

Plackett-Burnman 设计联合 Box-Behnken 设计-效应面法优化心神宁片的提取工艺

宋佳^{1,2}, 黄飞龙², 段树卿², 侯超², 李云霞^{2*}

1. 承德医学院, 河北 承德 067000

2. 颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000

摘要: 目的 优选心神宁片的最优提取工艺条件。方法 以干膏率及栀子苷、斯皮诺素的转移率为评价指标, 以 Plackett-Burnman 设计联合 Box-Behnken 设计-效应面法对心神宁片的提取工艺进行考察, 确定最优提取工艺参数。结果 最优提取工艺为 7.5 倍量 70%乙醇, 回流提取 3 次, 每次 1.5 h。结论 优选的醇提工艺经中试验证合理可行, 可以用于工业大生产。

关键词: 心神宁片; 提取工艺; Plackett-Burnman 设计; Box-Behnken 设计; 效应面法; 干膏率; 栀子苷; 斯皮诺素

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)03-0430-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.03.013

Optimization of extraction process for Xinshenning Tablets by Plackett-Burnman, Box-Behnken, and response surface methodology

SONG Jia^{1,2}, HUANG Fei-long², DUAN Shu-qing², HOU Chao², LI Yun-xia²

1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China

2. Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengde 067000, China

Abstract: Objective To optimize the extraction process for Xinshenning Tablets. **Methods** The extracting condition was optimized by Plackett-Burnman, Box-Behnken, and response surface methodology with the extraction rate, geniposide, and spinosin as indexes. **Results** The optimal extracting condition was extracting 3 times with 7.5 fold 70% alcohol, 1.5 h for each time. **Conclusion** The optimized process condition is simple and feasible. It can be used in the production.

Key words: Xinshenning Tablets; extraction process; Plackett-Burnman design; Box-Behnken design; response surface methodology; extraction rate; geniposide; spinosin

心神宁片由炒酸枣仁、远志、茯苓、栀子、神曲、甘草等 6 味中药组成, 是地标升国标品种, 标准编号 WS-10410 (ZD-0410) 2002-2012Z, 具有养血除烦、宁心安神的功效, 用于心肝血虚、失眠多梦、烦躁而惊、疲倦食少等症^[1]。多年以来, 心神宁片以其确切的疗效和明显的治疗特点赢得广大消费者的认可。本实验对提取过程中多种影响因素进行全面考察, 用综合指标对工艺进行评价, 对工艺参数进一步完善和优化。采用 Plackett-Burnman 设计 (PBD)^[2-3]联合 Box-Behnken 设计 (BBD) -效应面法^[4-7]对心神宁片的提取工艺进行多因素系统考察, 用出膏率、栀子苷和斯皮诺素的转移率作为

考察指标进行评价, 采用总评归一值对多指标进行数据处理, 经效应面法对最佳工艺进行预测分析。

1 仪器与材料

Agilent1100 高效液相色谱仪, Agilent1260 高效液相色谱仪, 紫外检测器; 色谱柱 Inertsil ODS-3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 色谱柱 Perkin Elmer C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); ZDHW 调温电热套, 北京中兴伟业仪器有限公司; AE 240 十万分之一电子分析天平, 瑞士梅特勒-托利多公司; 202-3-BS 电热恒温干燥箱, 上海跃进医疗器械有限公司; KQ-500DE 医用数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; F071026 提取机组, 中国武汉制药机械有限责任公

收稿日期: 2015-08-20

作者简介: 宋佳 (1989—), 女, 2013 级硕士在读, 研究方向为中药制剂工艺及质量标准。Tel: 18232272932 E-mail: 1160984017@qq.com

*通信作者 李云霞, 女, 正高级工程师, 工程硕士, 硕士生导师, 主要研究方向为中药生产工艺技术及质量管理、质量标准研究。

Tel: (0314)2292066 E-mail: cdjfk_lyx@163.com

司; R2002 旋转蒸发仪, 上海申生科技有限公司; RE-5286A 旋转蒸发仪, 上海雅荣生化仪器有限公司; DLB-3 多功能制粒包衣机, 重庆广厦干燥设备工程公司; ZPS016 旋转式压片机, 中外合资上海天祥健台制药机械公司。

栀子苷对照品(批号 110749-201316, 质量分数 97.5%) 和斯皮诺素对照品(批号 111869-201203, 质量分数 95.4%) 购自中国食品药品检定研究院; 酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子, 栀子为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实, 茯苓为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 远志为远志科远志属植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根, 甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎, 六神曲为由颈复康药业集团有限公司提供, 所有药材均经颈复康药业集团有限公司工程师、中药鉴别师商春丽鉴定为正品。乙腈为色谱纯, 美国 Fisher 公司; 甲醇、乙醇、冰乙酸为分析纯, 天津佳兴化工玻璃仪器工贸有限公司; 水为三级反渗透法制得纯化水。心神宁片(颈复康药业集团有限公司; 批号 530011、530012、530013、392170 030、492009 029、492016、492043; 规格: 每片质量 0.25 g), 阴性样品及阴性样品制备所用原料均由颈复康药业集团有限公司提供, 由颈复康药业集团有限公司工程师、中药鉴别师商春丽鉴定均为真品。

2 方法与结果

2.1 栀子苷的定量测定方法^[8]

2.1.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-水(12:88)为流动相; 检测波长 238 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 10 μ L。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品适量, 加甲醇适量, 制成含栀子苷 0.08 mg/mL 对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取心神宁片数片, 去除包衣, 研细, 称取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声 30 min, 放冷, 称定质量, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.2 斯皮诺素的定量测定^[9]

2.2.1 色谱条件 采用 Perkin Elmer C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); A(乙腈)-B(0.1%冰

乙酸)为流动相, 在线梯度洗脱: 0~15 min, 10%~17%乙腈; 15~25 min, 17%~23%乙腈; 15~30 min, 23%~35%乙腈; 30~33 min, 35%~10%乙腈; 33~37 min, 10%乙腈; 检测波长 335 nm; 柱温 25 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 10 μ L。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取斯皮诺素对照品适量, 加甲醇适量, 制成含斯皮诺素 13.356 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取心神宁片数片, 去除包衣, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇 25 mL, 称定质量, 超声 10 min, 放冷, 称定质量, 用 70%甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密称取对照品适量, 加甲醇制成含斯皮诺素 53.424 μ g/mL 的对照品母液, 作为 1 号溶液, 采用倍比稀释法制成系列质量浓度溶液, 得到 2~5 号对照品溶液, 斯皮诺素的质量浓度分别为 26.712、13.356、6.678、3.339 μ g/mL。按照色谱条件进行 HPLC 分析。以斯皮诺素的峰面积(Y)对斯皮诺素的质量浓度(X)绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=20\ 043 X+4.470\ 8$, $r=0.999\ 9$, 结果表明斯皮诺素在 3.339~53.424 μ g/mL 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 取质量浓度为 13.356 μ g/mL 的对照品溶液, 重复进样 6 次, 记录每次的色谱峰面积, 计算 RSD 值, 结果为斯皮诺素峰面积 RSD 值为 0.75%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 精密称取同一批号心神宁片(批号 492043), 按“2.2.3”项方法制备供试品溶液 6 份, 按色谱条件测定, 记录色谱峰面积, 结果为斯皮诺素的平均量为 162.3 μ g/片, RSD 为 1.46%。表明该样品处理方法重现性好。

2.2.7 稳定性试验 取按照“2.2.3”项方法制备的供试品溶液, 分别在制备后 0、2、4、6、8、10、12 h 进样 10 μ L, 记录色谱峰面积, 结果为斯皮诺素色谱峰面积 RSD 值为 1.46%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已测定斯皮诺素(153.0 μ g/片)的心神宁片(批号 492043) 9 份, 精密称定 0.25 g, 加入一定量对照品(样品中斯皮诺素量的 50%、100%、150%), 按照“2.2.3”项方法制备供试品溶液, 进行测定, 以供试品溶液中绝对质量分数计算加样回收率, 结果斯皮诺素平均回收率为 100.91%, RSD 值为 1.36%。

2.3 心神宁片的提取工艺

酸枣仁(炒) 250 g、栀子 83 g、远志 167 g、茯苓 167 g、甘草 83 g、六神曲 83 g (1 000 片的组方比例), 以上 6 味药材, 甘草、六神曲按比例粉碎成细粉, 过筛混匀; 酸枣仁(炒)、栀子、远志、茯苓 4 味药材按比例加溶剂进行提取, 滤液浓缩至相对密度为 1.28~1.33 (25 °C) 的清膏, 加入细粉及辅料, 按照喷雾干燥制粒机标准操作规程 (standard operation procedure, SOP) 进行喷雾制粒, 干燥, 压片。PBD、BBD 和验证实验中的每组实验均按照心神宁片处方 500 片的量采用调温电热套进行提取, 旋转蒸发仪进行浓缩; 中试放大实验中的每组实验均按照心神宁片处方 2 万片的量采用提取机组 F071026 进行提取、浓缩。

2.4 PBD 筛选主要影响因素

2.4.1 因素及水平 运用 Design expert 8.0.6 软件

进行 PBD 试验, 考察各个因素对干膏率、栀子苷和斯皮诺素转移率影响的显著性。由于实际大生产中, 酸枣仁、栀子等已为粉碎投料, 在此暂时不予考虑药材粒度对提取工艺的影响。根据实际大生产经验, 实验设计 6 个因素: 浸泡时间 (A)、提取次数 (以总提取时间计, B)、单次提取时间 (C)、沸腾程度 (D)、提取溶剂 (乙醇体积分数, E)、加溶剂量 (F) 和 6 个空白因素 (G、H、I、J、K、L), 共 12 组实验。根据预试验结果确定每个因素高 (代码: 1)、低 (代码: -1) 2 个水平。PBD 试验因素和水平见表 1。

2.4.2 PBD 试验结果

按照 PBD 试验设计进行实验, 每组实验平行 3 次, 结果取平均值, 见表 1。运用 Design expert 8.0.6 软件对各个因素进行显著性分析, 见表 2, 结果显示, 响应值 $P < 0.05$ 的为显著性影响因素。

表 1 PBD 试验设计及结果

Table 1 Design and results of PBD test

试验号	A/h	B/次 (B/h)	C/h	沸腾程度	E/%	F/倍	干膏率/%	栀子苷转移率/%	斯皮诺素转移率/%
1	24 (1)	3 (10.5) (1)	3.5 (1)	轻微 (-1)	0 (-1)	6 (-1)	18.19	70.02	80.42
2	0 (-1)	1 (1.5) (-1)	1.5 (-1)	剧烈 (1)	70 (1)	6	10.32	62.42	72.36
3	0	1 (1.5)	1.5	轻微	0	6	9.56	42.46	55.39
4	0	3 (4.5)	1.5	剧烈	0	12 (1)	23.13	71.30	89.00
5	24	1 (1.5)	1.5	轻微	0	12	13.18	59.75	68.27
6	0	3 (10.5)	3.5	剧烈	0	6	23.37	63.13	81.67
7	24	1 (3.5)	3.5	剧烈	0	12	16.68	50.69	62.13
8	0	1 (3.5)	3.5	轻微	70	12	12.83	61.78	75.08
9	24	3 (10.5)	1.5	剧烈	70	12	17.64	73.96	86.19
10	24	3 (4.5)	1.5	轻微	70	6	14.64	72.00	79.32
11	24	1 (3.5)	3.5	剧烈	70	6	10.22	60.67	71.23
12	0	3 (10.5)	3.5	轻微	70	12	16.42	80.60	83.60

表 2 PBD 试验结果分析

Table 2 Result analysis on PBD test

因素	P 值		
	干膏率	栀子苷	斯皮诺素
A	0.390 5	0.799 8	0.654 7
B	0.000 7	0.005 7	0.005 0
C	0.148 1	0.814 3	0.864 7
D	0.028 1	0.834 7	0.354 0
E	0.009 6	0.043 9	0.184 4
F	0.053 7	0.233 1	0.287 7
模型	0.004 4	0.047 4	0.056 7

从分析结果来看, 各影响因素对干膏率的影响顺序为提取次数 (以总提取时间计) > 提取溶剂 (醇水比) > 沸腾程度 > 加溶剂量 > 单次提取时间 > 浸泡时间; 各影响因素对栀子苷的影响顺序为提取次数 (以总提取时间计) > 提取溶剂 (醇水比) > 加溶剂量 > 浸泡时间 > 单次提取时间 > 沸腾程度; 各影响因素对斯皮诺素的影响顺序为提取次数 (以总提取时间计) > 提取溶剂 > 加溶剂量 > 沸腾程度 > 浸泡时间 > 单次提取时间。取各影响因素交集综合单指标分析, 提取次数 (以总提取时间计)、提取溶剂 (乙醇体积分数)、加溶剂量为显著性因素, 浸泡

时间、单次提取时间、沸腾程度为非显著性因素，
 以此为依据进行 BBD 试验。

2.5 BBD-效应面法优化提取工艺

2.5.1 BBD 试验因素、水平和结果 由于提取次数
 为非连续变量，所以提取次数这个因素变量以总提
 取时间计，转化为连续变量，提取 1 次即总提取时
 间为 1.5 h，提取 2 次及总提取时间为 3 h，提取 3

次即总提取时间为 4.5 h。在浸泡时间固定为 0 h，
 单次提取时间固定为 1.5 h，沸腾程度取剧烈沸腾状
 态下，设定提取次数 (X_1 ，以总提取时间计)、提取
 溶剂 (乙醇体积分数, X_2)、加溶剂量 (X_3) 为因素
 变量，干膏率 (Y_1)、栀子苷转移率 (Y_2)、斯皮诺
 素转移率 (Y_3) 为评价指标，运用 BBD 试验优选最
 佳提取工艺参数，试验因素水平及结果见表 3。

表 3 BBD 试验设计与结果

Table 3 Design and results of BBD test

试验号	X_1 /次 (X_1 /h)	X_2 /%	X_3 /倍	Y_1 /%	Y_2 /%	Y_3 /%	OD 值
1	3 (4.5)	0.00	9.00	22.02	67.86	70.71	0.124 3
2	2 (3.0)	0.00	12.00	22.08	72.06	75.93	0
3	2 (3.0)	0.00	6.00	17.86	50.56	64.02	0
4	2 (3.0)	35.00	9.00	18.75	82.64	74.68	0.612 2
5	1 (1.5)	0.00	9.00	14.33	57.04	55.23	0.326 6
6	3 (4.5)	35.00	12.00	21.84	73.10	74.13	0.225 1
7	2 (3.0)	35.00	9.00	16.89	77.39	71.99	0.647 2
8	2 (3.0)	70.00	12.00	15.76	82.56	73.37	0.745 7
9	2 (3.0)	35.00	9.00	16.16	72.46	71.35	0.626 8
10	2 (3.0)	35.00	9.00	18.75	68.30	71.99	0.486 3
11	2 (3.0)	70.00	6.00	14.91	76.93	71.17	0.709 0
12	1 (1.5)	35.00	12.00	13.75	65.04	60.57	0.509 0
13	1 (1.5)	35.00	6.00	10.02	52.01	45.95	0
14	3 (4.5)	35.00	6.00	17.19	75.97	68.24	0.591 6
15	2 (3.0)	35.00	9.00	17.81	72.20	67.99	0.534 0
16	3 (4.5)	70.00	9.00	17.39	87.55	72.70	0.702 7
17	1 (1.5)	70.00	9.00	10.84	73.07	56.21	0.579 0

2.5.2 模型拟合及数据处理 多指标的数据处理一
 般采用总评“归一值”法。对取值越小越好的指标
 和取值越大越好的指标，分别采用 Hassan 方法，求
 “归一值”(OD)值。对取值越小越好的指标 $d_i =$
 $(y_{\max} - y_i)/(y_{\max} - y_{\min})$ ，对取值越大越好的指标 $d_i =$

$(y_i - y_{\min})/(y_{\max} - y_{\min})$ ， $OD = (d_1 d_2 d_3 \cdots d_n)^{1/n}$ ， $i = 1,$
 $2, 3, \dots, n$; n 为指标数。将所得数据用 Design-Expert
 8.0.0 软件进行实验分析，以 OD 为响应值分别对各
 因素进行多元线性回归和二项式拟合，经 F 值检验，
 总评 OD 值方差分析结果见表 4。

表 4 BBD 试验结果方差分析

Table 4 Variance analysis on results of BBD test

来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值
模型	1.05	9	0.120	9.37	0.003 7	BC	3.367×10^{-4}	1	3.367×10^{-4}	0.027	0.874 2
A	5.61×10^{-4}	1	6.561×10^{-4}	0.53	0.491 9	A ²	0.034	1	0.034	2.75	0.141 5
B	0.65	1	0.650	52.33	0.000 2	B ²	0.014	1	0.014	1.13	0.322 4
C	4.014×10^{-3}	1	4.014×10^{-3}	0.32	0.588 3	C ²	0.110	1	0.110	8.60	0.021 9
AB	0.027	1	0.027	2.13	0.187 9	失拟项					0.079 0
AC	0.19	1	0.190	15.36	0.005 8						

模型显著 ($P < 0.01$), 失拟项不显著 ($P > 0.05$), $r^2 = 0.94$, 结果表明该回归模型拟合情况良好, 回归方程的代表性较好, 能准确预测实际情况。回归方程如下: $OD = 0.58 + 0.029 X_1 + 0.29 X_2 + 0.022 X_3 + 0.008 1 X_1 X_2 - 0.22 X_1 X_3 - 9.175 \times 10^{-3} X_2 X_3 - 0.090 X_1^2 - 0.058 X_2^2 - 0.16 X_3^2$ 。

2.5.3 效应面分析及 BBD 试验模型预测 根据回归分析结果, 应用 Design-Expert 8.0.6 软件, 固定 3 个变量中的某个变量, 绘制另外 2 个变量对总评 OD

值影响的三维曲面和等高线图。见图 1。

从图 1 可以看出, 总提取时间和提取溶剂对响应值的交互作用较为不显著; 总提取时间和加溶剂量对响应值具有一定的交互作用; 提取溶剂和加溶剂量对响应值的交互作用显著。经 Design Expert 8.0.6 软件分析筛选, 得到心神宁片提取工艺参数最优值为提取次数为 3 次 (总提取时间为 4.5 h), 提取溶剂为 70%乙醇, 加溶剂量为 7.5 倍, 预测值 $Y_1 = 16.05\%$, $Y_2 = 83.23\%$, $Y_3 = 73.59\%$ 。

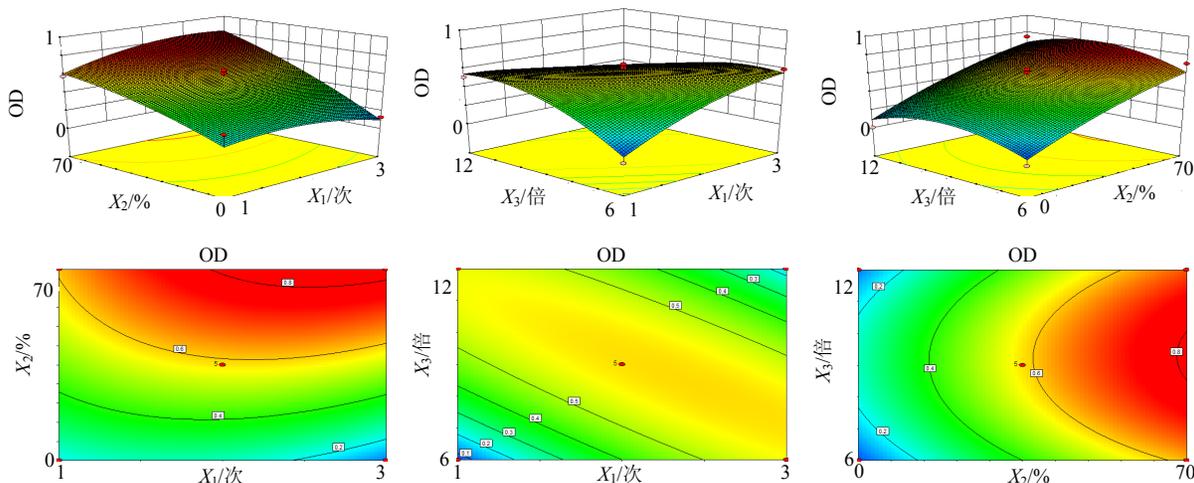


图 1 OD 与 X_1 、 X_2 、 X_3 3 因素的三维效应面图和等高线图

Fig. 1 Response surface plot and contour plot of OD and X_1 , X_2 , and X_3 factors

2.6 工艺验证试验及对比研究

通过验证试验模型的准确性, 综合考虑实际情况, 以提取次数为 3 次 (总提取时间为 4.5 h), 提取溶剂为 70%乙醇, 加溶剂量为 7.5 倍, 以优化后的提取工艺参数, 按心神宁片组方 500 片的比例进行 3 次平行试验, 测定干膏率和栀子苷、斯皮诺素的转移率。结果见表 5。

将本次优选工艺进行放大, 按照心神宁片组方 2 万片的比例制备, 所制备的中试产品 (颈复康药业集团有限公司: 批号 530011、530012、530013、

392170 030、492009 029、492016), 结果见表 6。优选后的工艺, 栀子苷和斯皮诺素的转移率皆有所提高 (在中药中, 目标成分的量一般只有下限, 没有上限, 除了一些毒性成分有规定外)。

综上所述, 本实验所建立的数学模型具有较好

表 6 不同工艺实验结果比较

Table 6 Comparison on different extracting methods

试验号	转移率/%	
	栀子苷	斯皮诺素
1 (优化后工艺)	64.73	55.05
2 (优化后工艺)	76.23	63.72
3 (优化后工艺)	69.90	61.98
530011 批	37.80	41.19
530012 批	37.51	44.40
530013 批	37.70	45.86
392170 030 批	46.01	48.79
492009 029 批	49.89	55.57
492016 批	42.27	48.76
492043 批	36.25	46.71

表 5 工艺验证实验结果

Table 5 Results of process validation experiments

试验号	干膏率/%	转移率/%	
		栀子苷	斯皮诺素
1	16.79	81.75	73.30
2	16.93	83.87	71.51
3	16.45	83.78	74.62
实测平均值	16.72	83.13	73.14
预测值	16.05	83.23	73.59

的预测性, BBD-效应面法分析所得的最佳提取工艺参数可信度较高。

3 讨论

心神宁片的生产过程中部分工艺参数(如提取溶剂等)需要进一步探讨, 本实验用综合指标对工艺进行评价, 对工艺参数也进行细化与优化, 探讨完善生产工艺的可行性, 并对今后的工艺研究与提高提供新的思路和方法。本实验考虑到单因素实验和正交设计试验次数较多, 工作量大且费时费力, 所以引用全新设计。PBD是一种有效的二水平实验设计法, 可以在试验次数较少的情况下, 快速找到显著性影响因素。BBD-效应面法是国外常用的试验分析方法, 采用非线性模型拟合, 准确性高, 实验精度优于一般的线性模型设计, 试验预测值能更好的考察参数合理性和试验设计的准确性, 结果直观便于分析^[7]。本实验通过了中试放大验证, 结果表明所得参数可以用于大生产中, 同时也说明 PBD 联合 BBD-效应面法是一种好用的值得推广的实验设计方法。

本实验在中试放大提取过程中, 由于实际大生产中某些中药材为粉碎后投料, 易堵塞过滤网, 使打液变得困难, 建议如栀子、酸枣仁等药材都装袋进行提取, 但考虑到溶胀问题, 实验过程中就装袋影响进行了单因素实验分析, 考察了装袋与否和目标成分量的关系, 结果显示, 装袋后其量有所下降, 故建议实际大生产过程中, 将部分药材放到尽可能大的袋子中, 从而模仿不装袋的效果, 同时使其量不受影响。

心神宁片组方中药材含有大量的皂苷类成分, 易造成溢锅现象, 优化后的工艺将水提改为 70%乙醇提取, 目标成分的量有所提高, 且溶剂的改变使得溢锅现象有所改善。

参考文献

- [1] WS-10410(ZD-0410)-2002-2012Z. 国家药品标准 [S]. 2012.
- [2] 陈伟良, 武振峰, 王雅琪, 等. 丹参药材中丹酚酸 B 的减压提取工艺优化研究 [A] // “好医生杯” 中药制剂创新与发展论坛论文集 [C]. 成都: 中华中医药学会制剂分会, 世界中医药学会联合会中药药剂专业委员会, 2013.
- [3] 杨冀艳, 胡磊, 许杨. Plackett-Burman 设计和响应面法优化荷叶总黄酮的提取工艺 [J]. 食品科学, 2009, 30(6): 29-33.
- [4] 伍振峰, 陈伟良, 王雅琪, 等. 丹参减压提取工艺优化及技术适宜性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(6): 795-800.
- [5] 叶陈丽, 贺帅, 康迎波, 等. Box-Behnken 效应面法金翘热毒清复方中绿原酸和连翘酯苷 A 的提取工艺 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(7): 543-549.
- [6] 刘霞, 胡兰贵, 冯玛莉, 等. 不用辅料膏方的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 820-824.
- [7] 苏拓彤, 刘英, 徐佳丽, 等. 应用 Box-Behnken 设计优化地榆皂苷的闪式提取工艺研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 501-504.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [9] 宋佳, 段树卿, 黄飞龙, 等. 心神宁片中酸枣仁成分的质量控制研究 [J]. 中国当代医药, 2015, 22(33): 12-16.