

潘传江,丁杰,盛玉萍,等. 提取剂对蛹虫草中虫草素提取产率的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(8):185-188.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.08.046

提取剂对蛹虫草中虫草素提取产率的影响

潘传江,丁杰,盛玉萍,王寿峰,刘君

(四川理工学院分析测试中心,四川自贡 643000)

摘要:虫草素具有很高的药用价值,价格昂贵,且市场上供不应求。选用蛹虫草为原料,以微波-超声波法提取虫草素,为提高其产率,提取剂分别选用苯、甲苯、环己烷、乙酸乙酯、二氯甲烷,在提取剂与无水乙醇协同作用条件下进行试验,考察提取剂对虫草素提取产率的影响。结果表明,甲苯与无水乙醇配比为19 mL:1 mL时虫草素提取效果最好,通过正交试验优化反应条件,在最优条件组合下虫草素的提取率为0.27%。试验中通过HPLC法建立了虫草素测定的标准曲线 $y = 33\ 054x - 41\ 890$,线性相关系数为 $r = 0.999$,在10~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

关键词:蛹虫草;虫草素;提取剂

中图分类号:R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)08-0185-04

虫草素对人体心脏、血液系统、呼吸系统、免疫系统等都具有较强的调节和保护作用^[1]。研究发现,虫草素对各类杆状、球状菌类如枯草杆菌、炭疽杆菌、链球菌及败血症杆菌等

收稿日期:2017-04-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:11647029);四川省教育厅重点项目(编号:16ZA0249);四川省精细化工重点实验室项目(编号:2016JXY02)。

作者简介:潘传江(1985—),硕士,助理工程师,从事中药活性成分提取、仪器分析与科研工作。E-mail:410286741@qq.com。

通信作者:王寿峰,博士,副教授,从事色谱检测与分析。E-mail:466672655@qq.com。

结合后未能去除完全的原因。Tris-饱和酚法提取的蛋白条带和Tris-丙酮法相比虽然背景色较深,但在17~245 ku范围内分布较为均匀,条带仍可清晰辨别。其次在提取时间和蛋白纯度上Tris-饱和酚法均有良好效果,这与饱和酚的性质有很大关系。饱和酚良好的溶解性,能使茅苍术叶片中可溶性杂质溶解在水中,而蛋白质和脂类溶解在饱和酚中,同时利用乙酸铵甲醇溶液对其沉淀纯化,亦避免新离子的加入^[14],更适合茅苍术叶片蛋白质的提取。本研究结果可为逆境胁迫下茅苍术分子机制在蛋白质水平下的变化研究提供基础资料。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:204.
- [2] 曾燕,郭兰萍,陈保冬,等. 不同温度对茅苍术生长发育及挥发油组分的影响[J]. 世界科学技术(中医药现代化),2010,12(5):773-778.
- [3] 顾永华,冯煦,夏冰. 水分胁迫对茅苍术根茎生长及挥发油含量的影响[J]. 植物资源与环境学报,2008,17(3):23-27.
- [4] 陈飞,周彤,魏宇佳,等. 茅苍术质膜蛋白的制备及其双向电泳蛋白质组学平台的构建[J]. 生物技术通报,2016,32(9):72-82.
- [5] 谷瑞升,刘群录,陈雪梅,等. 木本植物蛋白提取和SDS-PAGE

都表现出较强的抑制作用^[2],其中枯草杆菌被抑制的效果最为明显^[3-4]。虫草素是冬虫夏草和蛹虫草中的主要活性成分,与冬虫夏草相比,蛹虫草价格低廉、来源广泛,因此,研究蛹虫草中提取虫草素极具应用价值。目前,虫草素的提取方法主要有超临界萃取法^[5]、酶法辅助提取^[6]、微波辅助提取^[7]、热回流提取法^[8]等。从文献报道来看,提取剂主要选用无水乙醇、去离子水、石油醚或三氯甲烷,这些提取剂各具优点,但也存在一些不足。如单独使用去离子水或无水乙醇作为提取剂时,蛹虫草中其他组分的溶出量较高,不利于虫草素的溶出,增加了分离难度和检测难度;利用石油醚作为提取剂,原料中的脂类物质被大量溶出,同样不利用虫草素溶出与

- 分析方法的比较和优化[J]. 植物学通报,1999,16(2):171-177.
- [6] 华贵煌,董燕,易浪,等. 鱼腥草叶片总蛋白的提取及双向电泳体系的建立[J]. 广州中医药大学报,2013,30(3):375-378.
- [7] Xiang F, Xu L, Wang Y, et al. Effective method of leaf protein extraction for proteomic analysis in radish[J]. Molecular Plant Breeding,2012,10(6):756-760.
- [8] 陈富成,祁建民,徐建堂,等. 圆果种黄麻功能叶总蛋白提取方法及双向电泳体系的优化[J]. 作物学报,2011,37(2):369-373.
- [9] 张宁,孙晓丽,端木慧子,等. 野生大豆叶片蛋白质组双向电泳技术体系的优化研究[J]. 大豆科学,2015,34(5):874-880.
- [10] 刘楠,高飞,周宜君,等. 蒙古沙冬青根蛋白的提取及双向电泳体系的建立[J]. 北京师范大学学报(自然科学版),2013,49(4):365-368.
- [11] 丁金鹏,张娜,李群. 独行菜属植物种子总蛋白4种提取方法的比较[J]. 新疆农业科学,2017,54(7):1305-1312.
- [12] 沈少炎,吴玉香,荣俊冬,等. 两种花吊丝竹叶片蛋白提取方法的2-DE比较[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2017,46(1):50-57.
- [13] Alam M, Ghosh W. Optimization of a phenol extraction-based protein preparation method amenable to downstream 2-DE and MALDI-MS based analysis of bacterial proteomes[J]. Proteomics,2014,14(2/3):216-221.
- [14] 高芳. 雪莲组织中蛋白质提取方法比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(15):32-34.

分离;三氯甲烷毒性较大,对操作人员的安全要求和防护措施要求更高,难度较大,不利于工业化生产^[9]。选用甲苯等作为提取剂与无水乙醇或水协同作用提取虫草素的报道较少。本研究以蛹虫草为原料,用微波-超声波法提取虫草素,以期明确提取剂对虫草素提取率的影响,为蛹虫草中虫草素的提取提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蛹虫草,广东金草行;虫草素标准品,中国药品生物制品鉴定所。

仪器:L-2000 高效液相色谱仪,日立(中国)有限公司;RE52CS 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;WBFY-205 微波反应器,巩义市科瑞仪器有限公司;AS5150B 超声提取器,天津奥特塞恩斯仪器有限公司;标准检验筛,成都市企航仪器有限公司;索氏提取器,郑州兴化玻璃仪器厂。

试剂:石油醚、苯、甲苯、二氯甲烷、三氯甲烷、环己烷、乙酸乙酯均为成都科龙化工试剂厂生产的分析纯试剂。乙腈、甲醇为色谱纯,所用试验用水均为去离子水。

1.2 蛹虫草虫草素的制备

取一定质量的蛹虫草,粉碎,过筛,经石油醚脱脂,干燥处理后备用。准确称量一定量的蛹虫草粉置于 50 mL 锥形瓶中,加入适量的按一定比例配制的提取溶液,放入微波-超声波仪中萃取,微波频率 2 450 MHz,超声波频率 40 kHz,一定时间后将提取溶液置于旋转蒸发器浓缩至干,向锥形瓶中加入一定量的二氯甲烷,振荡使其充分溶解,过滤,得到目标产物。将目标产物溶于 50% 甲醇溶液,定容后用于检测分析^[10]。

1.3 不同溶剂的考察

1.3.1 苯-无水乙醇 称取备用蛹虫草粗粉 5.00 g,加 4 倍(体积质量比)量的溶剂(苯:无水乙醇=9:1)于锥形瓶微波-超声提取 50 min,趁热抽滤,连续用 5.0 mL 无水乙醇洗滤渣 2 次,合并滤液采用旋转蒸发器直接旋干,加水溶解,玻璃漏斗过滤,滤液定容到 250.0 mL,用 HPLC 法测定虫草素的含量。

1.3.2 甲苯-无水乙醇 称取备用蛹虫草粗粉 5.00 g,加 4 倍(体积质量比)量的溶剂(甲苯:无水乙醇=9:1)于锥形瓶超声提取 50 min,趁热抽滤,连续用 5.0 mL 无水乙醇洗滤渣 2 次,合并滤液采用旋转蒸发器直接旋干,加水溶解,玻璃漏斗过滤,滤液定容到 250.0 mL,用 HPLC 法测定虫草素的含量。

1.3.3 环己烷-无水乙醇 称取备用蛹虫草粗粉 5.00 g,加 4 倍(体积质量比)量的溶剂(环己烷:无水乙醇=9:1)于锥形瓶超声提取 50 min,趁热抽滤,连续用 5 mL 无水乙醇洗滤渣 2 次,合并滤液采用旋转蒸发器直接旋干,加水溶解,玻璃漏斗过滤,滤液定容到 250.0 mL,用 HPLC 法测定虫草素的含量。

1.3.4 乙酸乙酯-无水乙醇 称取备用蛹虫草粗粉 5.00 g,加 4 倍(体积质量比)量的溶剂(乙酸乙酯:无水乙醇=9:1)于锥形瓶超声提取 50 min,趁热抽滤,连续用 5.0 mL 无水乙醇洗滤渣 2 次,合并滤液采用旋转蒸发器直接旋干,加水溶解,玻璃漏斗过滤,滤液定容到 250.0 mL,用 HPLC 法测定虫草素的含量。

1.3.5 二氯甲烷-无水乙醇 称取备用蛹虫草粗粉 5.00 g,加 4 倍(体积质量比)量的溶剂(二氯甲烷:无水乙醇=9:1)于锥形瓶超声提取 50 min,趁热抽滤,连续用 5.0 mL 无水乙醇洗滤渣 2 次,合并滤液采用旋转蒸发器直接旋干,加水溶解,玻璃漏斗过滤,滤液定容到 250.0 mL,用 HPLC 法测定虫草素的含量。

1.4 蛹虫草虫草素提取的正交试验设计

选择料液比(A)、提取溶剂比(B)、提取时间(C)、提取功率(D)4个因素,每个因素选取3个水平,考察4个因素对蛹虫草中虫草素提取率的影响,以虫草素提取率作为考察指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行筛选最佳方法(表1)。

表1 提取蛹虫草虫草素的正交试验因素及水平

| 水平 | 因素 | | | |
|----|-----------------|------------------|-----------------|---------------|
| | A:料液比 (g:mL) | B:溶剂比 (mL:mL) | C:提取时间 (min) | D:微波功率 (W) |
| 1 | 1:3 | 10:1 | 40 | 40 |
| 2 | 1:4 | 15:1 | 50 | 50 |
| 3 | 1:5 | 19:1 | 60 | 60 |

1.5 蛹虫草虫草素的检测

1.5.1 虫草素标准溶液配制 准确称量 0.005 0 g 虫草素标准品,用 50% 甲醇溶液溶解,转移至 5.0 mL 容量瓶中,定容,得到 1.0 mg/mL 的虫草素标准储备液。用移液枪移取不同量的标准储备液分别稀释成 10、50、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,摇匀,冷藏待用。

1.5.2 供试品溶液的制备 准确称量一定量经脱脂后的蛹虫草粉于一体化反应器中,按料液比 1 g:4 mL,溶剂甲苯:无水乙醇为 10 mL:1 mL,提取时间为 50 min,提取功率为 60 W,置于微波-超声波协同提取仪中,将仪器超声波打开,在选定的微波功率下提取,一定时间后将提取液置于旋转蒸发器浓缩至干,加入一定量的二氯甲烷,振荡使其充分溶解,过滤,得到目标产物。将目标产物溶于 50% 甲醇溶液,定容后用于检测分析。

1.5.3 HPLC 色谱条件 色谱柱为 ZORBAX Extend-C₁₈ 柱 (Analytical 4.6 × 250 nm 5-Micron 80 Å),流动相为水:甲醇=95:5,洗脱速率为 1.00 mL/min,柱温 35 °C,进样量为 10 μL 。

1.5.4 虫草素标准曲线的绘制 按照“1.5.1”节配制标准储备液,得到 10、50、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$ 不同浓度的虫草素标准溶液。按照“1.5.3”节色谱条件进样,记录色谱图,测得峰面积 S,以峰面积 S 对浓度 C(mg/mL)作图,得到回归方程: $y=33\ 054x-41\ 890$ ($r=0.999$),表明在 10~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。按信噪比 3 倍(S/N)计算,得到虫草素的检出限(LOD)为 1 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.5.5 蛹虫草中虫草素含量计算

$$\text{提取率} = \frac{C_{\text{供试品}} \times V_{\text{供试品}}}{m_{\text{蛹虫草}}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 虫草素 HPLC 检测波长的确定

紫外分光光度法全波长扫描虫草素标准品溶液,测定虫草素的紫外吸收光谱,从图 1 可以看出,虫草素在 259 nm 处

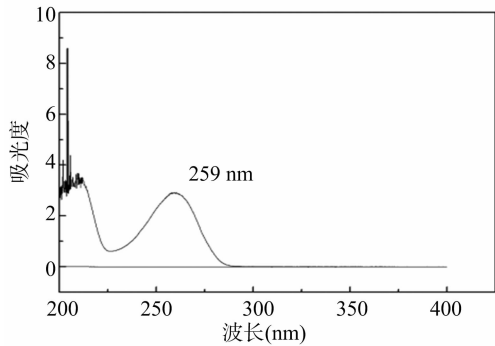


图1 虫草素紫外吸收光谱

出现最大吸收,因此选择 HPLC 的检测波长为 259 nm。

2.2 HPLC 流动相的选择

在试验过程先后选用 KH_2PO_4 缓冲溶液加四氢呋喃、水-乙腈、水-甲醇作为流动相,比较各条件的分离效果,选择最佳流动相。选用 KH_2PO_4 缓冲溶液加四氢呋喃作为流动相进样测定时,经过几次进样试验后,发现峰形逐渐变宽,经计算可知 C_{18} 柱的柱效、理论塔板数都快速降低,要经过大量乙腈和甲醇冲洗活化后,才能使柱子勉强恢复到以前的效果。可见缓冲溶液对该柱子的损害作用很大,因此, KH_2PO_4 缓冲溶液加四氢呋喃不宜作为流动相。当用水-乙腈作为流动相时,虫草素标准品和腺苷标准品虽然出峰时间比较短,但峰形很差且分离效果不佳。当水:乙腈=1:9时,腺苷和虫草素的保留时间非常小且2个峰靠得很近,不能完全分开,彼此之间干扰较大,不适合用作分离的流动相。当增加或减少水的比例,2个标准品仍不能有效分离。而当用水和甲醇作为流动相时,虫草素标准品和腺苷标准品的保留时间略有延长,分离效果较好,且峰形窄而对称。用水:甲醇体积比为9:1作流动相保留时间出在可信度较高区域,但2个标准品的分离效果不是很好,当继续增大水的比例时,2个峰的分度越来越高;当比例达到19:1时,虽然保留时间稍有增加,但峰完全分离且峰形对称尖锐、检测灵敏度高(图2)。当降低水的比例时虫草素后面有明显的拖尾,2个峰不能分离;而再加大水的比例虽然分度稍好但保留时间延后很多,浪费时间、试剂,故选择水:甲醇体积比为19:1作为流动相。

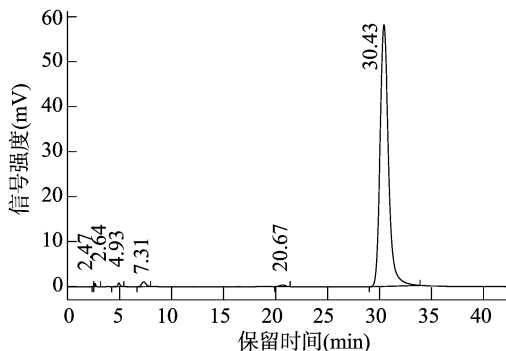


图2 虫草素标准品HPLC

试验结果表明,中性条件下分离效果较佳且色谱纯有机溶剂用量少、操作简便,且利于色谱柱的保护,使用寿命更长,有利于节约成本。色谱柱: ZORBAX Extend - C_{18} 柱 (Analytical 4.6 × 250 nm 5 - Micron 80 A); 柱温为 35 °C; 流速为 1 mL/min; 流动相为甲醇:水(体积比)=1:19; 每次进

样 10 μL ; 检测器检测波长 259 nm。采用峰面积外标法定量。在此流动相条件下,对蛹虫草子实体提取液进行测定,虫草素与样品中其他杂质能够有效分开,无干扰,出峰时间适宜,分析稳定,分离效果见图3。由于子实体中含有的腺苷和虫草素的结构极其相似,在相同色谱条件下进样腺苷标准品(图4)。从图2、图3、图4比较可见,腺苷和虫草素的分离度相当大。

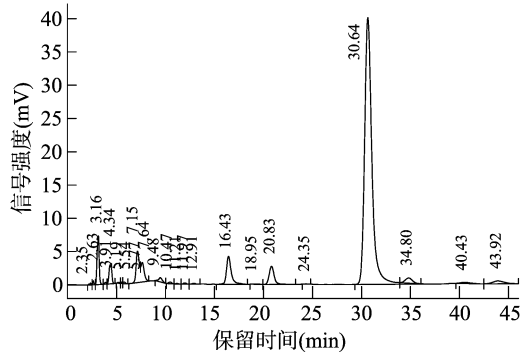


图3 虫草素样品 HPLC

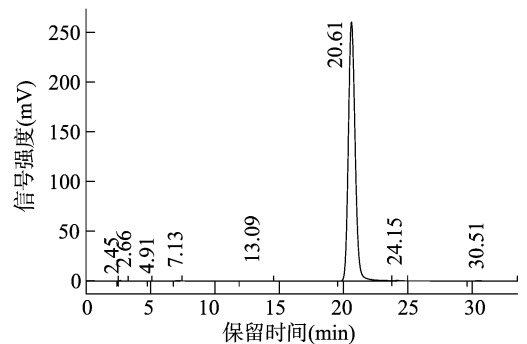


图4 腺苷标准品 HPLC

2.3 HPLC 法绘制虫草素标准曲线

按照以上色谱条件进样测定“1.5.1”节所配标准溶液,记录测定的虫草素峰对应的面积 S ,以峰面积 S 对浓度 C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 作标准曲线(表2、图5)。通过线性回归得到回归方程: $y = 33\ 054x - 41\ 890$, 线性相关系数为 $r = 0.999$, 表明在 10 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好。按信噪比3倍 (S/N) 计算,得到虫草素的检出限(LOD)为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表2 虫草素标准曲线数据

| 虫草素浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 峰面积 |
|-----------------------------------|-----------|
| 10 | 326 624 |
| 50 | 1 565 379 |
| 100 | 3 258 674 |
| 150 | 4 917 658 |
| 200 | 6 579 552 |

2.4 虫草素提取溶剂的选择

以虫草素提取率为指标,对虫草素提取所用有机溶剂配比的选择进行研究,粗提液定容到 250.0 mL,通过 HPLC 检测,利用标准曲线求得虫草素的含量,平行3次检测求平均值(表3)。

从表3可以看出,相对于其他溶剂和无水乙醇配比而言,甲苯、苯与无水乙醇配比作为提取剂,虫草素的溶出量较高;相较于单独的无水乙醇或去离子水,虫草素的溶出量也高出许多。这可能是由于在调节提取剂极性的同时在结构上也有相似的地方,虫草素有一个类似于苯环的六元环,根据相似相

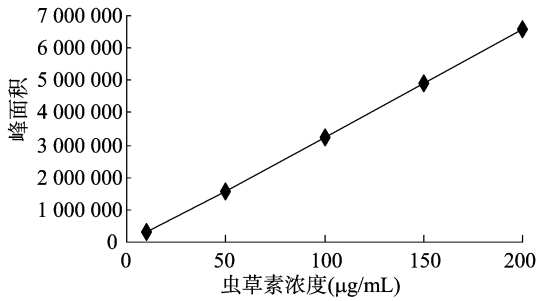


图5 虫草素 HPLC 标准曲线

表3 不同提取溶剂虫草素提取率

| 提取溶剂 | 提取率 (%) |
|-------------|---------|
| 甲苯 - 无水乙醇 | 0.27 |
| 苯 - 无水乙醇 | 0.25 |
| 二氯甲烷 - 无水乙醇 | 0.12 |
| 环己烷 - 无水乙醇 | 0.13 |
| 乙酸乙酯 - 无水乙醇 | 0.17 |
| 无水乙醇 | 0.20 |
| 去离子水 | 0.19 |

容原理,增加了虫草素的溶出;无水乙醇、水极性较大,对于本身极性较大的虫草素也有较好溶出效果,但是相比甲苯和苯与无水乙醇配比作为提取剂时还是相差较大,而且当用水或无水乙醇做提取剂时,同时被溶出的杂质含量较高,不利于虫草素更好地溶出;而其他几种常见有机溶剂作为提取剂时对体系可能只起到调节极性或一些影响较小的作用,这些因素占了提取剂大量比例而不利于虫草素的溶出。提取剂选用甲苯或苯与无水乙醇配比时虫草素的溶出量相差不大,但在甲苯和苯之间,相较而言,苯的毒性更大,吸入人体后不能被降解,对人体伤害更大,且价格更昂贵,故选择甲苯与无水乙醇配比作为提取剂。

2.5 蛹虫草虫草素的最佳提取条件正交试验

超声-微波协同提取蛹虫草虫草素的正交试验各处理的虫草素提取率结果见表4。4因素极差值 R 的大小依次为 $A > C > B > D$,即各因素对虫草素提取率影响大小顺序为料液比 $>$ 提取时间 $>$ 溶剂比 $>$ 微波功率。

通过 k 值确定其最优水平为 $A_3B_3C_2D_3$,即料液比为 $1\text{ g} : 5\text{ mL}$,溶剂比为 $19\text{ mL} : 1\text{ mL}$,提取时间为 50 min ,微波功率为 60 W 。在该最优条件下试验,其提取率为 0.27% ,提取率高于单因素结果,说明优化试验条件后其提取率得到提高。重复进行5次试验,其 RSD 为 3.79% ,重复性好,方案稳定可行。

3 结论

本试验利用微波-超声波法提取蛹虫草中虫草素,利用HPLC绘制虫草素的标准曲线,通过线性回归得到标准曲线方程为: $y = 33\ 054x - 41\ 890$, $r = 0.999$,在 $10 \sim 200\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好。 $LOD: 1\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 。对比了一系列提取剂对蛹虫草中虫草素提取的影响,发现用甲苯和水作为提取剂时效果最好,甲苯和高纯水的最佳配比为 $19\text{ mL} : 1\text{ mL}$ 。通过正交试验得到其最佳提取条件为料液比为 $1\text{ g} : 5\text{ mL}$,溶剂

表4 超声-微波协同提取蛹虫草虫草素正交试验设计及结果

| 序号 | A:料液比 (g : mL) | B:溶剂比 (mL : mL) | C:提取时间 (min) | D:微波功率 (W) | 虫草素提取率 (%) |
|-------|-------------------|--------------------|-----------------|---------------|------------|
| 1 | 1 : 3 | 10 : 1 | 40 | 40 | 0.14 |
| 2 | 1 : 3 | 15 : 1 | 50 | 50 | 0.21 |
| 3 | 1 : 3 | 19 : 1 | 60 | 60 | 0.20 |
| 4 | 1 : 4 | 10 : 1 | 50 | 60 | 0.19 |
| 5 | 1 : 4 | 15 : 1 | 60 | 40 | 0.17 |
| 6 | 1 : 4 | 19 : 1 | 40 | 50 | 0.18 |
| 7 | 1 : 5 | 10 : 1 | 60 | 50 | 0.22 |
| 8 | 1 : 5 | 15 : 1 | 40 | 60 | 0.23 |
| 9 | 1 : 5 | 19 : 1 | 50 | 40 | 0.25 |
| k_1 | 0.183 | 0.183 | 0.183 | 0.187 | |
| k_2 | 0.180 | 0.203 | 0.217 | 0.203 | |
| k_3 | 0.233 | 0.210 | 0.197 | 0.207 | |
| R | 0.053 | 0.027 | 0.034 | 0.020 | |

比为 $19\text{ mL} : 1\text{ mL}$,提取时间为 50 min ,微波功率为 60 W ,在该条件下蛹虫草虫草素的提取率为 0.27% 。不同因素对虫草素提取贡献的大小顺序为料液比 $>$ 提取时间 $>$ 溶剂比 $>$ 微波功率。本试验过程中,结合超声波-微波协同处理蛹虫草提取虫草素,利用微波的高能作用和超声波的空化作用有助于提高虫草素的产量。

参考文献:

- [1] 马力,丁向萍. 虫草素抗肿瘤机制研究进展[J]. 第四军医大学学报,2009,30(8):764-766.
- [2] 陈顺志,高剑萍. 一种超临界萃取虫草素脱氧核苷的生产方法: CN1339440[P]. 2001-09-28.
- [3] 谢红旗,胡瑕,罗巍,等. 酶法提取蛹虫草中虫草素的研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(9):2145-2147.
- [4] 周英彪,刘芳,张善信. 微波-高效液相色谱法提取分离蛹虫草固体培养残基中的虫草素[J]. 食品科学,2010,35(17):224-226.
- [5] 钟艳梅,黄志全,温凯. 人工蛹虫草固体培养残基中虫草素的提取分离研究[J]. 现代食品科技,2007,23(2):40-42.
- [6] Shih I L, Tsai K L, Hsieh C. Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2007,33(3):193-201.
- [7] Kubo E, Sato A, Yoshikawa N, et al. Effect of cordyceps sinensis on TIMP-1 secretion from mouse melanoma cell[J]. Central European Journal of Biology, 2012,7(1):167-171.
- [8] Holbein S M, Werner T P. Cordycepin - hypersensitive growth links elevated polyphosphate levels to inhibition of poly(A) polymerase in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Nucleic Acids Research, 2008,36(2):353-363.
- [9] 王春华,毛宁,安康,等. 液体发酵和固体栽培蛹虫草产生腺苷和虫草素情况[C]//第八届全国食用菌学术研讨会暨新产品新技术交流会论文汇编,2007.
- [10] Xu F L, Lee Y L, Tsai W Y, et al. Effect of cordycepin on Hantaan virus 76-118 infection of primary human embryonic pulmonary fibroblasts - characterization of apoptotic effects [J]. Acta Virologica, 2005,49(3):183-193.