

# 真菌细胞色素 P450 与多环芳烃浓度及降解率的相互关系

许华夏<sup>1</sup>, 李培军<sup>1</sup>, 刘宛<sup>1</sup>, 台培东<sup>1</sup>, 王新<sup>2</sup>

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳工业大学理学院, 辽宁 沈阳 110023)

**摘要:**以菲、芘作为多环芳烃代表污染物,采用室内培养方法,研究了4种真菌细胞色素 P450 含量与多环芳烃(PAHs)浓度及降解率的相互关系。结果表明,在一定的浓度范围内(菲 0~200 mg·L<sup>-1</sup>、芘 0~100 mg·L<sup>-1</sup>),菲、芘浓度与真菌 P450 含量呈明显正相关,菲、芘浓度与真菌 P450 含量之间表现出明显的剂量-效应关系。在上述浓度内,真菌降解多环芳烃的能力与真菌 P450 含量之间也表现出明显的剂量-效应关系。在选用的4株真菌中,Zj1(镰刀菌)降解菲和芘的能力最强,Zj3(小克银汉)次之,Zj2(毛霉)和 Zj4(青霉)降解能力较弱。

**关键词:**真菌; 细胞色素 P450; 降解; 菲浓度; 芘浓度

**中图分类号:**X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2004)05-0972-05

## Interrelationship Between Cytochrome P450 in Fungi and Contents and Degradation Rates of PAHs

XU Hua-xia<sup>1</sup>, LI Pei-jun<sup>1</sup>, LIU Wan<sup>1</sup>, TAI Pei-dong<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>2</sup>

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. College of Science, Shenyang Industrial University, Shenyang 110023, China)

**Abstract:** Some toxic chemical substances such as aliphatic hydrocarbon, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorobiphenyl (PCB) and heterocyclic compounds etc are released into environment due to exploration, transportation, production and usage of petroleum and chemical materials, thus causing increasing contamination in environment media. Some microorganisms decompose the above toxic contaminants by catabolism and play an important role in bioremediation of organic pollutants in environment. Fungi resolve complex organic contaminants into single harmless substances by producing some detoxic enzymes in extracell and in introcell, among which mono-oxygenases play the most important role. Phenanthrene (molar mass 178.23) and pyrene (molar mass 202.26) were chosen as representative contaminants of PAHs in this experiment, and were of analytical grade from Fluka Company of Germany with purity 90.6% and 97.0% respectively. A series of phenanthrene and pyrene concentration was 0, 25, 50, 100, 200 and 300 mg·L<sup>-1</sup>, respectively. Four fungi were isolated and screened from petroleum-contaminated soil as experimental materials at 4 °C, including Zj1 (Fusarium sp.), Zj3 (Cunninghamella sp.), Zj2 (Mucor sp.) and Zj4 (Penicillium sp.). Active fungi were obtained by cultivating strain in slope culture under condition of 200 r·min<sup>-1</sup> oscillator for 7 d at 28 °C, transferred into the Erlenmeyer flask with the above phenanthrene and pyrene concentrations of 100 mL using inoculating loop, and were sampled after 72 h of culture. All treatments had two replicates. In this experiment, interrelationships between cytochrome P450 (P450) content in four fungi and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content or degradation rate of PAHs were evaluated. The results indicated that there was a significantly positive correlation between 0~200 mg·L<sup>-1</sup> phenanthrene or 0~100 mg·L<sup>-1</sup> pyrene concentrations and P450 contents in the fungi. Within the above concentration range, a significant dose-effect relationship also existed between degrading-PAHs ability and P450 content in the fungi. Among the four fungi selected, the order of phenanthrene-degrading and pyrene-degrading ability was as follows: Zj1 > Zj3 > Zj2 and Zj4.

**Keywords:** cytochrome; P450; degradation; PAHs content

收稿日期: 2004-02-18

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(20337010); 中国科学院所创新项目(SLYQY0412); 中国科学院知识创新重要项目

(KZCX2-SW-416); 国家自然科学基金(29977021)

作者简介: 许华夏(1956—), 女, 主要从事环境污染生态、环境微生物及生态毒理学方面的研究工作。

石油化工原料和产品的开采、生产及应用,使大量有毒有害的化学物质释放到环境中,造成环境污染日益加重。一些自然降解缓慢的有机化合物如烷烃、多环芳烃、多氯联苯、杂环化合物等,对环境的危害尤其严重。某些微生物可以在逆境中生存,并对上述污染物进行分解代谢,因而成为环境生物修复的主力军<sup>[1]</sup>。石油污染土壤中存在的许多真菌,如微紫青霉(*Penicillium janthinellum*)具有很高的降解芘的能力<sup>[2]</sup>,美丽小克银汉(*Cunninghamella elegans*),班尼小克银汉(*Cunninghamella bainieri*),深黄被孢霉(*Mortierella isabellina*)等<sup>[3]</sup>,具有使一种或多种多环芳烃烷基化的能力。

研究表明,真菌是通过产生于细胞外和细胞内的有关解毒酶来降解复杂的有机污染物,其中单加氧酶(monooxygenase)的作用最为重要<sup>[4]</sup>。单加氧酶也称 P450 酶系(简称 P450),普遍存在于微生物中,其机制是通过 P450 的作用在碳链上加上氧原子,再经一系列反应使碳链断开,进而完成降解。多环芳烃苯环的断裂也主要靠 P450 的作用<sup>[5]</sup>。微生物 P450 的一个重要特征是其活性或含量可因为污染物的胁迫而发生改变<sup>[6]</sup>,尝试以这些 P450 酶系的变化作为有机污染胁迫的生物标记物的研究正在成为生态毒理学领域中新的热点,近年来国外已将它应用于评价和监测有机污染物对水生生物的毒性效应<sup>[7]</sup>,而我国有关微生物 P450 及其功能的研究甚少。

本实验以石油污染物中分布较广的非和芘为多环芳烃的代表,利用从石油污染地区分离筛选出的真菌进行了降解代谢实验,试图通过不同非、芘浓度及真菌 P450 含量的变化,探讨污染物浓度与真菌 P450 含量之间表现出的剂量-效应关系,为将真菌加氧酶成为指示环境污染程度的指标提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌种

Zj1 镰刀菌(*Fusarium sp.*), Zj2 毛霉(*Mucor sp.*), Zj3 小克银汉(*Cunninghamella sp.*), Zj4 青霉(*Penicillium sp.*)。供试菌株由本实验室从辽河油田污染土壤中分离而得,均对非和芘有较好的降解能力。

### 1.2 培养基

斜面培养基为马铃薯琼脂培养基。降解培养基为液体马铃薯培养基,将葡萄糖的含量减半,加入非、芘(使液体培养基的非、芘浓度分别为 0、25、50、100、200、300  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )调节 pH 为 6.0,用 500 mL 三角瓶

分装 100 mL, 0.06MPa 灭菌 30 min。

### 1.3 主要化学试剂与药品

非和芘均为德国 Fluka 公司产品,非纯度为 90.6%,芘纯度为 97.0%。二氯甲烷为分析纯,甲醇为色谱纯,是山东禹王实业公司化工厂产品。其它药品均为市售分析纯。

### 1.4 仪器

HZQ-QX 全温振荡器,惠普 7550 分光光度计, XHF-1 控时调速式高速分散器, HITACHI(日立) 85P-72 型自动超速冷冻离心机, UV-240IPC(岛津) 双光束紫外分光光度计。惠普 1091-II 高效液相色谱仪,配有二级管阵列检测器(DAD)跟踪测定<sup>[8]</sup>。

### 1.5 非、芘降解试验

将 4℃ 保存的菌种接种于斜面培养基上,置 28℃ 恒温培养 7 d,得到菌丝生长旺盛、孢子丰富的培养物,用接种环将培养物接入盛有不同浓度非和芘 100 mL 培养液的三角瓶中,置 28℃,转速为 200  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  振荡器培养。72 h 取样,对不同处理进行非和芘含量测定。

### 1.6 蛋白质含量测定

采用 Bradford 的考马斯亮蓝 G250 法<sup>[9]</sup>。

### 1.7 酶制备

将降解非、芘振荡培养 72 h 的菌体用 0.9% 的氯化钠溶液多次洗净纱布过滤,称取菌体 40 g(湿重)加入二倍体积的制备缓冲液(0.25  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖、100  $\text{m mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris、10  $\text{m mol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA、5  $\text{m mol} \cdot \text{L}^{-1}$  DTT、10% 甘油、pH7.4),置高速分散器内进行分散,分散后的菌丝体用玻璃匀浆器进行匀浆。然后将匀浆液置高速冷冻离心机 16 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ (约 20 000 g)离心 60 min,上清液过滤后为酶源,将酶源置超速冷冻离心机 38 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ (约 101 797 g)离心 90 min,弃去上清液,将沉淀悬浮于保存缓冲液(将制备缓冲液中的甘油增至 20%)中制成酶液,放入 -50℃ 的低温冰箱内备用。以上所有操作均在 4℃ 中进行。

### 1.8 细胞色素 P450 含量测定

P450 含量按 Omura 和 Sato 的分光光度法测定<sup>[10]</sup>。即将酶液稀释成蛋白质含量为 0.5~1.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,加入数毫克连二亚硫酸钠混匀,1 min 后等分倒入对照池和样品池中,在 UV-240IPC 分光光度计上用单波长双光束扫描基线,然后向样品池通入 CO 约 30 s,静置 4 min 后在 400~500 nm 扫描,得还原型细胞色素 P450-CO 复合物的吸收光谱曲线,记录 450~490 nm 处的吸收度(A),根据下式计算 P450 含量。

$$P450(\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}) = \frac{A(450 \sim 490 \text{ nm}) \times 1000(\mu\text{m}) \times 1}{91 \text{ mM}^{-1}(\text{克分子消光系数}) \times \text{蛋白终浓度}(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})}$$

式中 A 为波长从 490 ~ 450 nm 的 OD 值差。

## 2 结果与讨论

### 2.1 真菌生长的特点

用液体马铃薯培养基,对 Zj1(镰刀菌)和 Zj3(小克银汉)进行了生长特点试验,结果见图 1。在培养约 30 h 两株菌均开始进入对数生长期,60 h 达到平衡期,直到 100 h 后才转向衰亡期,根据真菌生长特点,选择 72 h 为取样测定 P450 含量及菲和芘含量测定的时间。

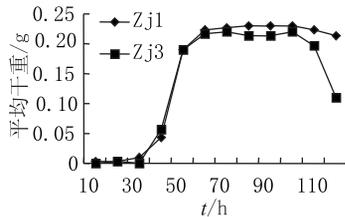


图 1 真菌生长曲线

Figure 1 The growth curve of the fungi tested in the present study

### 2.2 菲和芘浓度对真菌 P450 含量的影响

图 2 为 100 mg · L<sup>-1</sup> 菲对真菌 Zj1 P450 含量的影响的差光谱扫描图谱,还原态细胞色素 P450 的 CO 差光谱在 450 nm 处出现最大吸收峰。类似的结果在其它不同浓度菲及芘对真菌 P450 图谱中也得到证实。以上图谱与 Hudnik - Plevnik 等研究黑根霉 (*Rhizopus nigricans*) 微粒体 P450 图谱相一致<sup>[11]</sup>。

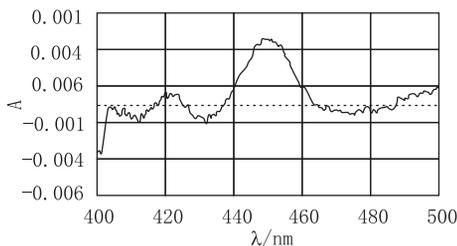


图 2 Zj1 镰刀菌 P450 的 CO 差光谱扫描图谱

Figure 2 Difference spectra of carbon monoxide-reduced P450 in Zj1

图 3、图 4 的试验结果表明,菲、芘浓度对四株真菌的 P450 含量均有明显的影响。

当菲浓度在 200 mg · L<sup>-1</sup> 以下时,菲浓度与 P450 含量呈正相关,随着菲浓度的增加, P450 含量也增加。而菲浓度增至 300 mg · L<sup>-1</sup> 时, P450 含量出现无规律变化,并有两株菌的 P450 含量呈下降趋势(图 3)。

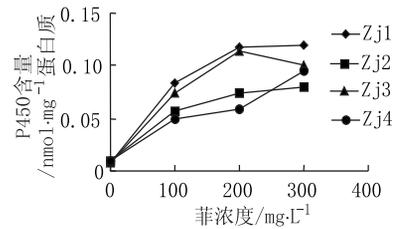


图 3 不同浓度菲对真菌 P450 含量的影响

Figure 3 Effect of different concentration phenanthrene on P450 Content in fungi

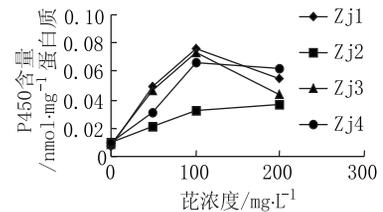


图 4 不同浓度芘对真菌 P450 含量的影响

Figure 4 Effect of different concentration pyrene on P450 Content in fungi

100 mg · L<sup>-1</sup> 和 200 mg · L<sup>-1</sup> 菲处理真菌 72 h,其 P450 含量明显增加, Zj1 处理组分别为对照的 11.8 和 16.5 倍 ( $P < 0.05$ ), Zj2 处理组分别为对照的 6.2 和 7.9 倍 ( $P < 0.05$ ), Zj3 处理组分别为对照的 9.1 和 13.9 倍 ( $P < 0.05$ ), Zj4 处理组分别为对照的 5.2 和 6.3 倍 ( $P < 0.05$ ),表现出显著的诱导作用。菲浓度增加至 300 mg · L<sup>-1</sup>,处理组 P450 含量均不同程度的降低,表现出抑制作用。真菌 Zj3 P450 含量对菲污染胁迫的反应较为敏感。实验中低剂量菲对真菌 P450 的诱导作用,是生物对污染物的适应性反应,以增强生物体消除有毒污染物的能力;高剂量菲对 P450 的抑制作用,说明污染物对生物体的作用已超过生物体的适应能力,可认为是生物体产生中毒反应的前兆。污染物对 P450 的抑制作用有多种方式,一般认为是生物在代谢污染物的过程中,形成活跃的中间产物,能攻击 CYP 血红素,或能攻击 CYP 蛋白,或两者兼而有之,使其失去活性<sup>[11]</sup>。

芘对 P450 影响与菲相似,但芘浓度为 200 mg · L<sup>-1</sup> 时 P450 含量就出现下降,说明芘对微生物的毒性比菲强(图 4)。细胞色素 P450 的诱导是由于化学物质刺激基因转录的速率,使 P450 的 mRNA、新合成的酶蛋白以及具催化活性的酶水平增加。这些化合物包括亲脂性的药物、杀虫剂、多环芳烃、有机氯

等,它们具有较长的半衰期。污染物诱导微生物 P450 酶系已得到许多实验的证实,如在苯乙酸、萘、芘胁迫下,发现某些真菌和细菌的细胞色素 P450 含量或其活性明显升高<sup>[12,13,6]</sup>,在 N-烷基-甲酰醛、除草剂、烷烃和 Tryptanthrins 条件下亦发现有同样的现象<sup>[14~16]</sup>。在本实验中,当暴露于 100~200 mg·L<sup>-1</sup> 菲胁迫中 72 h,真菌 Zj1 P450 的含量被显著诱导,因此其 P450 含量的改变可以反映环境中有毒有害物质的存在,是分子水平上预报有机毒物对生态系统危害的敏感生物标记物<sup>[15]</sup>,可用于监测污染物对生态系统的早期影响。与 Ferry 认为加氧酶活性监测有机污染的观点相一致<sup>[7]</sup>。

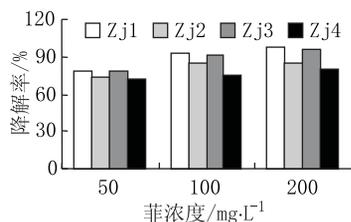


图 5 不同真菌对菲降解能力的比较

Figure 5 Comparison of phenanthrene-degrading ability in different fungi

### 2.3 不同真菌的降解能力比较

不同真菌对菲和芘的降解能力有所不同,几种真菌对菲的降解能力依次为 Zj1 > Zj3 > Zj2 > Zj4(图5)。当菲浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时,降解能力最强的是 Zj1,降解率为 93.32%,Zj3 次之为 90.83%,Zj2 和 Zj4 分别为 84.22% 及 75.01%。当菲浓度为 50 mg·L<sup>-1</sup>、200 mg·L<sup>-1</sup> 时,Zj1 降解率分别为 78.12%、98.20%,Zj3 分别为 78.02%、95.90%,Zj2 和 Zj4 降解率分别为 74.20%、85.60% 和 72.30%、80.10%。其降解率的排序规律仍与菲浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时相同。

真菌对芘的降解能力排序为 Zj1 > Zj3 > Zj4 > Zj2(图 6),降解芘能力最强的真菌仍是 Zj1。当芘浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时,降解率为 96.29%,Zj3 次之,为

86.12%,Zj4、Zj2 仅为 34.60%、22.31%;芘浓度为 25 mg·L<sup>-1</sup>、50 mg·L<sup>-1</sup> 时,Zj1 降解率分别为 73.84%、90.13%,Zj3 分别为 69.04%、90.29%,Zj2 和 Zj4 降解率分别为 18.23%、20.86% 和 17.11%、25.83%,其降解率的排序规律仍与芘浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时相同。

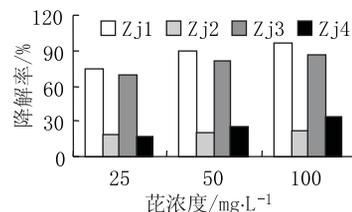


图 6 不同真菌对芘降解能力的比较

Figure 6 Comparison of pyrene-degrading ability in different fungi

### 2.4 菲和芘的降解率与 P450 含量的关系

在一定浓度范围内(菲 ≤ 200 mg·L<sup>-1</sup>, 芘 ≤ 100 mg·L<sup>-1</sup>),真菌对菲、芘的降解率与 P450 含量呈明显的正相关(表 1、表 2)。当菲浓度为 200 mg·L<sup>-1</sup> 时,P450 含量和降解率都为最高值。Zj1P450 含量为 0.117 7 nmol·mg<sup>-1</sup> 时,降解率为 98.20%。Zj2P450 含量为 0.073 3 nmol·mg<sup>-1</sup> 时,降解率为 85.60%。Zj3P450 含量为 0.113 7 nmol·mg<sup>-1</sup> 时,降解率为 95.90%。Zj4P450 含量为 0.058 9 nmol·mg<sup>-1</sup>,降解率为 80.10%。芘的降解率与 P450 的含量相关情况和菲的相似,当芘浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时,P450 含量和降解率都为最高值。

实验结果表明,环境中的多环芳烃在一定浓度范围内,真菌对菲、芘的降解能力与真菌 P450 的含量呈明显正相关,真菌 P450 含量可以反映出降解多环芳烃的能力。

## 3 结论

(1)在一定的浓度范围内(菲 0~200 mg·L<sup>-1</sup>、芘

表 1 不同真菌降解菲的能力与 P450 含量的关系

Table 1 Relationship between phenanthrene-degrading ability and P450 content in different fungi

菲浓度		Zj1	Zj2	Zj3	Zj4
50/mg·L <sup>-1</sup>	P450 含量/nmol·mg <sup>-1</sup>	0.045 0	0.036 0	0.042 0	0.031 0
	降解率/%	78.12	74.20	78.02	72.30
100/mg·L <sup>-1</sup>	P450 含量/nmol·mg <sup>-1</sup>	0.084 0	0.057 8	0.074 9	0.048 8
	降解率/%	93.32	84.22	90.83	75.01
200/mg·L <sup>-1</sup>	P450 含量/nmol·mg <sup>-1</sup>	0.117 7	0.073 3	0.113 7	0.058 9
	降解率/%	98.20	85.60	95.90	80.10
	相关系数	r <sup>2</sup> = 0.940 5	r <sup>2</sup> = 0.903 9	r <sup>2</sup> = 0.916 9	r <sup>2</sup> = 0.893 5

表 2 不同真菌降解芘的能力与 P450 含量的关系

Table 2 Relationship between pyrene - degrading ability and P450 content in different fungi

芘浓度		Zj1	Zj2	Zj3	Zj4
25/mg · L <sup>-1</sup>	P450 含量/nmol · mg <sup>-1</sup>	0.027 0	0.015 5	0.026 5	0.022 1
	降解率/%	73.84	18.23	69.04	17.11
50/mg · L <sup>-1</sup>	P450 含量/nmol · mg <sup>-1</sup>	0.049 9	0.021 5	0.046 8	0.030 5
	降解率/%	90.13	20.86	80.29	25.83
100/mg · L <sup>-1</sup>	P450 含量/nmol · mg <sup>-1</sup>	0.076 7	0.032 3	0.073 3	0.066 6
	降解率/%	96.29	22.31	86.12	34.60
	相关系数	r <sup>2</sup> = 0.912 6	r <sup>2</sup> = 0.895 6	r <sup>2</sup> = 0.935 1	r <sup>2</sup> = 0.886 7

0 ~ 100 mg · L<sup>-1</sup>), 菲、芘浓度与真菌 P450 的含量呈明显的正相关。它们之间表现出明显的剂量 - 效应关系。

(2) 在一定浓度范围内 (菲 ≤ 200 mg · L<sup>-1</sup>, 芘 ≤ 100 mg · L<sup>-1</sup>), 真菌对菲、芘的降解能力与真菌 P450 的含量呈明显的正相关, 真菌 P450 的含量可以反映出降解多环芳烃的能力。

(3) 在选用的 4 株真菌中, Zj1(镰刀菌)降解菲和芘的能力最强, Zj3(小克银汉)次之, Zj2(毛霉)和 Zj4(青霉)降解能力较差。

#### 参考文献:

- [1] 许华夏, 李培军, 刘 宛, 等. 生物细胞色素 P450 的研究进展 [J]. 农业环境保护, 2002, 21(2): 188 - 191.
- [2] Launen L, Pinto L, Wiebe c et al. The oxidation of pyrene and benzo (a) pyrene by nonbasidiomycetes fungi [J]. *Can J Microbiol*, 1995, 41: 477 - 488.
- [3] 冷欣夫, 邱星辉. 生物细胞色素 P450 酶系的结构、功能与应用前景 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [4] Brattsten L B. Metabolic defenses against plant allelichemicals [A]. In: Rosenthal G A and Janzen D. eds. *Herbivores; their interactions with secondary plant metabolites* [C]. 2<sup>nd</sup> edition, Vol. 2: evolutionary and ecological process Inc. 1992. 219 - 242.
- [5] 巩宗强, 李培军, 等. 污染土壤中多环芳烃的共代谢降解过程 [J]. 生态学杂志, 2000, 19(6): 40 - 45.
- [6] Faber BW, Schonewille AB, van Gorcom RF. JA. Constitutive and inducible hydroxylase activities involved in the degradation of naphthalene by *Cunninghamella elegans* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 55(4): 486 - 491.
- [7] Ferry F, et al. Review and perspective on the use of mixed - function

oxygenase enzymes in biological monitoring [J]. *Biochem Physiol*, 1986, 2: 233 - 245.

- [8] 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩. 土壤和植物样品中多环芳烃 (PAHS) 的分析方法研究 [J]. 应用生态学报, 1995, 6(1): 92 - 96.
- [9] Bradford M M A. Rapid and sensitive method for quantification microgram quantities of Poteindye birding [J]. *Aral - Biochem*, 1979, (72): 248 - 250.
- [10] Omura T, Sato R. The carbon monoxide - binding pigment of liver microsomes, I Evidence for its bempoprotein [J]. *J Biol Chem*, 1964, 239 (7): 2370 - 2378.
- [11] Hudnik - Plevnik T, Breskvar K. Cytochrome P450 from *Rhizopus nigricans*. In: Ruckpaul, K et al. *Microbial and Plant Cytochrome P450* [M]. London: Taylor and Francis, 1991. 149 - 167.
- [12] Rodriguez - Saiz M, Barredo J L, Moreno M A. Reduced function of a phenylacetate - oxidizing cytochrome P450 caused strong genetic improvement in early phylogeny of penicillin - producing strains [J]. *J Bacteriol*, 2001, 183 (19): 5465 - 5471.
- [13] Guerin WF, Boyd SA. Maintenance and induction of naphthalene degradation activity in *Pseudomonas putida* and an *Alcaligenes* sp. under different culture conditions [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61 (11): 4061 - 4068.
- [14] Del Carratore M R, Mezzatesta C, Hidestrand M. Cloning and expression of rat CYP2E1 in *Saccharomyces cerevisiae*: detection of genotoxicity of N - alkylformamides [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2000, 6 (2): 97 - 104.
- [15] Muller H G, Schunck W H, Kargel E. Cytochrome P450 in alkane - assimilating yeast [A]. In: Ruckpaul, K. et al (eds). *Microbial and Plant Cytochrome* [C]. London: Taylor and Francis, 1991. 87 - 147.
- [16] Schrenk D, Riebniger D, Till M. Tryptanthrins: a novel class of agonists of the aryl hydrocarbon receptor [J]. *Biochem Pharmacol*, 1997, 54(1): 165 - 171.