

Box-Behnken设计-响应面法优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺^Δ

范彬^{1*},李琳²,石晓峰^{1,2#},沈薇¹,马趣环¹,刘东彦¹,王新娣¹(1.甘肃省医学科学研究院,兰州 730050; 2.甘肃中医药大学药学院,兰州 730030)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0359-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.16

摘要 目的:优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺。方法:采用高效液相色谱法测定蛇床子素含量。在单因素考察的基础上,以乙醇体积分数、提取时间、料液比为考察因素,以蛇床子素含量为响应值,采用Box-Behnken设计-响应面法优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺,并进行验证试验。结果:确定的最佳提取工艺为乙醇体积分数88%,料液比1:20(g/mL),提取2次、每次57 min。在此工艺条件下,提取得到蛇床子素的平均含量为0.675 7 mg/g(RSD=1.78%,n=3),与预测值0.680 9 mg/g的相对误差为0.59%。结论:优选的最佳提取工艺方法简便、可行,可用于雪松松针中蛇床子素的提取。

关键词 雪松松针;蛇床子素;提取工艺;Box-Behnken设计;响应面法

Optimization of Extraction Technology of Osthole from Pine Needles of *Cedrus deodara* by Box-Behnken Design-response Surface Methodology

FAN Bin¹, LI Lin², SHI Xiaofeng^{1,2}, SHEN Wei¹, MA Quhuan¹, LIU Dongyan¹, WANG Xindi¹(1.Gansu Provincial Academy of Medical Science, Lanzhou 730050, China; 2.School of Pharmacy, Gansu University of TCM, Lanzhou 730030, China)

取工艺简便、快捷,结果稳定、可靠,为甘草中黄酮类成分的后续开发和利用等研究提供了一定的参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:86.
- [2] 王忠全,丁旧玲.复方甘草酸苷的临床应用[J].中国药房,2015,16(20):1585-1586.
- [3] 高雪岩,王文全,魏胜利,等.甘草及其活性成分的药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2009,34(21):2695-2700.
- [4] 向诚,乔雪,叶敏,等.利用数据库对甘草属植物化学成分的分类和分布分析[J].药学学报,2012,47(8):1023-1030.
- [5] 方鉴.甘草及其有效成分对免疫系统调节作用探究[J].海峡药学,2017,29(8):28-30.
- [6] 苏国林,刘刚,刘育辰,等.甘草苷的提取纯化方法和药理作用研究进展[J].中国现代中药,2011,13(10):48-51.
- [7] 马玲.甘草黄酮及皂苷类成分谱效关系研究[D].银川:宁夏医科大学,2015.
- [8] 刘育辰,李铮,马丽端,等.同时检测甘草中4种黄酮糖苷类成分的方法及其在基源植物鉴别上的应用[J].中国药

学杂志,2011,46(14):1112-1116.

- [9] 王欢,黄嫣,李希,等.响应面法优化白花蛇舌草中齐墩果酸和熊果酸的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(20):34-37.
- [10] 万丹娜,饶倩如,俞梦莹,等.Box-Behnken设计-响应面法优化山楂的醇沉工艺[J].中国药房,2018,29(15):2078-2081.
- [11] 张琳,赵凤平,王云红.Box-Behnken响应面法优选枳壳饮片炮制工艺研究[J].亚太传统医药,2018,14(2):61-64.
- [12] 高雪梅,祁岳,张志.响应面法优化酸藤子叶总黄酮的超声提取工艺[J].黑龙江畜牧兽医,2018(17):167-170,240.
- [13] 牟会荣,陈昆,王晓岚,等.正交试验法与响应面法在桑叶黄酮提取工艺优化中的应用和比较[J].江苏科技大学学报(自然科学版),2016,30(1):88-93.
- [14] 程艳刚,谭金燕,叶文冲,等.基于Plackett-Burman设计和Box-Behnken响应面法优化仙鹤草总黄酮超声提取工艺及其抗氧化抗肿瘤活性研究[J].中华中医药学刊,2018,36(10):2414-2419.
- [15] 苏艳莹,雷小小,桂卉,等.星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的制备工艺[J].中国药房,2018,29(19):2612-2616.
- [16] 邢国秀,李楠,王童,等.甘草中黄酮类化学成分的研究进展[J].中国中药杂志,2003,28(7):10-14.

^Δ基金项目:甘肃省科技支撑计划项目(No.甘财教[2012]197号);兰州市人才创新创业项目(No.2014-RC-62)

*副主任药师,硕士。研究方向:中药制剂及中药质量标准。电话:0931-2302864。E-mail:fb1124@sohu.com

#通信作者:教授,主任药师,硕士生导师。研究方向:中药制剂及天然产物化学。电话:0931-2302664。E-mail:shixiaofeng2005@sina.com

(收稿日期:2018-10-23 修回日期:2018-11-21)

(编辑:刘萍)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of osthole from the pine needles of *Cedrus deodara*. METHODS: HPLC method was adopted to determine the content of osthole. Based on single factor test, ethanol volume fraction, extraction time and material-solvent ratio were selected as influential factors, and the content of osthole was selected as response value. Box-Behnken design-response surface methodology was used to optimize the extraction technology of osthole in pine needles of *C. deodara*. Validation test was conducted. RESULTS: The optimal extraction technology was as follows as ethanol volume fraction of 88%, material-solvent ratio of 1:20 (g/mL), extracting for 2 times, lasting for 57 min each time. Under this technology, average content of osthole was 0.675 7 mg/g (RSD=1.78%, $n=3$), and the relative error of which to predicted value 0.680 9 mg/g was 0.59%. CONCLUSIONS: The optimal extraction technology is simple and feasible, and it can be used for the extraction of osthole from the pine needles of *C. deodara*.

KEYWORDS Pine needles of *Cedrus deodara*; Osthole; Extraction technology; Box-Behnken design; Response surface methodology

雪松 [*Cedrus deodara* (Roxb.) G. Don.] 又名喜马拉雅雪松、喜马拉雅杉、香柏, 是松科 (Pinales) 雪松属 (*Cedrus* Trew) 植物, 其针叶药用历史悠久, 其中的主要化学成分为挥发油、黄酮类、苯丙素类、有机酸类、三萜类、甾体类、多糖及针叶胶类等, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗褐变、抗菌等药理活性^[1-2]。本课题组前期对雪松松针进行了诸多研究, 如采用高效液相色谱法/紫外-可见分光光度法测定雪松不同部位中 4 个黄酮类化合物、5 种酚酸类成分以及原花青素的含量^[3-5]; 并且通过对雪松松针中丹皮酚、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚 4 个有效成分的含量测定^[6], 发现其中蛇床子素含量较高。

蛇床子素又称甲氧基欧芹素, 属于香豆素类化合物, 具有较强的药理活性, 对心脑血管系统、内分泌系统以及免疫系统等多种疾病均具有较为明显的药理作用^[7], 是一个值得进一步研究和开发利用的活性成分。为了从雪松松针中提取纯化蛇床子素, 本试验拟采用高效液相色谱法测定蛇床子素含量, 在单因素考察的基础上, 采用 Box-Behnken 设计-响应面法优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺, 为后续的研究提供试验参考。

1 材料

1.1 仪器

1100 高效液相色谱仪, 配置四元梯度泵、可变波长扫描紫外检测器、1100 化学工作站和标准手动进样器 (美国 Agilent 公司); AE260 万分之一分析天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); HH-4 电热恒温水浴锅 (北京科伟永兴仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

雪松松针于 2008 年 6 月采自甘肃省兰州市, 经甘肃省医学科学院何福江研究员、石长栓副研究员鉴定为松科雪松属植物雪松的针叶, 将药材阴干并保存于阴凉库, 待用; 蛇床子素对照品 (成都曼思特生物科技有限公司, 批号: MUST-11123014, 纯度: >98%, 供含量测定用); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取蛇床子素对照品 4.4 mg, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 用 95% 乙醇溶解并定容至刻度, 即得质量浓度为 0.44 mg/mL 的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 精密称取雪松松针粉末 (10~20 目) 1.0 g, 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 95% 乙醇 20 mL, 水浴回流提取 2 h, 过滤, 滤液定容至 25 mL 棕色量瓶中, 即得。

2.2 色谱条件

参考文献^[8-10]设置。色谱柱: Agilent TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水 (80:20, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 322 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 20 μ L。

2.3 系统适用性试验

精密吸取“2.1”项下对照品溶液和供试品溶液各 20 μ L, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 供试品溶液与对照品溶液中蛇床子素色谱峰的保留时间一致, 与相邻峰间的分离度均 >1.5, 理论板数按蛇床子素计不低于 3 000, 色谱图见图 1。

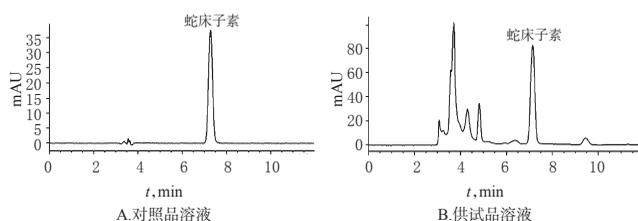


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 方法学验证

2.4.1 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液 20、40、80、120、160、200 μ L, 分别置于 1 mL 量瓶中, 用 95% 乙醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成系列质量浓度的蛇床子素对照品溶液, 然后按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标 (y)、蛇床子素的质量浓度为横坐标 (x , μ g/mL) 绘制标准曲线, 得到蛇床子素的标准曲线方程为 $y=47.477\ 507\ 5x+34.644\ 78$ ($r=0.999\ 6$), 表明蛇床子素质量浓度在 8.8~88.0 μ g/mL 范

围内与其峰面积呈良好的线性关系。

2.4.2 精密度试验 精密吸取新鲜配制的质量浓度为 35.20 μg/mL 的蛇床子素对照品溶液 20 μL,按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果,蛇床子素峰面积的 RSD=0.82% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 精密称取雪松松针粉末(10~20 目)1.0 g,共 6 份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,然后按“2.2”项下色谱条件分别进样 20 μL,记录峰面积。结果,蛇床子素的平均含量为 0.519 6 mg/g, RSD=2.09% (n=6),表明该方法重复性较好。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液,分别于室温条件下放置 0、2、4、6、8、10、24 h 后,按“2.2”项下色谱条件进样 20 μL,记录峰面积。结果,蛇床子素峰面积的 RSD=2.09% (n=7),表明供试品溶液在室温条件下 24 h 内基本稳定。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取雪松松针粉末(10~20 目) 0.5 g,共 9 份,按样品含量的 80%、100% 和 120% 分别加入蛇床子素对照品溶液,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液后,再按“2.2”项下色谱条件进样 20 μL,记录峰面积。结果,蛇床子素的平均加样回收率为 101.98%, RSD=1.57% (n=9),表明该方法准确度较好,结果见表 1。

表 1 回收率结果

Tab 1 Results of recovery rate

编号	称样量, mg	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1	0.500 0	0.259 8	0.207 8	0.467 6	100.000 4	101.98	1.57
2	0.500 0	0.259 8	0.207 8	0.466 9	99.671 7		
3	0.500 1	0.259 9	0.207 8	0.471 9	102.021 8		
4	0.499 8	0.259 7	0.259 8	0.520 6	100.434 9		
5	0.499 9	0.259 7	0.259 8	0.526 1	102.528 2		
6	0.500 3	0.260 0	0.259 8	0.527 1	102.835 6		
7	0.500 2	0.259 9	0.311 8	0.579 5	102.513 3		
8	0.500 3	0.260 0	0.311 8	0.583 3	103.698 7		
9	0.500 5	0.260 1	0.311 8	0.584 7	104.122 3		

2.5 单因素试验

在预试验的基础上,分别对回流提取过程中影响雪松松针中蛇床子素含量的 4 个影响因素(提取时间、料液比、乙醇体积分数及提取次数)进行逐一考察。

2.5.1 提取时间对蛇床子素含量的影响 精密称取雪松松针粉末(10~20 目)1.0 g,共 5 份,以 95% 乙醇作为提取溶剂,固定料液比为 1:20(g/mL),提取次数为 1 次,分别于水浴回流提取不同时间(30、60、90、120、150 min),然后按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样 20 μL,测定峰面积并计算雪松松针提取液中蛇床子素的含量。结果,当提取时间为 60 min 时,雪松松针提取液中蛇床子素的含量最高,提取效果最好,故选择 30~90 min 的提取时间进行 Box-Behnken 设计试验。提取时间对蛇床子素含量的影响结果见图 2a。

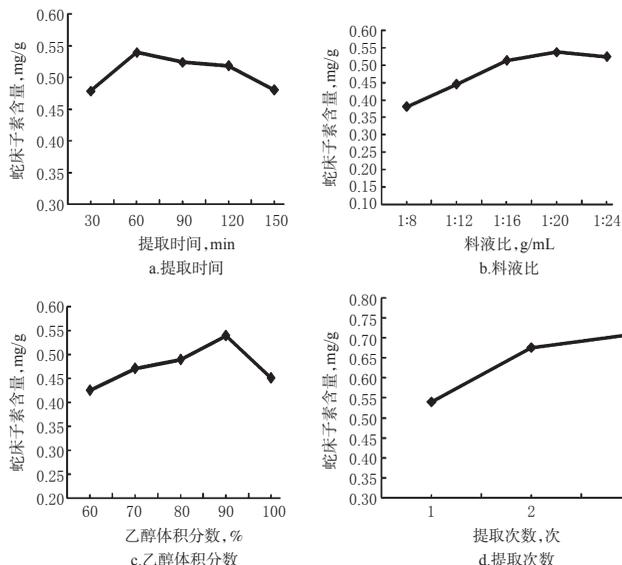


图 2 各因素对雪松松针提取液中蛇床子素含量的影响
Fig 2 Effects of each factor on the content of osthole in extraction solution from pine needles of *C. deodara*

2.5.2 料液比对蛇床子素含量的影响 精密称取雪松松针粉末(10~20 目)1.0 g,共 5 份,以 95% 乙醇为提取溶剂,提取次数为 1 次,设置不同料液比(1:8、1:12、1:16、1:20、1:24, g/mL),于水浴回流提取 60 min,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液后,再按“2.2”项下色谱条件进样 20 μL,测定峰面积并计算雪松松针提取液中蛇床子素的含量。结果,当料液比为 1:20 时,雪松松针提取液中蛇床子素的含量最高,提取效果最好,故选择料液比为 1:16~1:24 进行 Box-Behnken 设计试验。料液比对蛇床子素含量的影响结果见图 2b。

2.5.3 乙醇体积分数对蛇床子素含量的影响 精密称取雪松松针粉末(10~20 目)1.0 g,共 5 份,选择不同体积分数(60%、70%、80%、90%、100%)的乙醇,固定料液比为 1:20(g/mL),提取次数为 1 次,于水浴回流提取 60 min,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液后,再按“2.2”项下色谱条件进样 20 μL,测定峰面积并计算雪松松针提取液中蛇床子素含量。结果,当乙醇体积分数为 90% 时,雪松松针提取液中蛇床子素含量最高,提取效果最好,故选择 80%~100% 的乙醇体积分数进行 Box-Behnken 设计试验。乙醇体积分数对蛇床子素含量的影响结果见图 2c。

2.5.4 提取次数对蛇床子素含量的影响 精密称取雪松松针粉末(10~20 目)1.0 g,共 3 份,加入 90% 乙醇 20 mL,选择不同提取次数(1、2、3 次)于水浴回流提取,每次 60 min,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液后,再按“2.2”项下色谱条件进样 20 μL,测定峰面积并计算雪松松针提取液中蛇床子素的含量。结果,水浴回流提取 2 次时,雪松松针提取液中蛇床子素的含量已能达到提取

3次后的90%以上,故最终固定提取次数为2次进行后续的试验。提取次数对蛇床子素含量的影响结果见图2d。

2.6 Box-Behnken设计-响应面法优化试验

2.6.1 方案设计及试验结果 根据单因素试验结果,选择提取时间(A)、料液比(B)、乙醇体积分数(C)为考察因素,固定提取次数为2次,以雪松松针提取液中蛇床子素含量(R)为响应值,应用Box-Behnken设计进行3因素3水平的响应面试验,因素与水平见表2,Box-Behnken设计与结果见表3。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A(提取时间),min	B(料液比),g/mL	C(乙醇体积分数),%
-1	30	1:16	80
0	60	1:20	90
1	90	1:24	100

表3 Box-Behnken设计与结果

Tab 3 Box-Behnken design and results

试验号	因素			R,mg/g
	A	B	C	
1	-1	0	1	0.5804
2	-1	1	0	0.5950
3	1	1	0	0.5028
4	-1	-1	0	0.5804
5	1	0	-1	0.5886
6	0	0	0	0.6705
7	1	-1	0	0.5970
8	0	0	0	0.6869
9	0	1	-1	0.6240
10	0	0	0	0.6792
11	0	-1	-1	0.6026
12	0	0	0	0.6821
13	-1	0	-1	0.6009
14	0	0	0	0.6625
15	0	1	1	0.5407
16	1	0	1	0.5028
17	0	-1	1	0.6009

2.6.2 模型的建立及显著性检验 利用Design-Expert.V8.0.6软件对表3的数据进行回归分析,以蛇床子素含量(R)为响应值对提取时间(A)、料液比(B)、乙醇体积分数(C)进行多元线性回归和二次多项式方程拟合,得回归方程为: $R = -5.21922 + 0.017496A + 0.160260B + 0.087407C - 2.26667 \times 10^{-4}AB - 5.44167 \times 10^{-5}AC - 5.10000 \times 10^{-4}BC - 7.29528 \times 10^{-5}A^2 - 2.61141 \times 10^{-3}B^2 - 4.24075 \times 10^{-4}C^2$ ($R^2 = 0.9897$),方差分析结果见表4。

由表4可知,模型的 $P < 0.0001$,表明回归方程拟合度良好,具有极显著的影响;失拟项 $P = 0.4712 > 0.05$,表明数据没有异常点。以雪松松针中蛇床子素含量为响应值时,一次项A和C、交互项AB、二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对试验结果有极显著的影响($P < 0.001$),一次项B、交互项BC有高度显著的影响($P < 0.01$),交互项AC有显著的

影响($P < 0.05$),表明所得回归方程能够很好地预测蛇床子素含量随各响应因子的变化。

表4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	0.052	9	5.794×10^{-3}	60.64	<0.0001	极显著
A	3.424×10^{-3}	1	3.424×10^{-3}	35.83	<0.0005	极显著
B	1.752×10^{-3}	1	3.424×10^{-3}	18.34	0.0036	高度显著
C	4.574×10^{-3}	1	4.574×10^{-3}	47.88	0.0002	极显著
AB	2.959×10^{-3}	1	2.959×10^{-3}	30.97	0.0008	极显著
AC	1.066×10^{-3}	1	1.066×10^{-3}	11.16	0.0124	显著
BC	1.665×10^{-3}	1	1.665×10^{-3}	17.42	0.0042	高度显著
A^2	0.018	1	0.018	189.97	<0.0001	极显著
B^2	7.351×10^{-3}	1	7.351×10^{-3}	76.93	<0.0001	极显著
C^2	7.572×10^{-3}	1	7.572×10^{-3}	79.25	<0.0001	极显著
残差	6.688×10^{-4}	7	9.555×10^{-5}			
失拟	2.904×10^{-4}	3	9.678×10^{-5}	1.02	0.4712	不显著
误差	3.785×10^{-4}	4	9.462×10^{-5}			
总差	0.053	16				

2.6.3 响应面分析 根据回归模型作出相应的响应面曲线图和等高线图,通过响应面曲线的变化情况及等高线的稀疏程度可直观反映各因素对蛇床子素含量的影响,结果见图3。

由图3可知,提取时间和料液比的交互作用显著性强;提取时间与乙醇体积分数、料液比与乙醇体积分数的交互作用不显著。蛇床子素含量随提取时间及料液比的变化呈现出由低到高再降低的趋势,因此在合适的溶剂、提取时间及料液比下,蛇床子素含量会有极大值,且应位于曲面的顶部。

2.6.4 验证试验 通过软件Design-Expert.V8.0.6软件对模型求解方程,得到最优提取工艺条件:乙醇体积分数为87.58%,料液比为1:19.67 g/mL,回流提取2次、每次56.68 min,在该条件下蛇床子素含量达到最大值(0.6809 mg/g)。考虑到实际操作,将蛇床子素的提取工艺调整如下:乙醇体积分数为88%,料液比为1:20 (g/mL),回流提取2次、每次57 min。在此条件下平行进行3次验证试验,测得雪松松针提取液中蛇床子素的平均含量为0.6757 mg/g ($RSD = 1.78\%$, $n = 3$),与模型预测值0.6809 mg/g的相对误差为0.59%,表明该工艺条件稳定、可靠,同时也说明建立的回归模型合理。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

本试验参照文献方法^[8-10]建立了雪松松针提取液中蛇床子素含量测定的高效液相色谱法,在相同色谱条件下,分别考察了检测波长在249^[11]、294^[6]、297^[12]、310^[13]、322 nm^[14]处蛇床子素的色谱图。结果显示,蛇床子素在322 nm波长处的色谱分离度最好,且干扰峰少、响应值最高,故最终选用322 nm作为检测波长。

3.2 提取溶剂的选择

蛇床子素属于香豆素类化合物,其提取制备方法有

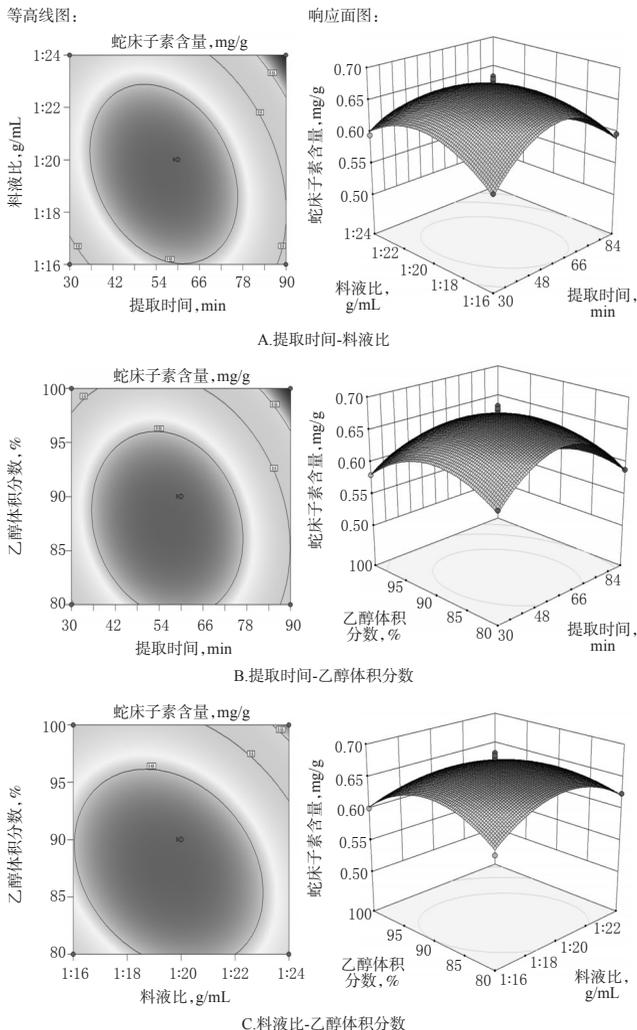


图3 各因素对雪松松针提取液中蛇床子素含量影响的响应面图和等高线图

Fig 3 Contour map and response surface plot of the effects of each factor on the content of osthole in pine needles of *C. deodara*

水煎醇沉法、醇提水沉法和氯仿复提法等。张荣等^[11]通过试验比较后,认为醇提水沉法和氯仿复提法是蛇床子素的良好提取方法,且其中醇提水沉法适合作为大生产或实验室研究的提取方法。在前期研究中,笔者首先通过对不同溶剂(乙醇、甲醇、水)进行筛选,发现在3种溶剂中以乙醇的提取效果最好,且其体积分数的高低对蛇床子素含量有很大影响,通过本试验遴选出88%乙醇作为提取溶剂时效果最好。

4 结语

响应面法虽试验次数多于正交试验,但其能建立连续变量曲面模型,试验方法更直观、精确。本研究在单因素考察的基础上,采用 Box-Behnken 设计-响应面法优

化得到了雪松松针中蛇床子素最佳提取工艺:乙醇体积分数为88%,料液比为1:20(g/mL),回流提取2次、每次57 min。经验证,在最优工艺条件下测得值与与模型预测值的相对误差仅为0.59%,表明该提取工艺条件稳定、可靠,可用于雪松松针中蛇床子素的提取。

参考文献

- [1] 郑万,傅立国.中国植物志:第七卷[M].北京:科学出版社,1978:167.
- [2] 李师,刘东彦,石晓峰,等.雪松松针正丁醇部位的化学成分研究[J].中草药,2014,45(18):2602-2606.
- [3] 刘东彦,胡鹏斌,石晓峰,等. HPLC法测定雪松不同部位4个黄酮类化合物的含量[J].中国现代应用药学,2014,31(12):1510-1514.
- [4] 沈薇,石晓峰,胡彩香,等. HPLC法测定雪松不同部位5种酚酸类成分的含量[J].药物分析杂志,2016,36(12):2174-2179.
- [5] 沈薇,石晓峰,宁红霞,等.雪松不同部位中原花青素的含量测定及其清除 DPPH 自由基的活性[J].广西植物,2015,35(6):930-934.
- [6] 石晓峰,李师,刘东彦,等. RP-HPLC法同时测定雪松松针中4个有效成分的含量[J].药物分析杂志,2014,34(2):243-246.
- [7] 覃小燕,胡珍,张花美,等.蛇床子素药理作用及相关机制研究进展[J].天津中医药,2018,35(11):877-880.
- [8] 安芳,王书华,张丹参,等. HPLC法测定兔血浆中蛇床子素的含量[J].中草药,2004,35(1):43-44.
- [9] 孙晓丹.高效液相色谱法测定妇炎平栓蛇床子素的含量[J].现代医药卫生,2010,26(2):165-166,322.
- [10] 何继祥,程静,袁建平.反相高效液相色谱法测定舒洁洗液中蛇床子素含量[J].中成药,2002,24(8):629-630.
- [11] 张荣,方庆.蛇床子素提取制备工艺的研究[J].中医药学刊,2003,21(8):1336.
- [12] 赵军,张婷婷,杨蒙蒙,等. HPLC法同时测定连丹乳膏中蛇床子素和丹皮酚的含量[J].中国药房,2014,25(35):3300-3302.
- [13] 孟繁浩,李遇伯,杨正毅,等. HPLC法同时测定蛇床子中蛇床子素和欧前胡素含量[J].沈阳药科大学学报,2004,21(3):201-204.
- [14] 王永辉,房树标,高丽,等.高效液相色谱法测定蛇床子素微乳中蛇床子素的含量[J].中华中医药杂志,2013,28(11):3426-3428.

(收稿日期:2018-11-15 修回日期:2018-12-12)

(编辑:林 静)