

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.05.012

荷叶-山楂提取物制备工艺优选*

孙思琪^{1,2}, 李 想^{1,2}, 董 英^{1,2}, 马嘉慕^{1,2}, 宋若兰^{1,2}, 范琦琦^{1,2}, 魏 静^{1,2}, 于啊香^{1,2}, 王秀环^{1,2},
单东杰^{1,2}, 姚鉴玲^{1,2}, 吕 芳^{1,2}, 折改梅^{1,2△}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2. 中药品质评价北京市重点实验室, 北京 102488)

摘要:目的 优选荷叶-山楂提取物的制备工艺。方法 以提取时间、加水量、提取次数为考察因素, 以出膏率、荷叶碱和槲皮素提取率为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选提取工艺; 并在此基础上, 以温度、浓缩时间、烘干时间为考察因素, 以荷叶碱和槲皮素含量为评价指标, 采用单因素试验优化浓缩和干燥条件。结果 最优制备工艺为加8倍量水, 提取2次, 每次30 min, 合并提取液, 滤过, 滤液在80℃条件下减压浓缩, 60℃条件下减压干燥, 得干浸膏, 粉碎, 过80目筛。结论 优选的荷叶-山楂提取物制备工艺稳定、合理, 可用于工业化生产。

关键词: 荷叶; 山楂; 提取物; 荷叶碱; 槲皮素; 制备工艺; 优选

中图分类号: R932; TQ460.6

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)05-0054-06

Optimization of Preparation Process of Nelumbinis Folium - Crataegi Fructus Extract

SUN Siqui^{1,2}, LI Xiang^{1,2}, DONG Ying^{1,2}, MA Jiamu^{1,2}, SONG Ruolan^{1,2}, FAN Qiqi^{1,2}, WEI Jing^{1,2}, YU Axiang^{1,2}, WANG Xiuhuan^{1,2},
SHAN Dongjie^{1,2}, YAO Jianling^{1,2}, LYU Fang^{1,2}, SHE Gaimei^{1,2}

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, China 102488; 2. Beijing Key Laboratory for Quality Evaluation of Chinese Materia Medica, Beijing, China 102488)

Abstract: Objective To optimize the preparation process of Nelumbinis Folium - Crataegi Fructus extract. **Methods** The extraction process was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with the extraction time, water addition amount and extraction times as the investigation factors and the past yield of nuciferine and the content of quercetin as the evaluation indexes. On this basis, the concentration and drying conditions were optimized by the single factor test with the temperature, concentration time and drying time as investigation factors and the contents of nuciferine and quercetin as evaluation indexes. **Results** The optimal preparation process was as follows: extraction twice with adding eight times the amount of water, 30 min each time, combining and filtering the extraction solution, vacuum concentration at 80℃, and decompression drying at 60℃ to obtain the dry extract, which was crushed and sieved through 80 mesh sieve. **Conclusion** The optimal preparation process of Nelumbinis Folium - Crataegi Fructus extract is stable and reasonable, which can be used for large-scale production.

Key words: Nelumbinis Folium; Crataegi Fructus; extract; nuciferine; quercetin; preparation process; optimization

*基金项目: 北京市科技计划项目[Z201100005420005]。

第一作者: 孙思琪, 女, 硕士, 研究方向为中(民族)药药效成分和新药创制, (电子信箱)sunsiqi1279@163.com。

△通信作者: 折改梅, 女, 博士, 研究员, 研究方向为中(民族)药药效成分和新药创制, (电子信箱)shengamei@126.com。

- of human nucleus pulposus cells [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(8): 7534-7548.
- [16] 展嘉文, 朱立国, 冯敏山, 等. 补肾活血方对腰椎术后功能恢复影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(3): 47-50.
- [17] 李玲慧, 李凯明, 杨少锋, 等. 补肾活血方与 PRP 对 I 型胶原活性和表达的影响[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(22): 1681-1685.
- [18] NASTO LA, ROBINSON AR, NGO K, et al. Mitochondrial - derived reactive oxygen species (ROS) play a causal role in aging - related intervertebral disc degeneration[J]. J Orthop Res, 2013, 31(7): 1150-1157.
- [19] WU XX, ZHANG HY, QI WY, et al. Nicotine promotes atherosclerosis via ROS - NLRP3 - mediated endothelial cell pyroptosis[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(21): 171.
- [20] SHEN RT, YIN P, YAO H, et al. Punicalin Ameliorates Cell Pyroptosis Induced by LPS/ATP Through Suppression of ROS/NLRP3 Pathway[J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 711-718.
- [21] WEI ZJ, NIE GH, YANG F, et al. Inhibition of ROS / NLRP3 / Caspase - 1 mediated pyroptosis attenuates cadmium - induced apoptosis in duck renal tubular epithelial cells [J]. Environ Pollut, 2020, 273: 115919.
- [22] 王新立, 刘汝银, 王西彬, 等. 当归对氧化应激损伤的大鼠髓核细胞增殖和胞外基质合成的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2019, 54(1): 119-122.
- [23] HEWINSON J, MOORE SF, GLOVER C, et al. A key role for redox signaling in rapid P2X7 receptor - induced IL - 1 beta processing in human monocytes[J]. J Immunol, 2008, 180(12): 8410-8420.
- [24] MEISSNER F, MOLAWI K, ZYCHLINSKY A. Superoxide dismutase 1 regulates caspase - 1 and endotoxic shock [J]. Nat Immunol, 2008, 9(8): 866-872.
- [25] 杜世也, 张 颖, 袁 文. 微 RNA - 210 抑制人退行性变髓核细胞自噬影响椎间盘退行性变[J]. 脊柱外科杂志, 2019, 17(2): 127-134.

(收稿日期: 2021-05-08; 修回日期: 2021-09-10)

依托于中医药理论,以药食同源思想和配伍原则为依据,以药食同源的食物或中药为原料的保健食品是具有中国特色的保健食品。通过挖掘此类保健食品的配方应用规律^[1-5],筛选可得辅助调血脂(如丹参-绞股蓝、荷叶-山楂)、增强免疫力(如黄芪-枸杞子、人参-黄芪)、改善睡眠(如酸枣仁-五味子、茯苓-酸枣仁)等高频原料组合。目前,保健食品行业多采用单味原料提取物,即原料单煎。复方合理配伍、原料共煎,不同原料的化学成分会产生成盐、助溶等物理化学反应,以达到增效减毒的配伍效果^[6]。调血脂常用荷叶-山楂组合^[7-13],其中荷叶具有清暑化湿、调脂功效^[14],山楂能行气散瘀、化浊调脂^[14],二者均归肝、脾、胃经,两药配伍有协同增效作用,可通过益气健脾、降浊化痰、散瘀通络发挥辅助调血脂功效^[13,15]。荷叶中的生物碱类化学成分具有显著的降脂减肥、抑菌等功效^[16-20],但荷叶生物碱碱性较弱,不能直接溶于水,与酸反应变为盐类后才能溶于水,常采用偏酸性的水溶液浸提,且荷叶生物碱的提取效果随pH的降低而上升^[21-23]。山楂为富含有机酸及具有酚羟基的黄酮类化合物^[24-26],其水提液多呈酸性(pH 3.5)。相比于单煎,荷叶与山楂共煎(水提)更有利于有效成分的溶出,增加提取效率^[10]。荷叶-山楂多以1:1(m/m)^[7-8]、1:2(m/m)^[9]、1.5:1(m/m)^[10]、2:1(m/m)^[15]比例组合。余婷婷等^[7]针对高脂血症研发了以荷叶-山楂-莱菔子(1:1:1,m/m/m)为主要原料的复合固体饮料。雷荣剑^[8]针对血脂异常研发了以荷叶-山楂-葛根(1:1:1,m/m/m)为主要原料的药食两用复方。这些研究为本课题组开展针对辅助调血脂功效的高频原料组合制备共煎提取物的研究奠定了基础。本研究中以荷叶-山楂(1:1,m/m)原料组合制备提取物,并以荷叶中特征性生物碱类化学成分荷叶碱,以及荷叶与山楂共有黄酮类化学成分槲皮素的提取率为主要评价指标,通过正交试验和单因素试验,筛选适于工业化生产的荷叶-山楂提取物制备工艺。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BT25S型分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司,精度为0.1 mg);CP224C型电子天平(常州奥豪斯仪器有限公司,精度为0.01 mg);ES-2001P型电子天平(长沙湘平科技发展有限公司,精度为0.01 mg);DK-98-11型电热恒温水浴锅,KDM型调温电热套;98-1-B型电子调温电热套,均购于天津泰斯特仪器有限公司;101FXB-2型电热鼓风干燥箱(上海树立仪器仪表有限公司);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);FM型真空干燥箱(上海福玛实验设备有限公司);

DZ-2BCIV型真空干燥箱(北京天林恒泰科技有限公司);S6000型高效液相色谱仪(华谱科仪<北京>科技有限公司);KQ-250DB型超声清洗仪(昆山超声仪器有限公司,功率为200 W,频率为40 kHz)。

1.2 试药

荷叶(批号为20180402),山楂(批号为20180103),均购于河北祁新中药颗粒饮片有限公司,经北京中医药大学张媛教授鉴定荷叶为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的干燥叶,山楂为蔷薇科植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥成熟果实;荷叶碱对照品(成都普瑞法科技开发有限公司,批号为PRF8031546,纯度为98.00%);槲皮素对照品(中国食品药品检定研究院,批号为100081-201610,纯度为99.1%);乙腈(色谱纯,美国Fisher公司);水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Thermo hypersil GOLD C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B,含0.4%三乙胺和0.3%磷酸),梯度洗脱(0~25 min时14%A,25~45 min时14%A~34%A,45~50 min时34%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:256 nm;柱温:25℃;进样量:10 μL。

2.1.2 溶液制备

取荷叶碱对照品和槲皮素对照品各适量,精密称定,加甲醇制成荷叶碱质量浓度为0.16 mg/mL、槲皮素质量浓度为0.11 mg/mL的混合对照品溶液。取荷叶-山楂提取物(过80目筛)25 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇,超声30 min,放冷,用甲醇定容,过滤,取续滤液,即得试品溶液。

2.1.3 方法学考察^[27-29]

专属性试验:分别精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各适量,按2.1.1项下色谱条件进样测定。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同位置有相应色谱峰出现,且与相近峰的分离度均大于1.5。色谱图见图1。

线性关系考察:取荷叶碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为326.00 μg/mL的荷叶碱对照品贮备液,加甲醇稀释成质量浓度分别为326.00, 228.20, 195.60, 163.00, 130.40, 97.80, 65.20, 32.60, 22.82, 19.56, 16.30, 13.04, 9.78, 6.52, 3.26 μg/mL的系列对照品溶液;取槲皮素对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为21.80 μg/mL的槲皮素对照品贮备液,加甲醇稀释成质量浓度分别为21.80, 15.26,

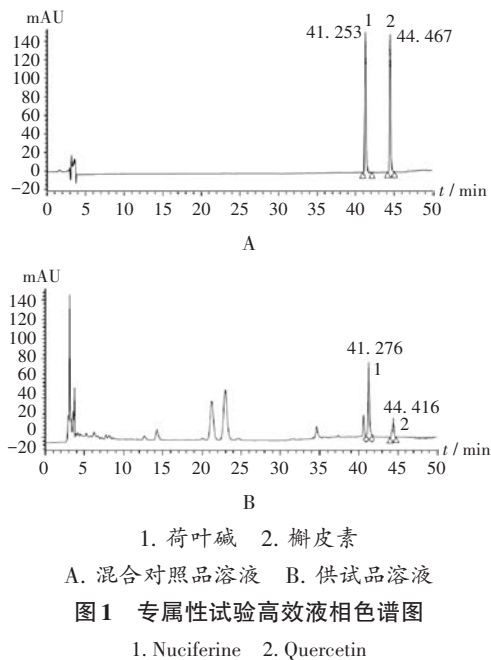


Fig. 1 HPLC chromatograms of the specific test

13.08, 10.90, 8.72, 6.10, 5.23, 4.36, 3.49, 2.62, 1.74, 0.87 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 的系列对照品溶液。分别按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度为横坐标($X, \mu\text{g} / \text{mL}$)、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程分别为 $Y_{\text{荷}} = 21\,620 X_{\text{荷}} - 9\,315.2, R^2 = 0.999\,9$ ($n = 15$); $Y_{\text{槲}} = 28\,774 X_{\text{槲}} - 9\,071, R^2 = 0.999\,7$ ($n = 12$)。结果表明,荷叶碱和槲皮素的质量浓度分别在 3.26 ~ 326.00 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 和 0.87 ~ 21.80 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

检测限确定:精密吸取 2.1.2 项下混合对照品溶液(荷叶碱和槲皮素的质量浓度分别为 0.16 mg / mL 和 0.11 mg / mL),系列稀释后按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,以信噪比(S / N)为 3 倍时的质量浓度为检测限。结果荷叶碱和槲皮素的检测限分别为 0.17 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 和 0.03 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 。

精密度试验:精密吸取 2.1.2 项下混合对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果荷叶碱和槲皮素峰面积的 RSD 分别为 0.35% 和 0.84% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取荷叶 - 山楂提取物适量,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件分别在室温下于 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 时进样测定,记录峰面积。结果荷叶碱和槲皮素峰面积的 RSD 分别为 1.05% 和 2.72% ($n = 6$),表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:取荷叶 - 山楂提取物适量,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,并计算含量。结果荷叶碱和槲皮素含量的 RSD 分别为 1.08% 和 1.55% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知各成分含量的荷叶 - 山楂提取物适量,精密称定,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液 3 组,每组平行 3 份,按 50%, 100%, 150% 水平加入对照品,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果荷叶碱平均加样回收率分别为 102.01%, 102.91%, 101.69%, RSD 分别为 1.41%, 2.25%, 1.40%; 槲皮素平均加样回收率分别为 102.24%, 95.99%, 100.42%, RSD 分别为 2.32%, 0.89%, 1.21% ($n = 9$)。

2.2 提取工艺优选

2.2.1 提取工艺优选

提取条件考察:采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,考察提取时间(A)、加水量(B)、提取次数(C)对样品出膏率、荷叶碱和槲皮素含量的影响,选取最优提取方案。因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平

Tab. 1 Factors and levels of the $L_9(3^4)$ orthogonal test			
水平	因素 A (min)	因素 B (倍)	因素 C (次)
1	30	6	1
2	60	8	2
3	90	10	3

按处方比例(1:1, m / m)精密称取原料药,按 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平进行试验,每组平行 2 份,将提取液置蒸发皿中,100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴浓缩,105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重,计算出膏率。按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算干膏粉中荷叶碱和槲皮素的含量。采用 SAS A8 软件进行正交试验和方差分析,结果见表 2 和表 3。由直观分析结果可知,各因素影响出膏率的顺序依次为 $C > A > B$,各因素影响荷叶碱含量的顺序依次为 $A > B > C$,各因素影响槲皮素含量的顺序依次为 $A > C > B$ 。由方差分析结果可知,影响指标性成分荷叶碱和槲皮素含量的主要因素为因素 A,而因素 C 是影响出膏率的重要因素。在实际生产中,为了达到节约成本、减少服药量等需求,应降低出膏率,控制提取次数。因此,根据极差分析结果并结合实际需求,最优条件为 $A_1B_2C_2$,即加 8 倍量水,提取 2 次,每次 30 min,过滤,合并滤液,得提取液。

提取工艺验证:按处方比例(1:1, m / m)精密称取荷叶和山楂各 3 份,按 2.2.1 项下优化的提取工艺制得提取液,水浴浓缩,105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重,称定质量,计算得平均干膏率为 26.30%, RSD 为 0.20%; 并按 2.1.1 项下色谱条件测定 3 批干膏粉中荷叶碱和槲皮素的含量,荷叶碱平均含量为 3.97 mg / g ,槲皮素平均含量为 1.23 mg / g 。各组数据间无明显差异($P > 0.05$),且与正

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果
Tab.2 Results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	因素			出膏率 (%)	含量(mg/g)	
	A	B	C		荷叶碱	槲皮素
1	1	1	1	18.19	3.22	0.73
2	1	2	2	28.70	3.84	1.23
3	1	3	3	30.15	4.10	1.63
4	2	1	2	28.79	2.90	0.83
5	2	2	3	33.07	2.77	1.05
6	2	3	1	23.89	2.15	0.58
7	3	1	3	31.52	2.06	0.75
8	3	2	1	24.30	3.20	0.92
9	3	3	2	31.84	2.14	0.82
出膏率	k_1	25.68	26.17	22.13		
	k_2	28.59	28.69	29.78		
	k_3	29.22	28.63	31.58		
	R	3.54	2.52	9.45		
荷叶碱含量	k_1	3.72	2.73	2.86		
	k_2	2.61	3.27	2.96		
	k_3	2.47	2.80	2.98		
	R	1.25	0.54	0.12		
槲皮素含量	k_1	1.20	0.77	0.74		
	k_2	0.82	1.07	0.96		
	k_3	0.83	1.01	1.14		
	R	0.38	0.30	0.40		

表3 方差分析结果
Tab.3 Results of ANOVA

项目	方差来源	SS	自由度	MS	F值	P值
出膏率	A	42.63	2	21.320	0.004×10^{-1}	0.004 0
	B	24.78	2	12.39	0.02	0.019 3
	C	302.43	2	151.22	0.02×10^{-4}	<0.000 1
	D(误差)	0.41	2	0.20		
荷叶碱含量	A	2.83	2	1.41	2.86	0.259 2
	B	0.52	2	0.26	0.53	0.653 9
	C	0.03	2	0.01	0.03	0.975 0
	D(误差)	0.99	2	0.50		
槲皮素含量	A	0.28	2	0.14	1.94	0.340 1
	B	0.15	2	0.07	1.04	0.489 1
	C	0.24	2	0.12	1.69	0.372 0
	D(误差)	0.14	2	0.07		

交试验中 $A_1B_2C_2$ 的结果相近,说明该提取工艺稳定、可行。

2.2.2 浓缩和干燥条件考察

浓缩条件:按处方比例(1:1, m/m)精密称取荷叶和山楂,按2.2.1项下优化的提取工艺进行提取,减压(真空度为-0.08~-0.06 MPa)浓缩,温度分别为50, 60, 70, 80℃,浓缩至相对密度为1.25~1.30(60℃)的

稠膏,转移至105℃烘箱中干燥至恒重,记录浓缩时间。并按2.1.1项下色谱条件测定稠膏中荷叶碱和槲皮素的含量,结果见表4。综合考虑浓缩时间和荷叶碱和槲皮素含量,确定浓缩条件为80℃减压浓缩。

表4 不同减压浓缩条件下荷叶碱和槲皮素含量测定结果
Tab.4 Results of content determination of nuciferine and quercetin under different vacuum concentration conditions

温度(℃)	浓缩时间(h)	含量(mg/g)	
		荷叶碱	槲皮素
50	5.1	4.36	1.02
60	4.5	5.15	0.97
70	3.1	5.30	1.07
80	2.7	5.54	1.33

干燥条件:按处方比例(1:1, m/m)精密称取荷叶和山楂,按2.2.1项下优化的提取工艺进行提取,80℃减压浓缩,分别在减压(真空度为-0.08~-0.06 MPa)50, 60, 70℃和常压105℃条件下干燥,记录烘干时间,测定提取物水分。并按2.1.1项下色谱条件测定干膏中荷叶碱和槲皮素的含量,结果见表5。综合考虑荷叶碱和槲皮素含量、浓缩时间和水分,确定干燥条件为60℃减压干燥。

表5 不同干燥条件下荷叶碱和槲皮素含量测定结果
Tab.5 Results of content determination of nuciferine and quercetin under different drying conditions

压强	温度(℃)	烘干时间(d)	水分(%)	含量(mg/g)	
				荷叶碱	槲皮素
减压	50	1.21	4.65	6.23	1.38
	60	1.04	4.36	6.54	1.64
	70	0.96	4.26	5.35	1.39
常压	105	0.75	3.84	5.54	1.33

制备工艺验证:按处方比例(1:1, m/m)精密称取荷叶和山楂各3份,按优化的提取、制备工艺制备3批样品,3批样品的平均干膏率为26.83%, RSD 为0.67%。按2.1.1项下色谱条件测得3批样品中荷叶碱的平均含量为7.22 mg/g,槲皮素的平均含量为1.51 mg/g,说明该制备工艺稳定、可行。

3 讨论

荷叶主要含有生物碱类(如荷叶碱等)^[19,30]和黄酮类(如槲皮素等)^[31]等有效化学成分,山楂主要含有黄酮类(如槲皮素等)和有机酸类等有效化学成分^[24-26],且荷叶的生物碱类^[16-20]和黄酮类^[32]化学成分与山楂的黄酮类^[33-36]化学成分均具有良好的调血脂作用,故选择荷叶的特征成分荷叶碱及山楂与荷叶共有的黄酮类化学成分槲皮素进行含量测定。采用高效液相色谱全波长扫描法测定,结果显示,256 nm波长处荷叶碱和槲皮素的检测灵敏度均较高,峰形均较好,故选择

256 nm作为检测波长。优化色谱条件时,不同柱温(20, 25, 30 ℃)对荷叶碱和槲皮素的含量测定结果无明显影响,但25 ℃时2个指标性成分的峰形均较好,故柱温选择25 ℃。

本研究中以出膏率、荷叶碱和槲皮素的含量为评价指标,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优选提取条件。由方差分析结果可知,提取时间是影响指标性成分荷叶碱和槲皮素含量的主要因素,提取次数是影响出膏率的主要因素。考虑到荷叶-山楂共煎提取物经深加工后所得保健食品的日服用剂量和次数等因素,应控制提取次数,以降低出膏率。文献[13,37]报道,荷叶中黄酮类成分的提取率虽随提取次数的增加而升高,但提取2次后提取率变化较缓慢。故最终优化提取工艺为加8倍量水,提取2次,每次30 min。采用单因素试验优选浓缩和干燥条件,由表4和表5可知,减压浓缩时随着浓缩温度的升高,浓缩时间缩短,提取物荷叶碱含量增加,但槲皮素含量变化不明显;随着干燥温度的升高,烘干时间缩短,提取物水分降低,60 ℃减压干燥时提取物荷叶碱和槲皮素含量均最高。故最终优选浓缩、干燥工艺为80 ℃减压浓缩,60 ℃减压干燥。按优选工艺制备的3批样品的出膏率、荷叶碱和槲皮素含量均稳定,说明该制备工艺稳定、适用、可靠。

综上所述,本研究中优选的制备工艺稳定、合理,可为其工业化生产提供参考。

参考文献

- [1] 远颖,丁娜,杨惠. 含山楂保健食品的用药规律研究[J]. 中医药导报,2020,26(4):101-104.
- [2] 远颖,丁娜,杨惠. 含荷叶保健食品的用药规律[J]. 中医药导报,2020,26(1):61-65.
- [3] 热依拉·吐尔逊,廖艳,乐娜,等. 辅助改善睡眠中药类保健食品组方规律及思考[J]. 中国中药杂志,2021,46(13):3228-3233.
- [4] 王艳宏,樊建,李洪晶,等. 丹参相关保健食品的应用情况分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(6):168-177.
- [5] 李香串,乔丽芳,任飒. 基于关联规则法研究黄芪在保健食品配方中的应用规律[J]. 山西医科大学学报,2019,50(1):40-49.
- [6] 崔景朝,赵自明. 中药配方颗粒研究进展(II)——中药单煎与合煎对比研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):240-245.
- [7] 余婷婷,张显,郑文青,等. 山楂荷叶复合固体饮料的制备工艺优化及功能性成分含量测定[J]. 食品工业科技,2018,39(19):150-155.
- [8] 雷荣剑. 复方荷叶提取物的降血脂作用研究[D]. 杭州:浙江大学,2013.
- [9] 陈镜洲. 红曲复方制剂对新加坡高脂血症干预的研究[D]. 南京:南京中医药大学,2018.
- [10] 栗焕煊,任晓亮,王萌,等. 复方血脂宁配伍对主要活性成分溶出变化规律的影响[J]. 中草药,2017,48(23):4885-4890.
- [11] 葛肖波. 基于痰瘀互结探讨药食同源类中药对血脂及血管内皮的影响[D]. 北京:北京中医药大学,2020.
- [12] 高月滢,曹涵,唐明明,等. 荷叶复合固体饮料的工艺[J]. 食品工业,2019,40(5):54-59.
- [13] 肖顺丽. 安脂康胶囊的制备工艺及质量标准研究[D]. 北京:北京中医药大学,2018.
- [14] 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,2015:31-275.
- [15] 袁月,卢增辉,祝晨蓓,等. 基于网络药理学分析荷丹片与他汀类药物的协同降脂作用[J]. 今日药学,2021,31(1):9-17.
- [16] 潘诗哲. 荷叶生物碱盐预防小鼠膳食诱导型肥胖及调节其肠道菌群的功效研究[D]. 杭州:浙江大学,2019.
- [17] 柴金珍,蒋丽,韦经强,等. 荷叶降脂、抗氧化作用研究进展[J]. 食品研究与开发,2016,37(8):209-212.
- [18] 范婷婷. 荷叶生物碱类物质降脂减肥活性研究[D]. 杭州:浙江大学,2013.
- [19] 罗金波,肖文军,刘仲华. 荷叶生物碱类成分的研究进展[J]. 今日药学,2008,18(3):9-12.
- [20] 肖桂青. 荷叶总生物碱提取、纯化及生物活性研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2007.
- [21] 蒋益虹. 荷叶生物碱的提取工艺优化[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2004,30(5):519-523.
- [22] 赵骏,王洪章,齐喜红,等. 荷叶中荷叶碱提取工艺的研究[J]. 中草药,2003,34(10):916-917.
- [23] 陈海光,余以刚,曾庆孝. 荷叶功能成分的提取研究[J]. 食品与机械,2001(5):16-17.
- [24] 詹琤琤,段时振,李杰. 中药山楂的化学成分与药理作用研究概况[J]. 湖北中医杂志,2012,34(12):77-79.
- [25] 罗嘉琪,许滨,陈雨,等. 山楂药材中八种降血脂有效成分的提取与HPLC含量测定[J]. 广东化工,2017,44(4):17-20.
- [26] 乔晓莉,吴士杰,祁向争,等. 山楂中化学成分的UPLC/ESI-TOF/MS分析[J]. 现代药物与临床,2014,29(2):120-124.
- [27] GB/T 5009.1-2003,食品卫生检验方法理化部分总则[S].
- [28] GB/T 27404-2008,实验室质量控制规范食品理化检测[S].
- [29] GV/T 32465-2015,化学分析方法验证确认和内部质量控制要求[S].
- [30] DO TC, NGUYEN TD, TRAN H, et al. Analysis of alkaloids in Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves by non-aqueous capillary electrophoresis using ultraviolet and mass spectrometric detection[J]. J Chromatogr A, 2013, 1302:174-180.
- [31] CHEN S, ZHENG Y, FANG JB, et al. Flavonoids in lotus (*Nelumbo*) leaves evaluated by HPLC-MSn at the germplasm level[J]. Food Research International, 2013, 54(1):