

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.15.008

正交试验法与 Box - Behnken 响应面法优选 白残花 - 乌梅药对提取工艺比较*

范 玲¹, 唐佳蒙¹, 王 鑫¹, 吴怡雯², 金庆江¹, 王深军¹, 陈国新^{1△}

(1. 江苏省苏州市中西医结合医院, 江苏 苏州 215101; 2. 南京中医药大学翰林学院, 江苏 南京 225300)

摘要:目的 优选白残花 - 乌梅药对的最佳提取工艺。方法 以加水量、提取时间、提取次数为考察因素, 以金丝桃苷含量及浸膏得率所得综合评分为评价指标, 分别采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法和 Box - Behnken 响应面法优选白残花 - 乌梅药对的提取工艺, 并对 2 种方法的试验结果进行比较, 确定最适合的提取方法。结果 正交试验法优选的提取工艺为, 加 20 倍量水, 提取 3 次, 每次 1.0 h, 综合评分为 90.28 分; Box - Behnken 响应面法优选的提取工艺为, 加 25 倍量水, 提取 3 次, 每次 1.0 h, 综合评分为 97.85 分。结论 相较于正交试验法, Box - Behnken 响应面法优选的提取工艺更适合提取白残花 - 乌梅药对。

关键词: 白残花; 乌梅; 正交试验法; Box - Behnken 响应面法; 提取工艺

中图分类号: R932; R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)15-0038-06

Comparison of the Orthogonal Test and the BBD - RSM in Optimizing the Extraction Process of Rosae Multiflorae Flos - Mume Fructus Drug Pair

FAN Ling¹, TANG Jiameng¹, WANG Xin¹, WU Yiwen², JIN Qingjiang¹, WANG Shenjun¹, CHEN Guoxin¹

(1. Suzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Suzhou, Jiangsu, China 215101; 2. Hanlin College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 225300)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of Rosae Multiflorae Flos - Mume Fructus drug pair. **Methods** Taking the amount of water addition, extraction time and extraction times as the investigation factors, and taking the comprehensive score of hyperoside content and extract yield as the evaluation index, the extraction process of Rosae Multiflorae Flos - Mume Fructus drug pair was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test and the Box - Behnken design (BBD) - response surface methodology (RSM) respectively. The test results of the above two methods were compared to determine the optimal extraction method. **Results** The optimal extraction process of the orthogonal test was as follows: adding 20 times the amount of water, extracting three times, with 1.0 h each time, and the comprehensive score was 90.28 points. The optimal extraction process of the BBD - RSM was as follows: adding 25 times the amount of water, extracting three times, with 1.0 h each time, and the comprehensive score was 97.85 points. **Conclusion** Compared with the orthogonal test, the BBD - RSM is more suitable for the extraction of Rosae Multiflorae Flos - Mume Fructus drug pair.

Key words: Rosae Multiflorae Flos; Mume Fructus; orthogonal test; BBD - RSM; extraction process

白残花 - 乌梅是临床常用于治疗口舌生疮、口腔溃疡的经典药对^[1]。白残花是蔷薇科植物野蔷薇 *Rosa*

*基金项目: 江苏省苏州市卫生健康委员会姑苏卫生人才培养项目[GSWS2019089]; 江苏省苏州市中西医结合医院院级课题[YJ2020004]。

第一作者: 范玲, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药剂学, (电子信箱) fl1861031@126.com。

△通信作者: 陈国新, 大学本科, 主任药师, 研究方向为中药质量控制与管理, (电子信箱) 2270625206@qq.com。

- [10] 陈 瑾, 连安航, 李思思, 等. 连翘归尾颗粒的制备工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 32(4): 868-870.
- [11] 田 香, 丁瑞雪, 巴根那, 等. 地格达-4味汤煎煮工艺考察[J]. 中国实验方剂学, 2019, 25(13): 133-139.
- [12] 毕映燕, 李俊江, 李季文, 等. 基于质量源于设计(QbD)理念的祛寒逐风颗粒制备工艺及其物理指纹图谱研究[J]. 中草药, 2021, 52(19): 1-8.
- [13] 胡娅菁, 王 刚, 骆 英, 等. 基于关键质量属性的 L18 - Hunter 设计法优化穿心莲颗粒干法制粒处方与工艺[J]. 中药材, 2017, 40(12): 2908-2912.
- [14] 刘 勇, 吕慧锋, 张 琼, 等. Design - Expert 响应面法优选无糖型乳康颗粒成型工艺[J]. 中国药业, 2021, 30(17): 50-53.
- [15] 左文宝, 王 荣, 杨建宏, 等. 补青颗粒成型工艺优化[J]. 中成药, 2018, 40(8): 1737-1740.
- [16] 周 俊, 何云华, 石红霞, 等. 山参颗粒干法制粒工艺研究[J]. 中国药业, 2020, 29(19): 43-45.
- [17] 李 玥, 庞晓晨, 杨莎莎. 清感退热方中药复方颗粒剂的成型工艺及初步评价研究[J]. 华西药学杂志, 2019, 34(6): 573-576.
- [18] TENG Y, QIU ZH, WEN H. Systematical approach of formulation and process development using roller compaction[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2019, 73(2): 219-229.

(收稿日期: 2021-10-08; 修回日期: 2022-01-11)

multiflora Thunb. 的干燥花,具有保肝^[2]、抗炎、抑菌^[3]、抗病毒、抗肿瘤^[4]等功效,主要活性成分为三萜类(如熊果酸、齐墩果酸^[5])、黄酮类(如金丝桃苷、槲皮素^[6])、多糖等。乌梅是蔷薇科植物梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc 的干燥近成熟果实,主要活性成分为有机酸(如枸橼酸^[7])、三萜类、甾醇^[8]等,具有抑菌^[9]、镇咳^[10]、镇静催眠、抗惊厥^[11]等功效。现代药理学研究表明,乌梅对杆菌、球菌等均有较强抑制作用,与白残花相须为用,效果更甚。本研究中以综合金丝桃苷含量及提取液的浸膏得率所得综合评分为评价指标,采用正交试验法和响应面法优选了白残花-乌梅药对的提取工艺,并将2种方法进行比较。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);FA2004B 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司,精度为十万分之一);B-260 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂);DW-2 型调温电热套(通州区张芝山镇决也化工电器厂);KQ5200 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司,功率为 200 W,频率为 40 kHz);液相用溶剂过滤器;GM-0.33A 型隔膜真空泵(天津市津腾实验设备有限公司)。

1.2 试剂

金丝桃苷对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号为 19050906,纯度不低于 98%);乙腈(色谱纯,上海展云化工有限公司);其余试剂均为分析纯,试验用水为娃哈哈纯净水;白残花(批号为 210311010),乌梅(批号为 210225010),均购于苏州天灵中药饮片有限公司,经江苏省苏州市中西医结合医院于栋伟主任中药师鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 金丝桃苷含量测定

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent EC-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 4 μm);流动相:乙腈-0.1% 磷酸水溶液(15:85, V/V);

流速:1.0 mL/min;检测波长:350 nm;柱温:30℃;洗脱时间:25 min;进样量:10 μL。在此色谱条件下,供试品溶液与对照品溶液在相同保留时间有色谱峰出现,且阴性对照无干扰。色谱图见图 1。

2.1.2 溶液制备

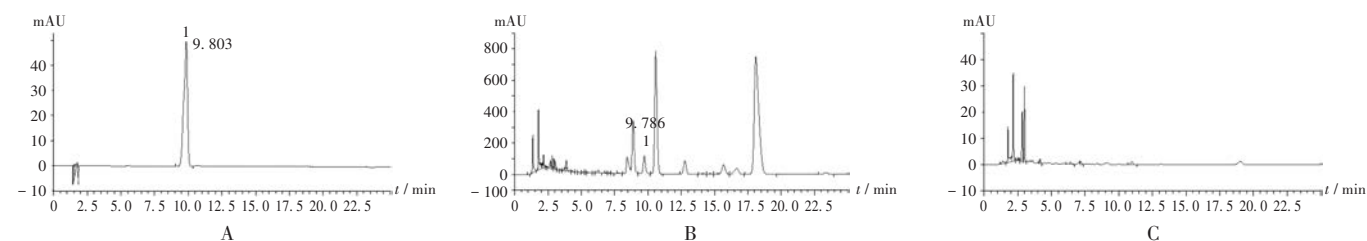
取金丝桃苷对照品 14.00 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加 100% 甲醇溶解并定容,摇匀,制成对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 1 mL,置 25 mL 容量瓶中,加 100% 甲醇溶解并定容,摇匀,即得每 1 mL 含金丝桃苷 56 μg 的对照品溶液。按处方比例 2:1(m/m)称取药材白残花 10 g、乌梅 5 g,置合适的圆底烧瓶内,按正交试验和响应面试验设计的各序列号下的条件,加水适量,回流煎煮,提取,4 层纱布过滤,合并得水煎液,冷却后记录体积;精密量取水煎液 10 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,加 100% 甲醇溶解,用 10 mL 容量瓶定容,0.45 μm 微孔有机过滤器滤过,即得供试品溶液。称取乌梅药材 10 g,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取 2.1.2 项下对照品溶液,稀释成质量浓度分别为 56.00, 14.00, 11.20, 5.60, 1.12 μg/mL 的系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 38.42X - 11.01$, $R^2 = 1.0000$ ($n = 5$)。结果表明,金丝桃苷质量浓度在 1.12~56.00 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

检测限和定量限确定:取 2.1.2 项下对照品溶液适量,加 100% 甲醇逐级稀释,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以信噪比(S/N)为 3:1 时的质量浓度为检测限,以 S/N 为 10:1 时的质量浓度为定量限。结果检测限和定量限分别为 0.113 2 μg/mL 和 0.372 3 μg/mL。

精密度试验:精密量取线性关系考察项下对照品溶液(质量浓度为 11.20 μg/mL),按 2.1.1 项下色谱条件,于同日内进样测定 6 次;每日连续进样测定 2 次,连



1. 金丝桃苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Hyperoside

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

续测定 3 d。结果峰面积的 *RSD* 分别为 0.34% 和 0.96% ($n = 6$), 表明仪器日内精密度和日间精密度均良好。

稳定性试验: 取正交试验序列列表中的 5 号水煎液, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果峰面积的 *RSD* 为 0.56% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验: 取正交试验序列列表中的 5 号水煎液, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 共 6 份, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果峰面积的 *RSD* 为 0.78% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 精密量取正交试验序列列表中的 5 号水煎液 10 mL, 共 6 份, 分别置已干燥至恒重的蒸发皿中, 蒸干, 加 100% 甲醇溶解, 用 10 mL 容量瓶定容, 精确加入金丝桃苷对照品 0.13 mg, 超声使溶解, 摇匀, 0.45 μm 微孔有机过滤器滤过, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果平均加样回收率为 96.53%, *RSD* 为 1.79% ($n = 6$)。

2.2 浸膏得率

分别取正交试验和响应面试验各组水煎液 5 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 置 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 3 h, 取出, 放入干燥器中冷却 0.5 h, 得白残花-乌梅药对提取物的干浸膏, 计算浸膏得率。

$$\text{浸膏得率} = L \times (m_2 - m_1) / l \times 1 / m \times 100\% \quad (1)$$

式中, l 为水浴浓缩的提取液体积; L 为煎煮后提取液的总体积; m 为煎煮饮片的总质量; m_1 为蒸发皿质量; m_2 为含提取液的蒸发皿质量。

2.3 单因素试验

以提取液中金丝桃苷含量为主要指标^[12-13], 同时计算浸膏得率, 进行单因素考察, 并计算综合评分。

$$\text{综合评分} = (\text{金丝桃苷含量} / \text{金丝桃苷含量最大值}) \times 70 + (\text{浸膏得率} / \text{浸膏得率最大值}) \times 30 \quad (2)$$

加水量: 按处方比例 2:1 (m/m) 称取药材白残花 10 g、乌梅 5 g, 共 5 份, 分别置合适的圆底烧瓶内, 加入 10, 15, 20, 25, 30 倍量水, 加热回流 1.0 h, 按 2.1.2 项下

方法制备供试品溶液, 再按 2.2 项下方法制备干浸膏, 按公式 2) 计算综合评分。结果加入 10~25 倍量水时, 综合评分呈递增趋势; 加入 30 倍量水时, 综合评分降低。故选择加 25 倍量水, 详见图 2 A。

提取时间: 按处方比例 2:1 (m/m) 称取药材白残花 10 g、乌梅 5 g, 共 4 份, 分别置合适的圆底烧瓶内, 加入 25 倍量水, 分别回流煎煮 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 h, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.2 项下方法制备干浸膏, 按公式 2) 计算综合评分。结果提取 1.0 h 时, 综合评分为 100.00 分。故选择提取 1.0 h, 详见图 2 B。

提取次数: 按处方比例 2:1 (m/m) 称取药材白残花 10 g、乌梅 5 g, 共 3 份, 分别置合适的圆底烧瓶内, 加入 25 倍量水, 回流提取 1.0 h, 分别提取 1 次、2 次、3 次, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.2 项下方法制备干浸膏, 按公式 2) 计算综合评分。结果综合评分随提取次数的增加而增加。故选择提取 3 次, 详见图 2 C。

2.4 正交试验优选提取工艺

按单因素试验结果, 以加水量 (因素 A)、提取时间 (因素 B)、提取次数 (因素 C) 为考察因素, 以综合评分为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验^[14-16] 优选提取工艺。因素与水平见表 1, 正交试验设计与结果见表 2。

表 1 正交试验因素与水平

Tab. 1 Factors and their levels of the orthogonal test

水平	因素 A (倍)	因素 B (h)	因素 C (次)
1	20	0.5	1
2	25	1.0	2
3	30	1.5	3

由表 2 中极差 R 值可知, 各因素对综合评分的影响顺序由大至小依次为提取次数 > 提取时间 > 加水量。采用 SPSS 26.0 统计学软件分析数据, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。方差分析结果见表 3。可见, 提取次数对综合评分影响显著, 加水量和提取时间对其影响不显著。比较 3 个影响因素的 K_1, K_2, K_3 的大小, 选定 $A_1B_2C_3$ 为最佳提取工艺, 即加 20 倍量水, 提取 3 次, 每次 1.0 h。通过试

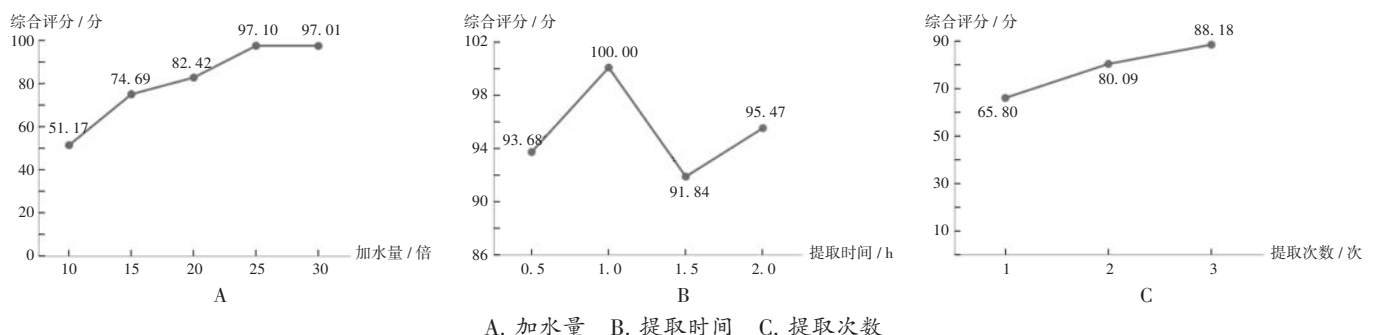


图 2 加水量、提取时间、提取次数对综合评分的影响

A. Amount of water addition B. Extraction time C. Extraction times

Fig. 2 Effects of the amount of water addition, extraction time and extraction times on the comprehensive score

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	因素A	因素B	因素C	因素D(空白)	综合评分(分)
1	1	1	1	1	68.00
2	1	2	2	2	97.25
3	1	3	3	3	87.40
4	2	1	2	3	80.09
5	2	2	3	1	88.18
6	2	3	1	2	65.80
7	3	1	3	2	88.40
8	3	2	1	3	70.83
9	3	3	2	1	84.56
K_1	252.65	236.49	204.63	240.74	
K_2	234.07	256.26	261.90	251.45	
K_3	243.79	237.76	263.98	238.32	
R	6.19	6.59	19.78	4.38	

表3 正交试验方差分析结果

Tab. 3 Results of ANOVA of the orthogonal test

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
因素A	57.577 2	2	28.788 6	1.768 9	0.361 2
因素B	81.635 1	2	40.817 6	2.507 9	0.285 1
因素C	756.289 1	2	378.144 6	23.234 1	0.041 3
误差	32.550 8	2	16.275 4		

验验证,得到综合评分为90.28分($RSD = 1.68\%$)。

2.5 响应面优选提取工艺

2.5.1 因素与水平

按单因素试验结果,并结合 Box - Behnken 响应面法的原理进行设计,以加水量(因素A)、提取时间(因素B)、提取次数(因素C)为自变量,以综合评分为响应值,采用 Box - Behnken 响应面法^[17-19]优选提取工艺。因素与水平见表4。

表4 Box - Behnken 响应面试验因素与水平

Tab. 4 Factors and their levels of the BBD - RSM

水平	因素A(倍)	因素B(h)	因素C(次)
-1	20	0.5	1
0	25	1.0	2
1	30	1.5	3

2.5.2 试验设计与结果

Box - Behnken 响应面试验设计与结果见表5。

2.5.3 模型建立与显著性分析

通过 Design - Expert 8.0.6.1 软件分析表5中17组试验数据, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。得到二元回归方程 $Y = 94.61 + 2.15A - 0.024B + 12.85C - 0.43AB - 4.56AC + 0.25BC - 3.76A^2 - 0.024B^2 - 7.02C^2$ 。其中,A,B,C系数的大小反映该因素对金丝桃苷综合评分影响的大小和方向。方差分析结果见表6。可见,该模型的

表5 Box - Behnken 响应面试验设计与结果

Tab. 5 Design and results of the BBD - RSM

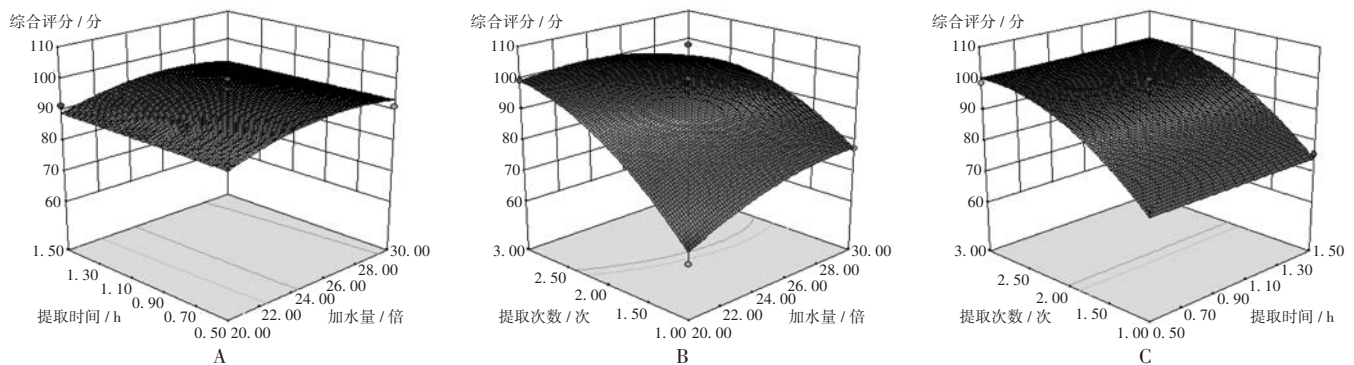
试验号	因素A(倍)	因素B(h)	因素C(次)	综合评分(分)
1	0	0	0	96.72
2	1	-1	0	91.11
3	0	-1	-1	77.48
4	0	0	0	99.95
5	0	1	1	98.16
6	-1	-1	0	89.57
7	-1	0	-1	60.50
8	-1	0	1	99.27
9	1	0	1	98.05
10	0	0	0	93.98
11	0	1	-1	75.90
12	0	0	0	90.13
13	1	1	0	91.24
14	0	0	0	92.27
15	1	0	-1	77.52
16	0	-1	1	98.73
17	-1	1	0	91.40

表6 Box - Behnken 响应面试验方差分析结果

Tab. 6 Results of ANOVA of the BBD - RSM

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1723.22	9	191.47	11.34	0.002 1
A	36.89	1	36.89	2.19	0.182 9
B	4.512E-003	1	4.512E-003	2.673E-004	0.987 4
C	1321.24	1	1321.24	78.26	<0.000 1
AB	0.72	1	0.72	0.04	0.842 0
AC	83.17	1	83.17	4.93	0.061 9
BC	0.26	1	0.26	0.02	0.905 6
A^2	59.41	1	59.41	3.52	0.102 8
B^2	2.375E-003	1	2.375E-003	1.407E-004	0.990 9
C^2	207.42	1	207.42	12.29	0.009 9
残差	118.18	7	16.88		
失拟修正	59.27	3	19.76	1.34	0.379 3
误差	58.91	4	14.73		
总误差	1841.40	16			

$F = 11.34$,显著性水平为 $P < 0.01$,具有统计学意义;模型的失拟项 $F = 1.34$,显著性水平为 $P = 0.3793 > 0.05$,此项不显著。所有数据充分显示了该模型的回归效果显著,有较好的拟合度及很高的预测准确度,故此模型可用于表示响应值与自变量间的多元回归关系。由表6中 F 值和显著水平 P 值可知,一次项中仅因素C(提取次数)有显著性($P < 0.05$),提取时间和加水量的差异均无显著性($P > 0.05$),且3种影响因素的相互作用无意义;由 F 值可知,因素C(提取次数) $>$ 因素A(加水量) $>$ 因素B(提取时间)为各个自变量对综合评分的影响顺序,



A. 提取时间 - 加水量 B. 提取次数 - 加水量 C. 提取次数 - 提取时间

图3 两因素交互作用对金丝桃苷综合评分影响的三维响应面图

A. Extraction time - amount of water addition B. Extraction times - amount of water addition C. Extraction times - extraction time

Fig.3 Three - dimensional response surface maps of the effect of two - factor interaction on the comprehensive score of hyperoside

3个交互项的偏回归系数均不显著($P > 0.05$),表明加水量、提取时间、提取次数3个影响因素的交互项对综合评分影响均不显著($P > 0.05$)。二次项中仅 C^2 (提取次数和提取次数的交互作用)差异有显著性($P < 0.05$),其余均无显著性($P > 0.05$)。

2.5.4 响应面交互作用分析

在3个影响因素中,取任意2个因素分别作为X轴和Y轴,以综合评分作为Z轴,采用Design - Expert 8.0.6.1软件创建两因素交互作用对综合评分影响的三维响应面图(图3)。在响应面图中,曲面越陡峭,则该因素对所测得含量的影响越大^[20]。

可见,综合评分随提取次数、加水量的增加而升高,其响应面图形表现得相对陡峭,且等高线轮廓近似椭圆形,表明两因素间的相互作用相对较强(图3 B);而加水量和提取时间(图3 A)、提取时间和提取次数(图3 C)的响应面图形表现的曲线较平滑,表明这些因素相互作用的影响不明显。由图3 A可知,综合评分随提取时间和加水量的增大呈现缓慢升高 - 降低趋势,但变化较小。由图3 B可知,当提取次数为1~2次时,综合评分随加水量的增大而呈现逐渐升高 - 降低趋势;当提取次数达2次以上时,综合评分随加水量的变化而呈现缓慢增加趋势;当加水量为20~25倍时,综合评分随提取次数的增加而明显升高;当加水量达25倍以上时,综合评分随提取次数的变化而呈现缓慢升高 - 降低趋势。由图3 C可知,当提取时间为0.5~1.0 h时,综合评分随提取次数的增加而明显升高;当提取时间达1.0 h以上时,综合评分随提取次数的增大而呈现升高 - 降低趋势;当提取次数为1~3次时,综合评分随提取时间的增加而呈现非常缓慢的升高趋势,变化较小。可见,加水量和提取次数对金丝桃苷综合评分的影响较强,提取时间对其影响较弱,但也有一定作用。

2.5.5 最佳条件确定及验证试验

通过Design - Expert 8.0.6.1软件求解回归方程,

得到白残花 - 乌梅药对的最佳提取条件为加26.67倍量水,提取2.65次,每次0.99 h,在此提取条件下所得理论综合评分为99.47分。根据实际情况将上述提取工艺修正为加25倍量水,提取3次,每次1.0 h。平行3次试验所得的综合评分为97.85分($RSD = 1.52\%$),表明建立的模型和实际情况基本吻合。

3 讨论

3.1 考察指标选择

白残花 - 乌梅药对对口舌生疮、口腔溃疡的治疗作用是数个物质共同作用的结果。其中,金丝桃苷具有抗真菌、抗炎、抗病毒、抗氧化等活性,是白残花药材的有效成分之一,故应选择浸膏得率、金丝桃苷含量等作为研究指标。在衡量分配系数时,金丝桃苷含量占0.7,浸膏得率占0.3。使用多指标的综合评分法避免了单一指标的片面性,可以全面地分析多种指标,且侧重主要的影响因素,使分析结果更加客观。

3.2 正交试验法与响应面法比较

正交试验中,提取次数对综合评分的影响显著($P < 0.05$),而加水量、提取时间对其影响不显著($P > 0.05$);但响应面试验分析显示,加水量和提取次数有较强的交互影响,对综合评分的影响较大。比较这2种方法,响应面法可更好地表示响应值与多因素的关系,尤其是这些因素相互间也有影响。正交试验法优选出的最佳提取工艺为加20倍量水,提取3次,每次1.0 h,综合评分为90.28分;Box - Behnken响应面法优选出的最佳提取工艺为加25倍量水,提取3次,每次1.0 h,综合评分为97.85分。故Box - Behnken响应面法更适合提取白残花 - 乌梅药对。

参考文献

- [1] 王鑫. 金庆江常用对药临床经验[J]. 中医学报, 2017, 32(3): 380 - 382.
- [2] 陈武, 熊筱娟, 李开泉. 乌索酸抗肝炎的实验和临床研究[J]. 宜春学院学报, 2001, 23(2): 1 - 3.