稳定遗传的特点, 因此将具有临床应用价值的抗菌肽在中药植株中表达, 有可能作为中药材的一种有效成分, 增强中药的抗炎活性而提高药效, 可用于中药新产品的开发, 同时省去了下游加工成本。此外, 可在中药有效成分分离提取工艺中获得抗菌肽, 开发抗菌肽的药用价值。

5 存在问题

综上所述, 抗菌肽的转基因植物研究已取得一定进展, 外源抗菌肽已在多种植物 (包括药用植物) 体内实现了表达, 并获得了抗病性增强的转基因植株。根据现有研究, 某种抗菌肽在不同植物中表达时, 其表达量、稳定性和对植物生长

的影响具有差异性。

提高外源抗菌肽在植物体内的表达量和活性是获得抗病植株的关键。已有研究表明, 多聚蛋白表达策略可能有利于小分子多肽的表达, 融合表达的融合肽往往具有各融合部分的优点。而构建多价表达载体使不同的抗菌肽在同一植物体内同时表达, 有可能使抗菌肽之间发挥协同作用而表现出更强的抗菌活性。由于不同抗菌肽在不同植物中的稳定性不同, 在细胞内与细胞外的稳定性也不同, 还要针对植物和抗菌肽的特性选择胞内表达或胞外表达等合适的表达方式, 以保持抗菌肽的抑菌浓度。

虽然某些抗菌肽尚未表现出对植物细胞的毒性, 某些抗菌肽对哺乳动物细胞无毒或毒性极低, 但目前在中药植株中表达抗菌肽的研究还极为有限, 外源抗菌肽对中药品质和原有药效是否有影响尚需深入研究。

References:

- [1] Hancock R E W. Peptide antibiotics [J]. *Lancet*, 1997, 349: 418-422.
- [2] Giacometti A, Cirioni O, Barchiesi F, et al. Antimicrobial activity of polycationic peptides [J]. *Peptides*, 1999, 20: 1265-1273.
- [3] Powers J P S, Hancock R E W. The relationship between peptide structure and antibacterial activity [J]. *Peptides*, 2003, 24: 1681-1691.
- [4] Hancock R E W, Lehrer R. Cationic peptides: a new source of antibiotics [J]. *Trends Biotech*, 1998, 16: 82-88.
- [5] Friederich C, Scott M G, Karunaratne N, et al. Salt-resistant alpha-helical cationic antimicrobial peptides [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43: 1542-1548.
- [6] Futaki S, Suzuki T, Ohashi W, et al. Arginine-rich peptides: an abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 5836-5840.
- [7] Baghian A, Jaynes J, Enright F. An amphipathic alpha-helical synthetic peptide analogue of melittin inhibits herpes simplex virus-1 (HSV-1) induced cell fusion and virus spread [J]. *Peptides*, 1997, 18(2): 177-183.
- [8] Mcros J F, Beachy R N, Houghten R A. Inhibition of plant virus by melittin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 12466-12499.
- [9] Wachinger M, Kleinschmidt A, Winder S. Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression [J]. *J Gen Virol*, 1998, 79: 731-740.
- [10] Mourgues F, Brisset M N, Chevreau E. Activity of different antibacterial peptides on *Erwinia amylovora* growth, and evaluation of the phytotoxicity and stability of cecropins [J]. *Plant Sci*, 1998, 139: 83-91.
- [11] Mills D, Hammerschlag F A, Nordeen R O, et al. Evidence for the breakdown of cecropin B by proteinases in the intercellular fluid of peach leaves [J]. *Plant Sci*, 1994, 104: 17-22.
- [12] Owens L D, Heutte T M. A single amino acid substitution in the antimicrobial defense protein cecropin B is associated with diminished degradation by leaf intercellular fluid [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 1997, 10(4): 525-528.
- [13] Sharma A, Sharma R, Imamura M, et al. Transgenic expression of cecropin B, an antibacterial peptide from *Bombyx mori*, confers enhanced resistance to bacterial leaf blight in rice [J]. *FEBS Lett*, 2000, 484(1): 7-11.
- [14] Mourgues F, Brisset M N, Chevreau E. Activity of different antibacterial peptides on *Erwinia amylovora* growth, and evaluation of the phytotoxicity and stability of cecropins [J]. *Plant Sci*, 1998, 139: 83-91.
- [15] Francois I E, de Bolle M F, Dwyer G, et al. Transgenic expression in arabidopsis of a polyprotein construct leading to production of two different antimicrobial proteins [J]. *Plant*

- Physiol*, 2002, 128(4): 1346-1358.
- [16] Gao A G, Hakimi S M, Mittanck C A, *et al.* Fungal pathogen protection in potato by expression of a plant defensin peptide [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(12): 1307-1310.
- [17] Zhang X H, Guo D J, Zhang L M, *et al.* The research on the expression of rabbit defensin(NP-1) gene in transgenic tomato [J]. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2000, 27(11): 953-958.
- [18] Fu R Z, Peng Y F, Cao G C, *et al.* Expression of rabbit defensin NP-1 gene in transgenic tobacco plants and its activity against bacterial wilt [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1998, 43(18): 1544-1550.
- [19] Zhang X H, Guo D J, Li W B, *et al.* Construction of transgenic tomato containing NP-1 gene through agrobacterium-mediated activity against *Fusarium oxysprum* [J]. *High Technol Lett*, 2000, 6(3): 76-79.
- [20] Hristova K, Selsted M E, White S H. Critical role of lipid composition in membrane permeabilization by rabbit neutrophil defensins [J]. *J Bio Chem*, 1997, 272(39): 24224-24233.
- [21] Cary J W, Ajasekaran K, Jaynes J M, *et al.* Transgenic expression of a gene encoding a synthetic antimicrobial peptide results in inhibition of fungal growth *in vitro* and in planta [J]. *Plant Sci*, 2000, 154: 171-181.
- [22] Osusky M, Zhou G, Osuka L, *et al.* Transgenic plants expressing cationic peptide chimeras exhibit broad-spectrum resistance to phytopathogens [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 1162-1166.
- [23] Zhang J, Sun X, Zheng X. Construction of cecropin B and D double gene expression vector and transformation of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) [J]. *Chin J Tropical Crops* (热带作物学报), 1997, 18(1): 50-57.
- [24] Hancock R E W, Lehrer R. Cationic peptides: a new source of antibiotics [J]. *Trends Biotechnol*, 1998, 16: 82-88.

槐属植物生物碱化学成分及药理作用研究进展

洪 阁, 刘培勋

(中国医学科学院 中国协和医科大学放射医学研究所, 天津 300192)

摘要:从槐属植物中分离出的生物碱主要为喹诺里西啶类,少数为双哌啶类和其他类。槐属植物所含生物碱具有广泛的生理活性,如抗癌、抗微生物、抗心律失常、抗溃疡、抗辐射、抑制中枢神经系统和免疫功能等。现对近年来槐属植物生物碱的化学成分及药理作用的研究概况进行综述。

关键词:槐属;生物碱;化学成分;药理作用

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)05-0783-06

Advances in studies on alkaloid constituents and their pharmacological effect in plants of *Sophora* Linn.

HONG Ge, LIU Pei-xun

(Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

Key words: *Sophora* Linn.; alkaloids; chemical constituent; pharmacological effect

槐属(*Sophora* Linn.)最早出现于1737年Linnaeus的《植物志属》一书,属于豆科蝶形花亚科,多为乔木、灌木和稀草本,目前已由当初记载的6种发展为90多种。槐属植物主要分布于温带和亚热带地区,我国南北各地约30多种。从多种槐属植物的花、叶、籽、根中可以提取到具有药用价值的生物碱、黄酮、酚、苷、萜以及少量的有机酸、甾体、糖、氨基酸等,而其中的生物碱具有抗癌、抗微生物、抗心律失常、抗溃疡、抗辐射、抑制中枢神经系统和免疫功能等多方面生理活性,因此对其生物碱化学成分及药理作用的研究引起了药学界的高度重视。本文依据近几年发表在国内外学术期刊上的文献资料,对槐属植物生物碱化学成分及药理活性进行综述。

1 槐属植物中生物碱成分

槐属植物普遍含有生物碱,总生物碱的质量分数一般在1%~2.5%,苦豆子中总生物碱的质量分数高达6.11%~8.03%,种子中约为8.11%^[1]。槐属植物所含生物碱主要为喹诺里西啶类,极少数为双哌啶类和其他类。

1.1 喹诺里西啶类(quinuolizidine):槐属植物生物碱大都具有2个稠环哌啶共用一个氮原子的基本结构,属于喹诺里西啶类生物碱。槐属是喹诺里西啶类生物碱研究最多的属,不完全统计生物碱种类多达70种。

喹诺里西啶类生物碱按结构可分为6类:苦参碱型、金雀花碱型、鹰爪豆碱型、羽扇豆碱型、苏苦西碱型、苦豆碱型(表1~6,图1~6)。

1.2 双哌啶类(dipiperidines):见表7及图7。

1.3 其他类型:见表8及图8。

收稿日期:2004-09-02

作者简介:洪 阁(1980—),男,河北省石家庄市人,中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所2002级硕士研究生,研究方向为天然产物化学。 Tel:(022)85683042 E-mail:hongge6688@yahoo.com.cn