

- coronary vasospasm [J]. *Heart Vessels*, 2005, 20(1): 1-7.
- [5] 孙娟, 谭红梅, 吴伟康, 等. 通心络超微粉对大鼠络脉瘀阻的防治效应研究 [J]. *新中医*, 2007, 39(9): 103-105.
- [6] 韩玉莲, 程超, 谭红梅, 等. 通心络超微粉对大鼠络脉急性模型的通络效应及其作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(22): 2404-2408.
- [7] 吴以岭. 络病学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006.
- [8] Moncade S. Nitric Oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 1997, 43: 109-114.
- [9] Galati S S, Wroblewski H, Vibeke B S, et al. Endothelin and Von Willebrand factor as parameters of endothelial function in idiopathic dilated cardiomyopathy: different stimuli for release before and after heart transplantation [J]. *Am Heart J*, 1999, 137: 549-555.

## 江浙蝮蛇毒对体外培养人滑膜细胞凋亡的影响

胡珏<sup>1,2</sup>, 许东航<sup>1,3\*</sup>, 吕庆华<sup>3</sup>

(1. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310031; 2. 浙江医学高等专科学校 药理教研室, 浙江 杭州 310053;  
3. 浙江大学医学院附属第二医院, 浙江 杭州 310009)

**摘要:**目的 探讨江浙蝮蛇毒(AHV)诱导类风湿性关节炎(RA)患者滑膜细胞凋亡的作用及对相关蛋白Caspase 3 表达的影响。方法 AHV 处理培养的滑膜细胞后, 采用 MTT 比色法检测 AHV 对滑膜细胞增殖的抑制作用, 并采用流式细胞仪(FCM)检测细胞凋亡率, 以免疫组织化学法检测 Caspase 3 蛋白的表达。结果 MTT 的检测结果显示 5 μg/mL AHV 处理组滑膜细胞增殖抑制率达 67.2%, 且与时间、剂量具有正相关关系 ( $P < 0.05$ ), AHV 体外作用滑膜细胞 24 h 的  $IC_{50}$  为 3 508 μg/mL。流式细胞仪结果显示, 与对照组相比, AHV 各剂量组凋亡率明显增加 ( $P < 0.05$ ), 并与剂量呈正相关。AHV 体外作用滑膜细胞 24 h 时出现了明显的 Caspase 3 蛋白表达, 其蛋白表达率明显高于对照组。结论 AHV 对滑膜细胞具有较强的增殖抑制作用, 细胞凋亡率明显增加可能与 AHV 诱导滑膜细胞 Caspase 3 活化相关。

**关键词:** 江浙蝮蛇毒; 类风湿性关节炎; 滑膜细胞; 细胞凋亡; Caspase 3

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)11-1847-04

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种常见的严重危害人类身心健康的多因素导致的系统性自身免疫性疾病, 表现为关节反复的炎症、滑膜细胞“肿瘤样”增生以及由此引起的软骨和骨的破坏, 其发病机制主要与滑膜细胞凋亡减少所导致的滑膜组织内细胞的增殖和死亡之间的平衡失调有关<sup>[1]</sup>。因而, 促进滑膜细胞的凋亡可能是未来治疗 RA 的重要方向。蛇毒是毒蛇分泌出来的一种毒液, 其中含有多种具有不同生理与药理活性的酶与肽类物质。近年来国内外从蛇毒中分离出多种抗肿瘤成分, 它们对肿瘤细胞有杀伤和抑制生长的作用<sup>[2-3]</sup>。江浙蝮蛇毒 (*Agkistrodon halys* Pallas venom, AHV) 的主要活性成分蛇毒蛋白有诱导凋亡和抗肿瘤作用, 临床上已被用于治疗 RA 等慢性疾病所致的炎症和疼痛。然而, AHV 对 RA 患者的治疗作用机制仍不是很清楚。本实验以此为出发点, 初步研究了 AHV 对 RA 患者成纤维样滑膜细胞增殖与凋亡的影响, 并分析其可能的作用机制。

### 1 材料与方法

1.1 病例来源: 2007 年 2~7 月浙江大学附属第二医院骨科行膝关节置换术的 RA 患者 6 例。其中女性 3 例, 男性 3 例, 年龄 34~62 岁, 平均 (50 ± 10) 岁; 病程 6~30 年, 平均 (14 ± 10) 年。所有患者皆符合 1987 年美国风湿病学会 (ACR) 修订的 RA 诊断标准。

1.2 主要试剂与仪器: DMEM 培养基、II 型胶原酶、胎牛血清、胰蛋白酶, 美国 Gibco 公司; MTT 和 DMSO, 美国 Sigma 公司; 兔抗人 Caspase 3 抗体, 美国 Santa Cruz 公司; PI 储存液, 美国 Sigma 公司, RNase 试剂用时现配。AHV 由浙江龙图蛇业集团有限公司提供, -20 °C 保存。酶标检测仪 (BioRAD Model 550 型); FACS Calibur 型流式细胞仪, 美国 Becton Dickinson 公司。

1.3 滑膜细胞的分离和培养<sup>[4]</sup>: 无菌条件下, 将关节置换术获得的滑膜组织切成 3~5 mm 的碎片, 用 II 型胶原酶和等体积的 DMEM 培养基, 在 37 °C、

①收稿日期: 2010-03-28

基金项目: 浙江省中医药科研基金项目 (2006C024)

作者简介: 胡珏 (1972-), 女, 浙江金华人, 硕士, 副教授, 研究方向为类风湿性关节炎的基础与临床研究。

Tel: (0571) 87692678 E-mail: hujie@zjmc.net.cn

\* 通讯作者 许东航 Tel: (0571) 87784529 E-mail: xudonghang@zju.edu.cn

5% CO<sub>2</sub> 孵箱中消化 4 h。常规离心, 弃上清后加 0.25% 胰酶 1 mL, 混匀后消化 30 min。1 000 r/min 离心后弃上清, 加入含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基, 置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育, 常规传代培养。

1.4 AHV 对滑膜细胞增殖的影响: 调整细胞悬液浓度为 7 × 10<sup>4</sup>/mL, 均匀接种于 96 孔培养板中, 每孔体积 100 μL, 培养 24 h。分别加入含不同质量浓度 (1.25、2.5、5、10 μg/mL) AHV 的新培养液, 设对照组 (生理盐水), 每组设 4 个平行孔。作用 24、48、72 h 后弃去每孔中培养液, 加入含 10% MTT (5 mg/mL) 的无血清 DMEM 培养液, 继续培养 4 h 后吸去上清, 加入 150 μL DMSO, 震荡 10 min, 用酶联免疫检测仪于 490 nm 处测定每孔吸光度 (A) 值, 计算 AHV 的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>)。

1.5 流式细胞仪检测滑膜细胞周期: 取对数生长期细胞, 调整细胞浓度至 2 × 10<sup>5</sup>/mL, 加入不同质量浓度 (0、2.5、5、10 μg/mL) 的 AHV 作用 24 h 后, 胰酶消化收集细胞。冷 PBS 洗涤 2 次, 缓慢加入 2 倍体积预冷 -20 °C 的无水乙醇, 充分摇匀, 固定, 4 °C 冰箱保存, 2 周内检测。上机测定前, 离心去乙醇, 用 PBS 洗涤 2 次。加入 500 μL 碘化丙啶 (50 μg/mL), 4 °C 避光染色 30 min, 用 200 目尼龙网滤过, 上机检测。

1.6 Annexin V-FITC/PI 双染法检测滑膜细胞凋亡: 取对数生长期细胞, 细胞浓度为 2 × 10<sup>5</sup>/mL。加入不同质量浓度 (0、2.5、5、10 μg/mL) 的 AHV, 作用 24 h 后, 胰酶消化收集细胞。冷 PBS 洗 2 次, 1 000 r/min 离心 5 min, 流式缓冲液重悬细胞并计数, 制成约 1 × 10<sup>6</sup>/mL 单细胞悬液。加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI, 混匀, 室温避光孵化 15 min, 每管加入 400 μL 结合缓冲液, 流式细胞仪分析。

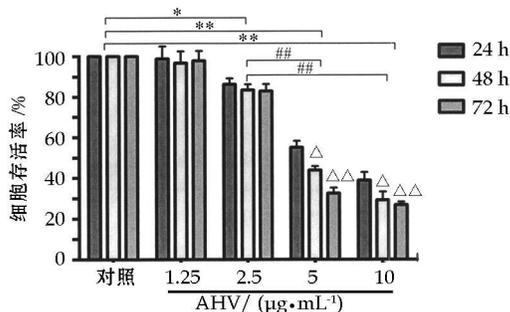
1.7 Caspase-3 蛋白表达: 同 1.6 项方法 AHV 作用 24 h 后收集各组细胞, PBS 冲洗 2 次, 制成细胞悬液涂片, 风干后丙酮固定 15 min。3% 过氧化氢孵育 5 min, 以阻断内源性过氧化物酶。抗原修复采用微波加热抗原修复法, 切片放在 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液 (pH 6.0) 内, 用微波炉加热 10~20 min, 待修复液降至室温后, PBS 洗 3 次。滴加一抗 (稀释 1:100), 室温 90 min。PBS 冲洗, 2 min × 3 次。滴加辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 偶联的二抗 20~30 min。以 PBS 冲洗, 2 min × 3 次。加入 3,3'-二氨基联苯胺

(3,3'-diaminobenzidine, DAB) 作为显色液, 避光显色至出现条带时放入双蒸水中终止反应。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。结果分析: Caspase-3 蛋白定位于胞浆, 细胞浆染为棕黄色颗粒为阳性细胞。利用 MPIAS-500 多媒体彩色病理图像分析系统进行分析。随机计数低倍镜下 10 个视野中的阳性细胞占该视野细胞总数的比率, 得出每组细胞的阳性率。

1.8 统计分析: 结果均来自至少 3 组平行实验, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 SPSS 10.0 软件进行分析, 以 One Way ANOVA 进行方差分析, 以 Student-Newman-Keuls 检验进行组间比较。

2 结果

2.1 AHV 对细胞增殖的影响: 结果表明, 经 1.25 μg/mL AHV 处理的细胞生长受到轻微抑制, 在 AHV 2.5~10 μg/mL 内, AHV 对滑膜细胞增殖的抑制作用与剂量、时间呈正相关 (图 1)。应用 Bliss 法计算得到 AHV 作用 24 h 的 IC<sub>50</sub> 值为 3 508 μg/mL, 95% 可信区间为 3 464.9~3 551.0 μg/mL。与对照组比较, 各给药组差异均有统计学意义 (P < 0.05)。



与对照组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01  
 与 AHV 2.5 μg · mL<sup>-1</sup> 组比较: ## P < 0.01  
 与同组 24 h 比较: △ P < 0.05 △△ P < 0.01  
 \* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs control group  
 ## P < 0.01 vs AHV 2.5 μg · mL<sup>-1</sup> group  
 △ P < 0.05 △△ P < 0.01 vs 24 h in same group

图 1 AHV 对滑膜细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Fig. 1 Effect of AHV on proliferation of human fibroblast like synoviocytes ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

2.2 AHV 对滑膜细胞细胞周期的影响: 与对照组相比, 2.5、5 μg/mL AHV 作用于滑膜细胞, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期以及 G<sub>2</sub>/M 期的细胞比例逐渐减少, S 期细胞比例逐渐增加, 说明滑膜细胞增殖被阻滞在 S 期, 即 DNA 合成期。当 AHV 质量浓度增至 10 μg/mL 时, S 期比例明显下降, 从 5 μg/mL 组的 26.27% 下降至 23.22%, 提示有部分细胞无法进入 DNA 合成期 (表 1)。

表 1 AHV 对滑膜细胞细胞周期分布的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Table 1 Effect of AHV on cell cycle distribution of human fibroblast like synoviocytes ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	细胞周期分布/%		
		G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
对照	-	60.26 ± 3.44	22.16 ± 1.67	15.57 ± 2.51
AHV	2.5	58.65 ± 2.08	25.65 ± 1.38*	13.88 ± 2.18
	5.0	55.53 ± 1.12*	26.27 ± 2.31*	12.02 ± 1.17*
	10.0	54.43 ± 3.02*	23.22 ± 2.95	11.39 ± 2.26*

与对照组比较: \*  $P < 0.05$

\*  $P < 0.05$  vs control group

2.3 AHV 对滑膜细胞凋亡的影响: 在双变量流式细胞仪的散点图上, 左下象限 (LL) 显示活细胞, 为 FITC<sup>-</sup>/PI<sup>-</sup>; 右上象限 (UR) 是非活细胞, 即坏死细胞, 为 FITC<sup>+</sup>/PI; 而右下象限 (LR) 为凋亡细胞, 显现 FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup>。AHV 作用 24 h 后, 滑膜细胞的凋亡细胞增多, 右上及右下两个象限散点分布增多, 2.5、5、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  AHV 组细胞凋亡率分别为 (5.30 ± 4.22)%、(12.93 ± 5.71)%、(21.98 ± 3.63)% (表 2)。

表 2 AHV 对滑膜细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Table 2 Effect of AHV on apoptosis of human fibroblast like synoviocytes ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	四象限细胞比例/%				凋亡率 (UR+LR)/%
		UL	UR	LL	LR	
对照	-	0.14 ± 1.91	2.05 ± 2.89	96.21 ± 6.08	1.65 ± 5.49	3.70 ± 2.18
AHV	2.5	0.60 ± 0.12	2.77 ± 3.87	94.23 ± 3.98	2.53 ± 5.97	5.30 ± 4.22
	5.0	0.92 ± 3.77	4.52 ± 10.75	86.49 ± 4.46	8.41 ± 1.42	12.93 ± 5.71**
	10.0	0.69 ± 5.12*	5.36 ± 11.78	77.85 ± 6.19	16.62 ± 4.88	21.98 ± 3.63**

与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

\*\*  $P < 0.01$  vs control group

2.4 AHV 对滑膜细胞 Caspase 3 蛋白表达的影响: 不同质量浓度的 AHV 作用于滑膜细胞后, 出现了明显的 Caspase 3 蛋白表达, 而且其蛋白表达率明显高于对照组; 并随 AHV 剂量的增加, Caspase 3 蛋白表达略有增加, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05, 0.01$ ) (表 3)。

### 3 讨论

RA 为一种慢性、进行性、侵蚀性疾病, 我国人群患病率大概为 0.36%, 约有 400 多万患者。在病程 2 年时 50% 患者有骨侵蚀, 20 年后几乎每例患者均发生骨侵蚀, 如治疗不当, 病情可逐渐加重, 滑膜增生, 骨关节软骨侵蚀破坏最后造成关节强直、畸形、功能丧失和不同程度的残废。在 RA 的病理过程中, 基质成纤维样滑膜细胞增殖被认为是肿瘤样的。因此, 抑制滑膜细胞增殖已成为研究 RA 治疗的新靶点<sup>[5]</sup>。

表 3 AHV 对滑膜细胞 Caspase 3 蛋白表达的影响

( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Table 3 Effect of AHV on protein expression in human fibroblast like synoviocytes ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Caspase 3 阳性表达
对照	-	1.39 ± 0.07
AHV	2.5	2.78 ± 0.84*
	5.0	3.27 ± 1.03**
	10.0	3.82 ± 1.44*

与对照组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs control group

蛇毒是一类天然混合毒素, 含有多种活性成分, 对神经、血液等多个系统有影响, 还可以直接抑制肿瘤细胞增殖, 以抗肿瘤生长<sup>[6,8]</sup>。前人研究显示<sup>[9]</sup>, 蛇毒可用于治疗 RA, 但具体作用机制尚不明确。RA 滑膜组织表现为增生性侵蚀性生长, 其生长及病理学行为在许多方面类似于肿瘤组织的特性。由此推测诱导凋亡可能是 AHV 抑制 RA 滑膜细胞增殖的重要机制之一。本实验通过体外培养的 RA 患者滑膜细胞, 研究了 AHV 对滑膜细胞增殖的影响, 并探讨其治疗 RA 的可能作用机制。以往实验结果表明<sup>[10]</sup>: 正常人滑膜细胞增殖率很低, 而 RA 患者滑膜细胞的增殖明显高于正常组。本实验表明不同质量浓度的 AHV 均能抑制 RA 患者滑膜细胞的异常增殖, 作用 24 h 的 IC<sub>50</sub> 为 (3.508 ± 0.043)  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。为了进一步为 AHV 体外抑制 RA 患者滑膜细胞增殖提供依据并探讨其可能机制, 本实验采用流式细胞术对滑膜细胞凋亡进行了检测。作用 24 h 后, AHV 5、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 与对照组相比凋亡百分率出现显著增加。

细胞凋亡受多种基因的调控, 其中比较重要的包括 bcl-2/bax 基因、p53 基因和 c-myc 基因等。Caspase 即天冬氨酸半胱氨酸特异性蛋白酶, 是一类在细胞凋亡中起关键作用的蛋白酶家族, Caspase 3 更是在凋亡的信息传递中居于核心地位, Caspase 3 基因的激活和蛋白表达后可直接导致细胞凋亡<sup>[11-12]</sup>。既往实验证实, RA 患者滑膜淋巴细胞 T 细胞大量 bcl-2 表达且无凋亡现象, 提示 bcl-2 表达提供给炎症细胞生存信号。Bcl-2 过量表达可能抑制 RA 滑膜细胞凋亡, 是 RA 滑膜增生的原因之一。RA 患者滑膜细胞上 bcl-2 表达上调, 可活化凋亡抑制信号, 从而促进滑膜细胞的增生和增殖<sup>[13]</sup>。本实验观察到不同质量浓度的 AHV 处理滑膜细胞后, 其 Caspase 3 蛋白表达率明显升高。AHV 作用于 RA 患者体外培养的滑膜细胞, 其细

胞凋亡率明显升高,同时伴有 Caspase 3 阳性表达的增加,说明 AHV 可通过诱导 RA 滑膜细胞 Caspase 3 活化,促进滑膜细胞凋亡。但有关蛇毒诱导的滑膜细胞凋亡的具体机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Firestein G S Invasive fibroblast like synoviocytes in rheumatoid arthritis: passive responders or transformed aggressors [J]. *Arthritis Rheum*, 1996, 39: 1781-1790

[2] 董庆华, 郑 树, 吕庆华, 等. 浙江蝮蛇毒诱导人白血病 Jurkat 细胞凋亡的体外实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2002, 22(11): 851-853

[3] Cheng X, Qian Y W, Liu Q D, et al. Purification characterization of a new venom protein from *Agkistrodon acutus* venom [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 265(2): 530-535

[4] Halliday D A, Clemente G, Rathjen D A, et al. Rapid degradation of articular cartilage proteoglycan by neutrophils: Comparison with macrophages and synovial fibroblasts [J]. *Inflamm Res*, 2000, 49(9): 441-444

[5] Baier A, Meineck I I, Gay S, et al. Apoptosis in rheumatoid arthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15(3): 274-279

[6] Lin X, Chen J S, Chen Q, et al. Effect of fibrinolytic enzyme

F II from *Agkistrodon acutus* venom on LPS-induced renal microvascular thrombosis [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2005, 21(3): 340-343

[7] Lei D Q, Zhou X L, Li Y X Purification of a small peptide to inhibit platelet aggregation from *Agkistrodon acutus* venom [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 22(9): 1126-1129

[8] 车 军, 刘洁生, 杨维东. 蛇毒抗肿瘤作用的研究进展 [J]. *中草药*, 2001, 32(8): 757-759

[9] 吴卯斌, 呈历理. 复方祛风湿蛇毒胶囊治疗类风湿性关节炎 126 例 [J]. *蛇志*, 1999, 11(1): 30

[10] 刘巧红, 沈凌汛, 滕 云, 等. 类风湿关节炎滑膜细胞的增殖及细胞周期的研究 [J]. *临床内科杂志*, 2004, 21(12): 814-817

[11] Fukushima S, Kato S, Maeda M, et al. Caspase 9 pathway activation by inhibiting endogenous fibroblast growth factor signaling in human glioma cells [J]. *Int J Oncol*, 2008, 32(2): 467-473

[12] Xu Y H, Dong B, Luo Q Z, et al. Influence of element on the expression of Bcl2 family genes in rat C6 glioma cells [J]. *Chin Med J*, 2005, 85(24): 1700-1703

[13] Hilbers I, Hansen T, Petrow P K, et al. Express of the apoptosis accelerator Bax in rheumatoid arthritis synovium [J]. *Rheumatol Int*, 2003, 23(2): 75-81

## 白桂木抗炎镇痛作用有效部位筛选

欧阳胜<sup>1</sup>, 申作洁<sup>2</sup>, 潘琳娜<sup>3\*</sup>

(1. 江西中医学院 中药化学教研室, 江西 南昌 330006; 2 兖矿集团总医院 药剂科, 山东 邹城 273500; 3. 江西中医学院 药理学教研室, 江西 南昌 330006)

摘要: 目的 分离并筛选白桂木抗类风湿性关节炎的有效部位。方法 通过连续 ig 给药白桂木根总提取物、石油醚部位、醋酸乙酯部位、氯仿部位提取物, 分别采用小鼠二甲苯致耳肿胀、大鼠棉球所致肉芽肿、小鼠醋酸扭体法、小鼠热板法和小鼠腹腔毛细血管通透性评价活性。结果 白桂木醋酸乙酯部位抗炎镇痛作用较明显。结论 白桂木醋酸乙酯部位可能是其治疗类风湿性关节炎的有效部位。

关键词: 白桂木; 类风湿性关节炎; 有效部位; 抗炎; 镇痛

中图分类号: R285 5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)11-1850-04

白桂木 *Artocarpus hypargyreus* Hance 为桑科波罗蜜属植物, 其根入药, 味甘、淡, 性温, 具有祛风利湿、活血通络等功效, 主治风湿痹痛、腰膝酸软、头痛、胃痛、黄疸、产妇乳汁不足等症。该药在赣南、粤北地区民间应用较广, 用于治疗类风湿性关节炎、慢性腰腿疼痛等。白桂木根和根皮的化学成分已进行研究<sup>[1-2]</sup>, 但目前对白桂木的基础研究尚不够深入, 其抗类风湿性关节炎的有效成分不清, 缺乏以有

效成分为基础的质量标准, 疗效难以保证。本实验着重对白桂木根治疗类风湿性关节炎有效部位进行筛选, 通过对白桂木根醇浸膏的 3 种不同溶媒 (石油醚、氯仿、醋酸乙酯) 萃取物以及总浸膏分别进行抗炎、镇痛活性评价, 确定其有效部位。

### 1 材料

1.1 动物: 小鼠, SPF 级, 雌雄兼用, 体质量 18~22 g, 由江西中医学院实验动物中心提供, 合格证号:

①收稿日期: 2010-03-29

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目 (2007GZY0926)

作者简介: 欧阳胜 (1968—), 女, 江西省南昌市人, 江西中医学院中药化学教研室副教授, 中药化学专业硕士生导师, 长期从事中药化学的教学、科研工作。Tel: 13450477365 E-mail: ouyangsheng2003@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 潘琳娜