

不同产地木豆叶中 5 种黄酮类成分含量的比较及聚类分析

黎映琼, 蔡庆群, 苏志强, 陈标妹 (广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405)

摘要 [目的]建立木豆叶中 5 种黄酮类成分含量的测定方法,比较不同产地木豆叶中 5 种黄酮类成分的含量并对其进行聚类分析。[方法]采用 HPLC-DAD 建立木豆叶中 5 种黄酮类成分(荜草苷、牡荆苷、木犀草素、染料木素、球松素)的含量测定方法,色谱柱为 Agilent Zobax Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min,检测波长 330 nm,柱温为 30 ℃;通过 IBM SPSS 22.0 对不同产地木豆叶进行聚类分析。[结果]5 种对照品在相应浓度范围内与峰面积均呈现良好的线性关系;回收率均在 90%~110%;不同产地木豆叶中 5 种黄酮类成分含量差异较大,基于 5 种黄酮类成分含量对不同产地的木豆叶聚类结果表明,木豆叶可分为 2 组,其中一组 5 种黄酮总量基本都大于 0.5%,另一组则基本小于 0.5%,但是并无明显产地聚类特性。[结论]该研究建立的木豆叶 5 种黄酮类物质含量测定方法准确、可靠,可用于木豆叶中 5 种黄酮类成分的含量测定;根据聚类分析表明,不同产地木豆叶质量参差不齐,可以优选黄酮含量高的品种进行选育,从而保证药材来源的质量稳定性以及用药安全性。

关键词 木豆叶;不同产地;黄酮;聚类分析

中图分类号 R 284 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)20-0203-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.20.054



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Comparison and Cluster Analysis of Five Flavonoids in *Cajanus cajan* Leaves from Different Producing Areas

LI Ying-qiong, CAI Qing-qun, SU Zhi-qiang et al (The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405)

Abstract [Objective] To establish a method for determining the content of five flavonoids in *Cajanus cajan* leaves and comparing the content of five flavonoids in *Cajanus cajan* leaves from different regions and perform cluster analysis. [Method] An HPLC method was developed for the determination of five flavones (Humulusside, vitexin, luteolin, genistein, pinostrobin) in the *Cajanus cajan* leaves. The chromatographic column was Agilent Zobax Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); gradient elution using methanol (A)-0.1% formic acid aqueous solution (B) as the mobile phase; flow rate was set at 1.0 mL/min; detection wavelength was set 330 nm; column temperature was set at 30 ℃; the content of five flavonoids of *Cajanus cajan* leaves from different areas were detected using the above methods; cluster analysis of *Cajanus cajan* leaves of different origins by IBM SPSS 22.0 was conducted. [Result] The five reference products showed a good linear relationship with the peak area in the corresponding concentration range; the recovery rates were between 90% and 110%; the content of the five flavonoids in the leaves of *Cajanus cajan* leaves from different places varied widely. The clustering results based on the content of five flavonoids showed that *Cajanus cajan* leaves from different places can be divided into two groups. The total amount of flavonoids in one group is basically greater than 0.5%, and the other group is basically less than 0.5%, but there is no obvious clustering characteristics of origin. [Conclusion] The method for determining the content of five flavonoids in *Cajanus cajan* leaves is accurate and reliable. It can be used to determine the content of five flavonoids in *Cajanus cajan* leaves. According to the cluster analysis, the quality of *Cajanus cajan* leaves varies from place to place, and varieties with high flavonoid content can be selected for breeding, so as to ensure the quality stability of the medicinal materials and the safety of the medication.

Key words *Cajanus cajan* leaves; Different producing areas; Flavones; Cluster analysis

木豆叶,又名柳豆叶,为豆科植物木豆 [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] 的干燥叶。木豆为豆科木豆属落叶灌木^[1-2],主要分布于长江以南的海南、云南、广西、贵州、广东以及福建、湖南、四川、江西、浙江、台湾等省区^[3],它既是重要的木本粮食作物,也是一种重要的药用植物,为广东、广西、海南地区习用中药,具有活血化瘀、消肿止痛、补肾健骨、祛腐生肌之功效。现代研究表明,木豆叶具有抗炎^[4]、降脂^[5]、抗骨质疏松^[6]、抗股骨头坏死^[7-8]等作用。

木豆叶主要活性成分为黄酮类化合物,包括荜草苷、牡荆苷、芒柄花苷、染料木素、木犀草素、球松素等^[2,9]。然而目前关于其黄酮类的研究主要在于药理以及总黄酮提取工艺方面^[10-11],黄酮类含量测定主要集中在对其牡荆苷单一成分定量研究^[12-13],少见多种成分同时测定的文献报道。采用单一指标性成分含量进行中药材质量控制存在一定缺陷,因此,笔者采用 HPLC 同时测定木豆叶中 5 种黄酮类成分(荜草苷、牡荆苷、染料木素、木犀草素、球松素)的含量,并对来

自不同产地的 20 批次木豆叶进行含量及聚类分析,以期为木豆叶的质量控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试材。不同产地木豆叶采集信息见表 1。各木豆叶样品经实验室通过 ITS 通用引物序列鉴定为豆科植物木豆。

1.1.2 试剂。对照品染料木素(批号 B21039,含量 98%)、木犀草素(批号 B20888,含量 98%),购自上海源叶生物科技有限公司;球松素(批号 BD8743,含量 95%)、荜草苷(批号 306855,含量 95%),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;牡荆苷(批号 137309,含量 98%),购自百灵威科技有限公司。

1.1.3 仪器。LC-20A 型高效液相色谱仪,检测器为 Prominence SPD-M20A PDA 检测器(日本岛津);Heal Force Smart 超纯水系统(香港力康生物医疗科技控股集团);MS105 型 1/100 000 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 供试品的制备。将木豆叶样品充分干燥粉碎后,精密称取 0.5 g,置 50 mL 锥形瓶中,精密加入 25 mL 甲醇,密塞,

作者简介 黎映琼(1986—),女,广东广州人,主管中药师,从事用药指导与监护工作。

收稿日期 2020-03-19

称定,超声 30 min,放冷,补重,过滤,滤液经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

表 1 不同产地木豆叶信息

Table 1 *Cajanus cajan* leaves from different producing areas

产地 Place of origin	采收日期 Date of harvest	编号 No.
广东从化 Conghua, Guangdong	2019-06-02	GD-1
广东茂名 Maoming, Guangdong	2019-06-08	GD-2
广东广州 Guangzhou, Guangdong	2019-06-20	GD-3
广西南宁 Nanning, Guangxi	2019-05-23	GX-1
广西防城港 Fangchenggang, Guangxi	2019-05-26	GX-2
广西百色 Baise, Guangxi	2019-05-29	GX-3
广西玉林 Yulin, Guangxi	2019-06-02	GX-4
广西桂林 Guilin, Guangxi	2019-05-20	GX-5
云南文山 Wenshan, Yunnan	2019-06-05	YN-1
云南文山 Wenshan, Yunnan	2019-06-08	YN-2
云南文山 Wenshan, Yunnan	2019-06-08	YN-3
云南盈江县 Yingjiang County, Yunnan	2019-06-27	YN-4
云南盈江县 Yingjiang County, Yunnan	2019-06-27	YN-5
云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan	2019-06-09	YN-6
云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan	2019-06-10	YN-7
四川乐山 Leshan, Sichuan	2019-07-03	SX-1
四川泸州 Luzhou, Sichuan	2019-07-08	SX-2
海南尖峰镇 Jianfeng Town, Hainan	2019-06-05	HN-1
海南五指山 Wuzhishan, Hainan	2019-07-08	HN-2
海南海口 Haikou, Hainan	2019-06-09	HN-3

1.2.2 对照品的制备。精密称取 5 种黄酮类对照品适量,加入甲醇,配制含牡荆苷 0.101 5 mg/mL、荭草苷 0.384 5 mg/mL、染料木素 0.123 4 mg/mL、木犀草素 0.202 5 mg/mL、球松素 0.167 8 mg/mL 的对照品储备液。

1.2.3 HPLC 分析条件。色谱柱为 Agilent Zobax Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相。洗脱梯度:0~10 min, 10%~50% A; 10~50 min, 50%~80% A; 50~60 min, 80% A; 60~62 min, 80%~10% A; 62~72 min, 10% A。流速为 1.0 mL/min,检测波长 330 nm,柱温为 30 ℃。

1.2.4 标准曲线考察。取“1.2.2”对照品储备液进行梯度稀释后按照“1.2.3”条件进行进样分析,以进样量(μg/mL)为横坐标(X)、峰面积积分值为纵坐标(Y)绘制标准曲线,计算得 5 种黄酮成分的回归方程和线性范围。

1.2.5 方法学考察。

1.2.5.1 精密度考察。取“1.2.1”同一份供试品溶液 10 μL,根据该研究色谱条件重复进样 6 次,获得荭草苷等 5 种黄酮类成分峰面积值,计算得 5 种成分峰面积 RSD 值。

1.2.5.2 稳定性考察。精密吸取“1.2.1”同一份供试品溶液 10 μL,分别于 0、2、4、8、12、16、24 h 进样,测定不同时间条件下各成分的峰面积并计算 RSD 值。

1.2.5.3 重复性考察。精密称取同一批次木豆叶样品 6 份,按照“1.2.1”供试品制备方法制备样品,分别进样 10 μL,计算 5 种黄酮类成分含量的 RSD 值。

1.2.5.4 加样回收率考察。精密称取已知含量的木豆叶样

品 6 份,每份各 0.5 g,按照供试品中黄酮-黄酮对照品含量 1:1 的比例添加 5 种对照品,按“1.2.1”制备供试品,按“1.2.3”色谱条件分别进样,计算回收率和 RSD。

1.2.6 不同产地木豆叶样品含量测定。不同产地木豆叶经充分干燥制备供试品后,按照“1.2.3”色谱条件进样分析并计算含量。

1.2.7 聚类分析。通过 IBM SPSS 22.0 基于 5 种黄酮含量对不同产地木豆叶进行聚类分析。以 5 种黄酮含量为变量,采用 SPSS 对数据进行标准化处理,以平方欧氏距离为测度进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 木豆叶 5 种异黄酮类成分 HPLC 图谱 按“1.2.3”条件操作,木豆叶 5 种黄酮类成分分离度好,均大于 1.5,且阴性无干扰,专属性强(图 1)。

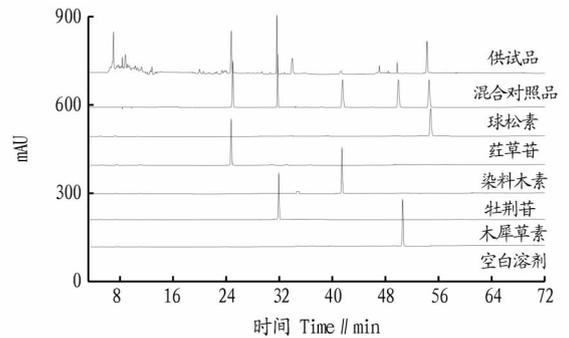


图 1 木豆叶 5 种异黄酮类成分 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC graph of five flavones in *Cajanus cajan* leaves

2.2 标准曲线 按“1.2.4”操作,结果见表 2。由表 2 可知,5 种成分进样量与峰面积之间有良好的线性关系,标准曲线 r 均大于 0.999。

表 2 5 种黄酮类成分的线性关系

Table 2 Linear relationship of 5 flavonoids

成分 Ingredients	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range//μg/mL	r
荭草苷 Genistein	$Y=9.76 \times 10^4 X + 1.05 \times 10^3$	15.920 0~95.550 0	0.999 0
球松素 Pinostrobin	$Y=8.58 \times 10^4 X + 1.22 \times 10^4$	8.128 0~48.768 0	0.999 7
染料木素 Luteolin	$Y=9.12 \times 10^4 X + 1.48 \times 10^3$	2.631 3~32.891 2	0.999 7
牡荆苷 Vitexin	$Y=9.48 \times 10^4 X + 1.66 \times 10^3$	13.987 5~139.874 8	0.999 8
木犀草素 Fisetin	$Y=7.99 \times 10^4 X + 1.44 \times 10^4$	4.122 5~41.255 0	1.000 0

2.3 方法学考察结果

2.3.1 精密度。按“1.2.5.1”操作,计算得 5 种成分峰面积的 RSD 值分别为 0.33%、0.25%、1.86%、1.28%、1.45%,均小于 2.00%,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性。按“1.2.5.2”操作,计算得 5 种成分峰面积的 RSD 值分别为 1.34%、1.49%、0.99%、0.78%、0.98%,均小于 2.00%,表明供试品溶液稳定性较好。

2.3.3 重复性。按“1.2.5.3”操作,计算得 6 份样品中 5 种黄酮类成分含量分别 0.142%、0.160%、0.002%、0.015%、

0.158%, RSD 值分别为 0.22%、1.58%、1.22%、3.04%、2.11%, 均小于 3.00%, 表明该方法重复性较好。

2.3.4 加样回收率。按“1.2.5.4”操作, 计算得木豆叶中 5 种黄酮类成分的平均加样回收率分别为 100.01%、98.45%、98.34%、95.14%、103.45%, RSD 值分别为 1.49%、1.35%、2.18%、2.33%、1.45%, 加样回收率在 95%~105%, RSD 均小于 3%, 说明方法准确度高。

表 3 不同产地木豆叶中 5 种黄酮类成分含量比较 ($n=2$)

Table 3 Comparison of contents of 5 flavonoids in *Cajanus cajan* leaves from different producing areas

编号 No.	荜草苷 Humulusside		牡荆苷 Vitexin		染料木素 Genistein		木犀草素 Luteolin		球松素 Pinostrobin		总量 Total contents
	含量 Content	RSD	含量 Content	RSD	含量 Content	RSD	含量 Content	RSD	含量 Content	RSD	
GD-1	0.142	0.58	0.160	0.56	0.002	2.56	0.015	1.23	0.158	1.25	0.477
GD-2	0.190	1.16	0.214	0.54	0.004	2.45	0.011	2.77	0.160	1.21	0.580
GD-3	0.206	1.31	0.232	0.50	0.002	1.98	0.014	2.68	0.180	1.11	0.634
GX-1	0.224	1.68	0.253	0.19	ND	ND	ND	ND	0.231	0.43	0.708
GX-2	0.107	0.03	0.120	0.32	0.002	2.45	0.015	0.40	0.004	0.73	0.247
GX-3	0.112	1.73	0.126	0.26	ND	ND	0.015	1.20	0.238	0.58	0.492
GX-4	0.126	1.75	0.142	0.32	0.002	1.46	0.014	1.35	0.241	0.73	0.525
GX-5	0.206	1.61	0.232	0.72	0.002	1.58	0.000	0.30	0.222	1.60	0.663
YN-1	0.190	1.61	0.214	0.74	ND	ND	0.015	2.52	0.222	1.66	0.642
YN-2	0.224	1.75	0.253	0.75	ND	ND	0.010	2.04	0.241	1.68	0.728
YN-3	0.138	1.16	0.155	1.26	ND	ND	0.005	2.89	0.160	1.62	0.458
YN-4	0.126	0.56	0.142	1.57	ND	ND	0.004	2.34	0.078	1.49	0.350
YN-5	0.048	0.51	0.054	0.02	ND	ND	0.002	1.47	0.071	0.57	0.175
YN-6	0.082	0.20	0.093	0.57	ND	ND	0.003	0.86	0.027	0.97	0.205
YN-7	0.065	0.34	0.074	0.98	ND	ND	0.002	0.39	0.046	0.77	0.188
SX-1	0.082	0.27	0.093	0.72	ND	ND	0.003	0.23	0.037	0.97	0.215
SX-2	0.182	0.34	0.205	0.03	ND	ND	0.006	2.29	0.046	2.14	0.439
HN-1	0.239	0.74	0.269	1.99	ND	ND	0.008	2.49	0.102	2.81	0.618
HN-2	0.189	0.97	0.213	2.83	ND	ND	0.007	0.65	0.134	2.23	0.543
HN-3	0.190	0.77	0.214	1.49	ND	ND	0.007	0.87	0.106	2.24	0.518

2.5 聚类分析 由图 2 可知, 根据黄酮含量高低可将不同产地木豆叶分为 2 组: YN-6、SC-1、YN-7、YN-5、GX-2、YN-3、YN-4、SC-2 为第 1 组, 该组木豆叶 5 种黄酮总量基本都低于 0.5%; GX-3、GX-4、GX-1、YN-2、GX-5、YN-1、HN-1、HN-2、HN-3、GD-1、GD-2、GD-3 为第 2 组, 5 种黄酮总量基本都超过 0.5%。

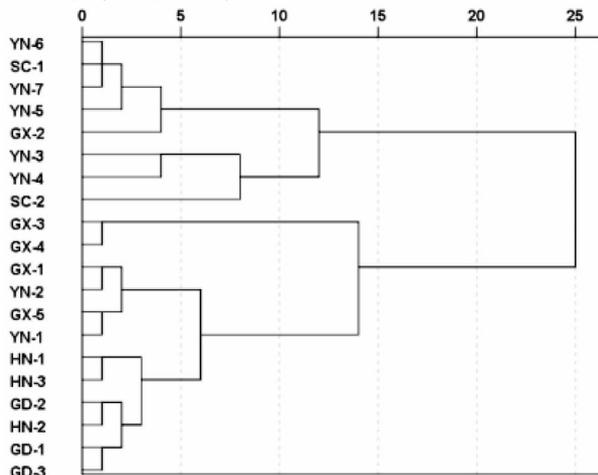


图 2 不同产地木豆叶聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of *Cajanus cajan* leaves from different producing areas

2.4 不同产地木豆叶样品的黄酮类成分含量 由表 3 可知, 不同产地木豆叶 5 种黄酮类成分含量差异较大, 荜草苷含量在 0.048%~0.239%, 牡荆苷含量在 0.054%~0.269%, 染料木素含量在 0.000%~0.004%, 木犀草素含量在 0.000%~0.015%, 球松素含量在 0.004%~0.241%, 5 种黄酮总含量在 0.175%~0.728%。

3 结论与讨论

(1) 目前总黄酮的提取方法包括加热回流法、超声提取法以及表面活性剂辅助酶法等^[14-16]。基于超声提取法的方便性, 该研究采用超声提取法开展了试验, 结果表明, 该提取方法能有效、方便地提取出木豆叶中的黄酮类成分, 杂质干扰较少。

(2) 该研究采用 DAD 检测在 190~400 nm 紫外波长下进行全波长扫描, 结果表明: 5 种成分在波长 330 nm 条件下有较强的吸收, 且基线平稳, 因此选择 330 nm 作为最终试验检测波长。

(3) 该研究根据木豆叶主要活性成分研究的相关文献^[17-18], 选择其中的 5 个黄酮类成分荜草苷、牡荆苷、球松素、染料木素以及木犀草素作为指标进行含量测定, 结果表明, 所建立的含量测定方法操作方便、专属性强、准确性高, 且能同时检测木豆叶中的 5 种成分, 可用于木豆叶黄酮类成分的含量测定及其质量控制。

(4) 将该方法应用于不同产地木豆叶黄酮类成分含量比较, 结果表明: 不同产地木豆叶的含量差异较大。为了确保药材来源的稳定性、有效性以及安全性, 后续可对黄酮类成分含量较高的木豆叶进行选育工作, 从而确保该性状的稳定遗传。

表 5 最低定量限的测定结果

Table 5 Determination result of the lowest limit of quantification

样品含量 Sample content μg/mL	实际测得量 Actual measured amount μg/mL	回收率 Recovery rate//%	平均回收率 Average recovery rate//%	变异系 数 CV %
0.5	0.41	81.0	85.0	3.6
	0.44	88.0		
	0.43	86.0		
0.2	0.13	65.0	70.0	7.1
	0.15	70.0		
	0.14	75.0		

表 6 泰乐星含量测定结果

Table 6 Determination results of tylosin

标示量 Labeling amount mg/kg	浓度 Concen- tration μg/mL	峰面积 Peak area	实测浓度 Measured concentration μg/mL	实测含量 Measured content mg/kg	平均含量 Average content mg/kg
100	20.0	1 088	19.45	97.3	98.3
100	20.0	1 100	19.66	98.3	
100	20.0	1 112	19.88	99.4	

果表明用高氯酸钠乙腈溶液组成的流动相出现 4 个峰,且每次 4 个峰的含量不一样,难以进行定量,故不宜采用。通过查阅资料和试验结果可知,泰乐菌素中 A 组分的面积占总面积的 85%以上,其他 3 个占有很小,所以在实际生产测量中,可以通过测定 A 组分含量来计算产品中泰乐菌素的含量,因此,寻找一种能有效分离泰乐菌素中 A 组分的流动相是该方法建立的关键步骤。国外报道多是用乙腈、甲醇和磷酸盐缓冲液不同比例的配比作为流动相^[12],虽然这种流动相分离不出 4 个峰,但能分离出一个最大峰进而可排除其他峰的干扰,且流动相很稳定,出峰时间快。该试验比较发现流动相 4 (乙腈、甲醇、磷酸二氢铵缓冲液 25:30:45)能很好地将泰乐菌素中 A 组分分离,能满足兽药企业对泰乐菌素日常检测的需求。

对泰乐星提取条件的优化,综合比较提取后的液相色谱

图谱、峰形、回收率和提取液的稳定性,最终选择了 10%甲醇作为样品前处理的提取液。

泰乐菌素标准溶液浓度在 0.5~50.0 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系($R^2=0.9999$)。在准确度与适应性试验中,对已知含量的泰乐星进行测定时,测定出来的结果与真实含量相差不大,具有很好的检测性。仪器重现性试验中,将泰乐菌素标准溶液重复检测 10 次,得出的峰面积 RSD 为 1.55%,对于同一浓度的标准溶液重复 10 次测出的含量相差较小,在误差允许的范围之内,表明该方法精密度良好。与《中华人民共和国兽药典》中关于对泰乐菌素含量的抗生素微生物检定法相比,该研究建立的高效液相色谱法,检测结果相对准确可靠、稳定性好、重复性好、精密度高,适用于兽药企业对泰乐菌素及其制剂质量自控。

参考文献

- [1] 田宇.泰乐菌素高产菌株的选育及其培养条件的优化[D].武汉:华中农业大学,2006;7-13.
 - [2] 曲宁.酒石酸泰乐菌素颗粒质量研究[D].济南:山东大学,2013;30-40.
 - [3] 赵东峰,任翔,朱丽.泰乐菌素及其衍生物研究进展[J].医药产业资讯,2006,3(15):46-48.
 - [4] 王德智.酒石酸泰乐菌素明胶微球制备及药理学研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2007;14-15.
 - [5] 刘恒,滕茉莉.泰乐菌素的性能、药物疗效和促生长作用简介及抗生素饲料添加剂应用现状和前景浅谈[J].饲料广角,2004(14):16-19.
 - [6] 孙志良,谭超,曹迎春,等.泰乐菌素对肉用仔鸡促生长作用研究[J].湖南畜牧兽医,2000(4):6-7.
 - [7] 陈冰.“泰乐星”牌酒石酸泰乐菌素对鸡支原体抑菌效果及增重试验[J].吉林农业科技学院学报,2005,14(4):9-10,30.
 - [8] CARLSON J C, MABURY S A. Dissipation kinetics and mobility of chlortetracycline, tylosin and monensin in an agricultural soil in Northumberland County, Ontario, Canada[J]. Environmental toxicology and chemistry, 2006, 25(1):1-10.
 - [9] 中国兽药典委员会.中华人民共和国兽药典(一部二〇一〇年版)[S].北京:中国农业出版社,2010:179-180,附录 121.
 - [10] SINGH N, TIPPA D M R. Development and validation of stability indicating HPLC method for simultaneous estimation of amoxicillin and clavulanic acid in injection[J]. American journal of analytical chemistry, 2010, 1(3):95-101.
 - [11] 何绮霞,叶瑞英.HPLC 法测定复方制剂中的酒石酸泰乐菌素[J].中国兽药杂志,2002,36(6):29-30.
 - [12] 张眉.高效液相色谱法检测饲料中泰乐菌素方法的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
- (上接第 205 页)
- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志:第 41 卷[M].北京:科学出版社,1995:301.
 - [2] 张嫩玲,蔡佳仲,胡英杰,等.木豆叶的化学成分研究[J].中药材,2017,40(5):1116-1118.
 - [3] 刘秀贤,李正红,邓疆,等.不同品种及单株木豆叶蛋白质含量的研究[J].生物质化学工程,2006,40(4):19-21.
 - [4] 禹建春,罗向华,吴昌枝,等.重用木豆叶治疗强直性脊柱炎 76 例[J].中国中医药科技,2014,21(1):20.
 - [5] 郭显容,骆庆峰,康晓敏,等.木豆叶总黄酮对高脂模型兔的降脂作用及调节机制[J].基础医学与临床,2011,31(6):661-666.
 - [6] 孙友强,刘子豪,陈雷雷,等.木豆素通过阻碍破骨细胞形成预防骨质疏松症[J].中华中医药杂志,2018,33(5):2166-2173.
 - [7] 罗文正,刘红,郑稼,等.木豆叶总黄酮对股骨头坏死大鼠的作用及机制研究[J].中国药师,2009,12(7):857-859.
 - [8] 禹建春,孙捷,霍敏.重用木豆叶治疗激素性股骨头坏死 60 例[J].中国中医药科技,2013,20(4):420.
 - [9] 刘亚旻,姜保平,沈胜楠,等.木豆叶的化学成分研究[J].中草药,2014,45(4):466-470.
 - [10] 王秋雪,顾成波,付丽楠,等.响应面优化纤维素酶辅助提取木豆叶总黄酮工艺[J].植物研究,2012,32(6):765-769.
 - [11] 郑萍艳,李爱萍,徐晓箭,等.木豆叶总黄酮超声提取工艺优化研究[J].福建农业学报,2013,28(11):1149-1153.
 - [12] 王海英,朱发伟.木豆叶中牡荆苷的含量检测[J].浙江中医杂志,2016,51(3):229-230.
 - [13] 孙琳,黄松,赖小平.HPLC 法测定不同产地及品种木豆叶中牡荆苷的含量[J].中药材,2011,34(1):31-32.
 - [14] 王婷,陈港,赵宝娥,等.正交试验设计优化黄芪总黄酮提取工艺[J].农业科技与信息,2019(22):36-39.
 - [15] 周超,何秩,鲁静,等.黄芪异黄酮对照提取物的制备及其在黄芪药材含量测定中的应用[J].药物分析杂志,2014,34(3):523-528.
 - [16] 王超,杜冰,谢蓝华,等.表面活性剂辅助酶法提取黄芪黄酮的工艺优化[J].食品工业科技,2014,35(23):227-231.
 - [17] 刘亚旻.木豆叶神经细胞保护物质基础和作用机制研究[D].北京:北京协和医学院,2015.
 - [18] 付丽楠,袁肖寒,顾成波,等.木豆叶球朊素的超声提取工艺及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2013,34(14):224-228.