

6), 6.84 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-5), 6.39 (1 H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-8), 6.20 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-6), 5.36 (1H, br s, H-1, 鼠李糖端基质子), 3.23 ~ 4.50 (4H, 糖环上质子), 0.99 (3H, d,  $J = 5.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 178.06 (C-4), 164.72 (C-7), 161.88 (C-5), 158.3 (C-9), 157.5 (C-2), 149.8 (C-4), 145.4 (C-3), 133.9 (C-3), 121.9 (C-6), 121.8 (C-1), 116.9 (C-5), 115.4 (C-2), 104.9 (C-10), 101.5 (C-1), 99.35 (C-6), 94.25 (C-8), 77.3 (C-4), 72.49 (C-3), 70.99 (C-2), 68.9 (C-5), 18.36 (C-6)。以上数据与文献<sup>[9]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物为槲皮苷。

化合物:白色针晶, mp 305 ~ 306。Liebermann-Burchard 反应呈阳性。与齐墩果酸对照品混合,共熔点不下降;它们的 IR、TLC 的  $R_f$  值均一致<sup>[10]</sup>,故鉴定该化合物为齐墩果酸。

#### 参 考 文 献

[1] 中科院植物研究所. 中国高等植物图鉴 [M]. 北京:北

京科学出版社, 1972: 4.

- [2] 于丽静, 宁正祥, 于丽伟, 等. 多穗柯中二氢查耳酮的提取、纯化与含量测定 [J]. 中国食品添加剂, 2007, 1(1): 176-180.
- [3] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 [M]. 下册. 北京:人民卫生出版社, 1987: 256.
- [4] 肖坤福, 廖晓峰. 多穗柯黄酮类化合物的分离及鉴定 [J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 85-87.
- [5] 朱智勇, 罗金花, 张兵锋. 马醉木的化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(5): 687-689.
- [6] 周文华, 水谷健二, 田中治, 等. 湖南甜茶的甜味成分研究 [J]. 食品科学, 1992, (4): 17-19.
- [7] 余得泉, 杨俊山. 分析化学 [M]. 第二版. 北京:化学工业出版社, 1999: 892-941.
- [8] 周立新, 丁怡. 水蜡树化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(9): 541-543.
- [9] 董建勇, 贾忠建. 赶山鞭中黄酮类化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(12): 897-899.
- [10] 吴立军, 相婷, 侯柏玲, 等. 女贞子化学成分的研究 [J]. 植物学报, 1998, 40(1): 83-87.

## 马兰化学成分研究

王 刚<sup>1</sup>, 王国凯<sup>1</sup>, 刘劲松<sup>1</sup>, 余 波<sup>2</sup>, 王 飞<sup>3</sup>, 刘吉开<sup>3</sup>

(1. 安徽中医学院药学院 现代中药安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230031; 2. 上海市闵行区中心医院药剂科, 上海 201100; 3. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

**摘要** 目的:研究马兰的化学成分。方法:采用硅胶柱色谱和凝胶柱色谱 Sephadex LH-20 进行分离纯化,通过理化性质和波谱数据分析进行结构鉴定。结果:从马兰 80%乙醇提取物中分离鉴定了 9 个化合物,分别为:正三十三烷( )、hexadecanol( )、大黄酚( )、香草醛( )、大黄素甲醚( )、谷甾醇( )、豆甾醇( )、亚油酸( )、大黄素( )。结论:除化合物、外,其余化合物均为首次从该属植物中分得,化合物、对  $\text{CCl}_4$  诱导的肝损伤有一定的保护作用。

**关键词** 马兰;化学成分;肝保护

中图分类号: R284.1/R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2010)04-0551-04

### Studies on the Chemical Constituents of *Kalimeris indica*

WANG Gang<sup>1</sup>, WANG Guo-kai<sup>1</sup>, LIU Jin-song<sup>1</sup>, YU Bo<sup>2</sup>, WANG Fei<sup>3</sup>, LIU Ji-kai<sup>3</sup>

(1. School of Materia Medica, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Anhui Key Laboratory of Modernized Chinese Material Medical, Hefei 230031, China; 2. The central hospital of Min-Hang district, Shanghai 201100, China; 3. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming 650204, China)

**Abstract** Objective: To study the chemical constituents from *Kalimeris indica*. Methods: Compounds were isolated and purified with silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, their structures were determined by using spectroscopic analysis including

收稿日期: 2009-03-18

作者简介:王刚 (1958-),男,副教授,硕士生导师,研究方向:天然药物化学研究; Tel: 0551-5169227, E-mail: kunhong\_8@163.com。

MS and NMR. Results: Nine compounds were isolated and identified as tritriacontane ( ), hexadecanol ( ), chrysophanol ( ), vanillin ( ), physcion ( ),  $\beta$ -sitosterol ( ), stigmastanol ( ), linoleic acid ( ), emodin ( ). Conclusion: All of them, except compound 、 , are isolated from this genus for the first time. Compound 、 had the protective effects with the toxicity of  $CCl_4$  on primary cultured hepatocytes.

**Key words** *Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip; Chemical constituent; Hepatic protection

马兰为菊科马兰属植物马兰 *Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip 的全草,为民间用草药,资源丰富、价格低廉,也常作野菜食用,用马兰或以马兰为君药的复方有效治疗乙肝病的各类临床研究多有报道<sup>[1]</sup>,且疗效显著。而马兰化学成分研究报道<sup>[2,3]</sup>并不充分。为此笔者对马兰的化学成分进行系统研究,通过硅胶及凝胶柱色谱分离,从其 80%乙醇提取物中分离并鉴定了 9 个化合物,分别为:正三十三烷 (tritriacontane, )、hexadecanol ( )、大黄酚 (chrysophanol, )、香草醛 (vanillin, )、大黄素甲醚 (physcion, )、谷甾醇 (  $\beta$ -sitosterol, )、豆甾醇 (stigmastanol, )、亚油酸 (linoleic acid, )、大黄素 (emodin, )。其中除化合物 、 外,均为首次从该属植物中分离得到。

## 1 仪器和材料

1.1 仪器 Bruker AM-400 和 Bruker DRX-500 核磁共振波谱仪 (以 TMS 为内标); VG Autospec-3000 质谱仪; XRC-1 型显微熔点仪 (温度计未校正,四川大学科仪厂); 薄层硅胶及柱色谱硅胶均由青岛海洋化工厂生产。

1.2 材料 实验用马兰全草采自安徽合肥,并经安徽中医学院中药教研室方成武副教授鉴定为菊科马兰属植物马兰 *Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip 的全草。实验所用试剂均为分析纯。

## 2 提取分离

马兰干燥全草 15 kg,用 80%乙醇回流提取 3 次 (180 L  $\times$ 3),每次 2 h,滤过,合并滤液,减压回收溶剂至稠浸膏,加水使之成混悬液,依次用石油醚 (60~90 )、水饱和正丁醇萃取,萃取液浓缩至浸膏。取石油醚萃取部位 150 g 上硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱。石油醚-乙酸乙酯 (100:0) 部分再次经硅胶柱色谱,石油醚-氯仿反复重结晶后得到化合物 (943 mg),母液经 Sephadex LH-20 柱纯化得到化合物 (5.7 mg)。经反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱纯化,石油醚-乙酸乙酯 (100:1) 部分得到化合物 (9.6 mg),石油醚-乙酸乙酯 (100:2) 部分得到化合物 (23.6 mg)、 (53.4 mg)、 (22.6 mg),石油醚-乙酸乙酯 (100:3) 部分得到化合物 (11.3 mg),石油醚-乙酸乙酯 (100:5) 部

分得到化合物 (10.4 mg),石油醚-乙酸乙酯 (15:1) 部分得到化合物 (4.7 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 : 无色蜡片状结晶,易溶于石油醚、氯仿,难溶于甲醇、乙醇。EIMS  $m/z$  (%): 464 [ $M^+$ ], 436 [ $M-C_2H_4$ , 10], 337 [ $M-C_9H_{19}$ , 11], 225 (12), 169 (19), 85 ( $C_6H_{13}$ , 98), 71 ( $C_5H_{11}$ , 93), 57 ( $C_4H_9$ , 100); 分子式为  $C_{33}H_{68}$ 。 $^1H-NMR$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 0.87 (6H, t,  $J = 1.3$  Hz,  $CH_3 \times 2$ ), 1.27 (62H, m,  $CH_2 \times 31$ )。以上数据与参考文献<sup>[4,5]</sup>一致,故确定该化合物为正三十三烷 (tritriacontane)。

化合物 : 白色无定形粉末,易溶于石油醚、氯仿、乙酸乙酯。EIMS  $m/z$  (%): 481 (5), 396 (18), 382 (8), 368 (7), 339 (4), 297 (3), 185 (10), 129 (36), 97 (49), 83 (61), 71 (74); 分子式为  $C_{36}H_{70}O$ 。 $^1H-NMR$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 2.23 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-2), 1.17~1.29 (m, H-4~14), 4.51 (2H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-1), 5.24 (1H, t,  $J = 3.2$  Hz, H-2), 0.85~0.91 (18H,  $CH_3 \times 6$ );  $^{13}C-NMR$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz): 173.1 (s, C-1), 61.1 (t, C-1), 118.0 (s, C-2), 142.5 (s, C-3), 22.6~39.2 (t,  $CH_2$ ), 14.0 (q,  $CH_2$ )。以上数据与参考文献<sup>[6]</sup>一致,确定该化合物为 hexadecanol。

化合物 : 橙黄色针晶, mp 200~201 ,易溶于石油醚、氯仿。Bomträger 反应呈红色,乙酸镁反应呈橙红色。EIMS  $m/z$  (%): 254 [ $M^+$ , 100], 239 (5), 237 [ $M-OH$ , 6], 226 [ $M-CO$ , 15], 198 (9), 152 (11), 115 (6); 分子式为  $C_{15}H_{10}O_4$ 。 $^1H-NMR$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 12.11, 11.99 (各 1H, s, 1-OH and 8-OH), 7.66 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-6), 7.81 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.2$  Hz, H-5), 7.62 (1H, br s, H-4), 7.27 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.2$  Hz, H-7), 7.08 (1H, br s, H-2), 2.46 (3H, s, Ar- $CH_3$ );  $^{13}C-NMR$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz): 162.7 (s, C-1), 121.3 (d, C-2), 149.3 (s, C-3), 136.9 (d, C-4), 124.3 (d, C-5), 124.5 (d, C-6), 119.9 (d, C-7), 162.4 (s, C-8), 192.5 (s, C-9), 181.9 (s, C-10), 22.2 (q, C-11), 133.6 (s, C-4a), 113.7 (s, C-8a), 115.8 (s, C-9a), 133.2 (s, C-10a)。以上数据与参考文献<sup>[7]</sup>一致,故确定该化合物为大

黄酮 (chrysophanol)。

化合物 : 白色针晶, mp 81 ~ 82 。 EIMS  $m/z$  (%) : 152 [ $M^+$ , 93], 151 (100), 137 (8), 123 (17), 109 (13), 81 (15), 77 (5), 65 (7); 分子式为  $C_8H_8O_3$ 。  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz) : 9.81 (1H, s, CHO), 7.43 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.6$  Hz, H-6), 7.42 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2), 7.04 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.51 (1H, br s, OH), 3.94 (3H, s,  $OCH_3$ );  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz) : 129.7 (s, C-1), 108.8 (d, C-2), 151.7 (s, C-3), 147.2 (s, C-4), 114.4 (d, C-5), 127.6 (d, C-6), 191.0 (d, CHO), 56.0 (q,  $OCH_3$ )。以上数据与参考文献<sup>[8]</sup>一致, 故确定该化合物为香草醛 (vanillin)。

化合物 : 无色针晶, mp 60 ~ 61 , 易溶于氯仿、丙酮、甲醇。Bomträger反应呈红色, 乙酸镁反应呈橙红色。 EIMS  $m/z$  (%) : 284 [ $M^+$ , 100], 255 (15), 241 (9), 228 (3), 197 (2), 128 (11), 115 (3), 89 (1), 77 (3), 69 (2); 分子式为  $C_{16}H_{32}O_2$ 。  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz) : 12.08 (1H, s, 1-OH), 12.27 (1H, s, 8-OH), 6.68 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-2), 7.35 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-4), 7.60 (1H, s, H-5), 7.07 (1H, s, H-7), 3.93 (3H, s,  $OCH_3$ ), 2.44 (3H, s,  $CH_3$ );  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz) : 166.6 (s, C-1), 106.8 (d, C-2), 162.3 (s, C-3), 121.2 (d, C-4), 124.4 (d, C-5), 148.4 (s, C-6), 108.1 (d, C-7), 165.0 (s, C-8), 190.8 (s, C-9), 182.0 (s, C-10), 22.0 (q, C-11), 56.0 (q, C-12), 133.3 (s, C-4a), 113.7 (s, C-8a), 110.3 (s, C-9a), 135.4 (s, C-10a)。以上数据与参考文献<sup>[9,10]</sup>一致, 故确定该化合物为大黄素甲醚 (phycion)。

化合物 : 无色针晶, mp 136 ~ 137 , 易溶于氯仿、乙酸乙酯, 难溶于甲醇、乙醇。Liebemann-Burchard反应呈阳性。分子式为  $C_{29}H_{50}O$ 。化合物谷甾醇的混合熔点不下降, 且 TLC的 Rf值一致, 故确定该化合物为 谷甾醇 (sitosterol)。

化合物 : 无色针晶, mp 167 ~ 168 , 易溶于氯仿、丙酮。Liebemann-Burchard反应呈阳性。 EIMS  $m/z$  (%) : 412 [ $M^+$ , 25], 397 [ $M-CH_3$ , 10], 369 (11), 351 (6), 274 (6), 271 (100), 255 (46), 231 (15), 213 (17); 分子式为  $C_{29}H_{48}O$ 。  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz) : 5.14 (1H, m, H-6), 5.03 (1H, dd,  $J = 8.4, 15.0$  Hz, H-22), 5.00 (1H, dd,  $J = 15.0, 8.4$  Hz, H-23), 3.57 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, d,  $CH_3$ -21), 1.01 (3H, s,  $CH_3$ -19), 0.81 (3H, t,  $J = 2.8$  Hz,  $CH_3$ -29), 0.79 (3H, s,  $CH_3$ -27), 0.54 (3H, s,  $CH_3$ -

18);  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz) : 37.1 (C-1), 31.9 (C-2), 43.3 (C-4), 140.0 (C-6), 117.4 (C-7), 19.0 (C-27), 25.4 (C-28), 21.1 (C-11), 25.4 (C-15), 28.5 (C-16), 55.9 (C-17), 12.04 (C-18), 19.0 (C-19), 40.2 (C-20), 21.5 (C-21), 138.2 (C-22), 129.4 (C-23), 51.2 (C-24), 31.8 (C-25), 21.4 (C-26), 12.26 (C-29)。以上数据与参考文献<sup>[11]</sup>一致, 并且同已知对照品豆甾醇比较, TLC的 Rf值与显色均一致, 故确定该化合物为豆甾醇 (stigmastrol)。

化合物 : 无色油状物, 易溶于石油醚、氯仿等有机溶剂。 EIMS  $m/z$  (%) : 280 [ $M^+$ , 17], 123 (11), 95 (57), 81 (62), 67 (100), 55 (18); 分子式为  $C_{18}H_{32}O_2$ 。  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz) : 5.36 (4H, m, H-9, 10, 12, 13), 2.76 (2H, m, H-11), 2.36 (2H, t,  $J = 7.0$  Hz, H-2), 2.05 (4H, m, H-8, H-14), 0.90 (3H, m,  $CH_3$ ), 1.64 (2H, m, H-3), 1.38, 1.32 (10H, s, 5  $\times CH_2$ );  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz) : 29 ~ 30 (C-2 ~ 8, 11, 14 ~ 17), 130.2 (C-9), 128.2 (C-10), 128.0 (C-12), 130.0 (C-13), 14.2 (C-18), 179.0 (COOH)。以上数据与参考文献<sup>[12,13]</sup>一致, 并且同已知对照品亚油酸比较, TLC的 Rf值与显色均一致, 故确定该化合物为亚油酸 (linoleic acid)。

化合物 : 橙黄色结晶, mp 264 ~ 265 , 难溶于石油醚、氯仿, 易溶于丙酮、甲醇。Bomträger反应呈红色, 乙酸镁反应呈橙红色。 EIMS  $m/z$  (%) : 270 [ $M^+$ , 100], 241 (10), 214 (8), 139 (5), 分子式为  $C_{15}H_{10}O_5$ 。  $^1H$ -NMR ( $(CD_3)_2CO$ , 500 MHz) : 2.44 (3H, s,  $CH_3$ ), 7.21 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-5), 6.63 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-7), 7.09 (1H, s, H-2), 7.52 (1H, s, H-4), 12.15 (1H, br s, -OH), 12.03 (1H, br s, -OH);  $^{13}C$ -NMR ( $(CD_3)_2CO$ , 125 MHz) : 163.2 (s, C-1), 124.9 (d, C-2), 149.5 (s, C-3), 121.4 (d, C-4), 109.7 (d, C-7, C-5), 66.5 (s, C-6), 166.2 (s, C-8), 191.7 (s, C-9), 182.1 (s, C-10), 134.2 (s, C-4a), 110.4 (s, C-8a), 114.4 (s, C-9a), 136.6 (s, C-10a), 21.9 (q, - $CH_3$ )。以上数据与参考文献<sup>[14]</sup>一致, 故确定该化合物为大黄素 (emodin)。

#### 4 CCK-8法检测<sup>[15-17]</sup>

收集生长良好的肝细胞, 用生长培养液 (含 15% 牛胎血清的 DMEM/F12 培养基) 重悬细胞, 将纯化的细胞放入 5%  $CO_2$  孵箱以 37 培养, 待细胞贴壁后隔日换液, 细胞长至 80% ~ 90% 的密度, 用 0.25% 胰酶消化传代, 每 5 d 传代一次。以红细胞计数板计数并以台盼蓝检测分离细胞的活性, 测出细胞存活率达到 95%, 调整细胞密度至  $1.5 \times 10^5$

个/mL,接种到培养皿或 96 孔板中,每孔 2 mL,待细胞贴壁后 24 h 给细胞换液加药进行试验。

分为正常对照组(不加  $\text{CCl}_4$  损伤)、模型对照组(0、1、2、3 mM)、大黄酚组(1、2、5、10、20、40  $\mu\text{g/mL}$ )、香草醛组(1、2、5、10、20、40  $\mu\text{g/mL}$ )、大黄素甲醚(1、2、5、10、20、40  $\mu\text{g/mL}$ )。在 4 h 细胞贴壁后换液时,按上述各剂量组分别加入四氯化碳,使四氯化碳的终浓度为 1、2、3  $\mu\text{mol/L}$  给药,6 复孔,细胞置 37 $^{\circ}\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h,参照 CCK-8 试剂盒说明书进行细胞活力测试,用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度,计算存活百分率。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用配对  $t$  检验(\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ )。

由 CCK-8 检测结果可知:大黄素甲醚作用很弱,看不出与对照组的差别;大黄酚在 5  $\mu\text{g/mL}$  以上对  $\text{CCl}_4$  诱导的肝损伤有一定的保护作用,与模型对照组相比有显著性差异( $P < 0.01$ ),其中大黄酚在 10  $\mu\text{g/mL}$  剂量下对 3  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CCl}_4$  诱导的肝损伤的保护作用最强;香草醛剂量在 100  $\mu\text{g/mL}$  以上对  $\text{CCl}_4$  诱导的肝损伤有一定的保护作用,且保护作用呈现明显的剂量依赖性。

### 参 考 文 献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 第 7 卷. 上海:上海科学技术出版社,2006: 886-889.
- [2] 林材,曹佩雪,梁光义. 马兰化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2006,41(4): 251-253.
- [3] Chwan-Fwu Lin, Chien-Chang Shen, Chien-Chih Chen, et al. Phenolic derivatives from *Aster indicus* [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(19): 2450-2454.
- [4] Animesh G, Yogendra N, Shukla, et al. Aliphatic compounds from *Hyoscyamus muticus* [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(6): 1315-1317.
- [5] 高燕,蔡丽,李海燕,等. 甘肃醉鱼草化学成分研究(II) [J]. 中药材,2007,30(6): 667-669.
- [6] Ali M S, Saleem M, Ahmad V U. et al. Phytol and glycerol derivatives from the marine green alga *Codium iyengarii* of the karachi coast (Arabian Sea) [J]. *Z. Naturforsch B.*, 2001, 56: 837-841.
- [7] Rao B K, Hanumai T, Rao C P, et al. Anthraquinones in *Ventilago species* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(11): 2583-2585.
- [8] 张庆英,赵玉英,刘雪辉,等. 生藤化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2000,25(2): 101-103.
- [9] Yoshiyuki K, Mitsugi K, Kimiye B, et al. New constituents of roots of *Polygonum cuspidatum* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 48(2): 164-168.
- [10] Isao K, Yoshihiro M, Iwang S, et al. Cytotoxic anthraquinones from *Rheum pumatum* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(3): 1063-1065.
- [11] 金军,张朝凤,张勉. 菊状千里光的甾醇类成分研究[J]. 中国现代中药,2007,9(7): 13-14.
- [12] 贺祝英,梁光义. 金樱子化学成分的研究[J]. 贵阳中医学院学报,1995,17(4): 60-61.
- [13] 胡幼华. 宽果丛藤化学成分的研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报,1995,11(2): 71-74.
- [14] Rauwald H W, Just H D. Neue Untersuchung uber Inhaltstoffe der Kreutzdomrinde [J]. *Planta Medica*, 1981, 42(3): 244-249.
- [15] Berry M N, Friend D S. High-yield preparation of isolated parenchymal cells: a biochemical and fine structural study [J]. *J. Cell Biol.*, 1969, 43: 506-520.
- [16] Orrenius S, Thor H, Rajs J, et al. Isolated rat hepatocytes as an experimental tool in the study of cell injury [J]. *Effect of anoxia Forensic Sci.*, 1976, 8(3): 255-263.
- [17] Seglen P O. Preparation of isolated rat liver cells [J]. *Methods Cell Biol.*, 1976, 13: 29-83.

### 本刊投稿须知

- 1 本刊从 2006 年第 1 期起将刊登“作者简介”内容,请作者在文章首页下脚按“姓名、出生年、性别、职称、研究方向和联系方式”等内容注明。
- 2 来稿应为打印稿,投稿时不必附软盘;实验性文章应附单位介绍信。
- 3 本刊目前一律不处理网上投稿,请作者务必以邮寄方式投稿。
- 4 投稿同时请从邮局汇寄处理费(50 元/篇),切勿在稿件中夹带现金;汇款时请注明文章第一作者姓名及稿件题目。