

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.22.015

Box – Behnken 响应面法优化关黄柏药材中生物碱提取工艺*

冯媛¹, 郑玉光^{2,3}, 刘岩⁴, 张清清^{1,2,Δ}

(1. 河北中医学院药学院, 河北 石家庄 050200; 2. 河北省中药炮制技术创新中心, 河北 石家庄 050200; 3. 河北化工医药职业技术学院, 河北 石家庄 050200; 4. 天津天士力中药资源科技发展有限公司, 天津 300000)

摘要:目的 优选关黄柏药材中生物碱的提取工艺。方法 以关黄柏药材中 5 个生物碱总含量为评价指标, 通过单因素试验结合 Box – Behnken 响应面法, 研究甲醇体积分数、液料比和提取时间对关黄柏生物碱总含量的影响, 优选最佳提取工艺, 并进行验证。结果 最佳提取工艺为甲醇体积分数为 68%, 液料比为 62 mL/g, 提取时间为 41 min。验证试验中, 5 个生物碱总含量平均值为 3.005 mg/g, 与模型预测值的相对误差为 0.59%, 在允许的误差范围内。结论 优选的工艺操作简便、效率高、稳定可靠, 适用于关黄柏药材中生物碱类成分的提取。

关键词:关黄柏; 生物碱; 高效液相色谱法; Box – Behnken 响应面法; 提取工艺

中图分类号: R932; TQ460.6

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)22-0061-05

Optimization of Extraction Process of Alkaloids from *Phellodendri Amurensis* Cortex by Box – Behnken Response Surface Methodology

FENG Yuan¹, ZHENG Yuguang^{2,3}, LIU Yan⁴, ZHANG Qingqing^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei, China 050200; 2. Hebei Traditional Chinese Medicine Processing Technology Innovation Center, Shijiazhuang, Hebei, China 050200; 3. Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang, Hebei, China 050200; 4. Tianjin Tianshili Traditional Chinese Medicine Resources Technology Development Co., Ltd., Tianjin, China 300000)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of alkaloids from *Phellodendri Amurensis* Cortex. **Methods** Taking the total content of five alkaloids in *Phellodendri Amurensis* Cortex as the evaluation index, the effects of methanol volume fraction, liquid – material ratio and extraction time on the total content of alkaloids in *Phellodendri Amurensis* Cortex were studied by the single factor test and Box – Behnken response surface methodology, and the extraction process was optimized and verified. **Results** The optimal extraction process was as follows: the volume fraction of methanol was 68%, the liquid – material ratio was 62 mL/g, and the extraction time was 41 min. In the

*基金项目: 河北省自然科学基金[H2019423103]; 河北省中医药管理局科研计划项目[2019084]; 河北中医学院博士科研基金[BSZ2018004]; 河北中医学院优秀青年教师基础研究计划项目[YQ2018008]。

第一作者: 冯媛, 女, 满族, 硕士研究生, 研究方向为中药质量评价与控制, (电子信箱)670794139@qq.com。

Δ通信作者: 张清清, 女, 汉族, 博士, 讲师, 研究方向为中药药效物质和质量评价, (电话)0311-89926414(电子信箱)janezh1987@sina.com。

- [18] QIU YY, TANG LQ, WEI W. Berberine exerts renoprotective effects by regulating the AGEs – RAGE signaling pathway in mesangial cells during diabetic nephropathy[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2017, 44(3): 89 – 105.
- [19] YAMAGISHI SI, MATSUI T, ISHIBASHI Y, et al. Phytochemicals Against Advanced Glycation End Products (AGEs) and the Receptor System[J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(8): 1135 – 1141.
- [20] 李立. EPCs 在低剪切应力下归巢机制及作为靶向 AS 的治疗载体研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2016.
- [21] PIRILLO A, CATAPANO AL. Berberine, a plant alkaloid with lipid – and glucose – lowering properties: From *in vitro* evidence to clinical studies[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 243(2): 449 – 461.
- [22] BOHUSLAVOVA R, CERYCHOVA R, NEPOMUCKA K, et al. Renal injury is accelerated by global hypoxia – inducible factor 1 alpha deficiency in a mouse model of STZ – induced diabetes[J]. *BMC Endocr Disord*, 2017, 17(1): 48.
- [23] KALLINIKOU D, SOLDATOU A, TSENTIDIS C, et al. Diabetic neuropathy in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: Diagnosis, pathogenesis, and associated genetic markers[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(7): 3178.
- [24] ZHANG X, GUAN T, YANG B, et al. Protective effect of berberine on high glucose and hypoxia – induced apoptosis via the modulation of HIF – 1α in renal tubular epithelial cells[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(2): 669 – 682.
- [25] YANG H, SONG Y, LIANG YN, et al. Quercetin Treatment Improves Renal Function and Protects the Kidney in a Rat Model of Adenine – Induced Chronic Kidney Disease[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24(3): 4760 – 4766.
- [26] GOMES IB, PORTO ML, SANTOS MC, et al. The protective effects of oral low – dose quercetin on diabetic nephropathy in hypercholesterolemic mice[J]. *Front Physiol*, 2015, 31(6): 247.

(收稿日期: 2020 – 06 – 19; 修回日期: 2021 – 05 – 13)

validation test, the average total content of five alkaloids was 3.005 mg/g, and the relative error was 0.59% compared with the predicted value of the model, which was within the allowable error range. **Conclusion** The optimal process is simple, efficient, stable and reliable, which is suitable for the extraction of alkaloids from *Phellodendri Amurensis* Cortex.

Key words: *Phellodendri Amurensis* Cortex; alkaloids; HPLC; Box - Behnken response surface methodology; extraction process

关黄柏为芸香科植物黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的干燥树皮, 有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮功效, 主要用于治疗黄疸泻痢、肠痔、口疮、热淋涩痛、遗精、目热赤痛等病症^[1]。其活性成分主要包括生物碱、内酯、酚酸、苯丙素等^[2-3], 具有抗炎、抗菌、抗癌、抗氧化、降血糖、降血压、免疫调节等药理活性^[4-6]。关黄柏中以生物碱类成分最具代表性, 结构类型多样, 且具有较好的药理活性, 一直以来备受关注^[7]。相较于正交试验法, 响应面法试验周期更短, 求得的回归方程准确度更高, 并可研究几种因素间的交互作用^[8-12]。本研究中以小檗碱、巴马汀等5个代表性生物碱成分的总含量为指标, 基于响应面法优化关黄柏药材中生物碱的提取工艺, 为关黄柏药材的质量控制及开发利用提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); QUINTIX125D-1CN 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司, 精度为十万分之一); Eppendorf Centrifuge 5418 型离心机(德国 Eppendorf AG 公司); Milli-Q 型超纯水仪(美国 Milipore 公司); KQ-300DE 型数控超声波清洗仪(昆山市舒美超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

关黄柏饮片(河北省安国市祁澳中药饮片有限公司、批号为 1908917171, 河北省安国市深豪药业有限公司、批号为 190602151, 河北省安国市金康迪中药材饮片有限公司、批号为 1804001C), 经河北中医学院郑玉光教授鉴定为正品; 木兰花碱对照品(批号为 19082004, 含量为 99.84%), 盐酸药根碱对照品(批号为 19072609, 含量为 98.62%), 小檗红碱对照品(批号为 19050701, 含量为 98.71%), 小檗碱对照品(批号为 17110105, 含量为 98.95%), 巴马汀对照品(批号为 18022604, 含量为 99.01%), 均购自成都曼思特生物科技有限公司; 乙腈为色谱纯, 甲醇为色谱纯和分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 生物碱成分含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A) - 0.1% 甲酸溶液(B), 梯度洗脱(0 ~ 20 min 时 10% A → 12% A, 20 ~ 27 min 时 12% A → 22% A, 27 ~ 36 min 时 22% A → 26% A, 36 ~ 65 min 时 26% A →

40% A, 65 ~ 68 min 时 40% A → 75% A, 68 ~ 70 min 时 75% A → 10% A); 检测波长: 265 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.1.2 溶液制备

取木兰花碱、盐酸药根碱、小檗红碱、小檗碱、巴马汀对照品各适量, 精密称定, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加入 70% 甲醇定容, 制成单标母液, 分别稀释, 配制成分别含木兰花碱 0.004 9 mg/mL、盐酸药根碱 0.000 6 mg/mL、小檗红碱 0.000 2 mg/mL、巴马汀 0.006 2 mg/mL、小檗碱 0.018 7 mg/mL 的混合对照品溶液。取关黄柏药材粉末 0.5 g, 精密称定, 浸泡 30 min 后置 100 mL 具塞三角瓶中, 加入 30 mL 甲醇, 25 °C 下超声(功率 250 W, 频率 40 kHz)提取 40 min, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 混匀, 取续滤液, 13 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 置 5 mL EP 管中, 稀释 10 倍, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.1.3 方法学考察

系统适用性试验: 取上述混合对照品溶液、供试品溶液各适量, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 详见图 1。结果, 理论板数按木兰花碱峰计算应不低于 3 000; 分离度均大于 1.5, 基线分离良好。

线性关系考察: 精密吸取 2.1.2 项下混合对照品溶液 1, 3, 5, 10, 15, 20 μL, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测

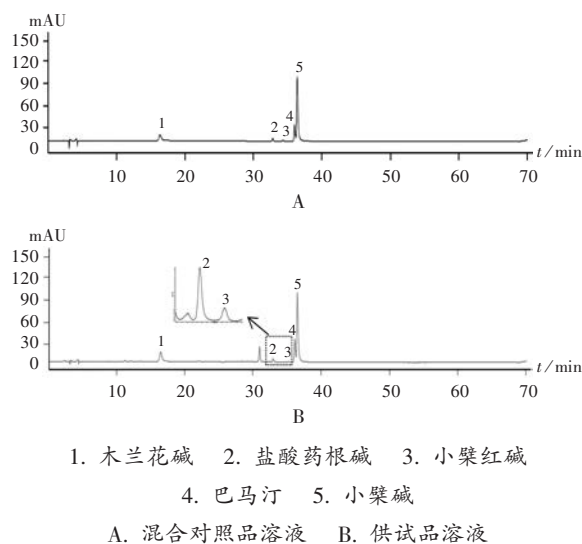


图1 高效液相色谱图

1. magnoflorine 2. jatrorrhizine hydrochloride 3. berberrubine
4. palmatine 5. berberine
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 线性关系考察结果($n=6$)
Tab. 1 Results of the linear relation test($n=6$)

成分	回归方程	r	线性范围
木兰花碱	$Y_1 = 23\,206 X_1 - 0.830\,4$	0.999 8	0.500 ~ 10.0
盐酸药根碱	$Y_2 = 43\,780 X_2 - 0.686\,6$	0.999 6	0.060 ~ 1.2
小檗红碱	$Y_3 = 61\,080 X_3 - 0.588\,8$	0.999 8	0.002 ~ 0.4
小檗碱	$Y_4 = 39\,145 X_4 - 5.644\,1$	1.000 0	0.620 ~ 12.4
巴马汀	$Y_5 = 39\,145 X_5 - 5.644\,1$	0.999 9	1.870 ~ 37.4

定,以各对照品质量浓度(mg/mL , X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程和线性范围,详见表1。

精密度试验:1)日内精密度,精密量取混合对照品溶液适量,连续进样测定6次,记录峰面积。结果木兰花碱、盐酸药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱的 RSD 分别为0.15%,0.51%,0.46%,0.13%,0.17% ($n=6$),表明仪器的日内精密度良好。2)日间精密度,精密量取混合对照品溶液适量,连续进样测定3 d,每日1次,记录峰面积。结果木兰花碱、盐酸药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱的 RSD 分别为0.13%,1.51%,0.11%,1.42%,1.87% ($n=3$),表明仪器的日间精密度良好。

重复性试验:取同一批关黄柏药材粉末,精密称定,按2.1.2项下方法平行制备6份供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积及计算含量。结果木兰花碱、盐酸药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱含量的 RSD 分别为0.78%,1.54%,1.15%,1.87%,1.83% ($n=6$),表明该方法重复性较好。

稳定性试验:精密吸取同一关黄柏供试品溶液,分别在室温下放置0,3,5,8,13,20,24 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果木兰花碱、盐酸药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱的 RSD 分别为1.77%,1.94%,1.78%,1.72%,1.12% ($n=7$),表明供试品溶液室温下24 h内稳定。

加样回收试验:取已知含量的关黄柏药材粉末共6份,各0.25 g,精密称定,分别加入相应对照品溶液按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定并计算加样回收率。结果,木兰花碱、盐酸药根碱、

小檗红碱、巴马汀、小檗碱的加样回收率分别为102.33%,104.53%,102.76%,100.34%,102.62% ($n=6$), RSD 分别为1.10%,0.27%,1.10%,0.78%,0.99% ($n=6$)。

2.2 单因素试验

2.2.1 甲醇体积分数

取关黄柏药材样品粉末0.5 g,精密称定,平行6份,液料比为60 mL/g,分别加入体积分数为10%,30%,50%,70%,90%,100%的甲醇,25℃超声提取40 min,13 000 r/min离心5 min,取上清液,置5 mL EP管中,稀释10倍,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,进行液相分析,得5个生物碱总含量,其含量与甲醇体积分数的变化关系见图2。可见,生物碱总含量随甲醇体积分数的升高而增加,当甲醇体积分数为70%时,生物碱总含量最大。故选取甲醇体积分数50%,70%,90%3个水平进行后续试验。

2.2.2 液料比

取关黄柏药材样品粉末0.5 g,精密称定,平行处理6份,甲醇体积分数为70%,在不同液料比(20,40,60,80,100,120 mL/g)下,25℃超声提取40 min,称定质量,用甲醇补足减失的质量,13 000 r/min离心5 min,取上清液,置5 mL EP管中,稀释10倍,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液进行液相分析,得5个生物碱的总含量,其含量与液料比的变化关系见图2。可见,随着液料比的增加,生物碱总含量先增加后减少,液料比在30 mL/g时,生物碱的总含量达到最大。故选取液料比40,60,80 mL/g 3个水平进行后续试验。

2.2.3 提取时间的影响

取关药材样品粉末0.5 g,精密称定,平行处理5份,液料比为60 mL/g,加入70%甲醇,分别超声处理15 min、30 min、40 min、50 min、1 h(25℃)。生物碱总含量与料液比的变化关系见图2。可见,随着提取时间的延长,生物碱总含量先增加后减少,当提取时间为40 min时,生物碱总含量最大。故选取提取时间30,40,50 min 3个水平进行后续试验。

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面设计

以5个生物碱总含量(Y)为响应值,提取溶剂体积

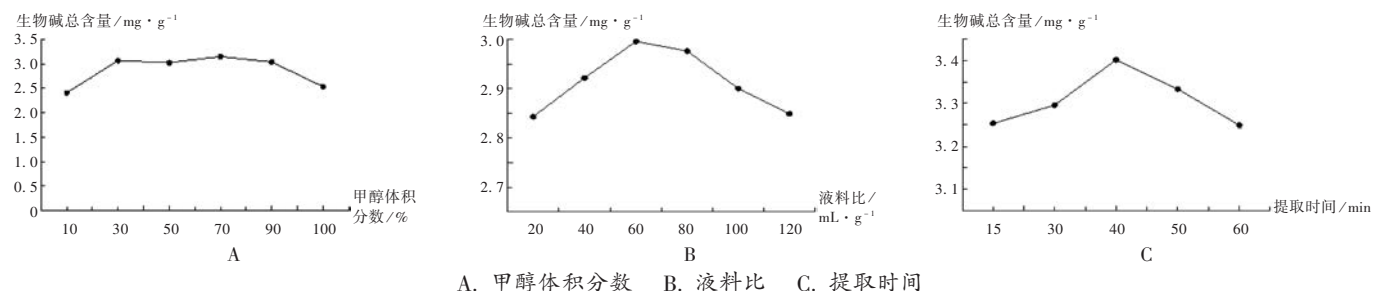


图2 单因素试验结果
A. Methanol volume fraction B. Liquid-material ratio C. Extraction time
Fig. 2 Results of the single factor test

分数(A)、超声时间(B)、液料比(C)3个因素为自变量,且每个自变量选取低、中、高3个水平,对关黄柏生物碱超声提取工艺进行三因素三水平研究,使用 Design – Expert 8.0.6 软件,采用 Box – Behnken 原理进行中心组合设计,因素水平见表 2,Box – Behnken 试验设计与结果见表 3。

表 2 因素水平表

Tab. 2 The factor levels

水平	因素 A(%)	因素 B(min)	因素 C(mL/g)
-1	50	30	40
0	70	40	60
1	90	50	80

表 3 Box – Behnken 设计与结果

Tab. 3 Design and results of the Box – Behnken

序号	A	B	C	Y(mg/g)	序号	A	B	C	Y(mg/g)
1	0	1	-1	2.80	10	-1	-1	0	2.71
2	0	0	0	2.96	11	-1	0	1	2.77
3	0	0	0	3.13	12	-1	1	0	2.75
4	0	0	0	3.10	13	-1	0	-1	2.68
5	1	-1	0	2.65	14	1	0	1	2.69
6	0	0	0	2.89	15	0	-1	1	2.69
7	1	1	0	2.68	16	0	0	0	3.05
8	1	0	-1	2.56	17	0	-1	-1	2.84
9	0	1	1	2.85					

2.3.2 方差分析与显著性检验

运用 Design – Expert 8.0.6 软件对表 2 中的试验结果进行拟合分析,得二次多项回归方程 $Y = 3.03 - 0.041A + 0.024B + 0.015C - 2.5 \times 10^{-3}AB + 1 \times 10^{-2}AC + 0.05BC - 0.22A^2 - 0.10B^2 - 0.13C^2$ ($R^2 = 0.8789$),说明该模型拟合度较好,试验误差较小^[13]。进一步对方程进行方差分析,结果见表 4。

由表 4 可知,模型 $P = 0.0163 < 0.05$,说明本回归模型自变量与因变量的回归关系显著,失拟项 $P = 0.46 > 0.05$,说明二次多项回归方程拟合程度良好,本试验具有统计学意义^[14]。各因素对关黄柏生物碱提取率的影响

表 4 方差分析结果

Tab. 4 Results of ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
模型	0.390	9	0.043	5.65	0.0163
A	0.014	1	0.014	1.78	0.2236
B	4.512×10^{-3}	1	4.51×10^{-3}	0.59	0.4672
C	1.80×10^{-3}	1	1.80×10^{-3}	0.24	0.6421
AB	2.50×10^{-5}	1	2.50×10^{-5}	3.27×10^{-3}	0.9560
AC	4.00×10^{-4}	1	4.00×10^{-4}	0.052	0.8255
BC	0.010	1	0.010	1.31	0.2901
A ²	0.210	1	0.210	27.73	0.0012
B ²	0.046	1	0.046	5.99	0.0442
C ²	0.068	1	0.068	8.86	0.0206
残差	0.053	7	7.64×10^{-3}		
失拟项	0.014	3	4.58×10^{-3}	0.46	0.7248
纯误差	0.040	4	9.93×10^{-3}		
总误差	0.440	16			

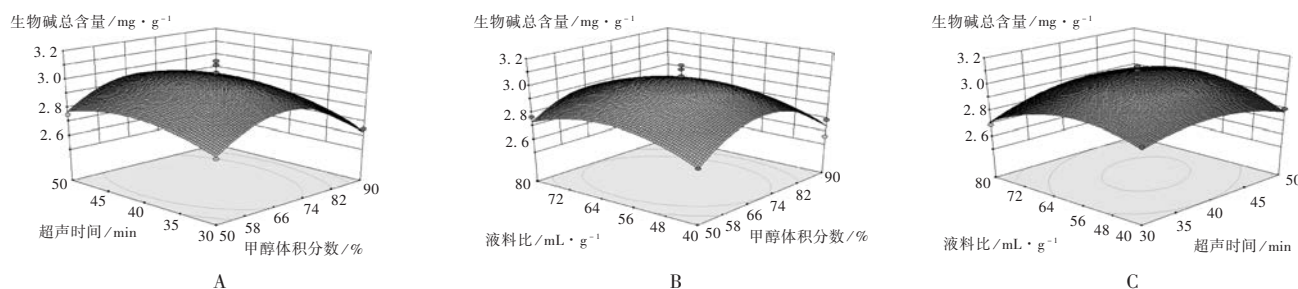
响大小为 $A > B > C$,二次项 A^2, B^2, C^2 对响应值的影响显著,说明各因素与响应值之间不是简单的线性关系。交互项对生物碱总含量影响的强弱为 $BC > AC > AB$,说明超声时间和液料比对响应值的影响较明显。

2.3.3 响应面分析

根据响应面图(见图 3)评价试验因素之间的交互强度,优选出最佳提取工艺。由图 3 可知,因素 A 的曲面较陡峭,说明甲醇体积分数相对于其他 2 个因素对生物碱成分提取效率的影响较大。BC 交互作用较强,说明提取时间与液料比的交互作用对生物碱总含量的影响显著,AB 和 AC 交互作用较弱,说明甲醇体积分数与提取时间、液料比与提取时间的交互作用对生物碱总含量的影响较小。

2.4 最优工艺与验证试验

优选出的最佳提取工艺为:提取时间为 41.35 min,甲醇体积分数为 68.17%,液料比为 61.64 mL/g。结合实际,同时为方便操作,最终确定最优提取工艺为取 0.5 g 的关黄柏药材样品粉末,加入 68% 甲醇,超声提取 41 min,液料比为 62 mL/g。分别选取 3 批关黄柏药



A. 超声时间和甲醇体积分数 B. 液料比和甲醇体积分数 C. 液料比和超声时间

图 3 各因素与生物碱总提取量的响应面图

A. Ultrasonic time and methanol volume fraction B. Liquid – material ratio and methanol volume fraction C. Liquid – material ratio and ultrasonic time

Fig. 3 Response surface diagram of each factor and total extraction amount of alkaloids

材饮片,在上述最优工艺条件下进行验证试验。结果生物碱成分总含量分别为 3.030, 2.979, 3.007 mg/g, 平均 3.005 mg/g ($RSD = 0.85\%$), 与模型预测值的相对误差为 0.59%, 表明建立的模拟回归方程拟合度较好, 优化的提取工艺稳定、可靠。

3 讨论

关黄柏药材中生物碱提取方法主要包括传统的水煎煮法、酸水法、石灰水法、乙醇回流法等^[15-16], 提取时间较长、能耗大, 一些热敏性的有效成分易被破坏, 且提取效率较低。相对于传统的提取方法, 超声提取法、酶辅助提取法可弥补上述缺点^[17], 但提取成本较高。综合考虑, 本研究中采取超声法提取关黄柏药材中的生物碱成分。

前期通过预试验对不同超声次数(1, 2, 3次)、不同浸泡时间(15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、12 h)及不同种类提取溶剂[包括甲醇、盐酸-甲醇(1:100, V/V)、乙酸-甲醇(1:100, V/V)、盐酸-乙醇(1:100, V/V)、乙醇]进行考察, 结果表明, 生物碱总含量在超声 1 次、提取溶剂为甲醇时最高。浸泡时间为 4 h 时生物碱总含量最高, 其次为浸泡 30 min, 为提高提取效率, 综合考虑, 最终选择甲醇为提取溶剂, 浸泡 30 min, 超声 1 次。此外, 巴马汀和小檗碱均属原小檗碱型生物碱, 化学结构相似, 高效液相色谱图中保留时间十分接近, 且巴马汀在关黄柏和川黄柏药材中的含量差异十分显著。

2020 年版《中国药典》以盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量作为关黄柏药材的质量评价指标^[1], 在目前已有的关黄柏最佳提取工艺研究中, 多数仅以小檗碱成分作为考察指标^[17]。为更全面、准确地评判关黄柏药材的质量, 本试验中选取了含量较高、药理作用研究较充分的木兰花碱、盐酸药根碱、小檗红碱、巴马汀和小檗碱的总含量, 作为评价指标。该方法相较于目前已有的仅以小檗碱作为对照品考察关黄柏提取工艺的研究更严谨、科学。目前有关关黄柏药材最佳提取工艺的研究中, 大多都采用正交试验设计法。而响应面法可连续对试验各个水平进行分析, 在单因素试验基础上, 找出与原预设水平相比最优的组合条件^[18-19], 与正交试验相比, 试验结果的精度和真实度更高、直观性更强^[20-21]。但也有其局限性, 如响应面试验前的单因素最佳水平选取错误, 会使响应面试验无法得到预期结果^[22]。本试验中通过单因素试验结合 Box-Behnken 响应面法, 优化得到关黄柏药材中生物碱的最佳提取工艺, 操作简便、效率高、稳定可靠。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 153.
- [2] 魏颖, 李雪瑶, 陈维佳, 等. 中国关黄柏资源及其开发利用研究进展[J]. 人参研究, 2019, 31(2): 44-51.
- [3] SUN H, WANG H, ZHANG AH, et al. Chemical discrimination of

cortex *Phellodendri amurensis* and cortex *Phellodendri chinensis* by multivariate analysis approach[J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2016, 45(12): 41-49.

- [4] NATARAJAN V, DURAISAMY K, JAE Y, et al. Chemical composition and antioxidant capacity of the aqueous extract of *Phellodendron amurense*[J]. *Journal of Forestry Research*, 2018, 29(4): 1041-1048.
- [5] LIAN RY, XIN M, XIAO JY, et al. Simultaneous determination of anemoside B₄, phellodendrine, berberine, palmatine, obakunone, esculin, esculetin in rat plasma by UPLC-ESI-MS/MS and its application to a comparative pharmacokinetic study in normal and ulcerative colitis rats[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2017, 134: 43-52.
- [6] 邢宇, 刘鑫, 林园, 等. 小檗碱药理作用及其临床应用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(6): 491-502.
- [7] 李先宽, 冯杉, 郑艳超, 等. 黄柏与关黄柏的化学成分及生物活性研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 1033-1037.
- [8] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41-45.
- [9] 王永菲, 王成国. 响应面法的理论与应用[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2005, 14(3): 236-240.
- [10] 文冉, 吕青涛, 李娜, 等. 基于综合加权评分-Box-Behnken 响应面法优化半枝莲的提取工艺[J]. 中药材, 2020, 43(5): 1183-1187.
- [11] 黄晓斌, 汪欢, 陈志鹏, 等. Box-Behnken 响应面法优化苦参黄酮超声提取工艺[J]. 中药材, 2019, 42(10): 2352-2356.
- [12] 陈子隽, 陈勇, 李金洲, 等. 多指标综合评分法结合响应面法优选水石榴中黄酮类成分的提取工艺[J]. 中药材, 2020, 43(12): 2995-2999.
- [13] 王智群, 于亚田, 冯建安, 等. G1-熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化黄芪胶剂的醇提工艺[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(5): 1110-1113.
- [14] 李景华, 王超, 王黎明, 等. 超声波辅助提取关黄柏中巴马汀的研究[J]. 吉林医药学院学报, 2016, 37(3): 187-190.
- [15] 张少君, 罗时旋, 赵稷, 等. 关黄柏中总黄酮的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 黑龙江医药科学, 2015, 38(3): 11-13.
- [16] 林静, 高卫真, 李卓燕, 等. 酶解辅助提取关黄柏生物碱的工艺研究[J]. 天津医科大学学报, 2012, 18(3): 388-391.
- [17] 董旭俊, 代路豪, 耿会玲, 等. 关黄柏中小檗碱提取工艺研究[J]. 科技信息, 2013(25): 38.
- [18] 曾建伟, 张珍丽, 李西海, 等. Box-Behnken 响应面法优选牛至中百里香酚与香芹酚的提取工艺[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(11): 883-888.
- [19] 张艳, 李永哲. 响应面法及其在药学领域中的应用[J]. 吉林化工学院学报, 2012, 29(7): 20-26.
- [20] 黄道明, 黄平, 沈丽霞. 响应面法优化杠板归总黄酮微波提取工艺[J]. 中国药业, 2020, 29(13): 31-34.
- [21] 帕提曼·肖开提, 穆巴热科·吾普尔, 刘阳, 等. Box-Behnken 设计优化蔷薇红景天总黄酮提取纯化工艺[J]. 中国药业, 2020, 29(11): 8-13.
- [22] 孔涛, 范杰平, 胡小芳, 等. 响应面法优化超声辅助提取车前草中的熊果酸[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 80-84.

(收稿日期: 2020-11-29; 修回日期: 2021-06-22)