

多穗柯总黄酮的制备及质量控制方法研究

袁健童^{1,2}, 谷立勃³, 柴玲^{1,2}, 陈明生^{1,2}, 刘布鸣^{1,2*}, 陈小刚^{2,4}

(1. 广西壮族自治区中医药研究院, 广西南宁 530022; 2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022; 3. 广西壮族自治区食品药品检验所, 广西南宁 530021; 4. 广西壮族自治区民族医药研究院, 广西南宁 530001)

摘要: [目的] 建立从多穗柯叶中制备总黄酮制品的方法, 并建立相应的质量控制方法。[方法] 采用水浴回流的方法从多穗柯叶粉末中提取总黄酮粗提取物, 用大孔树脂对粗提物进行纯化, 制成多穗柯总黄酮制品, 分别建立薄层色谱法和紫外分光光度法对总黄酮制品进行质量评价。[结果] 所建立的制备方法从多穗柯叶中制备总黄酮制品得率大于15%, 经检测其中含有根皮苷、槲皮素、山柰酚等黄酮类物质, 所含黄酮超过60%。[结论] 所建立的制备方法简单、高效、环保, 产品品质高, 所建立的定性、定量检测方法能有效反映多穗柯总黄酮制品的质量情况。

关键词: 多穗柯; 总黄酮; 大孔树脂; 紫外分光光度法; 薄层色谱法

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-4441(2023)01-0045-06

引文格式: 袁健童, 谷立勃, 柴玲, 等. 多穗柯总黄酮的制备及质量控制方法研究[J]. 广西中医药大学学报, 2023, 26(1): 45-49, 57.

多穗柯 *Lithocarpus polystachyus* (Wall.) Rehd. 为壳斗科石柯属植物, 别名甜茶、甜叶子树、胖稠、甜味茶、大叶稠子、甘茶、多穗石柯等, 以野生形式零星分布于我国长江以南各省区的低山密林中。多穗柯是我国传统民间草药, 以叶入药, 用于治疗湿热痢疾、皮肤瘙痒、高血压和冠心病有较好的疗效^[1]。黄酮化合物在多穗柯中含量高达9.8%, 是多穗柯发挥药理保健功能的物质基础^[2-4]。其中, 以根皮苷为主的二氢查耳酮类是多穗柯黄酮类化合物的主要成分^[5], 根皮苷在多穗柯中的含量可达2%~5%^[6-7], 作为单体化合物在植物中的含量是非常高的。大孔树脂是一类不溶于酸碱及各种有机溶剂的有机高聚物吸附剂, 其选择性好、操作简单、适用范围广, 在众多领域广泛应用, 特别是在分离纯化中药方面具有较好的效果, 用于分离纯化黄酮化合物已有较多报道^[8-9]。本文对多穗柯中

总黄酮的提取和纯化工艺进行研究, 并以根皮苷作为检测指标建立相应的质量评价方法, 为深入研究多穗柯的药用价值提供科学依据。

1 实验材料

1.1 药材与试剂 多穗柯叶片来源于广西巴马, 经广西壮族自治区中医药研究院饶伟源主任药师鉴定为壳斗科石柯属植物多穗柯 *Lithocarpus polystachyus* (Wall.) Rehd.; 根皮苷对照品(武汉中标科技有限公司, 纯度≥98%); 槲皮素对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100081-201610); 山柰酚对照品(南京狄尔格医药科技有限公司); 甲醇(分析纯)、95%乙醇(分析纯), 均购于广东省化学试剂工程技术研究中心; 大孔树脂(型号: XAD1600N、D101、AB811、XAD16、XAD18、XAD7HP、XAD4, 北京慧德易科技有

收稿日期: 2022-06-14

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题(编号: GZKZ 10-006); 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(编号: S201621)

*通信作者: 刘布鸣(1956—), 研究员, 主要从事中药、天然产物化学成分分析与质量标准研究; E-mail: liubuming@aliyun.com

限责任公司);超纯水为实验室自制。

1.2 仪器 UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);XS-205 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH-S4 数显恒温水浴锅(江苏金怡仪器科技有限公司);旋转蒸发仪 N-1100(上海爱朗仪器有限公司);油浴锅 OSB-2100(上海爱朗仪器有限公司)。

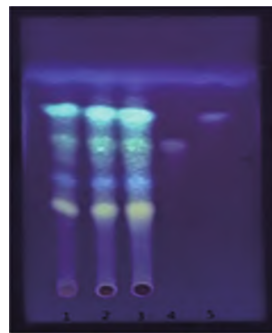
2 方法与结果

2.1 多穗柯总黄酮的薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取多穗柯叶,粉碎过 200 目筛,称重,置圆底烧瓶中,加入 70% 乙醇溶液,料液比为 1:25,90 ℃ 下回流 30 min,滤过,提取 2 次,合并滤液,浓缩至无醇味,得多穗柯总黄酮粗提取物。取多穗柯总黄酮加甲醇制成每 1 ml 约含 3 mg 多穗柯总黄酮的供试品溶液。

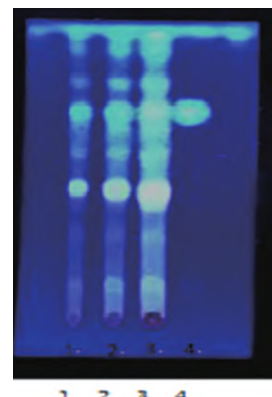
2.1.2 对照品溶液的制备 取槲皮素对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含槲皮素约 0.05 mg 的槲皮素对照品溶液;取山柰酚对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含山柰酚约 0.06 mg 的山柰酚对照品溶液;取根皮苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含根皮苷约 0.6 mg 的根皮苷对照品溶液。

2.1.3 薄层色谱鉴别 (1)取上述供试品溶液和槲皮素、山柰酚对照品溶液各 5 μ l,点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(10:9:0.5)为展开剂,展开,喷以 3% 三氯化铝乙醇溶液,在紫外光 365 nm 下检视。(2)取上述供试品溶液和根皮苷对照品溶液各 5 μ l,点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(7:0.5:0.5)为展开剂,展开,喷以 3% 三氯化铝乙醇溶液,在紫外光 365 nm 下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上显相同的荧光斑点。薄层色谱鉴别结果见图 1、图 2。



1~3 多穗柯总黄酮 4 槲皮素 5 山柰酚

图1 山柰酚、槲皮素薄层鉴别色谱图



1~3 多穗柯总黄酮 4 根皮苷

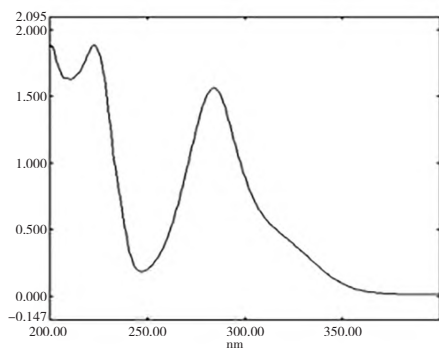
图2 根皮苷薄层鉴别色谱图

2.2 多穗柯总黄酮的含量测定

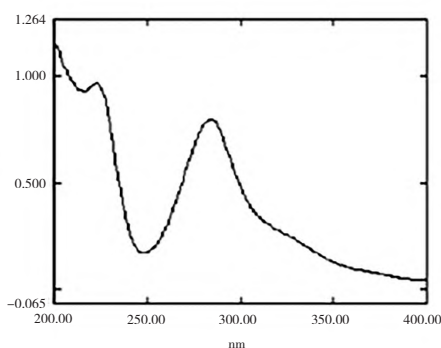
2.2.1 对照品溶液的制备 取根皮苷对照品适量,精密称定,用甲醇溶解,制成 0.72 mg/ml 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取多穗柯总黄酮适量,精密称定,用甲醇溶解,制成 1 mg/ml 的溶液,作为供试品溶液。

2.2.3 波长的选择 取对照品溶液适量,置于吸收池中,用紫外分光光度计在波长 200~400 nm 下扫描,测定最大吸收波长。结果根皮苷的紫外最大吸收峰为 284 nm,根皮苷对照品和供试品溶液紫外吸收光谱图见图 3。



a 根皮苷对照品光谱图



b 供试品光谱图

图3 根皮苷对照品和供试品溶液紫外吸收光谱图

2.2.4 线性关系考察 精密吸取2.2.1项下对照品溶液2.0 ml、3.0 ml、4.0 ml、5.0 ml、6.0 ml、7.0 ml置于25 ml容量瓶中,分别加入甲醇至刻度,摇匀。在紫外光284 nm下测定吸光度,以根皮苷浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,计算出线性回归方程为 $Y=0.0376X+0.0252$, $r=0.9998$,表明总黄酮进样浓度在7.2~28.8 $\mu\text{g/ml}$ 间与吸光度呈良好线性关系。

2.2.5 样品测定 取供试品溶液适量,置于吸收池中,于284 nm最大吸收波长处扫描吸光度(A),根据线性方程计算供试品溶液中根皮苷的浓度,再计算出总黄酮的含量。

2.2.6 精密度试验 取同一份根皮苷对照品溶液,在紫外分光光度计下连续测量6次,记录吸光度数据,计算相对标准偏差(RSD)值。结果RSD为0.09%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液,每间隔2 h测定吸光度1次,共测定7次,观察样品在12 h内的稳

定性。结果RSD为1.27%($n=7$),表明样品在12 h内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 取同一批样品6份,分别按照2.2.2项下方法制成供试品溶液,测定供试品溶液吸光度,计算每份供试品中总黄酮的含量。结果6份样品平均含量的RSD为1.33%($n=6$),表明实验的重复性良好。

2.2.9 加样回收试验 取已知黄酮含量的多穗柯总黄酮提取物样品9份,编号为1~9号,1~3号样品中加入约0.5倍黄酮含量的根皮苷对照品,4~6号样品中加入约1倍黄酮含量的根皮苷对照品,7~9号样品中加入约1.5倍黄酮含量的根皮苷对照品,再按2.2.2项下方法制成供试品溶液,按2.2.5项下方法测定9份样品中总黄酮的含量,计算回收率和RSD值。加样回收试验结果见表1。9批样品回收率范围在95%~105%之间,平均回收率为99.68%,RSD为1.09%(<3%),表明方法准确度良好。

表1 加样回收试验结果

($n=9$)

序号	原有量(mg)	加入量(mg)	实测值(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	10.81	5.11	15.69	98.55		
2	10.83	4.97	15.76	99.70		
3	10.84	5.22	15.97	99.46		
4	10.90	10.32	20.93	98.64		
5	10.65	10.14	21.01	101.06	99.68	1.09
6	10.66	9.97	20.37	98.72		
7	10.73	15.03	26.21	101.72		
8	10.63	15.12	25.65	99.62		
9	10.78	15.00	25.69	99.64		

2.3 多穗柯总黄酮提取方法的优化

2.3.1 提取溶剂的考察 取多穗柯叶粉末5份,每份1 g,精密称定,分别加入水、甲醇、乙醇、50%甲醇、50%乙醇各50 ml,90℃加热回流30 min,滤过,滤液挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮含量,计算总黄酮得率(mg/g)。结果水、甲醇、乙醇、50%甲醇、50%乙醇的得率分别为71.9 mg/g、103.8 mg/g、95.3 mg/g、107.8 mg/g、113.5 mg/g,其中50%乙醇的提取得率最高。

2.3.2 乙醇不同浓度的考察 按2.3.1项下的方法取样6份,分别以30%乙醇、40%乙醇、50%乙醇、60%乙醇、70%乙醇、80%乙醇作为提取溶剂,其它操作同2.3.1项,提取并测定,计算总黄酮得率(mg/g)。结果

30%乙醇、40%乙醇、50%乙醇、60%乙醇、70%乙醇、80%乙醇的提取得率分别为91.3 mg/g、103.4 mg/g、113.5 mg/g、106.5 mg/g、111.7 mg/g、108.4 mg/g,其中70%乙醇的提取得率最高。

2.3.3 提取温度的考察 按2.3.1项下的方法取样4份,精密加入70%乙醇溶液各50 ml提取30 min,回流温度分别控制为60℃、70℃、80℃、90℃,测定每份供试品溶液中总黄酮的含量,计算总黄酮得率(mg/g)。结果60℃、70℃、80℃、90℃下提取得率分别为68.9 mg/g、70.2 mg/g、72.3 mg/g、74.6 mg/g,其中90℃下提取得率最高。

2.3.4 提取时间的考察 按2.3.1项下的方法取样5份,精密加入70%乙醇溶液各50 ml,90℃回流提取,

回流时间分别为30 min、60 min、90 min、120 min、150 min,测定每份供试品溶液中总黄酮的含量,计算总黄酮得率(mg/g)。结果提取30 min、60 min、90 min、120 min、150 min的得率分别为105.7 mg/g、105.5 mg/g、108.4 mg/g、108.9 mg/g、106.0 mg/g。随着提取时间的延长,提取得率并未大幅增加,从节省时间成本考虑,选择以提取30 min为佳。

2.3.5 提取次数考察 按2.3.1项下的方法取样1份,精密加入70%乙醇溶液50 ml,称重,90℃回流提取30 min,滤过,滤液挥干,按2.2.5项下方法测定总黄酮的含量,滤渣用70%乙醇溶液补足减失重量,再次提取,滤过、挥干并测定,如此反复提取4次,记录每次提取液中总黄酮的含量。提取1、2、3、4次的得率分别为107.6 mg/g、97.7 mg/g、17.3 mg/g、9.2 mg/g,由此看出,提取2次后得率已很低,因此选择提取次数为2次。

2.4 纯化方法的优化

2.4.1 大孔树脂的选择 选取7种不同型号的大孔树脂适量,分别用95%乙醇浸泡24 h后装柱,每根柱装量10 ml,再用蒸馏水冲洗至无乙醇味,取已知总黄酮浓度的多穗柯粗提取物的水溶液100 ml,上样,以1 ml/min的流速分别用水、60%乙醇100 ml洗脱,分别收集水洗液和乙醇洗脱液,挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮含量,计算总黄酮在树脂中的吸附率、解析率、回收率。吸附率(%)=(上样量-水洗液中总黄酮量)/上样量×100%;解吸率(%)=乙醇洗液中总黄酮量/(上样量-水洗液中总黄酮量)×100%;回收率(%)=(乙醇洗液中总黄酮量+水洗液中总黄酮量)/上样量×100%。不同型号大孔树脂对多穗柯总黄酮的吸附率、解析率和回收率比较结果如表2,经综合比较最终选择XAD18型号大孔树脂。

表2 不同型号大孔树脂的考察

编号	树脂型号	吸附率(%)	解吸率(%)	回收率(%)
1	XAD1600N	92.67	96.27	89.21
2	D101	93.74	92.81	87.00
3	AB811	89.07	82.84	73.78
4	XAD16	93.64	81.63	76.44
5	XAD18	94.70	98.48	93.26
6	XAD7HP	85.85	86.90	74.61
7	XAD4	79.08	89.32	58.48

2.4.2 洗脱流速的考察 取处理好的XAD18型号大孔树脂装柱4根,每根装量5 ml,用含总黄酮5.67 mg/ml的总黄酮提取液100 ml分别上样,分别用水、60%乙

醇100 ml洗脱,洗脱速度分别为1 ml/min、3 ml/min、5 ml/min、10 ml/min,分别收集水洗液和乙醇洗脱液,挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮含量,计算总黄酮的吸附率、解析率、回收率,见表3。经比较,流速越慢洗脱效果越好,但流速太低会影响纯化效率,也可能造成大孔树脂柱的堵塞,最终选择流速为3 ml/min。

表3 洗脱液流速的考察

编号	流速(ml/min)	吸附率(%)	解吸率(%)	回收率(%)
1	1	97.79	96.51	95.69
2	3	95.36	93.33	92.88
3	5	89.07	86.90	83.44
4	10	82.64	85.33	73.52

2.4.3 样品溶液浓度考察 取3份处理好的XAD18型号大孔树脂各5 ml,分别装柱,配备含总黄酮分别为1 mg/ml、3 mg/ml、6 mg/ml的多穗柯粗提液3份,分别上样,每份上样量约为总黄酮100 mg,用水100 ml以3 ml/min流速洗脱,收集水洗液,挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮的含量,计算吸附率。总黄酮浓度分别为1 mg/ml、3 mg/ml、6 mg/ml时,吸附率分别为66.87%、65.85%、68.56%,结果显示溶液中总黄酮浓度对吸附率影响较低,浓度越大工作效率越高,但超过6 mg/ml时样品的溶解度降低,所以确定总黄酮的供试液的浓度范围为5~6 mg/ml。

2.4.4 大孔树脂最大载样量考察 取处理好的XAD18型号大孔树脂5 ml,装柱,用含总黄酮5.67 mg/ml的上样液,以10 ml为一份持续上样,在柱子下方以3 ml/min的流速接取流出液,每5 ml为一份,挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮的含量,记录每一份泄露液中总黄酮的含量。以累计上样的总黄酮量为横坐标、泄露液中的总黄酮量为纵坐标,绘制总黄酮的泄露曲线,见图4。结果显示,当累计上样量达到400 mg时,泄露量急速变大,可知树脂吸附达到饱和,故确定1 ml大孔树脂一次上样量应不超过80 mg。

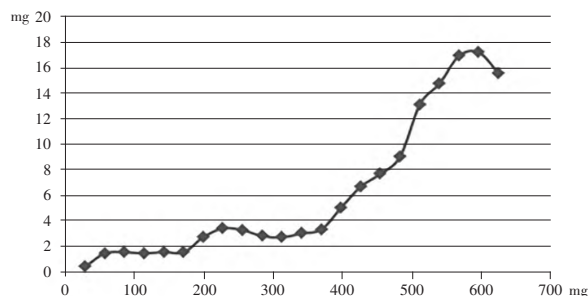


图4 XAD18型大孔树脂多穗柯总黄酮泄露曲线

2.4.5 水洗脱液用量考察^[10] 取处理好的XAD18型号大孔树脂12 ml,装柱,用含总黄酮5.872 mg/ml的上样液80 ml上样,待泄露液流干后,用水冲洗树脂柱,接取流出液,每10 ml为1份,接取10份,编号,分别浓缩挥干后称重,记录每份泄露液中固形物质量,按2.2.5项下的方法测定总黄酮含量,记录每份泄露液中总黄酮的含量。水洗脱液用量考察中仅第一份10 ml流份干燥后有部分固形物,后续流出部分几乎无固形物,也未检测到总黄酮,故确定水洗脱液用量与树脂体积相同即可。

2.4.6 乙醇洗脱液浓度考察 取处理好的XAD18型号大孔树脂7份,每份5 ml,装柱,向每根柱子中加入含总黄酮170.44 mg的溶液,用水5 ml洗脱,弃去水洗液,再分别用30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的乙醇溶液100 ml洗脱,收集乙醇洗脱液,挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮含量,计算总黄酮回收率。不同浓度乙醇洗脱液对多穗柯总黄酮回收率的影响见表4。结果显示60%乙醇溶液作为洗脱液时回收率最高。

表4 不同浓度乙醇洗脱液对多穗柯总黄酮回收率的影响

编号	乙醇浓度(%)	回收率(%)
1	30	39.23
2	40	48.06
3	50	57.93
4	60	71.67
5	70	57.20
6	80	60.98
7	90	53.75

2.4.7 乙醇洗脱液用量的考察^[11] 取处理好的XAD18型号大孔树脂5 ml,装柱,向柱子中加入含总黄酮200.52 mg的溶液,用水5 ml洗脱,弃去水洗液,再用60%乙醇溶液洗脱,收集乙醇液,每10 ml为1份,共接10份,分别挥干,按2.2.5项下的方法测定总黄酮含量。以乙醇溶液累计用量为横坐标、洗脱液中的总黄酮量为纵坐标绘制样品回收曲线,见图5。结果显示,当洗脱液达到20 ml时,总黄酮已基本洗脱完全,故确定乙醇溶液洗脱液用量为4倍柱体积。

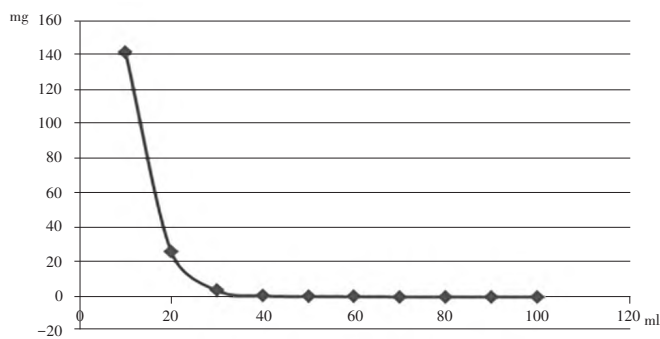


图5 多穗柯总黄酮纯化中乙醇洗脱液回收曲线

2.5 多穗柯总黄酮的制备方法 取多穗柯叶,粉碎过200目筛,称重,置圆底烧瓶中,加入料液比为1:25的70%乙醇溶液,90℃下回流30 min,滤过,提取2次,合并滤液,浓缩至无醇味,得多穗柯总黄酮粗提取物,将粗提物加水稀释至总黄酮6 mg/ml,通过XAD18型大孔吸附树脂,以3 ml/min的流速洗脱,分别用1倍柱体积的水冲洗,再用4倍柱体积60%乙醇冲洗,收集乙醇液,挥干,即得多穗柯总黄酮提取物。所制备3批多穗柯总黄酮制品的纯度和得率见表5。表明所建立的提取纯化工艺制备得到的多穗柯总黄酮纯度和得率均较高,检测方法可有效反映多穗柯总黄酮的品质。

表5 3批多穗柯总黄酮制品的纯度和得率

(n=3)

批号	药材取样量(g)	制得量(g)	总黄酮含量(g)	纯度(%)	得率(mg/g)
1	50.85	13.43	8.92	66.42	175.42
2	100.53	28.15	18.47	65.61	183.37
3	150.21	39.83	25.89	65.00	172.36

3 小结

多穗柯黄酮类物质中主要为二氢查耳酮类物质根皮素的糖苷,如根皮苷、三叶苷等,易溶于热水、醇水溶液,故选择回流提取方式。本试验中,采用70%乙醇在90℃下回流30 min,共提取2次的方法从多穗柯叶中提取黄酮类化合物,纯度不足30%,经采用

XAD18性大孔吸附树脂对黄酮类化合物进行纯化,得到纯度大于60%的多穗柯总黄酮制品,且整体得率大于15%。

参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编:下册[M]. 北京: 人民出版社,1987:256.

(下转第57页)

- 食管炎46例临床观察[J].中医杂志,2017,58(1):46-49.
- [7] 李艳,范兴良,田芸,等.基于“脾肺并治”理论针刺治疗难治性胃食管反流病临床研究[J].上海针灸杂志,2018,37(9):1-4.
- [8] 肖书熠,毛红蓉.针灸膈穴治疗作用的生物全息理论基础[J].亚太传统医药,2020,16(11):204-207.
- [9] 王金鑫,翁文水,林思雄.基于软组织解剖浅谈对“气至”的认识[J].河南中医,2022,42(3):370-374.
- [10] 李昕,白兴华,张陪,等.针刺督脉背段 $T_3 \sim T_{12}$ 棘突下治疗胃食管反流性胸痛临床研究[J].针灸临床杂志,2020,36(4):9-14.
- [11] 张羽,黄美祯,潘春曲,等.基于“以枢调枢”理论从AMPK/ULK1介导自噬通路探析背俞指针疗法防治胃食管反流病可行性[J].海南医学院学报,2021,27(21):1667-1671.
- [12] 黄雪,白兴华,刘镇文,等.针刺督脉背段 $T_3 \sim T_{12}$ 棘突下治疗难治性胃食管反流病的临床观察[J].上海中医药杂志,2019,53(2):64-67.
- [13] 李华岳,马昕宇.针刺督脉背段联合中药治疗非糜烂性胃食管反流疗效观察[J].上海针灸杂志,2018,37(11):1229-1234.
- [14] 王玥,乔会侠,贾乐乐,等.温胆汤联合针刺督脉背段胸椎棘突下阳性反应点对非糜烂性胃食管反流病合并焦虑抑郁患者自主神经功能及生活质量的影响[J].现代中西医结合杂志,2021,30(18):1995-1999.
- [15] 郭慧,刘娟,杨欢,等.针刺配合质子泵抑制剂治疗胃食管反流性咳嗽疗效观察[J].上海针灸杂志,2020,39(12):1546-1551.
- [16] 游福年.半夏泻心汤联合腹针治疗胃食管反流病的临床效果分析[J].数理医药学杂志,2018,31(2):242-244.
- [17] 李俊.半夏泻心汤联合腹针治疗胃食管反流病48例疗效观察[J].国医论坛,2017,32(2):36-37.
- [18] 高玮,杜昕,王洪博.旋覆代赭汤加减联合穴位埋线对肝胃不和证反流性食管炎患者的临床疗效[J].中成药,2021,43(11):3255-3257.
- [19] 张艳,陈锋,贾月惠.旋覆四磨合剂联合穴位埋线治疗胃食管反流病[J].中国中西医结合消化杂志,2019,27(11):865-867.
- [20] 肖超秀,曾光,林良佳,等.降逆和胃法联合穴位埋线治疗非糜烂性反流病疗效的临床研究[J].内蒙古中医药,2019,38(5):104-106.
- [21] 戴瑜婷,张雪燕,王艺璇,等.黄芪的现代研究进展及其质量标志物的预测分析[J].中国中药杂志,2022,47(7):1-13.
- [22] 江瑞.中药内服联合黄芪注射液穴位注射治疗胃食管反流病临床研究[J].新中医,2020,52(17):71-74.
- [23] 黄晓超,侯满萍.穴位注射联合半夏泻心汤加味治疗胃食管反流病的临床观察[J].光明中医,2016,31(14):2067-2069.
- [24] 林晗,沈含冰.电针治疗对食管动力和下食管括约肌压力的影响[J].中外医学研究,2017,15(33):173-175.
- [25] 刘志,韦瑞玲,徐家琴,等.同步化经皮电针联合腹式深呼吸训练治疗难治性胃食管反流病的疗效及对血清Ach, NO含量的影响[J].时珍国医国药,2017,28(8):2032-2035.
- [26] 黄天生,郭召平,罗瑞萍,等.旋金降逆汤联合电针足三里治疗反流性食管炎(肝胃郁热证)临床研究[J].辽宁中医杂志,2019,46(11):2331-2334.
- [27] 叶萍,魏明.电针联合枳实陷胸方治疗胃食管反流病30例[J].河南中医,2015,35(5):1073-1075.
- [28] 易越,裴丽霞,陈昊,等.针刺及联合其它疗法治疗反流性食管炎的系统评价[J].南京中医药大学学报,2020,36(4):546-551.

(编辑 陈明伟/蒙健林)

(上接第49页)

- [2] 李胜华,伍贤进,牛友芽,等.大孔树脂纯化多穗柯总黄酮的工艺研究[J].江苏农业科学,2009,36(5):266-268,290.
- [3] 李胜华,伍贤进,向晓军.多穗柯有效成分的提取及抑菌效果研究[J].食品科技,2010,35(3):211-214.
- [4] 何春年,彭勇,肖伟,等.多穗柯甜茶的研究进展[J].时珍国医国药,2012,23(5):1253-1255.
- [5] 李胜华,杨青丹,陈原阳,等.多穗柯化学成分研究[J].中药材,2010,33(4):549-551.
- [6] 邱宏聪,李茂,蒋珍藕.RP-HPLC法测定多穗柯药材中根皮苷的含量[J].药物分析杂志,2010,30(5):900-902.
- [7] 李胜华,伍贤进,牛友芽,等.HPLC法测定多穗柯叶中的根皮苷含量[J].食品工业科技,2009,30(8):327-328,331.
- [8] 王国军,唐辉,张淑兰,等.大孔树脂纯化核桃隔膜总黄酮的工艺研究[J].中草药,2013,44(19):2688-2692.
- [9] 李胜华,伍贤进,牛友芽.D-101大孔树脂纯化多穗柯中根皮苷的工艺研究[J].食品科技,2010,35(7):217-221.
- [10] 骆党委,叶静,黄雅燕,等.AB-8大孔吸附树脂精制芦柑皮总黄酮及黄酮类化合物的分离[J].食品科学,2014,35(6):30-35.
- [11] 高雅,韦日明,李迎迎,等.杠板归总黄酮提取及大孔树脂纯化工艺优化研究[J].辽宁中医杂志,2017,44(1):116-119.

(编辑 陈明伟)