

乌梅提取液对草酸钙晶体生长的抑制作用研究

王 萍^{1,2} 沈玉华^{*,1} 谢安建¹ 李士阔¹ 黄方志¹ 裘灵光¹

(¹ 安徽大学化学化工学院, 合肥 230039)

(² 安徽省中医学院药学院, 合肥 230031)

摘要: 本文研究了水体系中加入乌梅提取液对草酸钙晶体生长的抑制作用, 通过 FTIR、SEM 及 XRD 等测试方法对所得晶体进行表征。结果表明, 不加乌梅提取液的体系中形成的晶体为一水合草酸钙(COM)晶体, 加入乌梅提取液后, 形成的是二水合草酸钙(COD)晶体, 而且 COD 晶体的尺寸随着乌梅提取液浓度的增大而减小, 直至消失, 这说明乌梅提取液具有抑制草酸钙晶体生长的作用, 且这种抑制作用随乌梅浓度的增大而增大。本文还通过电导率法研究了草酸钙晶体生长的动力学过程, 发现乌梅提取液主要能抑制草酸钙晶体的成核过程。

关键词: 草酸钙; 泌尿结石; 乌梅; 抑制; 电导率

中图分类号: O614.23¹3; O743³

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2008)10-1604-06

Inhibitory Effect of Extract from *Fuctus Mume* on Calcium Oxalate Crystal Growth

WANG Ping^{1,2} SHEN Yu-Hua^{*,1} XIE An-Jian¹ LI Shi-Kuo¹ HUANG Fang-Zhi¹ QIU Ling-Guang¹

(¹School of Chemistry and Chemical Engineering, Anhui University, Hefei 230039)

(²School of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031)

Abstract: The inhibitory effect of the extract from *Fuctus Mume* on the crystallization of calcium oxalate crystals in aqueous solution was studied, and the crystals were characterized by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), and scanning electron microscopy (SEM). The results showed that the calcium oxalate monohydrate (COM) was the dominant phase in pure water while calcium oxalate dehydrate (COD) crystal alone appeared in the extract of *Fuctus Mume*. The size of the COD crystals reduced apparently as the content of the extract of *Fuctus Mume* increased in water. It suggests that the extract of *Fuctus Mume* could inhibit the crystallization of calcium oxalate monohydrate, and the inhibiting ability increases along with the increase of the extract concentration. The kinetic growth process of calcium oxalate crystals was studied by monitoring the electrical conductivity of solution and the result suggests that the extract of *Fuctus Mume* mainly inhibits the nucleation of CaC_2O_4 .

Key words: calcium oxalate; urinary stone; fuctus mume; prohibition; electrical conductivity

泌尿结石是生物体内异常生物矿化的产物, 其主要成分为草酸钙^[1]。在泌尿结石中, 草酸钙的存在形式主要有 3 种: 热力学最稳定的一水草酸钙(COM)、亚稳态的二水草酸钙(COD)及最不稳定的三

水草酸钙(COT)。其中, COT 是泌尿结石形成的先驱, 在尿结石中很少出现。而 COD 晶体与 COM 晶体相比, 与肾小管细胞的接触程度较小、与肾小管细胞表面结合力较弱, 因此, COD 比 COM 更容易随

收稿日期: 2008-03-07。收修改稿日期: 2008-08-25。

国家自然科学基金(No.20471001, 20671001), 安徽省教育厅重大项目(No.ZD2007004-1), 高校博士点基金(No.20070357002)及安徽省功能无机材料化学重点实验室基金资助。

*通讯联系人。E-mail: s_yuhua@163.com

第一作者: 王 萍, 女, 42 岁, 讲师, 在职研究生; 研究方向: 生物无机化学。

尿排出体外^[2]。

近年来,人们对草酸钙晶体生长的抑制因素及其抑制作用的动力学过程进行了广泛研究^[3-5],其目的是为了探索抑制因素的作用机理,从而更好地防治尿结石症。中草药方剂用于防治尿结石病的历史悠久,疗效显著。为了弄清中草药防治尿结石的作用机制,新的单味中药对草酸钙尿结石的抑制作用研究引起人们的关注^[6-9]。其研究结果对临床寻求治疗尿结石的有效药物,减轻结石患者的痛苦具有重要意义。

中药乌梅,传统用于治疗肺虚久咳,口干烦渴,胆道蛔虫,便血,尿血等疾病^[10]。近年来研究发现乌梅具有抗肿瘤、抗过敏、抗氧化等作用^[11]。但用于治疗尿结石病还未见报道。乌梅果实中含有丰富的有机酸,主要为柠檬酸 19%、苹果酸 15%,此外还有酒石酸、天冬氨酸、熊果酸等^[12]。已有研究表明,柠檬酸及其盐可以在体外抑制 COM 晶体的成核与聚集^[13-15]。考虑中药中多种成分的协同作用,如乌梅中的苹果酸、酒石酸、天冬氨酸、熊果酸等的羧基也能与钙离子螯合,我们选择乌梅进行抑制草酸钙晶体生长的体外模拟研究,以期寻找更有效治疗尿结石的药物提供实验依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

草酸钠(北京化工厂)、无水氯化钙(上海泗联化工厂)皆为分析纯试剂。水为二次水。

乌梅(*Fuctus Mume*),福建产,来源于蔷薇科植物梅 *Prunuts munue* (Sieb). *Sieb.et Zucc* 的成熟或近成熟的果实经晒干而成。

美国 Nicolet 公司 NEXUS-870 傅立叶变换红外光谱仪上测试样品的红外光谱,用 KBr 压片(扫描范围 4 000~400 cm^{-1} , 扫描 32 次,分辨率 4 cm^{-1}); KYKY-EM3200 型(北京中科科仪技术发展有限责任公司)电子显微镜(SEM)测试晶体形貌,加速电压 20 kV; Y-4Q 型 X 射线衍射仪(丹东射线仪器工业公司)进行物相测试,测试电压 35 kV,电流 25 mA,扫描速度 0.06°·s⁻¹。DDS-11A 电导率仪(上海理达仪器厂)。TGL-16G 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 乌梅提取液的制备

取生乌梅 100 g,洗净,放入 2 000 mL 大烧杯中,加二次水 800 mL,煮沸 60 min,过滤。滤渣加二

次水 600 mL,煮沸 40 min,过滤。合并两次滤液,浓缩成生药浓度为 0.05 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的乌梅提取液,用高速离心机离心(16 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)10 min,取上清液,冷藏备用。

1.2.2 乌梅对草酸钙晶体生长的影响

在 1 只洁净的烧杯中加入 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 溶液 32 mL,二次水 136 mL 和 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 溶液 32 mL,使 $c_{\text{Ca}^{2+}}=c_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}}=0.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,搅拌均匀,放置 1 片经过亲水性处理的玻璃片(0.5 $\text{cm}\times 0.5\text{ cm}$)。

用生药浓度分别为 0.01、0.03、0.05、0.1 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的乌梅提取液替换二次水,同法操作,并测定体系的 pH 值分别为 4.2、3.8、3.2 和 3.0。

将上述 5 个烧杯于 (10±1) °C 恒温放置 3 d,取出玻璃片进行 SEM 测试,烧杯中沉淀离心分离,取出草酸钙晶体,分别用乙醇和二次水洗涤数次,干燥,进行 FTIR 及 XRD 测试。

1.2.3 草酸钙结晶动力学研究

在 100 mL 烧杯中加入 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液 16 mL,加二次水 68 mL,再加 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 溶液 16 mL,立即测定溶液电导率,每隔 30 s 读取 1 次电导率值,实验过程中以恒定速度搅拌被测溶液。

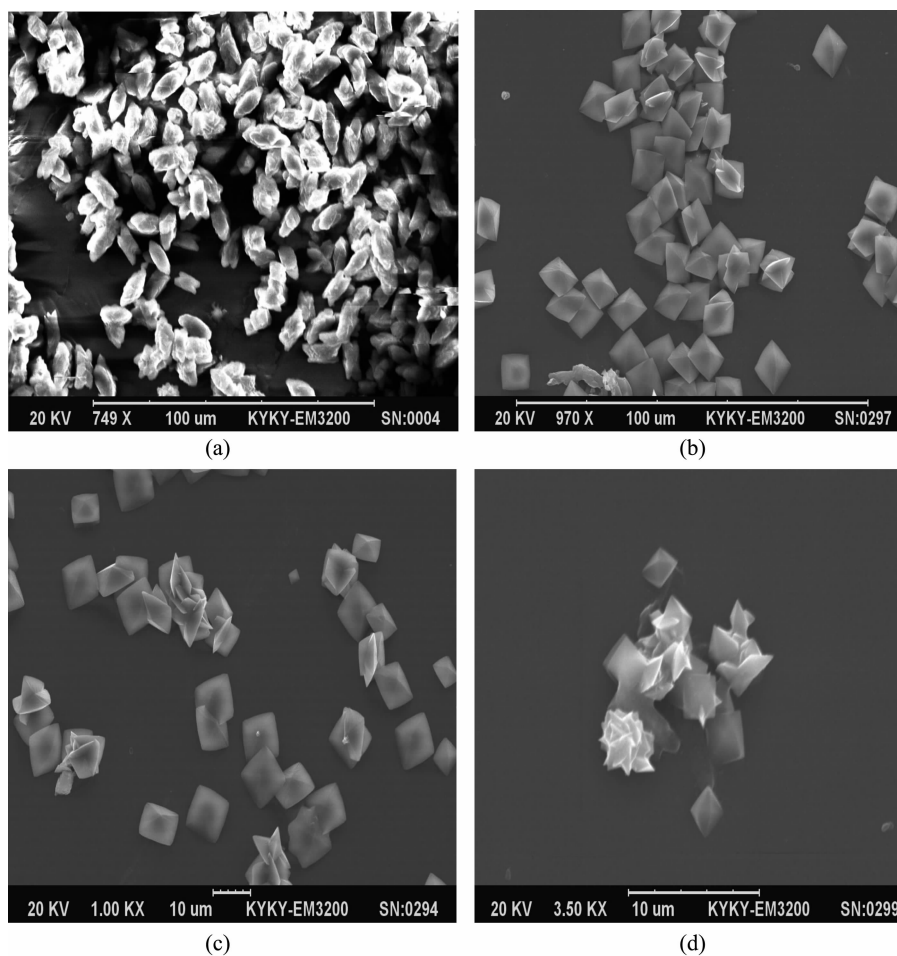
用乌梅生药浓度分别为 0.1 和 0.5 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的提取液替换二次水,同法测定。

2 结果与讨论

2.1 乌梅对草酸钙晶体生长的影响

2.1.1 草酸钙晶体的 SEM 图像

不同条件下制得的草酸钙晶体的 SEM 图像如图 1 所示。图 1a 为不加乌梅提取液所形成的晶体,均为截面呈拉长六边形的 COM^[15],其截面对角线平均长度分别为 13.3、9.5 和 9.5 μm (取样数为晶体总数一半,相对标准偏差为 1.55%)。加入不同浓度乌梅提取液后得到的晶体形貌均为四方锥形的 COD 晶体^[16],但晶体的尺寸大小不等。加入 0.01 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 乌梅提取液后所得晶体截面对角线平均尺寸分别为 12.3、11.8 μm (图 1b)(取样数为晶体总数一半,相对标准偏差 2.16%);当乌梅提取液的浓度增大到 0.03 和 0.05 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,四方锥晶体截面的平均尺寸分别为 9.8、9.6 μm (取样数为晶体总数一半,相对标准偏差为 5.09%)(图 1c)和 2.6、2.6 μm (取样数为所有晶体,相对标准偏差为 9.74%)(图 1d),而当乌梅提取液浓度达到 0.1 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,体系中没有形成



a: without *Fuctus Mume*; b~d: with 0.01, 0.03 and 0.05 g·mL⁻¹ extract of *Fuctus Mume*, respectively

图 1 不同体系中生长草酸钙晶体的 SEM 图像

Fig.1 SEM images of CaC₂O₄ crystals grown in different systems

固体沉淀。从以上结果可以看出, 乌梅提取液可以使六边形的 COM 晶体转化为四方锥形 COD 晶体。此外, 随着乌梅提取液浓度的增大, 四方锥形晶体尺寸变小, 甚至完全消失, 说明乌梅提取液可以抑制草酸钙晶体的生长, 并且这种抑制作用随其浓度的增大而增大。

2.1.2 草酸钙晶体的 FTIR 谱

表 1 为不同体系中形成的草酸钙晶体的红外光谱数据。样品 a 为反应液中不加乌梅提取液时获得的草酸钙晶体红外光谱数据, 1 620.9 cm⁻¹ 为草酸

钙晶体羧基的不对称伸缩振动峰 $\nu_{as}(\text{COO}^-)$, 1 318.0 cm⁻¹ 为羧基的对称伸缩振动峰 $\nu_s(\text{COO}^-)$, 对比草酸钙晶体标准红外数据可知, 这 2 处峰值属于 COM 晶体的特征吸收峰。样品 b~d 是加入不同浓度乌梅提取液后形成的草酸钙晶体的红外光谱。三者的峰值相近, 与 a 相比, 羧基的不对称伸缩振动峰 $\nu_{as}(\text{COO}^-)$ 向高频方向移动到 1 637~1 646 cm⁻¹, 而对称伸缩振动峰 $\nu_s(\text{COO}^-)$ 则向高频移动到 1 325~1 326 cm⁻¹ 处, 而所有的这些吸收峰正好符合 COD 的标准谱图^[17]。

表 1 不同体系中生长的草酸钙晶体的 FTIR 光谱数据

Table 1 FTIR spectral data of CaC₂O₄ crystals prepared in different systems

Sample	COM	COD	a	b	c	d
$\nu_{as}(\text{COO}^-) / \text{cm}^{-1}$	1 621	1 647	1 620.9	1 637.9	1 645.7	1 646.5
$\nu_s(\text{COO}^-) / \text{cm}^{-1}$	1 317	1 325	1 318.0	1 325.7	1 326.1	1 326.2

a: without *Fuctus Mume*; b~d: with 0.01, 0.03 and 0.05 g·mL⁻¹ extract of *Fuctus Mume*, respectively.

2.1.3 草酸钙晶体的 XRD 图

图 2 为草酸钙晶体的 XRD 图。在纯水中生长的草酸钙晶体的 XRD 谱如图 3a 所示。图中 CaC_2O_4 晶体的主衍射峰的 d 值为 0.593, 0.365, 0.298 和 0.236 nm, 分别归属于 COM 晶体的 $(\bar{1}01)$ 、 (020) 、 $(\bar{2}02)$ 和 (130) 面的衍射, 表示该体系生成的 CaC_2O_4 晶体主要是 COM。图 2b、图 2c 及图 2d 分别为加入生药浓度 0.01、0.03 和 0.05 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、乌梅提取液的 XRD 谱图, 三图中衍射峰相似, 与图 2a 相比较, 谱图发生了较大的变化。在图 2a 中归属于 COM 晶体的衍射峰在这几个图中均未出现, 而在 d 值为 0.618, 0.277, 0.442 及 0.224 nm 处都出现分别归属于 COD 晶体 (200) 、 (411) 、 (211) 和 (213) 面的衍射峰, 说明加入乌梅提取液后体系中生长的草酸钙晶体均为 COD 晶体, 与 SEM 观察推测的结果吻合。

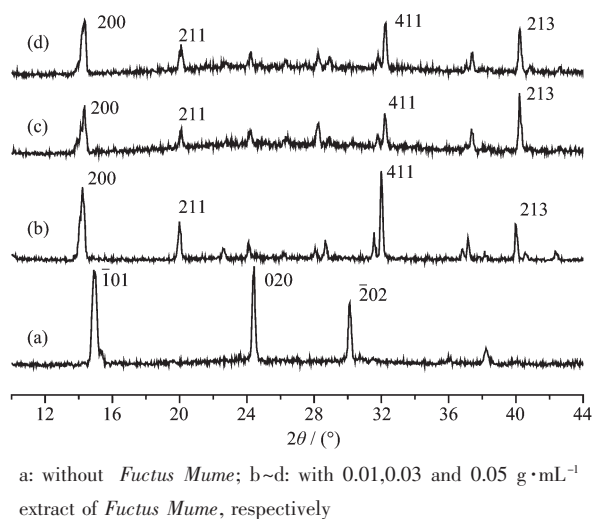
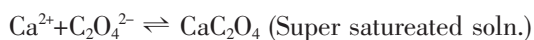


图 2 草酸钙晶体的 XRD 图

Fig.2 XRD patterns of CaC_2O_4 crystals synthesized in different systems

2.2 乌梅提取液中草酸钙晶体生长的动力学研究

草酸钙尿结石形成的过程是在基质的调控下从过饱和尿液中析出草酸钙晶体的过程, 其结晶过程可用下式表示:

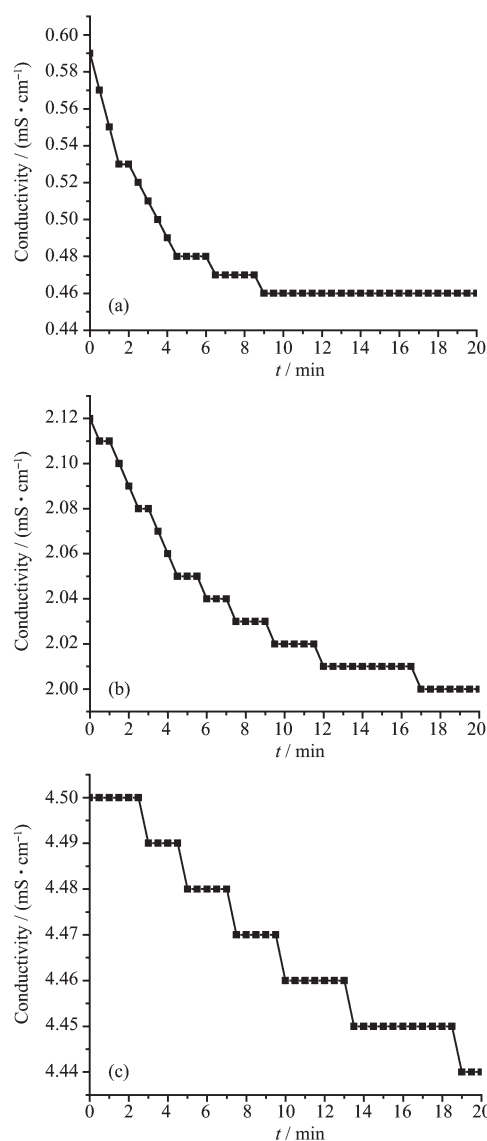


晶体生长过程中, 溶液中的离子相互作用形成过饱和溶液, 析出草酸钙微粒, 微粒间由于范德华力、静电作用及微粒与有机基质的作用而聚集成簇, 继而形成晶核并逐渐长大。当过饱和溶液中的

CaC_2O_4 晶体析出时, 溶液中导电离子的总浓度减少, 导电能力减弱, 溶液的电导率值下降, 因此, 通过电导率随时间的动态变化情况可以监控草酸钙晶体的结晶动力学过程。

草酸钙结晶的形成过程分为成核、生长与聚集 3 个步骤。这一过程中电导率呈现不同的变化。反应初期电导率的变化与晶体的成核有关, 反应后期电导率的变化则反映晶体的生长和聚集^[8]。

图 3 为草酸钙晶体生长过程中电导率随时间动态变化曲线图。在不加乌梅提取液的纯水体系中 (图 3a), 溶液的电导率在 4 min 内迅速下降, 其后变



a: without *Fucus Mume*; b, c: with 0.1, 0.5 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ extract of *Fucus Mume*, respectively

图 3 晶体生长过程中电导率和时间的关系

Fig.3 Conductivity change with time in the growth of calcium oxalate

化变缓,10 min后达到沉淀溶解平衡,说明 Ca^{2+} 与 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 反应后迅速聚集成核。加入 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 乌梅提取液后(图 3b),电导率的动力学曲线下降缓慢,持续时间较长,可见乌梅提取液抑制了晶体的成核。这可能是由于乌梅中含有的柠檬酸、苹果酸、酒石酸等有机酸与钙螯合,同溶液中的 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 竞争吸引 Ca^{2+} ,降低了溶液中钙离子浓度,使 $\text{Ca}^{2+} + \text{C}_2\text{O}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{CaC}_2\text{O}_4$ 平衡向左移动,难以形成 CaC_2O_4 分子,从而使 CaC_2O_4 晶体成核较慢。虽然 Ca^{2+} 与有机酸螯合可能对电导率产生影响,但由于 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 浓度降低减缓,使溶液的电导率下降平缓。而溶液中其他离子(如 Na^+ 、 Cl^- 及有机酸电离的氢离子等)在该条件下并不发生反应,因此不改变溶液的电导率。当加入乌梅提取液的浓度为 $0.5 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时(图 3c),溶液中钙离子浓度进一步降低,电导率曲线初始部分出现 1 个平台,且在缓慢下降过程中持续有平台出现, CaC_2O_4 晶体的成核速率更加缓慢。以上情况说明乌梅提取液对草酸钙晶体生长的影响主要是抑制 CaC_2O_4 晶体的成核。随着乌梅提取液浓度增大,这种抑制作用逐渐增强。

2.3 乌梅提取液对草酸钙晶体成核与生长的抑制机理探讨

乌梅中含有多种能与钙离子螯合的有机酸、氨基酸等化学成分,据此,我们推测乌梅对草酸钙晶体的生长具有抑制作用,并通过该实验证实了这种作用。我们认为,乌梅对草酸钙晶体成核与生长的抑制作用主要有以下原因:

(1) 乌梅中的柠檬酸、苹果酸等有机酸分子含有多个 $-\text{COOH}$,可以电离出 COO^- 与 COM 晶体(101)面富集的钙离子配位而占据晶体表面生长点,从而抑制草酸钙晶体的形成。

从电导率实验结果可以说明这一点(见图 3)。在含有钙离子的溶液中加入乌梅提取液后,所得电导率曲线下降变缓,说明说明乌梅提取液中的化学成分(主要是有机酸)与溶液中的钙离子发生了螯合,从而使钙离子与草酸根离子的结合受到抑制,即草酸钙的成核受到抑制。当乌梅提取液的浓度增大时,电导率曲线下降的更慢,说明这种螯合作用也更强。

另外,有机酸的羧基所带的负电荷聚集在晶体表面增大了晶体微粒之间的相互排斥,阻止晶体的生长和聚集,

(2) 根据溶质分子结晶过程生成晶体的吉布斯

自由能公式^[19,20]

$$\Delta G = -kT \ln(C_1/C_0) \quad (1)$$

C_1 为溶质的过饱和浓度, C_0 为溶质的饱和浓度, $K_{\text{sp}}(\text{Ca}_2\text{CO}_3) = C_0^2$, $C_0 = K_{\text{sp}}(\text{Ca}_2\text{CO}_3)^{1/2}$, 即在一定温度下, C_0 值为一定,当 C_1 增大,即溶液的过饱和度增大时, ΔG 减小,有利于高能 COD 晶体的生成。当晶体生长体系中加入乌梅后,由于乌梅中所含有机酸的 COO^- 与溶液中的钙离子配位,而钙离子又吸附溶液中的草酸根离子,使局部草酸钙的过饱和度增大, ΔG 减小,从而抑制了 COM 的生长,促进 COD 晶体生成。

从红外光谱数据(见表 1)和 XRD 图(见图 2)均可以看出,当体系中不加乌梅提取液时,所形成的晶体为 COM 晶体,而加入不同浓度的乌梅提取液后,体系中只形成了 COD 晶体。

(3) 有实验表明^[21],弱酸性环境有利于抑制草酸钙的沉淀。而乌梅中含有多种的有机酸使其提取液显酸性(pH 值为 3~4),因此使草酸钙晶体的生长受到抑制。

此外,乌梅中的其他成分如 β -谷甾醇、棕榈酸等也能通过与钙离子的配位对草酸钙晶体的形成起到抑制作用。

3 结 论

综上所述,乌梅提取液可以抑制草酸钙晶体的形成,这种抑制作用主要是抑制 CaC_2O_4 晶体的成核,且这种抑制作用随乌梅提取液浓度的增大而增大。乌梅的主要化学成分是有机酸,其中最主要的是柠檬酸。因此,乌梅对草酸钙晶体的抑制作用可能是以柠檬酸为主的多种成分协同作用的结果。

由于生物体内的晶体生长是一个非常复杂的过程,而中药中的各种有效成分的协同作用机制也不十分清楚,故乌梅对草酸钙晶体生长的抑制机理尚需更多的实验研究。下一步,我们将通过 XRD-FTIR-SEM 及电导率测定等方法对乌梅中所含的不同有机酸对草酸钙晶体生长的影响机理进行更加深入的研究。

参考文献:

- [1] Girija E K, Latha S C, Kalkura S N, et al. *Mater. Chem. Phys.*, **1998**, *52*:253~257
- [2] OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), YAO Xiu-Qiong(姚秀琼), SU Ze-Xuan(苏泽轩), et al. *Science in China, Series B*

- (*Zhongguo Kexue B*), **2003**,**33**(1):14~19
- [3] Shen Y H, Yue W J, Xie A J, et al. *Colloids Surf. B*, **2005**, **45**:120~124
- [4] ZHU Jun(朱 军), SHEN Yu-Hua(沈玉华), XIE An-Jian(谢安建), et al. *Chemical Research and Application (Huaxue Yanjiu Yu Yingyong)*, **2007**,**19**(5):483~488
- [5] XIE An-Jian(谢安建), MA Dong(马 东), ZHU Jun(朱 军), et al. *J. Anhui University(Natural Science)(Anhui Daxue Xuebao Ziran Kexue Ban)*, **2007**,**32**(2):71~74
- [6] CHAO Zheng-Guo(曹正国), LIU Ji-Hong(刘继红), WU Ji-Zou(吴继洲), et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs (Zhongcaoyao)*, **2003**,**34**(1):45~48
- [7] WANG Ping(王 萍), SHEN Yu-Hua(沈玉华), XIE An-Jian(谢安建), et al. *J. Anhui University(Natural Science)(Anhui Daxue Xuebao Ziran Kexue Ban)*, **2006**,**30**(1):80~84
- [8] Hirayama H, Wang Z, Nishi K, et al. *Br. J. Urol.*, **1993**,**71**: 143~147
- [9] ZHANG Shi-Sheng(张石生), LIU Guo-Dong(刘国栋), et al. *Chin. J. Urol.(Zhonghua Miniao Waike Zazhi)*, **1996**, **17**(1): 51~53
- [10] Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences(中国医学科学院药物研究所). *Chinese Materia Medica(Vol.3)*(中药志(第三册)). Beijing: People's Medical Publishing House, **1984**.
- [11] XU La-Ying(许腊英), YU Peng(余 鹏), MAO Wei-Lun(毛维伦), et al. *Journal of Hubei College of Traditional Chinese Medicine(Hubei Zhongyi Xueyuan Xuebao)*, **2003**,**5**(1):52~57
- [12] Nanjing University of Traditional Chinese Medicine(南京中医药大学). *Dictionary of Chinese Materia Medica(Second Edition)*(中药大辞典,第二版). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2008.
- [13] JU Zheng-Hua(居正华), ZHANG Xu(张 旭), WANG Shao-Gang(王少刚), et al. *China Journal of Modern Medicine (Zhongguo Xiandai Yixue Zazhi)*, **2005**,**15**(10):1496~1499
- [14] Cody A M, Cody R D. *J. Cryst. Growth*, **1994**,**135**:234~245
- [15] OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), TAN Yan-Hua(谭燕华), SHEN Yu-Hua(沈玉华). *Acta Phys.-Chim. Sin. (Wuli Huaxue Xuebao)*, **2003**,**19**(4):368~371
- [16] Shen Y H, Yue W J, Xie A J, et al. *J. Colloids and Surfaces*, **2004**,**234**:35~41
- [17] Laurence M E, Levillain P, Lacour B, et al. *Clin. Chim. Acta*, **2000**,**298**:1~11
- [18] ZHANG Xiao-Ni(张小霓), YU Pin(于 萍), LUO Yun-Bo(罗运柏). *Chinese J. Apply Chem.(Yingyong Huaxue)*, **2004**, **21**(2):187~191
- [19] WU Bing(吴 冰), YAO Song-Nian(姚松年), TONG Hua(童华), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **1999**,**15**(3):341~346
- [20] YAO Lian-Zeng(姚连增). *Basic of Crystal Growth*(晶体生长基础). Hefei: University of Science and Technology of China Press, **1994**.
- [21] ZHANG Pei-Ping(张培萍), LIU Li-Hua(刘丽华), DONG Jun-Ling(董峻岭), et al. *J N Bethune Univ. Med. Sci. (Baiqiuen Yike Daxue Xuebao)*, **2001**,**27**(5):567~568