

蒙药漏芦花总黄酮提取和纯化工艺研究

李红, 杨晓歌, 李霄* (北京工业大学, 北京 100124)

摘要 [目的] 优化漏芦花总黄酮提取工艺和纯化工艺, 为漏芦花抗炎药效部位的开发奠定基础。[方法] 以总黄酮为指标, 采用 UV 测定方法, 在检测波长 413 nm 下, 测定总黄酮含量, 确定纯化漏芦花总黄酮纯化大孔树脂型号; 并采用正交试验分别考察乙醇浓度、回流次数、回流时间和乙醇用量对漏芦花总黄酮提取工艺的影响及乙醇体积分数、上样液质量浓度、pH 和上样液流速对总黄酮纯化工艺的影响。[结果] 确定漏芦花总黄酮提取工艺的最优方案为采用 75% 乙醇溶液, 回流 2 次, 每次回流时间 45 min, 乙醇用量 12 倍, 影响因素的顺序从大到小依次为乙醇浓度、回流时间、乙醇用量、回流次数。纯化工艺试验中, 最优纯化工艺条件为上样液浓度 0.05 g/mL, 上样液 pH 为 5, 上样液流速为 3 mL/min, 径高比为 1:9, 最佳上样量为药材量与树脂用量比 2:1, 乙醇体积分数 50%, 洗脱液用量 5 BV; 纯化后干膏里漏芦花抗炎有效部位总黄酮含量为 42.3%。[结论] AB-8 型大孔树脂可有效富集、纯化漏芦花总黄酮, 优选的提取和纯化工艺稳定可行。

关键词 漏芦花; 提取; 纯化; 大孔树脂; 总黄酮

中图分类号 S567; R284.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)01-0124-04

Extraction and Purification Process of Total Flavonoids from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC.

LI Hong, YANG Xiao-ge, LI Xiao* (Beijing University of Technology, Beijing 100124)

Abstract [Objective] To optimize extraction and purification process of total flavonoids from *Rhaponticum uniflorum*, to lay a foundation for development of anti-inflammatory parts of *Rhaponticum uniflorum*. [Method] UV was employed to determine the content of total flavonoids with detection wavelength at 413 nm; using orthogonal design to investigate effects of ethanol concentration, reflux times, reflux time and alcohol dosage on extraction of total flavonoids from *Rhaponticum uniflorum*, as well as effects of ethanol volume fraction, mass concentration of sample solution, pH and sample liquid flow rate on purification of total flavonoids. [Result] As for extraction process, the optimum scheme was: 12 times extraction solvent dosage, 75% ethanol reflux, extraction for 2 times, each time for 45 minutes. The order of influencing factors was ethanol concentration, reflux time, ethanol dosage and reflux times. As for purification process, optimum technological conditions were as follows: ratio of diameter-height 1:9, sample solution concentration of 0.05 g/mL, sample solution flow rate of 3 mL/min, pH 5.0, with 5 BV of 75% ethanol as eluent; total flavonoids was 42.3% in anti-inflammatory parts of *Rhaponticum uniflorum* after purification. [Conclusion] Total flavonoids from *Rhaponticum*'s dried flowers could be effectively purified and enriched by AB-8 macroporous resin.

Key words *Rhaponticum uniflorum*; Extraction; Purification; Macroporous resin; Total flavonoids

漏芦花为菊科植物祁州漏芦 (*Rhaponticum uniflorum* (L.) DC.) 的干燥花, 蒙药名字是洪古日朱勒, 具有杀“粘”、止刺痛、清热解暑、解表等功能, 一般用于肠刺痛、瘟热发症、结喉麻疹、毒热心热等^[1-2]。漏芦花在蒙医临床中有较长的使用历史^[3], 研究表明, 漏芦花中含有黄酮、挥发油、植物甾醇、萜类等多种活性成分^[4-9], 其中黄酮类具有明显的抗炎作用^[10]和耐缺氧作用^[11]。该试验以总黄酮含量为评价指标, 优化漏芦花总黄酮的提取工艺参数和纯化工艺参数, 以期漏芦花抗炎有效部位的利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器 UV-2550 紫外分光光度仪 (日本岛津公司); Millipore MilliQ 超纯水制备仪 (LABCONCO 公司); METTLER AG 285 型电子天平 (1/10 万, 瑞士梅特勒公司); KD-300DE 型数控超声波清洗器 (昆山市仪器有限公司); SHB-III 型循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); R1002-VN 型旋转蒸发器 (郑州长城科工贸有限公司); SHSL 调温电热套 (上海树立仪器仪表有限公司); 容量瓶; 树脂柱; D4020、AB-8、X-5、S-8、NKA-9、H103 等型号大孔吸附树脂均购自南开大学化工厂。

1.2 试剂 槲皮素 (自制); 祁州漏芦花 (河北康派中药材有限公司, 批号 101106)。无水乙醇 (北京化工厂, 分析纯); 三

氯化铝 (北京化工厂, 分析纯); 无水醋酸钠 (国药集团化学试剂有限公司, 分析纯); 醋酸 (北京化工厂, 分析纯); 其他试剂为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 漏芦花总黄酮提取工艺优化。

1.3.1.1 对照品溶液的制备。精密称取槲皮素 12 mg, 60% 乙醇溶解并定容于 100 mL 容量瓶, 得 0.120 mg/mL 对照品溶液。

1.3.1.2 供试品溶液的制备。精密称取 2 g 漏芦花粉, 加入 75% 乙醇溶液 80 mL 于圆底烧瓶中, 称重, 回流 40 min, 冷却至室温, 再称重, 75% 乙醇补足重量, 混匀, 过滤, 吸取续滤液 2 mL 于 25 mL 容量瓶中, 定容。

1.3.1.3 显色方法与检测波长的选择。总黄酮类成分含量测定的显色方法主要有 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 显色法、 $\text{AlCl}_3 - \text{NaAc}$ 法和三乙胺法。分别参考文献[12-14]进行漏芦花总黄酮含量测定, 并进行比较。

1.3.1.4 标准曲线的绘制。精密吸取对照品溶液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中, 分别加入 1.5% 氯化铝溶液 8 mL 和 pH 5.4 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液 4 mL, 摇匀后加入 60% 乙醇溶液定容至刻度, 摇匀, 在常温下静置 40 min, 于 413 nm 处测定其吸光度值。以吸光度 A 为纵坐标、槲皮素浓度 C ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标绘制标准曲线。

1.3.1.5 精密度试验。精密吸取 0.12 mg/mL 对照品溶液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中, 按照“1.3.1.4”操作, 测定吸光度,

作者简介 李红 (1989—), 男, 河北武安人, 硕士研究生, 研究方向: 中药化学成分与分析。* 通讯作者, 副研究员, 博士, 硕士生导师, 从事中药及天然产物活性成分、质量控制研究。

收稿日期 2016-11-23

重复试验 6 次。记录吸光度和 RSD。

1.3.1.6 稳定性试验。精密吸取漏芦花供试品溶液 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中,按照“1.3.1.4”操作,分别于 0、1、2、4、6、18、24 h 测定样品中总黄酮含量并记录数据,计算 RSD。

1.3.1.7 重复性试验。精密称取同一批次的漏芦花粉末,共 6 份,每份 2 g,按照“1.3.1.2”制备供试品溶液,按照“1.3.1.4”操作,测定吸光度和 RSD。

1.3.1.8 加样回收率。精密称取已知含量的漏芦花样品 2 g,共 6 份,分别加入含槲皮素标品 11.44 mg 的标准溶液后,按照“1.3.1.2”制备供试品溶液,然后按照“1.3.1.4”方法测定吸光度,重复平行试验 6 次。计算回收率和 RSD。

1.3.1.9 提取工艺正交试验。根据漏芦花中黄酮类化合物的理化性质,并结合实际生产需要,采用 $L_9(3^4)$ 不重复正交试验,确定考察提取因素为乙醇浓度、回流次数、回流时间、乙醇用量(倍量)。正交因素水平表见表 1。取蒙药漏芦花粉末 18 份(分为 9 组,每组 2 份),每份 5 g,精密称定,按表 1 进行试验。回流后滤液减压回收至 100 mL,分别吸取 1 mL 于 25 mL 容量瓶中,按照“1.3.1.4”方法测定吸光度,计算总黄酮含量。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平
Table 1 Factors and levels list of $L_9(3^4)$

水平 Level	A(乙醇浓度) Ethanol concentration %	B(回流次数) Reflux times	C(回流时间) Reflux time min	D(乙醇用量) Ethanol dose//倍
1	60	2	30	10
2	75	3	45	12
3	90	4	60	14

1.3.2 漏芦花总黄酮纯化工艺。

1.3.2.1 样品溶液的制备。称取漏芦花粉末 200 g,按照优化的漏芦花有效部位提取工艺,收集并合并滤液,得漏芦花药液(总黄酮含量为 4624.10 $\mu\text{g/mL}$)。

1.3.2.2 树脂的筛选。

(1)静态吸附性能比较。根据漏芦花总黄酮的理化性质和树脂吸附性能,选择 D4020、H103、NKA-9、S-8、X-5 和 AB-8 型大孔树脂进行静态吸附试验。取 5 种预处理好的树脂各 5 g,分别置于 50 mL 具塞磨口锥形瓶中,各加入按提取最优工艺提取的漏芦花药液(1 g/mL)10 mL,于室温下搅拌放置 8 h 至吸附平衡,过滤,按氯化铝法测定滤液中总黄酮含量,计算吸附率。

(2)静态洗脱性能比较。将上述试验过程中已吸附漏芦花总黄酮的树脂过滤晾干,分别置于 50 mL 具塞磨口锥形瓶中,加入 70% 乙醇 30 mL,于室温下搅拌洗脱 8 h,过滤,按氯化铝法测定滤液中总黄酮含量,计算洗脱率。

1.3.2.3 泄漏曲线的绘制。取 AB-8 型大孔树脂约 10 g,装入 15 mm $\times$ 200 mm 的树脂柱中,另取漏芦花样品溶液适量,加水稀释为 0.2 g/mL,上树脂柱,上样流速为 1.0 mL/min。每份 10 mL,共收集 14 份,取适量溶液,按照

“1.3.1.4”操作,测定吸光度,换算出相应的总黄酮含量。以漏芦花黄酮泄漏量(μg)为纵坐标、上样液体积为横坐标绘制泄露曲线。

1.3.2.4 洗脱剂浓度试验。取 AB-8 型大孔树脂 10 g,分别装入 4 根 15 mm $\times$ 200 mm 相同规格的树脂柱,按 1:9 径高比装柱,另取漏芦花总黄酮提取液 20 mL(按药材量与树脂用量比 2:1),加水稀释为 0.2 g/mL,上树脂柱,上样流速为 1.0 mL/min,待上样液流完后即吸附完成后,用 3 倍量去离子水除杂后,分别用 30%、50%、70%、90% 的乙醇溶液洗脱至洗脱液无色,洗脱流速为 1.0 mL/min,收集洗脱液,减压浓缩后,定容至 100 mL,过 0.45 μm 微孔滤膜,取过滤后的液体 2 mL,按照“1.3.1.4”方法测定吸光度。

1.3.2.5 漏芦花总黄酮纯化正交试验。对上样浓度(g/mL)、上样 pH、上样液流速(mL/min)、径高比进行 $L_9(3^4)$ 不重复正交试验。正交因素水平表见表 2。取漏芦花总黄酮药液(1 g/mL)20 mL,分别稀释至 0.05、0.10、0.20 g/mL。取 AB-8 型大孔树脂,装于试验用的 9 根树脂柱中,按表 2 进行试验,用 3 倍量去离子水除杂,然后用 50% 乙醇洗脱至近无色,收集洗脱液,减压浓缩至 250 mL。取 0.4 mL 洗脱液按照“1.3.1.4”方法测定吸光度,计算其总黄酮含量。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平
Table 2 Factors and levels list of $L^9(3_4)$

水平 Level	A(上样液浓度) Sample liquid concentration g/mL	B(上样液 pH) Sample liquid pH	C(上样液流速) Sample liquid flow rate mL/min	D(径高比) Ratio of diameter- height
1	0.05	3	1	1:3
2	0.10	4	3	1:6
3	0.20	5	5	1:9

1.3.2.6 洗脱剂用量。取漏芦花总黄酮药液(1 g/mL)20 mL,按上述所确定的纯化工艺操作,用 50% 乙醇洗脱液,每 50 mL(1 BV)收集 1 份,共收集 9 份,减压干燥,分别测得每 1 BV 总黄酮量占充分洗脱后总黄酮量(充分洗脱后的总黄酮量为 4015.38 $\mu\text{g/g}$)的百分比。

2 结果与分析

2.1 漏芦花总黄酮提取工艺优化

2.1.1 显色方法与检测波长的选择。测定方法的选择上,该试验分别比较了 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 法、 $\text{AlCl}_3 - \text{NaAc}$ 法和三乙胺法,结果表明 $\text{AlCl}_3 - \text{NaAc}$ 法测定漏芦花总黄酮效果最好。加入 $\text{NaAc} - \text{HAc}$ 缓冲液后,槲皮素最大吸收波长由 360 nm 移至 410 nm,漏芦花供试品由 340 nm 移至 413 nm。故选择 413 nm 作为试验测定波长。

2.1.2 标准曲线的绘制。按照“1.3.1.4”方法绘制标准曲线,得出回归方程为 $Y = 0.064X - 0.147(r = 0.9992)$,表明槲皮素对照品在 4.8 ~ 14.4 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.1.3 精密度试验。按照“1.3.1.5”操作,得到精密度的 RSD 为 1.7%,表明该方法的精密度良好。

2.1.4 稳定性试验。按照“1.3.1.6”操作,计算得 RSD 为 1.7%,表明该方法在 24 h 内的稳定性良好。

2.1.5 重复性试验。按照“1.3.1.7”操作,测得 RSD 为 1.4%,表明该方法的重复性良好。

2.1.6 加样回收率。由表 3 可见,槲皮素的平均加样回收率为 98.4%,RSD 为 1.2%,表明该方法回收率良好,方法可行。

表 3 总黄酮回收率试验
Table 3 Recovery test results of total flavonoids

序号 Serial No.	样品中总黄酮量 Total flavonoids in samples//mg	加入槲皮素量 Quercetin content mg	测得量 Measured quantity mg	回收率 Recovery rate %	平均回收率 Average recovery rate//%	RSD %
1	11.62	11.44	22.77	97.5	98.4	1.2
2	11.55	11.44	22.61	96.7		
3	11.60	11.44	23.05	100.0		
4	11.58	11.44	22.77	98.0		
5	11.50	11.44	22.80	99.0		
6	11.54	11.44	22.88	99.1		

2.1.7 提取工艺正交试验。经方差分析可知,仅乙醇浓度对提取结果具有显著性影响, $F=6.66>F_{0.05}(2,2)=4.26$, $P<0.05$ 。由表 4 可知,各因素对漏芦花中总黄酮提取量的影响从大到小依次为 A、C、D、B,最佳提取方案为 $A_3B_3C_1D_1$,即 90% 乙醇溶液,回流 4 次,每次回流时间 30 min,乙醇用量 10 倍。考虑到实际生产中对成本和时间的要求,结合极差分析结果,确定提取的最优方案为 $A_2B_1C_2D_2$,即 75% 乙醇溶液,回流 2 次,每次回流时间 45 min,乙醇用量 12 倍。

表 4 $L_9(3^4)$ 总黄酮提取工艺正交试验结果
Table 4 Orthogonal experimental results of total flavonoids in extraction process

试验号 Test No.	A	B	C	D	黄酮提取量 Extraction of flavonoids// $\mu\text{g/g}$
1	1	1	1	1	4 190.35
2	1	2	2	2	4 221.22
3	1	3	3	3	3 846.95
4	2	1	2	3	4 252.09
5	2	2	3	1	4 313.82
6	2	3	1	2	4 576.21
7	3	1	3	2	4 228.94
8	3	2	1	3	4 402.57
9	3	3	2	1	4 529.91
k_1	4 086.17	4 223.79	4 389.71	4 344.70	
k_2	4 380.71	4 312.54	4 334.40	4 342.12	
k_3	4 387.14	4 317.69	4 129.90	4 167.20	
R	300.97	93.90	259.81	177.49	

2.1.8 提取工艺验证试验。精密称取漏芦花样品 20 g,共 3 份,按优选的工艺条件进行提取,浓缩溶剂,定容至 1 000 mL,分别精密吸取 1 mL 浓缩液于 25 mL 容量瓶中,按照“1.3.1.4”操作,测定吸光度,计算总黄酮含量分别为 4 782.31、4 641.25、4 603.42 $\mu\text{g/g}$ (以生药量计),RSD 平均为 1.2%,将浓缩液减压蒸干,测得干膏中总黄酮含量分别为 7.8%、8.0%、7.9%。表明该提取工艺重复性良好。

2.2 漏芦花总黄酮纯化工艺研究

2.2.1 树脂的筛选。综合吸附率与洗脱率(表 5)考虑,确定 AB-8 型大孔树脂纯化漏芦花总黄酮。

表 5 树脂的筛选结果
Table 5 Selection of resins

树脂类型 Resin types	吸附率 Adsorption rate	洗脱率 Elution rate
D4020	56.00	46.60
H103	82.30	50.00
NKA-9	52.30	81.70
S-8	83.60	45.30
X-5	48.80	39.70
AB-8	84.50	80.80

2.2.2 泄漏曲线的绘制。以漏芦花黄酮泄漏量(μg)为纵坐标、上样液体积为横坐标绘制泄露曲线。由图 1 可知,漏芦花黄酮类化合物提取液的上样体积为 100 mL 时,总黄酮开始泄漏。

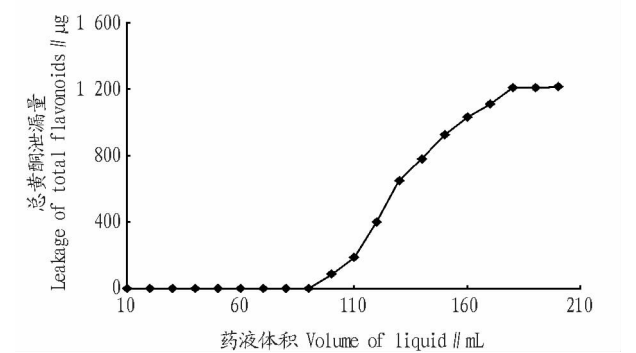


图 1 漏芦花总黄酮在 AB-8 型大孔树脂的泄露曲线
Fig.1 Leak curve of AB-8 macroporous resin for total flavonoids from Rhaponticum uniflorum

2.2.3 洗脱剂浓度的确定。从表 6 可看出,最终确定乙醇洗脱液浓度为 50%。

2.2.4 漏芦花总黄酮纯化正交试验。经方差分析可知,仅径高比对纯化结果具有显著性影响, $F=14.80>F_{0.05}(2,2)=4.26$, $P<0.05$ 。由表 7 可知,各因素对漏芦花中总黄酮提取量的影响从大到小依次为 D、A、C、B,纯化的最优方案为 $A_1B_3C_1D_3$,即上样液浓度 0.05 g/mL,上样液 pH 为 5,上样液流速为 1 mL/min,径高比为 1:9。考虑到实际生产中对时间的要求,且上样液流速对试验结果无显著性影响,故最终确定纯化的最优方案为 $A_1B_3C_2D_3$,即上样液浓度 0.05 g/mL,上样液 pH 为 5,上样液流速为 3 mL/min,径高比为 1:9。

表 6 洗脱剂浓度考察

Table 6 Investigation on different elution agent concentrations		
洗脱剂乙醇浓度 Ethanol concentration %	黄酮洗脱量 Elution amount of flavonoids//μg	黄酮洗脱率 Elution rate of flavonoids//%
30	8 578.78	68.30
50	10 672.03	87.80
70	10 189.71	82.90
90	10 093.25	78.50

表 7 L₉(3⁴)漏芦花总黄酮纯化工艺正交试验结果

Table 7 Orthogonal experimental results of total flavonoids in purification process					
试验号 Test No.	A	B	C	D	黄酮提取量 Extraction of flavonoids//μg/g
1	1	1	1	1	3 571.55
2	1	2	2	2	3 241.16
3	1	3	3	3	4 258.84
4	2	1	2	3	4 109.33
5	2	2	3	1	3 243.57
6	2	3	1	2	3 711.42
7	3	1	3	2	2 763.67
8	3	2	1	3	3 844.05
9	3	3	2	1	3 183.28
k ₁	3 690.51	3 481.51	3 709.00	3 332.80	
k ₂	3 688.10	3 442.93	3 511.26	3 238.75	
k ₃	3 263.67	3 717.85	3 422.03	4 070.74	
R	426.85	274.92	286.98	831.99	

2.2.5 洗脱剂用量。按照“1.3.2.6”操作,分别测得每 1 BV 总黄酮量占充分洗脱后的总黄酮量百分比分别为 58.3%、18.7%、4.1%、1.5%、1.0%、0.9%、0.9%、0.8%、0.7%,故当 50% 乙醇洗脱 5 BV 时,可将总黄酮洗脱完全。

2.2.6 纯化工艺验证试验。取漏芦花总黄酮药液(1 g/mL) 20 mL,共 3 份,按优选的工艺条件进行纯化,收集洗脱液,定容至 250 mL,分别精密吸取 1 mL 浓缩液于 25 mL 容量瓶中,按照“1.3.1.4”漏芦花总黄酮含量,计算总黄酮含量分别为 4 103.45、3 934.22、4 024.57 μg/g, RSD 平均为 2.2%,将浓缩液减压蒸干,测得干膏量,计算总黄酮含量,结果干膏中总黄酮含量分别为 41.0%、43.6%、42.4%, RSD 平均为 3.1%。表明漏芦花总黄酮经 AB-8 型大孔树脂纯化后,较纯化前提高了 5 倍,且重复性较好。

3 讨论与结论

测定方法的选择上,该试验分别比较了 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 法、AlCl₃-NaAc 法和三乙胺法,结果发现,第 1 种方法测定结果偏高,而加入三乙胺处理后标品峰并未发生红移或蓝移。池玉梅等^[13]研究表明,NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 法并不是黄酮类化合物的专属反应,因为

凡具有邻苯二羟基的物质,均能用此法进行显色测量;相反,AlCl₃ 法测定时,黄酮类物质反应强烈,而对酚酸类、原花色素的反应很小,因而对黄酮类化合物的专属性较强。故该试验采用 AlCl₃-NaAc 法。

提取方法预试验中,采用了超声提取法、回流法和冷浸法,提取的总黄酮分别为 5 522.3、5 901.5 和 4 003.8 μg/g,故该试验中使用回流法。

考虑到工业生产中对洗脱剂的毒性要求和生产成本,该研究选择乙醇作为洗脱剂。

上样液浓度考察中发现,样品液浓度越高,洗脱过程中流速变缓和柱床堵塞的情况越严重,可能是浓度过高导致物质析出,沉淀中也含有较多的黄酮类物质,故采取直接过滤的方法会造成总黄酮的损失。该试验采取先稀释后过滤的方法,柱床堵塞明显改善,且沉淀中黄酮类物质含量显著减少。

正交试验表明,各因素对漏芦花总黄酮提取量的影响从大到小依次为乙醇浓度、回流时间、乙醇用量、回流次数,确定提取的最优方案为 75% 乙醇溶液,回流 2 次,每次回流时间 45 min,乙醇用量 12 倍。应用 AB-8 型大孔吸附树脂对漏芦花总黄酮进行富集,通过正交试验等确定其最佳纯化工艺为:上样液浓度 0.05 g/mL,上样液 pH 为 5,上样液流速为 3 mL/min,径高比为 1:9。该研究为漏芦花提取纯化工艺提供了依据,也为漏芦花抗炎有效部位的开发奠定基础。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:蒙药分册[S]. 北京:人民卫生出版社,1998.

[2] 内蒙古自治区卫生厅. 内蒙古蒙药材标准[S]. 呼和浩特:内蒙古科学技术出版社,1987:511.

[3] 朱培忠,蒋素容. 漏芦花泡麻油治疗烧、烫伤[J]. 四川中医,1985(8):47.

[4] 武雪琴. 蒙药漏芦花的研究及在蒙医临床中的应用[J]. 中国民族医药杂志,2015(8):46-47.

[5] 张学武,李天洙,孙权. 漏芦提取物抗炎、镇痛、耐缺氧及抗疲劳作用的研究[J]. 四川中医,2005,23(7):22,23.

[6] 孙浩宇,虞玮. 蒙药漏芦花化学成分分析及活性成分筛选实验[J]. 中国民族医药杂志,2003(S1):29-31.

[7] 萨楚拉图. 蒙药漏芦花黄酮类化合物的提取分离与结构表征[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2009.

[8] 刘明生,李铎. 祁州漏芦化学成分研究[J]. 时珍国医国药,1998,9(4):329.

[9] 王晓静,丁杏苞,吴克霞,等. 祁州漏芦茎叶化学成分的研究[J]. 中草药,2001,32(7):590.

[10] 包小妹,刘乐乐,罗素琴,等. 蒙药漏芦花的化学成分研究[J]. 中华中医药杂志,2012(7):1914-1915.

[11] 程捷恺,张永红,张自义,等. 祁州漏芦中蜕皮甾酮类化学成分的研究[J]. 高等学校化学学报,2002,23(11):2084-2088.

[12] 赵继明. 枸杞子不同提取物中总黄酮含量比较[J]. 现代中西医结合杂志,2012,21(6):647-648.

[13] 池玉梅,居聆,邓海山,等. 分光光度测定总黄酮法的适用性[J]. 分析化学,2010,38(6):893-896.

[14] 刘计权,谢树莲,蔡瑾,等. UV 和 HPLC 测定草间荆总黄酮及山柰素含量[J]. 山西大学学报(自然科学版),2011,34(3):480-484.