

正交试验优化梓醇的微波辅助提取工艺*

张秀丽¹ 于德红² 刘德胜¹ 张 静¹

(1 滨州医学院药学院 山东 烟台 264003 ; 2 河北联合大学药学院 河北 唐山 063000)

摘要 目的 通过正交实验优选了地黄中梓醇的微波提取工艺。方法 :以地黄粗提液中梓醇含量为指标,HPLC 为含量测定方法,采用正交实验法,选取乙醇浓度(A)、料液比(B)、提取时间(C)和提取次数(D)4 个因素,每个因素选取 3 个水平进行实验,确定了最佳提取工艺。结果 :研究表明乙醇浓度为 60 %,料液比为 4,微波提取 3 次,每次 3 min 为梓醇的最佳提取工艺。结论 :微波辅助提取地黄中梓醇效率高,提取完全,方法可行。

关键词 地黄 梓醇 正交实验 微波提取 高效液相色谱

中图分类号 R284.2 文献标识码 A 文章编号 1673-6273 (2012) 18-3487-04

Optimization of Microwave-assisted Extraction Technology of Catalpol from *Rehmannia Glutinosa* Libosch by Orthogonal Method*

ZHANG Xiu-li¹, YU De-hong², LIU De-sheng¹, ZHANG Jing¹

(1 Binzhou Medical University, Yantai 264003, China; 2 Hebei United University, Tangshan, 063000, China)

ABSTRACT Objective: To optimize the microwave assisted extraction technology of catalpol from *Rehmannia glutinosa* Libosch.

Methods: The content of catalpol in the extract was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The orthogonal test table $L_9(3^4)$ was used with the factors of concentration of ethanol(A), ratio of solvent to material(B), extracting time(C) and extracting times (D). **Results:** According to the results of the test, the optimum extraction conditions for catalpol were 60 % ethanol, material to liquid phase 4 w/v, 3 minutes and 3 times extraction. **Conclusions:** The extraction rate of catalpol is high and steady by this technology, which provides new evidence for further utilization.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch; Catalpol; Orthogonal test; Microwave-assisted extraction; HPLC

Chinese Library Classification (CLC) : R284.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)18-3487-04

前言

地黄是常用的补益中药,为玄参科植物地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)的新鲜根茎或干燥块根,在临床上应用极为广泛,对免疫、血液、内分泌、心脑血管、神经系统及抗菌、抗炎等方面均有一定的作用^[1]。现代药理学实验发现其主要的活性组分为环烯醚萜苷类和地黄糖类。梓醇是地黄中含量最高的环烯醚萜苷类,属于环氧醚型单萜类化合物。梓醇具有很多生物学活性,如降血糖、保护肝脏、抗微生物、止痛、抗肿瘤等,最近研究发现梓醇可能通过抗氧化、抗凋亡、抗炎,提高神经可塑性等多方面机制发挥神经保护作用,可能是潜在的治疗神经退行性疾病的药物,因此有必要开发出简单有效的梓醇制备工艺^[2-7]。

梓醇在地黄中的含量较低,且化学性质不稳定,遇热易分解,对酸敏感,稳定性较差,富集足量供质量控制或药理研究较为困难^[8]。微波提取技术自 1986 年首次报道应用于天然产物化学成分提取以来,在食品、环境和天然产物等领域得到了广泛的应用^[9-12]。微波辅助提取法以其提取时间短、提取效率高、溶

剂用量少等优点日益受到重视。本研究以地黄中的梓醇为检测指标,采用 HPLC 检测法,设计正交试验,考察微波辅助提取梓醇的可行性。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (G1311A 四元泵、G1322A 在线脱气机、G1316A 柱温箱、DAD 检测器,Agilent 化学工作站);纯水仪(美国 Millipore 公司);Mettler AE-240 电子天平(瑞士);RE52cs 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-D 循环水式真空泵(郑州市长虹仪器仪表厂);微波炉(LG,韩国)。乙腈为色谱纯;冰醋酸为分析纯;水为双蒸水。地黄药材购于辽宁义县农科所,经鉴定为玄参科植物地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)的块茎。梓醇标准品购于中国药品生物制品检定所。

1.2 实验过程

1.2.1 药材中梓醇含量的测定 地黄鲜药材 5.0 g,匀浆,用 20 mL 甲醇作提取剂提取三次,每次浸取 24 小时,合并提取液。过

* 基金项目 国家自然科学基金项目(81102828) 山东省自然科学基金(ZR2011HM011) 山东省高等学校科技计划项目(J111LF-86);

山东省高等学校优秀青年教师国内访问学者项目经费资助

作者简介 张秀丽(1974),女,博士,副教授,主要研究方向 神经药物,E-mail zhangxiuli2008@163.com

(收稿日期 2012-01-15 接受日期 2012-02-22)

滤后定容至 100 mL，测定梓醇的浓度，计算药材中梓醇的含量。

1.2.2 不同提取溶剂对梓醇提取率的影响 取鲜地黄 5.0 g，研碎，分别以 100 mL 甲醇、20、40、60、80、95% 的乙醇作提取剂，冷浸 72 h，测定梓醇的浓度，分析不同溶剂对梓醇的提取率的影响，梓醇的提取率定义如下公式：

梓醇的提取率 = $\frac{\text{提取液中梓醇的质量}}{\text{药材的干重}} \times 100\%$

1.2.3 不同料液比对梓醇提取率的影响 各取鲜地黄 5 g，分别加 20 mL(1:4)、40 mL(1:8)、60 mL(1:12)、80 mL(1:16)、100 mL(1:20)、120 mL(1:24)的溶媒，常温浸泡 48 小时，定容至 100 mL，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，HPLC 检测梓醇含量。

1.2.4 传统冷浸提取工艺 准确称取 5 克鲜地黄，研碎后置于三角瓶中，加入 100% 的甲醇溶液 100 mL，浸泡，记录此时时间点。分别在 1 h、3 h、6 h、12 h、24 h、36 h、48 h、60 h、72 h 取样，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，HPLC 检测梓醇含量。

1.2.5 微波提取工艺 为确定地黄的微波辅助提取工艺，以梓醇为指标，采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行提取工艺的优化。取鲜地黄 5 g，以不同浓度乙醇为溶剂，平行操作条件下，分别按正交试验设计(表 1)进行微波提取(分次进行，每次在沸腾前取出后放冷，直到达累计微波辐射时间)，合并提取液并定容至 100 mL，以 0.22 μm 微孔滤膜过滤得 1-9 号样品液，重复实验三次。HPLC 检测所得提取液中梓醇的含量，筛选最佳的提取工艺。

表 1 两组治疗情况比较

Table 1 The comparison of therapeutic condition in two groups

Lever	Factors			
	Concentration of ethanol(A)	Ratio of solvent to material(B)	Extracting time(C)	Extracting times(D)
1	40 % ethanol	4	2 min	1
2	60 % ethanol	5	3 min	2
3	80 % ethanol	6	4 min	3

2 结果

2.1 色谱条件

大连依特利 ODS-2 柱 (4.6× 250 mm,5 μm)；柱温为 30

℃ 检测波长 210 nm 流速 0.8 mL/min 进样量 10 μL 流动相 乙腈: 水 =0.3:99.7 (v/v)；在此条件下梓醇的保留时间为 12.3 min，并和其它物质峰分开，达到理想的分离效果，见图 1。

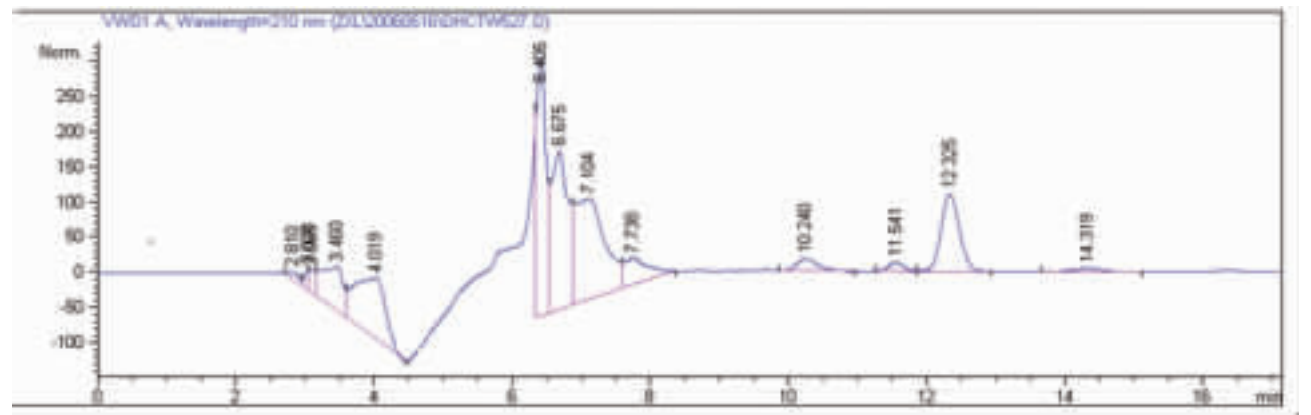


图 1 地黄乙醇提取液的液相色谱图

Fig.1 High performance liquid chromatogram of the alcohol extract from Rehmannia glutinosa Libosch

2.2 梓醇标准曲线的绘制

精密配制梓醇对照品溶液 1 mg/mL (甲醇溶液，下同)，在上述色谱条件下，分别进样 2 μL、4 μL、6 μL、8 μL、10 μL，测其峰面积。分别将其峰面积(y)对梓醇的质量(x)进行线性回归，回归方程为 $y=182613x+496.87$, $R=0.9937$ 。结果表明 梓醇的进样量在 0.002-0.01 mg 范围内与其色谱峰面积呈良好线性关系，可用外标两点法计算含量。

2.3 HPLC 方法精密度、重复性试验及加样回收率

精确吸取梓醇(浓度为 1 mg/mL)对照品溶液 10 μL，重复进样 5 次，记录峰面积，得梓醇的 RSD 为 0.5 % (n=5)，表明该法的精密度良好。对照品溶液配置后分别在 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h 进样测定，其峰面积的 RSD 均在 1.0 % 以内，表明梓

醇在 24 h 内稳定。

精确吸取已知浓度地黄粗提液 1 mL 于 5 mL 容量瓶中，精确加入梓醇对照品溶液(梓醇浓度为 1 mg/mL)1 mL，甲醇定容，进样 10 μL 测定，计算梓醇的加样回收率为 97.6 % (RSD=1.27%, n=5)。三项实验说明用 HPLC 方法测量梓醇含量准确、可靠。

2.4 药材中梓醇的含量

药材中梓醇的含量见表 2。梓醇是地黄中含量最高的环烯醚萜单糖苷，为地黄的主要有效成分之一，在鲜地黄中含量较高，达到 1.0 % 左右，但由于性质不稳定，在加工炮制过程中梓醇容易分解。从表 2 中可知，本实验中地黄药材中梓醇的平均含量为 0.95 %。

表 2 药材中梓醇的含量

Table 2 Content of catalpol in Rehmannia

NO.	Peak area	Catalpol content in the crude drug (%)	Average content (%)
1	1331.33	0.9139	0.9475± 0.0449
2	1340.42	0.9239	
3	1332.18	0.9148	
4	1380.04	0.9673	
5	1426.11	0.0177	

2.5 不同溶剂对梓醇提取率的影响

不同溶剂对梓醇的提取率的影响见图 2。从图 2 可知,梓醇在甲醇中提取率最高。在不同浓度的乙醇中提取率变化较大,随着乙醇浓度的增加梓醇的提取率先增大后减小,当乙醇浓度为 60% 时,梓醇的提取率最高,在 95% 乙醇中溶出的效果最差。因此,宜用甲醇或 60% 乙醇作为提取剂。

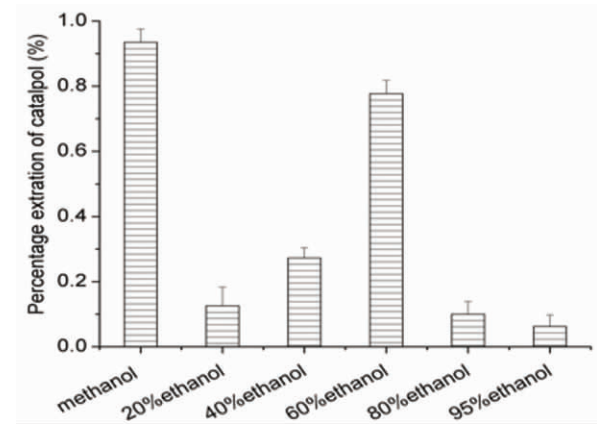


图 2 不同溶剂对梓醇提取率的影响

Fig.2 Effect of diffreent solvent on percentage extraction of catalpol (n=3)

2.6 料液比对梓醇提取率的影响

料液比对梓醇提取率的影响见图 3。从图 3 可知,不同料液比提取梓醇含量差别较小,但是随着料液比增大,梓醇提取量也有所提高,当料液比为 1:20 时,梓醇的提取率最高。考虑经济成本和后续处理工艺,在后续的实验中选择料液比时,应选择 8-20 倍之间。

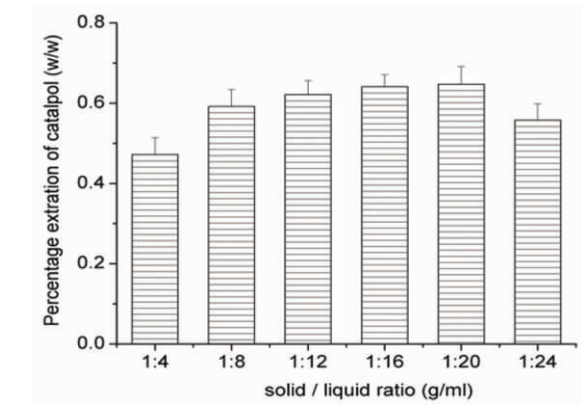


图 3 料液比对梓醇提取率的影响

Fig.3 Effect of ratio of solid to liquid on percentage extraction of catalpol (n=3)

2.7 传统冷浸提取工艺结果

采用传统室温浸提的方法,当浸取 12 h 后,梓醇的提取率会有一个较大提升,当浸取到 60 h 时,梓醇提取率达到最大 0.92 %,再增加提取时间对梓醇的提取量影响不大 (图 4)。

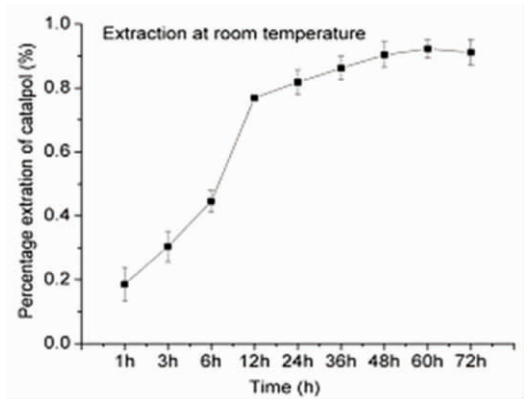


图 4 冷浸提取方法下提取时间对梓醇提取率的影响

Fig.4 Effects of extration time on percentage extraction of catalpol by the method of extraction at room temperature (n=3)

2.8 梓醇微波提取的正交设计结果

根据正交表的设计进行实验,结果如表 2 所示 在提取的 4 个因素中乙醇用量为最重要因素(R 为 2.20),其次为乙醇浓度(R 为 0.45),最佳工艺为 A2B1C2D3,即 60 %乙醇,4 倍量溶剂,时间 3 min,提取三次即可。

表 3 正交试验结果分析

Table 3 Orthogonal test and results

Test number	A	B	C	D	Catalpol extraction ratio
1	1	1	1	1	0.8814
2	1	2	2	2	0.2441
3	1	3	3	3	0.0865
4	2	1	2	3	0.9941
5	2	2	3	1	0.4378
6	2	3	1	2	0.1727
7	3	1	3	2	0.8518
8	3	2	1	3	0.5389
9	3	3	2	1	0.2718
K1	1.21	2.73	1.59	1.59	
K2	1.60	1.22	1.51	1.27	
K3	1.66	0.53	1.38	1.62	
Rj	0.45	2.20	0.21	0.35	

3 讨论

目前微波提取技术在中药有效成分的提取、中药制剂的干燥灭菌等方面应用广泛,并体现出它的特点和优势,如从绿茶中提取茶多酚^[13],从丹参中提取丹参酮^[14],从卫矛茎中提取芦丁和槲皮素^[15]。微波具有能量集中、穿透力强、选择性高、加热效率高等特点,而且具有节能、省时、方便、卫生等优点。由本文实验可知,微波辅助提取三次,每次 4 分钟就能将地黄中梓醇提取完全,提取率达到 0.99%,而传统的冷浸提取方法需要 60 小时才能将梓醇提取完全,提取率达到 0.92%。这些结果表明微波的提取效率高,而且提取时间短。这是由于微波加热方式为选择性加热,能使植物细胞中的水分或有机溶剂迅速升温升压,细胞壁穿孔,使成分从细胞中溶出。这与传统提取方法依靠细胞内外溶液的浓度差与渗透压差使药物成分透过细胞壁半透膜溶出的方式不同,具有高选择性、高效率等优点,应用于中药提取具有广阔的前景^[16-18]。

梓醇是地黄中的主要成分,常用来鉴定地黄品质的优劣。以往研究表明梓醇具有很多生物学活性,如降血糖、保护肝脏、抗炎、止痛、抗肿瘤等。最新研究表明梓醇可以抑制由过氧化氢(H₂O₂)和神经毒 1-甲基-4-苯基吡啶(MPP⁺)诱导的 PC12 细胞和原代培养神经元损伤的作用。动物实验表明梓醇能抑制 MPTP 诱导的帕金森(PD)模型小鼠中脑多巴胺能神经元数目和多巴胺含量的降低,抑制脑内 GSH 水平的降低。此外,梓醇能减轻沙土鼠脑缺血再灌注造成的损伤,有效减少神经元死亡,降低脑梗死,改善缺血动物学习记忆能力。这些实验证实了梓醇的神经保护活性^[2-7,19,20],提示其可能是抗衰老、治疗神经退行性疾病的理想天然药物。因此,简单高效的梓醇提取工艺对于梓醇的药物开发迫在眉睫。而相对于传统的浸提工艺,微波辅助提取在提取效率上具有明显优势。

综上所述,本文主要考察了地黄中梓醇的微波提取工艺。结果表明微波提取法可以有效地提取梓醇,60%乙醇,4 倍量溶剂,时间 3 min,提取三次的条件下即可将梓醇提取比较完全,该提取方法具有简便、快捷、高效的优点。本实验室在后期制备梓醇过程中,采用了微波辅助提取和冷浸提取两种方法,冷浸提取方法操作简单,对设备要求低,处理量较大,而微波辅助提取在操作时间上具有明显的优势,可以缩短梓醇制备时间。

参考文献(References)

- [1] 王汀,陈礼明,刘青云.地黄药理研究进展[J].基层中药杂志,2001,15(2):41-43
Wang Ting, Cheng Li-ming, Liu Qing-yun. Research progress of Radix Rehmanniae in pharmacology [J]. Primary Journal of Chinese Materia Medica, 2001, 15(2): 41-43
- [2] Cai QY, Chen XS, Zhan XL, et al. Protective effects of catalpol on oligodendrocyte death and myelin breakdown in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion[J]. Neuroscience Letters, 2011, 497(1):22-26
- [3] Xu G, Xiong Z, Yong Y, et al. Catalpol attenuates MPTP induced neuronal degeneration of nigral-striatal dopaminergic pathway in mice through elevating glial cell derived neurotrophic factor in striatum[J]. Neuroscience, 2010, 167(1):174-184
- [4] Hu L, Sun Y, Hu J. Catalpol inhibits apoptosis in hydrogen perox-

ide-induced endothelium by activating the PI3K/Akt signaling pathway and modulating expression of Bcl-2 and Bax [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 628: 155-163

- [5] Li Dan-qing, Bao Yong-ming, Li Yang, et al. Catalpol modulates the expressions of Bcl-2 and Bax and attenuates apoptosis in gerbils after ischemic injury[J]. Brain Research, 2006, 1115: 179-185
- [6] Zhang Xiu-li, Zhang Ai-hong, Jiang Bo, et al. Further pharmacological evidence of the neuroprotective effect of catalpol from Rehmannia glutinosa[J]. Phytomedicine, 2008, 15: 484-490
- [7] Zhang Xiu-li, Liu Wei-dong, Niu Xin-hua, et al. Systemic administration of catalpol prevents d-galactose induced mitochondrial dysfunction in mice[J]. Neuroscience Letters, 2010, 473: 224-228
- [8] 陈业高.植物化学成分[M].北京:化学工业出版社,2004:146-147
Chen Ye-gao. Foliage Chemistry Component [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 146-147
- [9] Ganzler K, Salgo A, Valko K. Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography [J]. Journal of Chromatography, 1986, 371: 299-306
- [10] Wang J, Zhang J, Wang X, et al. A comparison study on microwave-assisted extraction of Artemisia sphaerocephala polysaccharides with conventional method: Molecule structure and antioxidant activities evaluation[J]. Int J Biol Macromol, 2009, 45(5): 483-492
- [11] Hu Y, Li Y, Zhang Y, et al. Development of sample preparation method for auxin analysis in plants by vacuum microwave-assisted extraction combined with molecularly imprinted clean-up procedure [J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 399(10):3367-3374
- [12] Mandal V, Dewanjee S, Mandal SC. Role of modifier in microwave assisted extraction of oleanolic acid from Gymnema sylvestre: application of green extraction technology for botanicals [J]. Nat Prod Commun, 2009, 4(8): 1047-1052
- [13] Li DC, Jiang JG. Optimization of the microwave-assisted extraction conditions of tea polyphenols from green tea [J]. Int J Food Sci Nutr, 2010, 61(8): 837-845
- [14] Pan XJ, Niu GG, Liu HZ. Microwave-assisted extraction of tanshinones from Salvia miltiorrhiza bunge with analysis by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 922: 371-375
- [15] Zhang F, Yang Y, Su P, et al. Microwave-assisted extraction of rutin and quercetin from the stalks of Euonymus alatus (Thunb.) Sieb[J]. Phytochem Anal, 2009, 20(1): 33-37
- [16] Gallo M, Ferracane R, Graziani G, et al. Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices [J]. Molecules, 2010, 15(9): 6365-6374
- [17] Jaitak V, Bikram Singh B, Kaul VK. An efficient microwave-assisted extraction process of stevioside and rebaudioside-A from Stevia rebaudiana (Bertoni)[J]. Phytochem Anal, 2009, 20(3): 240-245
- [18] 贺娟妮,刘晓,牟朝丽,等.山茱萸中 3 种环烯醚萜苷的响应曲面优化微波提取及 HPLC 测定[J].中药材,2011,34(7):1118-1122
He Juan-ni, Liu Xiao, Mou Zao-li, et al. Optimization of microwave-assisted extraction with RSM and HPLC determination for three iridoid glycosides in Cornus officinalis[J]. Journal of Medical Material, 2011, 34(7): 1118-1122

(下转第 3537 页)

乙型病毒性肝炎患者治疗前后 T 细胞亚群的对比观察可见,6 例无明显疗效者,其治疗前后 T 细胞各亚群比例无明显变化,CD⁸⁺T 细胞比例始终处于较高水平。28 例病情好转者,其 CD³⁺、CD⁴⁺T 细胞比例及 CD⁴⁺/CD⁸⁺ 值与治疗前相比有显著提高 ($P<0.05$),趋近于正常值,此外 CD⁸⁺T 细胞比例也有显著下降 ($P<0.01$)。后期随访证实,患者恢复良好,AST、ALT 等肝功指标恢复正常。综合本实验结果来看,外周血 T 细胞亚群的比例变化,可在一定程度上用于评估急性病毒性肝炎的疗效。检测急性甲、乙型病毒性肝炎患者 T 细胞亚群的变化将有助于监控病情进展以及调整治疗方案。

参考文献 (References)

- [1] Han Dewu. Intestinal endotoxemia as a pathogenetic mechanism in liver failure[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(6): 961-965
- [2] Schafer C, Schips I, Landig J, et al. Tumor-necrosis-factor- α and interleukin-6 response of peripheral blood monocytes to low concentration of lipopolysaccharide in patients with alcoholic liver disease [J]. E Gastroenteral, 1995, 33:503-508
- [3] Francis V. Chisari, Cytotoxic T Cells and Viral Hepatitis [J]. J. Clin. Invest, 1997, 99 (7) : 1472-1477
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫学分会. 肝病学会联合修订. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19 (1) : 56
Chinese Medical Association credits of infectious and parasitic, liver credits of jointly revised. Viral hepatitis prevention and treatment programs [J]. Journal of Infectious Diseases, 2001, 19(1): 56
- [5] 冯广贵. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血 T 细胞亚群变化分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7 (1) : 21-22
Feng Guanggui. Analysis of peripheral T-cell subsets variation in chronic hepatitis B virus infected subjects [J]. Lab Med Clin, January, 2010, 7(1): 21-22
- [6] 李琴, 赵龙凤, 韩德五. 肠源性内毒素血症对急性病毒性肝炎患者免疫功能的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2002, 1 (3) : 156-159
Li Qin, Zhao Longfang, Han Wude. The Intestinal Endotoxemia's effects on cellular immunity in acute hepatitis patients [J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2002, 1(3): 156-159
- [7] Zahid H, Bhudev CD, Syed AH, et al. Virology course of hepatitis A virus as determined by real time RT-PCR: correlation with biochemical, immunological and genotypic profiles. World J Gastroenterology, 2006, 12: 4683-4688
- [8] 任卫英, 张顺财, 王逸清. 老年急性病毒性肝炎患者细胞免疫功能与肠源性内毒素血症的关系[J]. 肝脏, 2008, 13 (1) : 20-22
REN Wei-ying, ZHANG Shun-cai, Wang Yi-qing. The relationships between cellular immunity function and intestinal endotoxemia in elder patients with acute hepatitis[J]. Chinese Hepatology, 2008, 13(1): 20-22
- [9] Jung MC, Pape GR. Immunology of hepatitis B infection[J]. Lancet Infect Dis, 2002, 2: 43
- [10] Wiest R, Rath HC. Bacterial translocation in the gut[J]. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 2003, 17(3): 397-425
- [11] Gamadia LE, Rentenaar RJ, Barfs PA, et al. Differentiation of cytomegalovirus-specific CD⁸⁺ T cells in healthy and immunosuppressed virus carriers[J]. Blood, 2001, 98(10): 754-776
- [12] Doll H, Roh S, Lee KW, et al. Response of primed human PBMC to synthetic peptides derived from hepatitis B virus envelope proteins: a search for promiscuous epitopes [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2003, 35(1): 77-85
- [13] 王前明, 宋秀宇, 洪强, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染者辅助性 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(12) : 705-707
Wang Qianming, Song Xiuyu, Hong Qiang, et al. Variance of helper lymphocyte T cell subsets in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2008, 5(12): 705-707
- [14] You J, Sprilung H, Geater A, et al. Effect of viral load on T lymphocyte failure in patients with chronic hepatitis B [J]. World Gastroenterol, 2008, 14(7): 1112-1119
- [15] Maini MK, Boni C, Lee CK, et al. The role of virus-specific CD⁸⁺ cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection[J]. J Exp Med, 2000, 191(8): 1269-1280
- [16] Soemohardjo S. New options in the treatment of chronic hepatitis[J]. Adv Exp Med Biol, 2003, 5(3): 191-198

(上接第 3490 页)

- [19] 王佐周, 岳春丽, 杨菁. 梓醇对谷氨酸诱导 SD 大鼠海马神经元损伤的保护作用[J]. 解剖科学进展, 2011, 17(2): 113-115
Wang Zuo-zhou, Yue Chun-li, Yang Jing. The protective effect of catalpol on the damaged hippocampal neurons induced by glutamate in SD rat[J]. Progress of Anatomical Sciences, 2011, 17(2): 113-115

- [20] 王红利, 薛莉君, 万东, 等. 梓醇改善东莨菪碱诱导的学习记忆障碍及机制研究[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(9): 1272-1275
Wang Hong-li, Xue Li-jun, Wan Dong, et al. Effects of catalpol on scopolamine-induced learning and memory dysfunction in mice[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2011, 27(9): 1272-1275