

· 基础研究 ·

坎地沙坦酯干预对 AMI 大鼠血管内皮功能及心肌 ERK、CREB mRNA 的影响

高电萨¹, 秦 俭^{2△}, 兰 莉³, 刘春艳⁴, 陈运贞²

(1. 重庆医科大学附属第一医院金山医院心内科, 重庆 401122; 2. 重庆医科大学附属第一医院心内科, 重庆 400016; 3. 四川省绵阳市第三人民医院心内科 621000; 4. 重庆市九龙坡区第一人民医院超声科 400050)

摘要:目的 探讨坎地沙坦酯(CAN)干预对大鼠急性心肌梗死(AMI)后内皮功能及梗死心肌胞外信号调节激酶(ERK) mRNA 和 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)mRNA 表达的影响。方法 30 只动物被随机分为 CAN 组、假手术(Sham)组和 AMI 组。干预 2 周后, 测量血压、血管紧张素 II (Ang II)、血一氧化氮合酶(NOS)、一氧化氮(NO)的水平、离体胸主动脉舒缩功能、梗死面积及 ERK、CREB 的 mRNA 在梗死区心肌中的表达水平。结果 AMI 组较 Sham 组血浆 Ang II 水平显著升高、血清 NO、NOS 水平明显降低。同时内皮依赖性舒张(EDD)功能减退、梗死区心肌 ERK、CREB 的 mRNA 表达明显增加。CAN 治疗后, 血清 NO、NOS 水平升高至 Sham 组水平, 同时升高血浆 Ang II 水平、缩小心肌梗死面积、降低梗死区心肌中 ERK、CREB 的 mRNA 表达, 伴 EDD 功能明显改善, 但组间血压并无明显差别。结论 CAN 显著改善 AMI 后内皮功能紊乱(ED), 缩小心肌梗死面积, 降低 AMI 大鼠心肌 ERK、CREB mRNA 表达。

关键词:坎地沙坦酯; 内皮功能紊乱; 心肌梗死; ERK/CREB 信号通路

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.22.024

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)22-2631-04

Interventional effects of Candesartan Cilexetil on vascular endothelial function and expressions of ERK/CREB mRNA in rats with acute myocardial infarction

Gao Diansa¹, Qin Jian^{2△}, Lan Li³, Liu Chunyan⁴, Chen Yunzhen²

(1. Department of Cardiology, Jinshan Hospital, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401122, China; 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 3. Department of Cardiology, the Third Hospital of Mianyang, Mianyang Sichuan 621000, China; 4. Ultrasonography, the First People's Hospital of Jiulongpo District, Chongqing, 400050, China)

Abstract: Objective To study the interventional effects of Candesartan Cilexetil on vascular endothelial function and expressions of ERK/CREB signaling pathway in rats with acute myocardial infarction. **Methods** 30 rats were randomized into CAN group, AMI group and Sham group. Two weeks after the treatment rats were sacrificed and blood pressure, levels of blood Ang II, NO and NOS, endothelial vasomotor effects of isolated thoracic aorta strips, myocardial infarction area and the expressions of ERK mRNA and CREB mRNA in infarction myocardium were explored. **Results** Blood Ang II levels were distinctly higher in AMI group when compared with the Sham group, while the NO and NOS level were much lower, accompanied with EDDs decreased seriously, and higher mRNA expressions of ERK1 and CREB in infarction myocardium. All of the above differences were significant. After the treatment of Candesartan Cilexetil, levels of serum NO and activities of NOS were obviously higher and almost reached the similar levels to those in Sham group, additionally endothelium-dependent diastole in isolated aortic strips improved greatly. Meanwhile Candesartan Cilexetil can not only increase the plasma Ang II, but also decrease the size of myocardial infarction and the mRNA expressions of ERK1 and CREB in infarction myocardium significantly. However, blood pressure in all groups was not affected. **Conclusion** Candesartan Cilexetil can greatly improve the disordered endothelial function developing post-AMI, decrease the size of myocardial infarction and down-regulate the mRNA expressions of ERK and CREB in myocardium of infarction zone. And all of the above protective effects of Candesartan Cilexetil were independent on blood pressure lowering.

Key words: Candesartan Cilexetil; endothelial dysfunction; myocardial infarction; ERK/CREB signaling pathway

内皮功能紊乱(endothelial dysfunction, ED)在急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)发生、发展的各个步骤均起着重要作用,可能与 ERK/CREB 通路的改变有关^[1-2]。有研究表明坎地沙坦酯(candesartan cilexetil, CAN)能保护高血压患者和冠状动脉支架植入术后动物的血管内皮功能,但目前未见 AMI 后 ED 的发生及 CAN 对此的干预效应。本文旨

在探讨 AMI 大鼠血管内皮功能和 ERK/CREB 信号通路的改变及 CAN 干预的影响,希望能为临床 AMI 患者的内皮功能干预治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器 CAN(重庆圣华曦药业有限公司惠赠);盐酸去氧肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司);氯化乙酰胆

碱(上海三爱思试剂有限公司);亚硝基铁氰化钠(国药集团化学试剂有限公司);血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 放免检测盒(解放军总医院科技开发中心);一氧化氮(nitrous oxide, NO)检测盒(南京建成生物科技研究所);一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)检测盒(南京建成生物科技研究所);组织总 RNA 抽提试剂盒(上海华舜生物工程有限公司);RT-PCR 试剂盒(上海宝生物工程技术有限公司);生物机能实验系统(型号 BL-410, 成都市泰盟科技有限公司);新航肌肉张力换能器(型号 JZ100, 高碑店新航机电设备有限公司);DFM-96 型多管放射免疫计数器(合肥众成机电技术公司);721A 型分光光度计(四川仪表九厂);DYY-10C 型电泳仪(北京市六一仪器厂);P×2 型 PCR 仪(美国 Thermo Hybaid 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物 健康 SD 大鼠 30 只(清洁级, 雄性)。购自第三军医大学大坪医院实验动物中心[体质量(220±20)g, 6~8 周, 许可证编号: SCXK 军 2002008]。

1.2.2 造模 麻醉大鼠行气管内插管, 呼吸机人工呼吸, 于左胸 3~4 肋间行纵切口开胸, 分离心包暴露心脏血管, 用 5-0 号无创丝线对冠状动脉左前降支(LAD)进行结扎。假手术(sham-operation, Sham)组只穿线不结扎。

1.2.3 分组及给药方案 将术后 24 h 存活且经体表心电图证实为 AMI 的 17 只大鼠随机分为: AMI 组($n=8$)和 CAN 组($n=9$), CAN 组给药剂量为 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。另设 Sham 组($n=7$)。研碎 CAN 原药, 予以 0.5% 羧甲基纤维素钠助溶, 配成混悬液, 术后 24 h 开始每日 1 次灌胃给药, Sham 组及 AMI 组给予等体积助溶剂灌胃, 共干预 2 周。2 周后各组存活大鼠数量分别为: Sham 组 6 只、AMI 组 5 只、CAN 组 7 只。

1.2.4 检测指标

1.2.4.1 血压 分别在术前、术后 24 h(给药前)、1 周和 2 周(处死前)经大鼠尾动脉测量收缩压。

1.2.4.2 血清 NOS、NO 水平 于术后 2 周时经眼眶后静脉丛采血, 分离血清, 按试剂盒说明书采用化学法测定。

1.2.4.3 血浆 Ang II 水平 采血方法同 1.2.4.2, 取血浆按试剂盒说明书采用放射免疫法测定。

1.2.4.4 胸主动脉条片离体灌流实验 术后 2 周时将大鼠麻醉后开胸, 迅速取出胸主动脉约 2~3 cm 放入 Krebs's 液中, Krebs's 液进行预冷处理并充以混合气体(含 95% O_2 、5% CO_2), 参照 Gschwend 等^[3]的方法, 分别检测对去氧肾上腺素(phenylephrine, PE)、乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)及硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)的反应。

1.2.4.4.1 离体胸主动脉条片对 PE 的收缩反应 计算引起最强收缩效应 50% 的药物浓度(EC_{50})和最强收缩效应(Emax), 同时计算不同剂量下导致的收缩反应值与最强的收缩反应值的百分率。PE 终浓度为 $10^{-10} \sim 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

1.2.4.4.2 离体胸主动脉条片对 Ach 的舒张反应 以血管条片对累积浓度 Ach 舒张反应的幅度占血管条片对 PE 收缩幅度之比表示, 同时计算引起最强舒张效应 50% 的药物浓度(IC_{50})和最强舒张效应(Emax)。预收缩时所取 PE 浓度为 10^{-5} mol/L ; Ach 的终浓度为 $10^{-9} \sim 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

1.2.4.4.3 离体胸主动脉条片对 SNP 的舒张反应 方法同 1.2.4.4.2 所述, SNP 的终浓度为 $10^{-10} \sim 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。

1.2.4.5 测算 MI 面积 将 AMI 组和 CAN 组大鼠的左室横切面制成石蜡切片后使用 HE 染色, 制备病理切片。测量大鼠

左室横截面的内外周长和梗死区心肌的瘢痕组织弧长。

1.2.4.6 心肌 ERK1 mRNA、CREB mRNA 表达的检测 于术后 2 周麻醉大鼠后开胸, 迅速将左心室分离, 取梗死区心肌组织, 以 RT-PCR 法检测 ERK1 mRNA、CREB mRNA 的表达。表达水平以目的基因与内参的电泳条带吸光面积积分比值表示。反应条件如下: ERK1 引物序列: 上游: ATC TCT GCT GCT GTG TCT TT, 下游: ATG TTC TGT CAG GGA AAA TG, 产物长度为 180 bp, 退火温度为 55 °C; CREB 引物序列: 上游: TAC CCA GGG AGG AGC AAT ACA, 下游: GGT GCT GTG CGA ATC TGG TAT, 产物长度为 219 bp, 退火温度为 52 °C; GAPDH 引物序列: 上游: AAT GCA TCC TGC ACC ACC AA, 下游: GTA GCC ATA TTC ATT GTC ATA, 产物长度为 515 bp, 退火温度为 55 °C。

1.3 统计学处理 采用 SAS8.2 软件进行分析处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较均采用成组设计方差分析, 多重比较采用 SNK-q 检验。血压比较采用重复测量方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血压 在不同时间点对大鼠的收缩压进行组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。术前 Sham 组、AMI 组和 CAN 组收缩压分别为(110.00±10.00) mm Hg、(110.80±11.45) mm Hg 和(102.70±11.39) mm Hg, 术后 2 周分别为(105.00±8.66) mm Hg、(108.60±11.39) mm Hg 和(105.00±10.40) mm Hg。

2.2 血清 NO、NOS、血浆 Ang II 水平 与 Sham 组比较, AMI 组血清 NO、NOS 水平明显降低, 经 CAN 干预后, NO、NOS 明显升高, 并恢复至 Sham 组水平。AMI 组和 CAN 组血浆 Ang II 水平较 Sham 组均明显升高; CAN 组水平较 AMI 组显著增高(表 1)。

表 1 3 组大鼠血 NO、NOS、Ang II 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NO($\mu\text{mol/L}$)	NOS(U/mL)	AngII(pg/mL)
Sham 组	6	55.69±10.40	23.80±5.36	181.39±32.70
AMI 组	5	24.46±3.95▲	10.92±5.96▲	281.14±84.90▲
CAN 组	7	43.69±13.32	17.74±3.97	388.27±83.24▲★

▲: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ★: $P < 0.05$, 与 AMI 组比较。

2.3 胸主动脉条片离体灌流实验

2.3.1 胸主动脉条片对 PE 的反应 各组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。AMI 组、Sham 组和 CAN 组的 EC_{50} 分别为(7.70±0.01)× 10^{-8} 、(6.98±0.02)× 10^{-8} 和(7.51±0.02)× 10^{-8} mol/L 。见图 1。

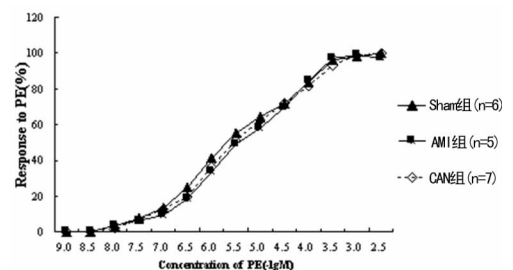
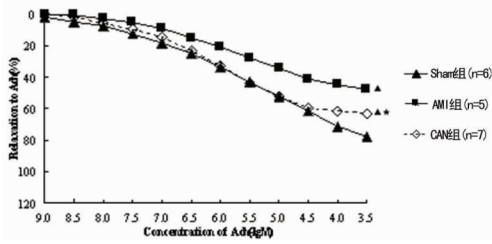


图 1 主动脉条片对 PE 的收缩反应

2.3.2 胸主动脉条片对 Ach 的舒张反应 AMI 组较 Sham 组明显减弱, CAN 组较 AMI 组显著改善, 但较 Sham 组仍然减退。Sham 组、AMI 组和 CAN 组的 IC_{50} 分别为(6.15±0.03)× 10^{-8} 、

$(4.45 \pm 0.21) \times 10^{-7}$ 和 $(2.32 \pm 1.22) \times 10^{-7}$ mol/L, 见图 2。



▲: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ★: $P < 0.05$, 与 AMI 组比较。

图 2 主动脉条片对 ACh 的舒张反应

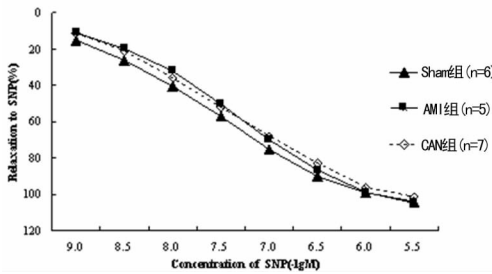


图 3 主动脉条片对 SNP 的舒张反应

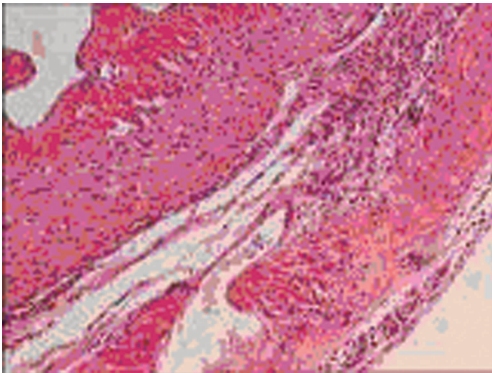


图 4 AMI 组梗死区影像学表现 (HE, ×100)

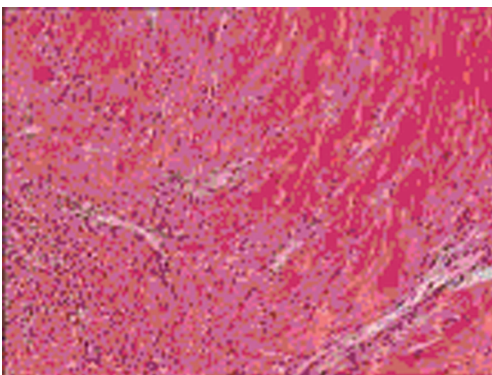


图 5 CAN 组梗死区影像学表现 (HE, ×100)

表 2 3 组心肌梗死面积及 ERK、CREB mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	心肌梗死面积(%)	ERK mRNA	CREB mRNA
Sham 组	6	0	0.51 ± 0.09	0.40 ± 0.19
AMI 组	5	20.68 ± 1.29▲	1.23 ± 0.22▲	1.15 ± 0.30▲
CAN 组	7	13.23 ± 1.02▲★	0.83 ± 0.19▲★	0.87 ± 0.20▲★

▲: $P < 0.05$, 与 Sham 组比较; ★: $P < 0.05$, 与 AMI 组比较。

2.3.3 胸主动脉条片对 SNP 的舒张反应比较 各组间比较差异无统计学意义。Sham 组、AMI 组、CAN 组的 IC_{50} 分别为

$(8.40 \pm 0.00) \times 10^{-10}$ 、 $(1.50 \pm 0.00) \times 10^{-9}$ 和 $(1.27 \pm 0.00) \times 10^{-9}$ mol/L。见图 3。

2.4 心肌梗死面积比较 经 CAN 干预后, 心肌梗死面积显著缩小。与 Sham 组比较, ERK、CREB mRNA 在 AMI 组的表达明显增加, CAN 显著抑制该表达。见表 2、图 4~5。

3 讨论

ED 广泛存在于冠心病 AMI 病程发生、发展的各个环节, 内皮依赖性舒张(EDD)功能异常为其特征。本实验采用健康 SD 大鼠, 通过结扎冠脉 LAD 制作 AMI 模型, 结果显示, 与 Sham 组比较, AMI 组大鼠血清 NOS 活性、NO 水平均显著降低, 而血浆 Ang II 水平显著升高, 同时, AMI 组离体主动脉对 ACh 的 EDD 反应明显减弱, 表明 AMI 导致了 ED 的发生。本研究同时还显示, 与 Sham 组比较, AMI 后 2 周大鼠离体血管条片对 PE 的收缩反应和对 SNP 的非内皮依赖性舒张(non-endothelium-dependent diastole, NEDD)反应均无显著性差异, 表明 AMI 后 2 周血管平滑肌功能尚无明显变化。

CAN 是临床上常用的 ARB 之一, 能高度选择性地阻止 Ang II 与 AT_1R 的结合, 从而拮抗 Ang II 对心血管系统的不良后果。目前已证实此药稳定、有效的降压作用, 且可显著改善冠脉内皮功能障碍患者^[4]和冠脉支架植入术后猪 EDD 功能^[5], 对抗动脉硬化的进展^[6], 而有关此药对 AMI 后血管内皮功能的保护作用如何目前尚未见报道。

本研究结果显示, 与 AMI 组比较, CAN 干预后, 血清 NOS 活性及 NO 水平显著增高, 离体胸主动脉条片 EDD 显著改善 (P 均 < 0.05), 心肌梗死面积减小。与 Sham 组比较, CAN 组血清 NO、NOS 水平差异无显著性。换言之, CAN 显著改善后的内皮功能与 Sham 组相似。已有研究证实 AT_1R 阻断后可反馈性升高内源性 Ang II 水平, 这与本研究结果一致, 表现为 CAN 组血浆 Ang II 水平较其他两组明显升高。这可能与 AT_1R 阻断后 AT_2R 活化, 从而介导血管舒张效应有关。在 AT_2R 高表达的血管平滑肌细胞中, 血管紧张素诱导的血管舒张反应依赖于缓激肽 2 型受体和 NO/cGMP 系统^[7], 表明缓激肽依赖性血流量介导的血管舒张反应是通过活化 AT_2R 途径实现的^[8]。简言之, CAN 因高度选择性地阻断了 Ang II 与 AT_1R 的结合, 致血中 Ang II 水平反馈性升高, 大量游离的 Ang II 与 AT_2R 结合, 激活缓激肽-NO 级联反应, 从而使 NOS 活性增加, 促进 NO 生成^[9]。

目前, 对 ED 发生的相关信号通路尚无定论, 但有研究表明 ERK/CREB 可能与 ED 发生有关。就 CAN 对 ERK/CREB 通路的影响效应, 已有研究表明它可显著抑制由 Ang II 导致的细胞 ERK 活化^[10], 但有关它在 AMI 后对 ERK/CREB 表达的影响效应目前尚未见报道。本实验结果表明, 与 AMI 组比较, CAN 能显著性抑制 AMI 大鼠心肌 ERK mRNA、CREB mRNA 的表达, 故推测 CAN 可能通过阻断 AT_1R 而抑制 ERK/CREB 基因水平的活化, 从而发挥抗炎、抗氧化应激、抗血管重塑等有害效应, 达到保护内皮功能和缩小心肌梗死面积的作用。

与 Perrone-Filardi 等^[11]的结果一致, 在本实验应用剂量范围内, 各组尾动脉收缩压比较无显著性差异, 表明 CAN 对 AMI 后血管内皮功能的保护效应独立于降血压效应外。进一步研究 AMI 发生 ED 的信号转导通路及 CAN 改善 ED 的分子机制, 将为临床更好地防治冠心病及发现新的治疗靶点提供

实验依据。

参考文献:

- [1] Yada T, Kaji S, Akasaka T. Changes of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, tetrahydrobiopterin, and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction by medical treatments[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2007, 37(3):269-276.
- [2] Jiang JL, Wang S, Li NS, et al. The inhibitory effect of simvastatin on the ADMA-induced inflammatory reaction is mediated by MAPK pathways in endothelial cells[J]. Biochem Cell Biol, 2007, 85(1):66-77.
- [3] Gschwend S, Buikema H, Henning RH, et al. Endothelial dysfunction and infarct-size relate to impaired EDHF response in rat experimental chronic heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2003, 5(2):147-154.
- [4] Iino K, Watanabe H, Iino T, et al. Candesartan improves impaired endothelial function in the human coronary artery[J]. Coronary Artery Disease, 2012, 23(4):278-283.
- [5] Dohi T, Miyauchi K, Iesaki T, et al. Candesartan with pioglitazone protects against endothelial dysfunction and inflammatory responses in porcine coronary arteries implanted with sirolimus-eluting stents[J]. Circul J, 2011, 75(5):1098-1106.
- [6] Suzuki T, Nozawa T, Fujii N, et al. Combination therapy of candesartan with statin inhibits progression of athero-

- sclerosis more than statin alone in patients with coronary artery disease[J]. Coronary Artery Disease, 2011, 22(5):352-358.
- [7] Tsutsumi Y, Matsubara H, Masaki H, et al. Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation[J]. J Clin Invest, 1999, 104(7):925-935.
- [8] Bergaya S, Hilgers RH, Meneton P, et al. Flow-dependent dilation mediated by endogenous kinins requires angiotensin AT₂ receptors[J]. Circ Res, 2004, 94(12):1623-1629.
- [9] De Gennaro Colonna V, Rigamonti A, Fioretti S, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT₁-receptor antagonism equally improve Endothelial vasodilator function in L-NAME-induced hypertensive rats[J]. Eur J Pharmacol, 2005, 516(3):253-259.
- [10] Kiya Y, Miura S, Matsuo Y, et al. Abilities of candesartan and other AT₁ receptor blockers to impair angiotensin II-induced AT₁ receptor activation after wash-out[J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2012, 13(1):76-83.
- [11] Perrone-Filardi P, Corrado L, Brevetti G. Effects of AT₁ receptor antagonism with candesartan on endothelial function in patients with hypertension and coronary artery disease[J]. J Clin Hypertens, 2009, 11(5):260-265.

(收稿日期:2013-01-08 修回日期:2013-04-22)

(上接第 2630 页)

吡咯烷酮 2 种单体按一定比例聚合成而成,吸附容量高,批次间重现性好;美国 Phenomenex 公司的 Strata C₁₈-E 小柱的填料是高度疏水的十八烷基键合硅胶基质端基封尾键合相;美国 waters sep-pak vac C₁₈ 小柱的填料是十八烷基键合硅胶。HLB 小柱的另一优点是柱床干涸对提取影响不大,而另 2 种小柱在样品上样前,柱床不能干涸,否则需重新活化。

本研究表明,使用 Waters Oasis HLB 小柱为固相填料进行多烯紫杉醇的血浆样品萃取,比使用其他 2 种填料更加适用于血浆中多烯紫杉醇的测定。

参考文献:

- [1] 庞廷媛,程国华.多西紫杉醇新制剂的研究进展[J].中国药房,2010,21(40):3835-3838.
- [2] 任丽莉,沈艳,陈国广,等.多烯紫杉醇-β-环糊精包合物冻干制剂在大鼠体内的药代动力学[J].南京工业大学学报:自然科学版,2010,32(6):89-93.
- [3] 刘立中,吕竹芬,陈燕忠,等.多西紫杉醇泡囊的大鼠药代动力学研究[J].中国现代药物应用,2009,3(4):1-3.
- [4] Li X, Tian X, Zhang J, et al. In vitro and in vivo evaluation of folate receptor-targeting amphiphilic copolymer-modified liposomes loaded with docetaxel[J]. Int J Nanomedicine, 2011, 6:1167-1184.
- [5] Zhao L, Wei YM, Zhong XD, et al. PK and tissue distribution of docetaxel in rabbits after i. v. administration of liposomal and injectable formulations[J]. J Pharm Biomed

Anal, 2009, 49(4):989-996.

- [6] 孔琦,张振清.药物代谢转化和样品前处理技术的研究进展[J].国际药学研究杂志,2008,35(2):124-127.
- [7] 王明强,李潇,姜金廷,等.固相萃取技术在体内药物分析中的应用与发展[J].黑龙江医药,2005,18(1):29-31.
- [8] 陈蕾.固相萃取技术在中药分析中的应用[J].中国药事,2012,26(2):159-161.
- [9] 茅向军,章晨峰,孙棣,等.不同填料的固相小柱对人参皂苷 Re 血浆样品萃取回收率的研究[J].中国中药杂志,2005,30(19):1516-1518.
- [10] 朱静燕,钱晓萍.固相萃取技术及其在体内药物分析中的应用[J].海峡药学,2007,19(10):115-117.
- [11] 高立勤.不同填料的固相小柱对替诺昔康血浆样本萃取回收率的研究[J].中国药学杂志,2002,37(10):774-775.
- [12] 牟英,彭少平,顾振纶,等.固相萃取-高效液相色谱法测定沙苑子苷含量[J].中国野生植物资源,2009,28(3):62-64.
- [13] 张吟,陈一农,陈崇宏.固相萃取-高效液相色谱法分析血浆中的 13 种药物[J].中国药学杂志,2010,45(21):1648-1651.
- [14] 李娟,王荟.固相萃取法提取水中酚类化合物的研究[J].环境监测管理与技术,2012,24(6):46-52.
- [15] 张振巍,石磊.自制固相萃取小柱用于中药提取液除杂的效能评价[J].中国药业,2012,21(19):46-48.

(收稿日期:2013-01-08 修回日期:2013-04-22)