

HPLC-CAD 法测定小柴胡片中琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸

朱艳平¹, 李敏营², 吴雪松^{3*}

1. 周口市中心医院 药学部, 河南 周口 466000

2. 郑州安图实业集团股份有限公司, 河南 郑州 450000

3. 天津药物研究院有限公司, 天津 300462

摘要: 目的 建立高效液相色谱联合电喷雾检测器 (HPLC-CAD) 测定小柴胡片中琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的分析方法。方法 采用 GL Science Inertsil ODS-3 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 3 μm); 流动相: 5 mmol/L 甲酸铵 (甲酸调 pH 值至 4.2) - 乙腈, 梯度洗脱; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 μL; 体积流量: 0.7 mL/min; CAD 雾化器温度为 35 °C, 气压为 61.0 psi, 采集频率为 10 Hz。结果 琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的线性范围分别为 0.94~18.74、1.23~24.66、8.90~178.06、3.51~70.20、1.52~30.36、1.25~25.02、3.48~69.54、2.50~50.04、1.23~24.56 μg/mL; 平均回收率分别为 97.05%、97.82%、97.85%、96.46%、98.53%、97.58%、97.05%、97.65%、97.03%, RSD 值分别为 1.46%、2.16%、0.83%、1.00%、1.74%、1.49%、0.75%、1.68%、1.46%。结论 本法简便、准确, 为小柴胡片的质量标准提升研究提供有效的技术手段。
关键词: 小柴胡片; 琥珀酸; 盐酸麻黄碱; 黄芩苷; 汉黄芩苷; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d; 甘草酸; 甘草次酸; 棕榈酸; HPLC-CAD

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2022)12-2741-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.12.010

Determination of succinic acid, ephedrine hydrochloride, baicalin, wogonoside, saikosaponin a, saikosaponin d, glycyrrhizic acid, glycyrrhetinic acid, and palmitic acid in Xiaochaihu Tablets by HPLC-CAD

ZHU Yan-ping¹, LI Min-ying², WU Xue-song³

1. Department of Pharmacy, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou 466000, China

2. Zhengzhou Antu Industrial Group Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co., Ltd., Tianjin 300462, China

Abstract: Objective To develop an HPLC-CAD method for simultaneous determination of succinic acid, ephedrine hydrochloride, baicalin, wogonoside, saikosaponin a, saikosaponin d, glycyrrhizic acid, glycyrrhetinic acid, and palmitic acid in Xiaochaihu Tablets. **Methods** The chromatographic separation was performed on a GL Science Inertsil ODS-3 column GL (250 mm × 4.6 mm, 3 μm) with 5 mmol/L ammonium formate (formic acid adjust pH 4.2) - acetonitrile as the mobile phase with gradient elution. The column temperature was set at 35 °C, injection volume was 20 μL, and flow rate was 0.7 mL/min. For CAD, the nebulization temperature of detector was set as 35 °C, the gas pressure was 61.0 psi, and acquisition frequency was 10 Hz. **Results** The linear ranges of succinic acid, ephedrine hydrochloride, baicalin, wogonoside, saikosaponin a, saikosaponin d, glycyrrhizic acid, glycyrrhetinic acid, and palmitic acid were 0.94 — 18.74, 1.23 — 24.66, 8.90 — 178.06, 3.51 — 70.20, 1.52 — 30.36, 1.25 — 25.02, 3.48 — 69.54, 2.50 — 50.04, and 1.23 — 24.56 μg/mL, respectively. The average recoveries were 97.05%, 97.82%, 97.85%, 96.46%, 98.53%, 97.58%, 97.05%, 97.65%, and 97.03% with RSD values of 1.46%, 2.16%, 0.83%, 1.00%, 1.74%, 1.49%, 0.75%, 1.68%, and 1.46%, respectively. **Conclusion** The method is simple and accurate, which can provide an effective technical means for the study on the improvement of the quality standard of Xiaochaihu Tablets.

收稿日期: 2022-08-15

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2019-I2M-5-020)

作者简介: 朱艳平 (1985—), 女, 主管药师, 硕士, 主要从事中药质量分析研究。E-mail: zyp132133@163.com

*通信作者: 吴雪松, 男, 硕士。E-mail: wuxuesong@tipr.com.cn

Key words: Xiaochaihu Tablets; succinic acid; ephedrine hydrochloride; baicalin; wogonoside; saikosaponin a; saikosaponin d; glycyrrhizic acid; glycyrrhetic acid; palmitic acid; HPLC-CAD

小柴胡片由柴胡、姜半夏、黄芩、甘草等 7 味中药组方, 收载于《中国药典》2020 年版一部, 具有解表散热、疏肝和胃之功效, 用于外感病, 邪犯少阳证^[1]。方中柴胡为君药, 柴胡皂苷为其主要活性成分, 《中国药典》2020 年版一部中以柴胡皂苷 a、d 为柴胡的指标成分^[1]; 臣药姜半夏中主要活性成分为生物碱盐酸麻黄碱和有机酸类成分琥珀酸、棕榈酸; 黄芩中主要活性成分为黄芩苷、汉黄芩苷等黄酮类物质; 甘草中主要活性成分为甘草酸及其代谢产物甘草次酸。《中国药典》2020 年版一部中收载的小柴胡系列制剂包括小柴胡片、小柴胡泡腾片、小柴胡胶囊和小柴胡颗粒, 仅有小柴胡颗粒中多种成分质量控制研究的报道^[2-3]。关于小柴胡片的质量研究报道多围绕黄芩苷或柴胡皂苷进行测定^[4-6], 《中国药典》2020 年版一部中也仅以黄芩苷为指标成分^[1]。电喷雾检测器 (CAD) 作为一种新型质量型通用检测器, 对各种结构类型的化合物具有良好的响应一致性, 具有灵敏、稳定、操作简单等优势, 已在中药质量研究应用领域崭露头角。中药复方制剂是一种复杂的化学体系, 多指标成分的质量控制更能准确反映其质量。因此本实验采用 HPLC-CAD 技术建立了同时测定小柴胡片中琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸 9 种活性成分的方法, 为小柴胡片中多成分的质量控制提供有效手段。

1 仪器与试剂

Dionex Ultimate 3000 高效液相色谱仪联合 Corona Veo 电喷雾检测器 (美国赛默飞世尔公司); CPA225D 型十万分之一天平、MSE 型百万分之一天平 (美国赛多利斯公司); 500 mL AXS-04 型索式提取器 (江苏汇达医疗器械有限公司); HNP-100GDZ-1 型药品强光照照射试验箱, HNP-400SD 型药品高温试验箱 (重庆宇硕实验仪器有限公司)。

琥珀酸 (批号 110896-201602)、盐酸麻黄碱 (批号 171241-201809, 质量分数以 100.0% 计)、黄芩苷 (批号 110715-202122, 质量分数以 94.2% 计)、汉黄芩苷 (批号 112002-201702, 质量分数以 98.5% 计)、柴胡皂苷 a (批号 110777-201912, 质量分数以 94.8% 计)、柴胡皂苷 d (批号 110778-201912, 质量分数以 96.3% 计)、甘草酸铵 (批号 110731-

202122, 质量分数以 94.4% 计), 甘草酸质量 = 甘草酸铵质量 / 1.020 7, 甘草次酸 (批号 110723-201715, 质量分数以 99.6% 计)、棕榈酸 (批号 190029-201603) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。

小柴胡片分别购自国药集团广东环球制药有限公司 (规格 0.4g/片, 批号分别为 210912、211205、220213、220216)、太极集团重庆桐君阁药厂有限公司 (规格 0.4g/片, 批号分别为 20210312、20210605、20211013); 小柴胡片阴性样品自制; 甲醇 (分析纯), 天津科密欧化学试剂有限公司; 乙腈 (HPLC 级), 美国 Sigma 试剂公司; 甲酸铵 (美国 Sigma 试剂公司; 甲酸 (LC-MS 级, 美国 Fisher 试剂公司); 水为自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液的制备 精密称取琥珀酸对照品适量, 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 制成含琥珀酸 0.937 0 mg/mL 的对照品储备液。分别精密称取盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸对照品适量, 置于同一 10 mL 量瓶中, 精密加入琥珀酸对照品储备液 1.0 mL, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成含琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸分别为 0.093 7、0.123 3、0.890 3、0.351 0、0.151 8、0.125 1、0.347 7、0.250 2、0.122 8 mg/mL 的混合对照品母液; 精密移取混合对照品母液 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成含琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸分别为 0.009 4、0.012 3、0.089 0、0.035 1、0.015 2、0.012 5、0.034 8、0.025 0、0.012 3 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取小柴胡片 10 片, 研细, 精密称取约 0.5 g, 用滤纸包裹, 置于索式提取器中, 加入 50% 甲醇 250 mL 提取 1.5 h, 将提取液浓缩至干, 残渣转移至 100 mL 量瓶, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.3 阴性样品溶液的制备 按小柴胡片拟定的

制剂处方工艺分别制备缺柴胡、缺姜半夏、缺黄芩和缺甘草的阴性样品,按照供试品溶液的制备项下方法分别得缺柴胡、缺姜半夏、缺黄芩和缺甘草的阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

GL Science Inertsil ODS-3 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 3 μm); 流动相: 5 mmol/L 甲酸铵 (甲酸调 pH 值至 4.2) (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~8 min, 8% B; 8~20 min, 8%→22% B; 20~25 min, 22% B; 25~45 min, 22%→70% B; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 μL; 体积流量: 0.7 mL/min; CAD 雾化

器温度为 35 °C, 气压为 61.0 psi (1 psi=6 895 Pa), 采集频率为 10 Hz。

2.3 专属性试验

取混合对照品溶液、小柴胡片供试品溶液 (批号 210912) 和各阴性样品溶液, 分别进样测定, 记录各色谱图, 见图 1。结果供试品色谱图中琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸与相邻色谱峰的分度度均大于 1.5, 理论塔板数均大于 8 000, 拖尾因子在 0.80~1.20, 阴性样品对各成分的测定均无干扰。

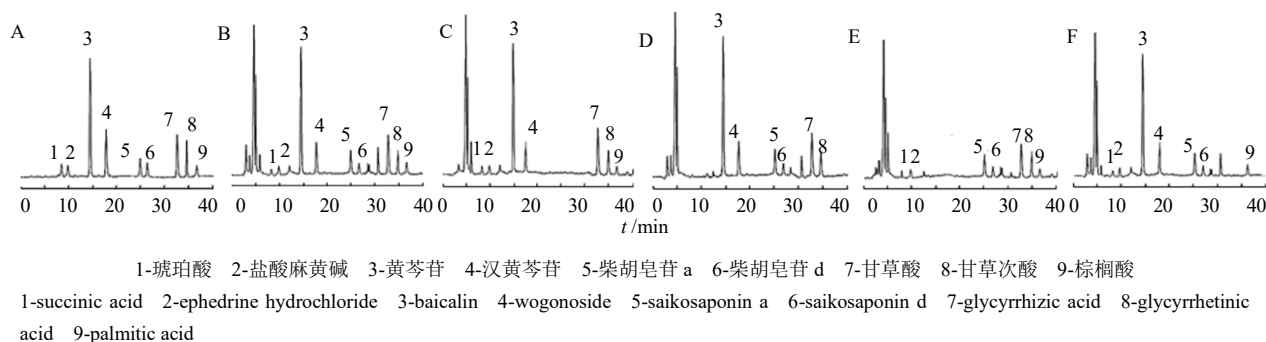


图 1 混合对照品 (A)、小柴胡片 (B)、缺柴胡阴性样品 (C)、缺姜半夏阴性样品 (D)、缺黄芩阴性样品 (E) 和缺甘草阴性样品 (F) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Xiaochaihu Tablets (B), negative sample without *Bupleuri Radix* (C), negative sample without *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine* (D), negative sample without *Scutellariae Radix* (E) and negative sample without *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* (F)

2.4 检测限和定量限

取混合对照品溶液, 逐级稀释至琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的质量浓度分别为 0.38、0.47、0.41、0.41、0.45、0.49、0.46、0.36、0.38 μg/mL 时, 各色谱峰的信噪比均在 8~12, 以此作为定量限; 至琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸及棕榈酸的质量浓度分别为 0.13、0.16、0.14、0.14、0.15、0.16、0.15、0.12、0.13 μg/mL 时, 各色谱峰的信噪比均在 3~5, 以此作为检测限。

2.5 线性关系考察

精密量取混合对照品母液 1.0 mL, 置于 5、10、25、50、100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。取各线性溶液进样测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 计算并绘制

标准曲线, 结果见表 1。

2.6 精密度试验

取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的峰面积, 结果其 RSD 值分别为 1.23%、1.65%、1.24%、0.69%、1.28%、1.54%、1.09%、0.88%、0.75%。

2.7 重复性试验

取小柴胡片样品 (批号 210912) 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸及棕榈酸的峰面积, 计算得各成分平均质量分数分别为 1.011、1.987、19.940、5.974、4.002、2.019、5.988、3.990、2.010 mg/g, RSD 值分别为 1.35%、1.57%、1.02%、1.29%、2.07%、1.23%、0.93%、1.15%、0.88%。

表 1 各成分的线性方程、相关系数和线性范围

Table 1 Regression equations, correlation coefficients, and linear range of components

成分	线性方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
琥珀酸	$Y=1.199 X-0.101$	0.999 7	0.94~18.74
盐酸麻黄碱	$Y=0.947 X-0.172$	0.998 5	1.23~24.66
黄芩苷	$Y=1.134 X+3.578$	0.998 5	8.90~178.06
汉黄芩苷	$Y=1.150 X+0.907$	0.998 6	3.51~70.20
柴胡皂苷 a	$Y=1.118 X+0.462$	0.998 8	1.52~30.36
柴胡皂苷 d	$Y=1.074 X+0.472$	0.999 7	1.25~25.02
甘草酸	$Y=1.091 X+1.382$	0.998 9	3.48~69.54
甘草次酸	$Y=1.261 X-0.379$	0.999 3	2.50~50.04
棕榈酸	$Y=1.038 X+0.323$	0.998 9	1.23~24.56

2.8 稳定性试验

取小柴胡片(批号 210912)供试品溶液,分别于制备后室温下放置 0、2、4、12、24、48 h 后进样测定,结果琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸峰面积的 RSD 值分别为 1.43%、0.95%、0.87%、1.21%、1.35%、1.31%、1.15%、0.93%、1.03%,表明供试品溶液在室温下 48 h 内稳定。

2.9 回收率试验

取小柴胡片样品(批号 210912,琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的质量分数分别为 1.011、1.987、19.940、5.974、4.002、2.019、5.988、3.990、2.010 mg/g) 6 份,每份取 0.25 g,分别加入 0.231 2 mg/mL 琥珀酸、0.451 2 mg/mL 盐酸麻黄碱、4.875 0 mg/mL 黄芩苷、1.542 0 mg/mL 汉黄芩苷、

0.975 3 mg/mL 柴胡皂苷 a、0.469 7 mg/mL 柴胡皂苷 d、1.335 0 mg/mL 甘草酸、1.127 7 mg/mL 甘草次酸、0.480 2 mg/mL 棕榈酸对照品溶液各 1 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的平均回收率分别为 97.05%、97.82%、97.85%、96.46%、98.53%、97.58%、97.05%、97.65%、97.03%,RSD 值分别为 1.46%、2.16%、0.83%、1.00%、1.74%、1.49%、0.75%、1.68%、1.46%。

2.10 样品测定

取各批次的小柴胡片样品,每批平行制备两份供试品溶液,进样测定,记录琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸、棕榈酸的峰面积,按标准曲线法分别计算质量分数,结果见表 2。

表 2 小柴胡片中琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸的测定结果 ($n=2$)Table 2 Determination of succinic acid, ephedrine hydrochloride, baicalin, wogonoside, saikosaponin a, saikosaponin d, glycyrrhizic acid, glycyrrhetinic acid, and palmitic acid in Xiaochaihu Tablets ($n=2$)

批号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)								
	琥珀酸	盐酸麻黄碱	黄芩苷	汉黄芩苷	柴胡皂苷 a	柴胡皂苷 d	甘草酸	甘草次酸	棕榈酸
210912	1.023	1.975	19.954	5.971	4.011	2.007	5.973	3.976	2.004
211205	1.134	2.204	24.332	6.579	4.239	2.347	6.351	4.337	1.735
220213	0.863	1.566	23.241	5.288	3.462	1.764	5.205	3.621	1.651
220216	1.102	1.789	24.484	5.974	3.021	1.523	5.384	3.790	2.095
20210312	0.788	1.655	19.353	5.371	3.846	1.769	5.194	3.485	1.882
20210605	0.973	2.103	22.337	4.837	3.113	1.577	5.902	3.342	1.742
20211013	0.819	1.736	25.779	5.203	3.367	1.872	4.875	3.297	1.597

结果显示琥珀酸等 9 种成分为不同批次小柴胡片中的共有成分,各批样品中的黄芩苷均符合《中国药典》2020 年版一部标准(不少于 2 mg/片)^[1]。为进一步验证 HPLC-CAD 法的准确性,本实验采用《中国药典》2020 年版一部小柴胡片项下测定项下方法^[1]对批号 210912、211205、220213 样品中黄芩苷进行测定,结果其质量分数在 20~25 mg/g,与本实验建立的 HPLC-CAD 法检测结果基本一致。柴胡皂苷类成分在加热条件下氧醚环结构会发生开环降解^[7-8],可能导致柴胡皂苷 a、d 质量分数下降,提示本品不宜在高温条件下长时间放置。

3 讨论

3.1 检测器的选择

本实验涉及的 9 种目标成分结构差异较大,其紫外最大吸收波长各不相同,采用传统的紫外检测器难以设定可兼顾各成分灵敏度的检测波长,单波长或双波长切换法均难以实现同时测定,而 CAD 检测器的响应不依赖于共轭结构紫外吸收,其仅与进样质量相关,针对不同物质具有良好的响应一致性,且灵敏度高,基线平稳无干扰,故本实验选择 CAD 检测器进行研究。

3.2 色谱条件的选择

本实验首先对比考察乙腈-水、甲醇-水、乙腈-5 mmol/L 甲酸铵、甲醇-5 mmol/L 甲酸铵 4 种流动相体系,以及 GL Sciences Inertsil ODS-3、Waters XBridge C₁₈、Agilent Eclipse XBD-C₁₈、Thermo Hypersil C₁₈ 等主流通用型色谱柱,结果显示乙腈-5 mmol/L 甲酸铵流动相体系结合 GL Sciences Inertsil ODS-3 色谱柱条件下各成分的分离情况最佳,但多数色谱峰形拖尾,故在此基础上将流动相水相加入适量甲酸调节至适宜 pH 值,并将体积流量降低至 0.7 mL/min,结合适当的梯度优化,可实现琥珀酸等 9 种成分的基线分离,且峰形良好,基线平稳。

3.3 供试品溶液提取方法的选择

本实验首先以 50% 甲醇作为提取溶剂,提取时间为 1 h,考察加热回流、超声提取、索式提取 3 种

提取方式,发现索式提取效率最高。然后以索式提取 1 h 的方式分别考察 30% 甲醇、50% 甲醇、甲醇 3 种溶剂,发现甲醇的提取效率最低,且琥珀酸、黄芩苷峰形分别出现拖尾、前沿现象,是因为溶剂甲醇与流动相的初始比例 8% 乙腈的极性相差过大而引起溶剂效应导致;30% 甲醇与 50% 甲醇的提取效率相当,但 30% 甲醇溶液的微孔滤膜滤过较困难,应该是其含有较多的鞣质、多糖等成分而溶液黏度较大导致,可操作性差。最后以 50% 甲醇分别索式提取 0.5、1、1.5、2 h,发现 1.5 h 即可提取完全,故选择提取方式为 50% 甲醇索式提取 1.5 h。

本实验建立了 HPLC-CAD 法同时测定小柴胡片中琥珀酸、盐酸麻黄碱、黄芩苷、汉黄芩苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、甘草酸、甘草次酸和棕榈酸 9 种成分,实现处方中 4 种组方中药中主要活性成分的全覆盖,方法简便、准确,为小柴胡片的质量标准提升研究提供有效的技术手段。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 602-603, 293, 602-605.
- [2] 刘傲雪,徐彤彤,颜昱,等. 一测多评法测定小柴胡颗粒中 7 种成分 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(11): 2217-2221.
- [3] 张慧,闫磊,林龙飞,等. HPLC 法测定小柴胡颗粒中 7 种指标成分 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(2): 162-165.
- [4] 谭珍,黄婉锋,张柳. SPE-HPLC 法测定小柴胡片中柴胡皂苷 a 的含量 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(5): 511-512.
- [5] 朱颖虹,张清民,莫木荣. 小柴胡片黄芩苷含量测定 [J]. 中成药, 2002, 24(6): 477-479.
- [6] 沈志滨,江尉新,陶曙红. 小柴胡泡腾片质量标准的研究 [J]. 广东药学院学报, 2005, 21(3): 247-248.
- [7] 侯会平,赵士博,于康平,等. 北柴胡不同产地、不同采收期和不同炮制品中 6 种柴胡皂苷的含量测定 [J]. 药学报, 2018, 53(11): 1887-1893.
- [8] 张倩. 柴胡皂苷结构转化及柴胡皂苷 b₂ 毒性初步研究 [D]. 洛阳: 河南科技大学, 2014.

[责任编辑 解学星]