芩红奶牛乳房灌注液提取工艺研究

孙宏冉,杨海明,陈志强*,尚静雪
(内蒙古华天制药有限公司,内蒙古赤峰市,024070)

[收稿日期]2016-06-28　[文献标识码]A　[文章编号]1002-1280(2016)09-0026-08　[中图分类号]S853.7

[摘　要]　为了确定芩红奶牛乳房灌注液的最佳提取工艺,通过设计正交试验,筛选较适宜的溶媒、加水量、提取温度、提取时间、提取次数等。确定了芩红奶牛乳房灌注液的最佳提取工艺,为芩红奶牛乳房灌注液的生产和临床应用奠定基础。

[关键词]　芩红奶牛乳房灌注液;提取工艺;正交试验

Study on Extraction Technology of Qinhong Breast Perfusion in Cow

SUN Hong-ran, YANG Hai-ming, CHEN Zhi-qiang*, SHANG Jing-xue
(*Inner Mongolia Alex Hua Tian Pharmaceutical Co., Ltd. Inner Mongolia, Chifeng* 024070, *China*)

Abstract: This paper preparated to confirm the best extraction process of Qinhong breast perfusion in cow. This research through the orthogonal experiment, the optimum choice appropriate solvent, the amount of water, extraction temperature, extraction time, extraction times, determined the best extraction process of Qinhong breast perfusion in cow. These tests laied the foundation for production and clinical application of Qinhong breast perfusion in cow.

Key words: Qinhong breast perfusion in cow; extraction technology; orthogonal test

随着社会经济水平的发展,人民对生活质量的追求越来越高,对食品安全也更加关注。因此,乳业生产中对乳品质量控制更加严格,特别是抗生素残留是乳品检验的内容之一[1]。奶牛乳房炎是危害奶牛养殖业最大的疾病之一,对养殖经济造成巨大损失。治疗奶牛乳房炎经常使用的是抗生素类药物,虽见效较快,但大量及频繁使用抗生素造成药物残留,影响乳品的质量,并诱导耐药菌的产生[2]。因此,亟待寻求健康、绿色和无药物残留的奶牛乳房炎治疗方法。中药含有多种具有抗炎免疫等生物活性的药物,且毒副作用较小、残留少、并具有良好的免疫调节作用,被广泛应用于奶牛乳房炎防治[3]。

根据中兽医理论,奶牛乳房炎主要有乳房红、肿、热、痛等证候,可采用清热解毒、通经活血、活络通乳等治疗原则[4],可采用清热解毒药和活血通经类药物,用辅助药物以补益、理气,以扶正祛邪、补气升阳,以达到治疗奶牛乳房炎的目的[5]。本研究依据中兽医辨证论治理论,参照中兽医经典方剂,拟定以黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)和红花(*Carthamus tinctorius* L.)为君药,金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)和蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz.)为臣药的中药复方。

作者简介:孙宏冉,硕士研究生,从事中药制剂方面研究。
通讯作者:陈志强。E-mail:zhq_chen@163.com

灌注剂是乳房内药物注射方剂,直接给药起效更快,而且减少全身毒副作用,所以,灌注剂是比较理想的治疗奶牛乳房炎的剂型[6]。中药提取是中药制剂的关键环节,影响着最终药物制剂的质量和成本,以及中药制药业的现代化水平[7]。本研究拟采用正交试验设计和单因素试验结合的方法,结合高效液相色谱检测技术,选择较适宜的溶媒、加水量、提取温度、提取时间、提取次数等,确定芩红奶牛乳房灌注液的最佳提取工艺。

1　材料与仪器

1.1　中药材　黄芩(批号为 WT20150268,规格为 50kg/袋);红花(批号为 WT20150264,规格为 50kg/袋);金银花(批号为 WT20150263,规格为 50kg/袋);蒲公英(批号为 WT20150281,规格为 50kg/袋)。以上药材均由甘肃蒙吉药业科技有限责任公司提供。

1.1.2　试剂　甲醇、乙腈,国药集团化学试剂有限公司生产;冰醋酸、NaOH、无水乙醇,天津市恒兴化学试剂制造有限公司生产;磷酸,沈阳市华东试剂厂生产。

1.1.3　对照品　黄芩苷对照品(批号为 27HQ-2MM4,规格为 20 mg,93.3%)、羟基红花黄色素 A 对照品(批号为 B8VC-RY8L,规格为 20 mg,96.5%)、咖啡酸对照品(批号为 X5CL-9XL1,规格为 40 mg,97.3%),中国食品药品检定研究院提供;绿原酸对照品(批号为 Z0261407,规格为 20 mg,97.3%),由中国兽医药品监察所提供。

1.2　仪器　高效液相色谱仪(型号为 LC-2010CHT),日本岛津公司生产;色谱柱(型号为 4.6 mm×150 mm,5 μ),日本岛津公司生产;集热式磁力加热搅拌器(型号为 DF-101S),金坛市瑞华仪器有限公司生产;旋转蒸发仪(型号为 RE52-99),循环水式真空泵(型号为 SHZ-Ⅲ),上海亚荣生化仪器厂生产。

2　方法

2.1　提取工艺

2.1.1　黄芩　根据黄芩苷的性质,选择水作为提取溶媒,设计 $L_8(2^7)$ 正交试验,优选黄芩药材的提取工艺。考察因素有提取加水量(A)、提取次数(B)、提取时间(C)、溶解沉淀加水量(D)、调碱 pH(E)和保温时间(F),以黄芩苷得率为评价指标,因素水平如表 1。

表 1　黄芩提取工艺因素水平表

水平	加水量/倍	提取次数/次	提取时间/h	溶解沉淀加水量/倍	调碱 pH	保温时间/h	空列
1	8	2	1.5	6	6.5~7.0	0.5	1
2	10	3	2	8	7.0~7.5	1	2

2.1.2　红花　溶媒的选择取红花 3 组各 15 g,分别加入 225 mL 水、225 mL 30% 乙醇和 225 mL 50% 乙醇,分别 98℃提取 2 次,每次 1.5 h,药液分别减压浓缩至 50 mL,高效液相色谱法测定红花黄色素含量确定合适溶媒。

提取工艺的选择根据试验前单因素试验考察的结果,设计 $L9(3^4)$ 正交试验,优选红花药材的提取工艺。考察因素有提取加水量(A)、提取温度(B)、提取次数(C)、每次提取时间(D),每个因素选取 3 个水平,提取液均浓缩至 50 mL,以提取液中羟基红花黄色素 A 的含量为评价指标,因素水平如表 2。

表 2　红花提取工艺因素水平表

水平	A 加水量/倍	B 提取温度/℃	C 提取次数/次	D 提取时间/h
1	10	60	1	1
2	15	80	2	1.5
3	18	98	3	2

2.1.3　金银花　溶媒的选择和提取工艺方法同2.1.2,提取液均浓缩至100 mL,以提取液中绿原酸的含量为评价指标。

2.1.4　蒲公英　溶媒的选择和提取工艺方法同2.1.2,提取液均浓缩至50 mL,以提取液中咖啡酸的含量为评价指标。

2.2　有效成分含量检测方法

2.2.1　黄芩苷含量测定　色谱条件流动相为甲醇-水-冰醋酸(50:50:1);流速为1 mL/min;柱温25℃;检测波长为278 nm;进样量为10 μL;运行时间为30 min。

标准曲线精密称取黄芩苷对照品100.55 mg,溶于50%甲醇中并定容至100 mL制成对照品溶液母液,分别吸取母液3、4、5、6和7 mL,加50%甲醇定容至25 mL,制成浓度分别为98.10、130.80、163.49、196.19和228.89 μg/mL的供试品溶液,按上述色谱条件分别测定5种浓度供试品的峰面积,以峰面积为纵坐标,以对照品的浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。

供试品溶液的制备取按正交试验方法提取的黄芩苷粉末,精密称定,置于50 mL容量瓶中,加50%甲醇超声溶解并定容至刻度,摇匀,用0.45 μm滤膜过滤即得。

含量测定按上述色谱条件分别测定9个黄芩苷样品中黄芩苷的含量。

2.2.1　羟基红花黄色素A含量测定　色谱条件流动相为甲醇-乙腈-0.7%磷酸(26:2:72);流速为1 mL/min;柱温25℃;检测波长为403 nm;进样量为10 μL;运行时间为30分钟。

标准曲线精密称取羟基红花黄色素对照品5.03 mg,溶于25%甲醇并定容至25 mL制成对照品溶液母液,分别吸取母液1、3、5、7和8 mL,加25%甲醇定容至25 mL,制成浓度分别为7.77、23.30、38.83、54.36和62.13 μg/mL的对照品溶液,按上述色谱条件分别测定5种浓度对照品的峰面积,以峰面积为纵坐标,以对照品的浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。

供试品溶液的制备取按正交试验方法提取的红花提取液,分别吸取1 mL,置于50 mL容量瓶中,加25%甲醇定容至刻度,摇匀,用0.45 μm滤膜过滤即得。

含量测定按上述色谱条件分别测定9个红花样品中羟基红花黄色素的含量。

2.2.3　绿原酸含量测定　色谱条件流动相为甲醇-水-冰醋酸(20:80:1);流速为1 mL/min;柱温25℃;检测波长为324 nm;进样量为10 μL;运行时间为30 min。

标准曲线精密称取绿原酸对照品10.68 mg,溶于水中并定容至25 mL制成对照品溶液母液,分别吸取母液1、3、5、7和8 mL,加水定容至50 mL,制成浓度分别为16.63、49.88、83.13、116.39和133.01 μg/mL的供试品溶液,按上述色谱条件分别测定5种浓度对照品的峰面积,以峰面积为纵坐标,以对照品的浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。

供试品溶液的制备取按正交试验方法提取的金银花提取液,分别吸取1 mL,置于50 mL容量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,用0.45 μm滤膜过滤即得。

含量测定按上述色谱条件分别测定9个金银花样品中绿原酸的含量。

2.2.4　咖啡酸含量测定　色谱条件流动相为甲醇-磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钠1.56 g,加水使溶解成1000 mL,再加1%磷酸溶液调节pH值至3.8~4.0,即得)(23:77);流速为1 mL/min;柱温25℃;检测波长为323 nm;进样量为10 μL;运行时间为30分钟。

标准曲线精密称取咖啡酸对照品6.28 mg,溶于甲醇中并定容至50 mL制成对照品溶液母液,分别吸取母液3、4、5、6和7 mL,加甲醇定容至25 mL,制成浓度分别为15.06、20.08、25.10、30.12和35.14 μg/mL的供试品溶液,按上述色谱条件分别测定5种浓度对照品的峰面积,以峰面积为纵坐标,以对照品的浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。

供试品溶液的制备取按正交试验方法提取的蒲公英提取液,分别吸取5 mL,置于50 mL容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,用0.45 μm滤膜过滤即得。

含量测定按上述色谱条件分别测定9个蒲公英样品中咖啡酸的含量。

2.3　数据处理　应用"正交试验设计助手ⅢV3.1"设计正交表,并进行数据处理。

3　结　果

3.1　芩红奶牛乳房灌注液的回归方程和线性关系

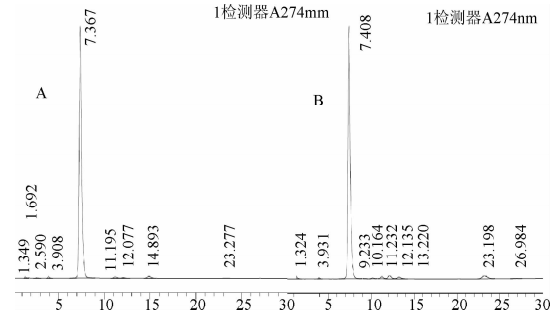
芩红奶牛乳房灌注液的4种成分的回归方程和线性关系见表3。

表 3　芩红奶牛乳房灌注液 4 种成分的回归方程和线性关系

成分	回归方程	R^2	线性关系/(μg·mL^{-1})
黄芩苷	y=40947x-94268	0.9998	98.10~228.89
羟基红花黄色素 A	y=34003x-12361	0.9999	7.77~62.13
绿原酸	y=33008x+12768	0.9998	16.63~133.01
咖啡酸	y=48372x+1230	1.0000	15.06~35.14

3.2　芩红乳房灌注液溶媒选择结果　溶媒选择结果表明,芩红灌注液中 3 种中药用 3 种溶媒提取有效成分含量差异不大,虽然 30% 或 50% 乙醇提取的效果稍好,但提取液较浑浊,而且浓缩时产生大量气泡,影响浓缩效率,另外,考虑生产中的经济因素和安全因素,3 种中药均选择用水做溶媒。

3.3　黄芩提取正交试验结果　黄芩苷含量测定结果见图 1。



A. 黄芩苷对照品溶液;B. 黄芩苷溶液

图 1　黄芩苷 HPLC 图

表 4　黄芩提取工艺正交试验结果

因素	A 加水量/倍	B 提取次数/次	C 提取时间/h	D 溶解沉淀加水量/倍	E 调碱 pH	F 保温时间/h	G 空列	黄芩苷纯品质量/g
1	8	2	1.5	6	6.5~7.0	0.5	1	0.613
2	8	2	1.5	8	7.0~7.5	1	2	0.662
3	8	3	2	6	6.5~7.0	1	2	1.824
4	8	3	2	8	7.0~7.5	0.5	1	1.539
5	10	2	2	6	7.0~7.5	0.5	2	1.113
6	10	2	2	8	6.5~7.0	1	1	1.371
7	10	3	1.5	6	7.0~7.5	1	1	1.401
8	10	3	1.5	8	6.5~7.0	0.5	2	1.501
均值 1	1.159	0.940	1.044	1.238	1.327	1.192	1.231	
均值 2	1.346	1.566	1.462	1.268	1.179	1.315	1.275	
极差	0.187	0.626	0.418	0.030	0.148	0.123	0.044	
主次顺序	B>C>A>E>F>D							
优水平	A2	B2	C2	D2	E1	F2		
优组合	A2B2C2D2E1F2							

表 5　黄芩提取工艺的方差分析结果

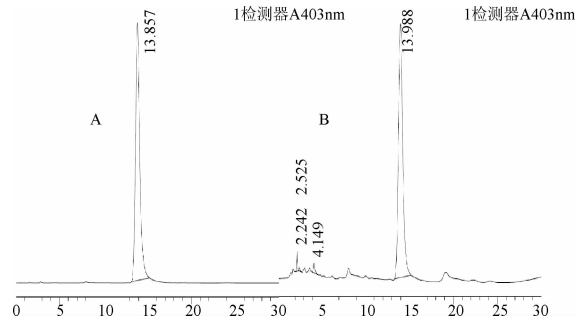
因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
加水量	0.07	1	17.500	161.0	
提取次数	0.784	1	196.000		*
提取时间	0.349	1	87.250		
溶解沉淀加水量	0.002	1	0.500		
调碱 PH	0.044	1	11.000		
保温时间	0.03	1	7.500		
误差	0.004	1			

F 比大于 F 临界值即为该因素影响显著。

由表 4 直观分析可知,各因素对黄芩提取效率影响主次顺序为 B>C>A>E>F>D,即提取次数

影响最大,其次是提取时间和加水量,调碱 pH、保温时间和溶解沉淀加水量对提取效果影响较小;黄芩最佳提取工艺为 $A_2B_2C_2D_2E_1F_2$,即加 10 倍水,提取 3 次,每次 2 h,溶解沉淀加 8 倍量水,加 20% NaOH 调 pH 至 6.5 ~ 7.0,酸沉时保温时间为 1 h;由表 5 方差分析结果可知,提取次数和提取时间对黄芩提取效果具有显著的影响。

3.4　红花含量测定结果　羟基红花黄色素 A 含量测定结果见图 2。



A. 羟基红花黄色素 A 对照品溶液;B. 红花提取液。

图 2　红花提取液 HPLC 图

表 6　红花提取工艺正交试验结果

因素	A 加水量/倍	B 提取温度/℃	C 提取次数/次	D 提取时间/h	羟基红花黄色素 A 含量/(mg·mL^{-1})
1	10	60	1	1	2.058
2	10	80	2	1.5	3.509
3	10	98	3	2	3.594
4	15	60	2	2	4.246
5	15	80	3	1	4.377
6	15	98	1	1.5	2.474
7	18	60	3	1.5	5.167
8	18	80	1	2	3.116
9	18	98	2	1	4.049
均值 1	3.054	3.824	2.549	3.495	
均值 2	3.699	3.667	3.935	3.717	
均值 3	4.111	3.372	4.379	3.652	
极差	1.057	0.452	1.83	0.222	
主次顺序			C > A > B > D		
优水平	A3	B1	C3	D2	
优组合			A3 B1 C3 D2		

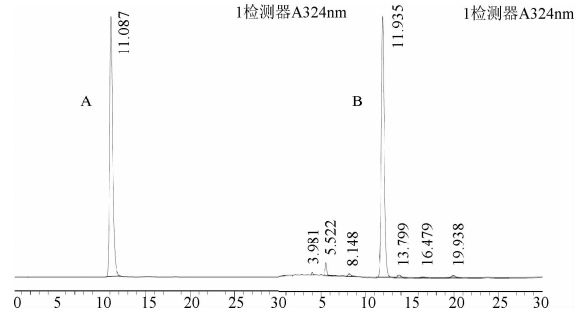
表 7　红花提取工艺的方差分析结果

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
加水量	1.703	2	21.833	F0.05(2,2) = 19	*
提取温度	0.315	2	4.038	F0.01(2,2) = 99	
提取次数	5.466	2	70.077		*
提取时间(误差)	0.078	2	1.000		

F 比大于 F 0.01 临界值即为该因素影响极显著,F 比大于 F0.05 临界值即为该因素影响显著。

根据表 6 直观分析可知,各因素对红花提取效率影响主次顺序为 C > A > B > D,即提取次数影响最大,其次是加水量,提取温度和每次提取时间对提取效果影响较小;红花最佳提取工艺为 $A_3B_1C_3D_2$,即 18 倍水,60℃提取,提取 3 次,每次1.5 h;由表 7 方差分析结果可知,加水量和提取次数对红花提取效果的影响显著。

3.5　金银花含量测定结果　绿原酸含量测定结果见图 3。



A. 绿原酸对照品溶液;B. 金银花提取液

图 3　金银花提取液 HPLC 图

表 8　金银花正交试验结果

因素	A 加水量/倍	B 提取温度/℃	C 提取次数/次	D 提取时间/h	绿原酸含量/(mg·mL^{-1})
1	1	1	1	1	2.461
2	1	2	2	2	4.003
3	1	3	3	3	4.371
4	2	1	2	3	4.479
5	2	2	3	1	4.984
6	2	3	1	2	3.093
7	3	1	3	2	4.876
8	3	2	1	3	3.322
9	3	3	2	1	4.585
均值 1	3.612	3.939	2.959	4.01	
均值 2	4.185	4.103	4.356	3.991	
均值 3	4.261	4.016	4.744	4.057	
极差	0.649	0.164	1.785	0.066	
主次顺序			C > A > B > D		
优水平	A3	B2	C3	D3	
优组合			A3 B2 C3 D3		

表 9　金银花提取工艺的方差分析结果

因素	偏差平方和	自由度	均方	F 比	F 临界值	显著性
加水量	0.756	2	0.378	108.000	F0.05(2,2) =19	* *
提取温度	0.041	2	0.0205	5.857	F0.01(2,2) =99	
提取次数	5.288	2	2.644	755.429		* *
提取时间(误差)	0.007	2	0.0035	1.000		

F 比大于 F0.01 临界值即为该因素影响极显著,F 比大于 F0.05 临界值即为该因素影响显著。

根据表 8 直观分析可知,各因素对金银花提取效率影响主次顺序为 C > A > B > D,即提取次数影响最大,其次是加水量,提取温度和每次提取时间对提取效果影响较小;金银花最佳提取工艺为 $A_3B_2C_3D_3$,即 18 倍水,80℃提取,提取 3 次,每次2 h;由表 9 方差分析结果可知,加水量和提取次数对红花提取效果的影响极显著。

3.6　蒲公英测定结果　咖啡酸含量测定结果见图4。

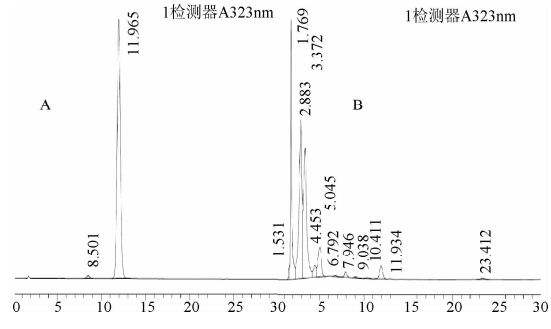


图 4　蒲公英提取液 HPLC 图

A. 咖啡酸对照品溶液;B. 金银花提取液

表 10　蒲公英正交试验结果

因素	加水量/倍	提取温度/℃	提取次数/次	提取时间/h	咖啡酸含量/(mg·mL^{-1})
1	1	1	1	1	0.001
2	1	2	2	2	0.092
3	1	3	3	3	0.315
4	2	1	2	3	0.233
5	2	2	3	1	0.118
6	2	3	1	2	0.161
7	3	1	3	2	0.285
8	3	2	1	3	0.08
9	3	3	2	1	0.203
均值 1	0.136	0.173	0.081	0.107	

续表

因素	加水量/倍	提取温度/℃	提取次数/次	提取时间/h	咖啡酸含量/(mg·mL^{-1})
均值2	0.171	0.097	0.176	0.179	
均值3	0.189	0.226	0.239	0.209	
极差	0.053	0.129	0.158	0.102	
主次顺序	C>B>D>A				
优水平	A3	B3	C3	D3	
优组合	A3B3C3D3				

表11　蒲公英提取工艺的方差分析结果

因素	偏差平方和	自由度	均方	F比	F临界值	显著性
加水量(误差)	0.004	2	0.002	1	F0.05(2,2)=19	
提取温度	0.025	2	0.0125	6.25	F0.01(2,2)=99	
提取次数	0.038	2	0.019	9.5		
提取时间	0.016	2	0.008	4		

根据表10直观分析可知,各因素对蒲公英提取效率影响主次顺序为C>B>D>A,即提取次数影响最大,其次是提取温度,提取时间和加水量对提取效果影响较小;金银花最佳提取工艺为$A_3B_3C_3D_3$,即18倍水,98℃提取,提取3次,每次2 h。由表11方差分析结果可知,各因素对蒲公英提取效果的影响均不显著。

3.7　工艺验证试验　根据正交试验结果筛选的工艺条件,对芩红乳房灌注液的4种药材分别进行3批验证试验。以最佳工艺进行提取,黄芩苷的含量约4.826 mg/mL,咖啡酸的含量约为为1.499 g/30 g,羟基红花黄色素A的含量约为4.569 mg/mL,绿原酸含量约为0.320 mg/mL。正交试验所得结论符合实际提取结果,且结果稳定可靠。

4　讨论与小结

4.1　评价指标的选择　浸出物是中药复方的药效物质基础,浸出物中有效成分含量的变化最终影响药物的临床疗效。芩红乳房灌注液主要用于治疗奶牛乳房炎,具有化瘀止痛、消肿通乳的功效,黄芩苷为方中君药黄芩的主要成分,具有抑菌、抗炎等功效[8];红花黄色素A为方中君药红花药理功效的最有效水溶性部位,可抑制血小板激活因子诱发的血小板聚集与释放,可竞争性地抑制血小板激活因子与血小板受体的结合,是红花黄色素的活血化瘀有效成分[9];绿原酸是金银花的主要抗菌、抗病毒有效药理成分之一;蒲公英中的咖啡酸具有抗氧化、抗炎的功效。因此,本研究中考察的4种指标,均为芩红乳房灌注液中治疗奶牛乳房炎的有效成分,且含量均较高。

4.2　正交因素与水平的选择　中药的浸提时间主要取决于:①浸提热力学因素,每次浸提能达到或接近浸提热力学的平衡点,而达到平衡点需要一定的时间[10];②浸出成分的化学稳定性,如果浸出成分的化学稳定性差,有可能在浸出过程中尚未达到平衡点就已经发生化学变化,化学稳定性差的成分在浸提时不允许提取时间太长;③浸出产品生产的时空因素,在化学成分稳定性良好的情况下,浸提时间也不能无限制的增加,要有效的利用装置的空间和时间得到最大的产出,所以在提取时间水平的选择上,选择1、1.5和2 h。

中药浸提过程中,要通过提高浸提温度,提高分子的运动速度,较快的达到热力学平衡点,但浸提温度对药材中热敏性物质可能会有影响,如果温度过高可能会影响其稳定性。因此,在浸提工艺中要选择合适的浸提温度[11]。本研究中分别设置60℃、80℃和98℃(沸腾)3个水平,研究结果表明,羟基红花黄色素A[12]和绿原酸[13]对热较敏感,最佳提取温度分别为60℃和80℃。

理论上,浸提次数越多,有效成分的浸出率越高,研究表明,次数愈靠后的浸提,该次浸提的收率愈低,所以考虑到成本,本研究设置1、2和3次3个水平。研究结果表明,浸提次数对提取效果的影响较大,故芩红乳房灌注液中4种中药的提取均采用3次提取。

溶剂倍量越大,达到浸出平衡时的药材浸出得率越高,考虑到成本等因素,本研究设置10倍、15倍和18倍加水量3个水平。

4.3　小结　本研究通过正交试验确定4味中药的

提取工艺,黄芩最佳提取工艺为 $A_2B_2C_2D_2E_1F_2$,即加 10 倍水,提取 3 次,每次 2 h,溶解沉淀加 8 倍量水,加 20% NaOH 调 PH 至 6.5~7.0,酸沉时保温时间为 1 h;红花最佳提取工艺为 18 倍水,60℃提取 3 次,每次 15 h;金银花最佳提取工艺为 18 倍水,80℃提取 3 次,每次 2 h;蒲公英最佳提取工艺为 18 倍水,98℃提取 3 次,每次 2 h。芩红奶牛乳房灌注液提取工艺的研究为其规模生产及临床应用奠定了基础。

参考文献:

[1] 王金君, 辛萍萍, 孙黎明, 等. 中药组方治疗奶牛乳房炎效果研究[J]. 现代畜牧兽医, 2016, 5: 1 - 4.

[2] 徐继英, 刘俊林, 李先波, 等. 我国部分地区奶牛乳房炎源大肠杆菌生物学特性及耐药性分析[J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(9): 1035 - 1041.

[3] 李成应. 治疗奶牛乳房炎的复方中药制剂的开发研究[D]. 内蒙古农业大学, 2008.

[4] 路孝兵. 奶牛乳房炎中药"蒲和饮"透皮剂的研制及临床药效试验[D]. 重庆: 西南大学, 2014.

[5] 卢 超. 丹参酮乳房灌注剂制备工艺及质量标准研究[D]. 兰州: 兰州畜牧与兽药研究所, 2014.

[6] 高庆田,朱其苏. "中药乳炎消油剂"临床应用综述[J]. 中国奶牛,2000,04:36 - 37.

[7] 刘明言, 王帮臣. 用于中药提取的新技术进展[J]. 中草药, 2010, 41(2): 169 - 175.

[8] 刘 彬, 卢 军. 黄芩苷对单核细胞增生李斯特氏菌的体外抑菌作用研究[J]. 安徽医药, 2016, 20(2): 244 - 246.

[9] 崔 猛. 红花成分及提取工艺研究[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2014.

[10] 曹光中. 中药浸提物生产工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.

[11] 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.

[12] 张 静, 陈红专, 王海亮. 红花中羟基红花黄色素 A 的提取纯化工艺研究[J]. 中国医学报, 2013,41(6): 13 - 15.

[13] 马凌云. 金银花绿原酸水提、膜处理及喷雾干燥工艺研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2010.

(编 辑:陈 希)