

星点设计-效应面法结合主成分分析法 优选心脑血管苏颗粒醇提工艺

李姗姗¹, 张咏梅², 蒋志涛², 潘金火^{1*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210023; 2. 张家港市中医医院, 江苏 张家港 215600)

[摘要] **目的:** 优选心脑血管苏颗粒的醇提工艺条件, 为该制剂的成型工艺研究提供参考。**方法:** 在单因素试验基础上, 选择乙醇体积分数、加液量、提取时间为自变量, 以抗凝血酶效价、丹参酮 II_A 和隐丹参酮提取量的总评“归一值”为因变量, 通过星点设计-效应面法优选心脑血管苏颗粒醇提工艺, 利用主成分分析法对优选的提取工艺进行分析与验证。采用 HPLC 测定丹参酮 II_A 和隐丹参酮的含量, 流动相甲醇-水 (75:25), 检测波长 270 nm。**结果:** 最佳醇提工艺为加 8 倍量 70% 乙醇提取 120 min, 提取数 1 次。丹参酮 II_A 和隐丹参酮的平均提取量分别为 0.523, 0.225 mg·g⁻¹, 抗凝效价平均值 92.599 U·g⁻¹, 总评“归一值”预测值和实测值的偏差 2.9%。**结论:** 优选的提取工艺简单、稳定、可行, 为心脑血管苏颗粒的成型工艺研究奠定基础。

[关键词] 心脑血管苏颗粒; 抗凝活性; 主成分分析法; 丹参酮 II_A; 隐丹参酮

[中图分类号] R283.6; R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)04-0015-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016040015

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151229.1128.012.html>

[网络出版时间] 2015-12-29 11:28

Optimization of Ethanol Extraction Technology of Xinnaosu Granules by Central Composite Design-response Surface Methodology and Principal Component Analysis

LI Shan-shan¹, ZHANG Yong-mei², JIANG Zhi-tao², PAN Jin-huo^{1*}

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
2. Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiagang 215600, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize ethanol extraction technology of Xinnaosu granules and provide a reference for molding technology of this preparation. **Method:** Based on single factor tests, taking overall desirability of extracting amounts of tanshinone II_A and cryptotanshinone, activity of anti-thrombin as index, ethanol concentration, the amount of ethanol and extraction time were selected by central composite design-response surface methodology, extraction technology was analyzed and verified by principal component analysis. HPLC was adopted to determine contents of tanshinone II_A and cryptotanshinone with isocratic elution of methanol-water (75:25) and detection wavelength at 270 nm. **Result:** Optimum extraction process conditions was as follows: extracted 120 min with 8 times the amount of 70% ethanol. Extracting amounts of tanshinone II_A and cryptotanshinone were 0.523, 0.225 mg·g⁻¹, activity of anti-thrombin was 92.599 U·g⁻¹. Overall desirability deviated 2.9% by comparing with the predictive value. **Conclusion:** This optimized process is simple and reliable with high predictability, which can lay foundation for molding technology of Xinnaosu granules.

[收稿日期] 20150628(005)

[基金项目] 江苏省科技厅社会发展项目 (BE2009682)

[第一作者] 李姗姗, 在读硕士, 从事中药新剂型开发研究, Tel:18351895063, E-mail:liss1410@163.com

[通讯作者] *潘金火, 博士, 教授, 从事中药新剂型开发研究, Tel:13951856876, E-mail:panjinhuo@163.com

[Key words] Xinnaosu granules; anticoagulant activity; principal component analysis; tanshinone II_A; cryptotanshinone

心脑血管颗粒处方化裁源自补阳还五汤,是张家港市中医医院名老中医多年临床实践形成的经验方,由丹参、三七、黄芪、红花、川芎等共 8 味药材组成,具有行气活血、化痰祛瘀、通脉止痛之功效,临床主要用于治疗气滞血瘀所致的动脉硬化、缺血性脑中风、脑出血后遗症及冠心病、心绞痛等。关于丹参、三七等中药及复方活血化瘀、抗凝的功效已有大量报道,如周娟等^[1]通过大鼠血栓模型观察到丹参酮 II_A 静脉乳剂可以抑制血栓形成,减少红细胞聚集,有活血化瘀的功效。本课题组前期已证实心脑血管提取物活血化瘀的功效^[2],现尝试将《中国药典》2010 年版中水蛭的抗凝效价方法^[3]用于心脑血管颗粒醇提工艺的优选,以丹参酮 II_A、隐丹参酮提取量及抗凝效价的总评“归一值”为综合评价指标,采用星点设计-效应面法优选心脑血管颗粒的醇提工艺,为该药的开发与推广提供参考。为了验证抗凝效价作为一个优选指标的合理性,本实验采用主成分分析法将 3 个指标降维处理转化为 1 个指标,用以验证提取工艺的合理性。

1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,含 2998 型紫外检测器,Empower 色谱工作站),AG135 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),A1104N 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。

丹参、黄芪、三七、红花、川芎等饮片均购自安徽省万生中药饮片有限公司,经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下规定。凝血酶、纤维蛋白原、丹参酮 II_A 和隐丹参酮对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 140625-201411,140607-201338,110766-200619,110852-200806),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹参酮 II_A 和隐丹参酮的含量测定^[4]

2.1.1 色谱条件 Hadera ODS-2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(75:25),检测波长 270 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II_A 和隐丹参酮对照品 13.3, 12.6 mg, 分别置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,各精密吸取 1 mL

于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,得质量浓度分别为 53.2, 50.4 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。分别精密吸取丹参酮 II_A 和隐丹参酮对照品溶液各 1 mL,置于 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇定容,配成质量浓度分别为 5.32, 5.04 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 按处方比例称取各饮片,分别按一定条件回流提取,滤过,滤液冷却后定容,精密吸取 10 mL 置蒸发皿中,水浴蒸干,加甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,滤过,即得。

2.1.4 阴性样品溶液的制备 按处方比例称取其各药材(除去丹参),按 2.1.3 项下方法处理,得阴性样品溶液。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液,加甲醇稀释,配制系列质量浓度对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得丹参酮 II_A 和隐丹参酮的回归方程分别为 $Y = 162\ 957X - 110\ 925$ ($r = 0.999$), $Y = 192\ 456X + 85\ 119$ ($r = 0.999$),线性范围依次为 5.32 ~ 53.2, 5.04 ~ 50.4 mg·L⁻¹。

2.1.6 精密度试验 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 6 次,结果丹参酮 II_A 和隐丹参酮峰面积的 RSD 分别为 0.5%, 1.2%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 重复性试验 称取 6 份处方量饮片,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果丹参酮 II_A 和隐丹参酮峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 1.8%,表明该方法重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别在制备后 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算丹参酮 II_A 和隐丹参酮峰面积的 RSD 分别为 0.7%, 1.3%,表明 2 种成分在 24 h 内稳定。

2.1.9 加样回收试验 分别取已知含量的供试品溶液 6 份,各 10 mL,精密加入 0.53 g·L⁻¹ 丹参酮 II_A 和 0.25 g·L⁻¹ 隐丹参酮对照品溶液各 0.5 mL,蒸干,加甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,按 2.1.1 项下条件测定,结果平均加样回收率分别为 101.21%, 100.41%, RSD 依次为 2.4% 和 2.2%。

2.2 抗凝活性的评价^[5-7]

2.2.1 凝血酶溶液配制 用 0.9% 生理盐水配成 40 U·mL⁻¹ 凝血酶溶液, -40 °C 冷冻保存,临用前解冻。

2.2.2 缓冲液配制 取 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三羟甲基氨基甲烷溶液 25 mL 与 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液约 40 mL, 加水至 100 mL, 调节 pH 7.4, 加入纤维蛋白原 0.5 g, 得 0.5% 纤维蛋白原的三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液。

2.2.3 阴性溶液配制 精密称取 NaCl 固体 0.9 g, 加入 100 mL 水中, 待其溶解后用 $0.2 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 配成 0.9% 氯化钠溶液, 作为阴性溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 精密量取提取液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加 0.9% 生理盐水稀释至刻度, 即得。

2.2.5 样品测定 参照 2010 年版《中国药典》水蛭抗凝活性评价方法, 精密量取供试品溶液 $100 \mu\text{L}$, 置试管 (8 mm × 38 mm) 中, 加入含 0.5% 纤维蛋白原 (牛) (以凝固物计) 的三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液 (临用配制) $200 \mu\text{L}$, 摇匀, 置水浴中 (37 ± 0.5) °C 温浸 5 min, 滴加每 1 mL 中含 40 单位的凝血酶溶液 (每分钟滴加 1 次, 每次 $5 \mu\text{L}$, 至凝固, 记录消耗凝血酶溶液的体积, 按 $U = C_1 V_1 / C_2 V_2$ 计算, 式中 U 为每 1 g 含凝血酶活性单位, C_1 为凝血酶溶液的浓度, C_2 为供试品溶液的浓度, V_1 为消耗凝血酶溶液的体积, V_2 为供试品溶液的加入量。

2.3 单因素试验考察

2.3.1 提取次数 按处方比例称取各饮片, 加 8 倍量 70% 乙醇提取 3 次, 每次 1.5 h, 滤过, 每次提取液单独放置并加 70% 乙醇定容至 500 mL, 计算丹参酮 II_A 提取量分别为 0.445 6, 0.061 5, 0.002 1 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 隐丹参酮提取量依次为 0.152 6, 0.022 5, 0.001 0 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 故确定提取数为 1 次, 每次 1.5 h。

2.3.2 乙醇体积分数 按处方比例称取各药材饮片, 共 5 份, 分别加 8 倍量体积分数为 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 的乙醇溶液回流提取 1 次, 每次 1.5 h。结果丹参酮 II_A 提取量分别为 0.391 4, 0.542 6, 0.559 7, 0.555 3, 0.550 8 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 隐丹参酮提取量依次为 0.155 5, 0.201 6, 0.216 2, 0.202 5, 0.188 1 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 故选定乙醇体积分数上限 90%, 下限 50%。

2.3.3 溶剂用量 按处方比例称取各药材饮片, 共 5 份, 分别加入 4, 6, 8, 10, 12 倍量 70% 乙醇回流提取 1.5 h, 结果丹参酮 II_A 提取量分别为 0.364 2, 0.478 1, 0.555 6, 0.562 1, 0.567 1 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 隐丹参酮提取量依次为 0.162 2, 0.173 6, 0.203 3, 0.212 1, 0.211 4 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 故设定溶剂用量下限 4 倍量, 上限 12 倍量。

2.3.4 提取时间 按处方比例称取各药材饮片, 共 5 份, 分别加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 0.5, 1, 2, 3, 3.5 h, 计算丹参酮 II_A 提取量分别为 0.422 4, 0.476 5, 0.498 9, 0.476 7, 0.432 2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 隐丹参酮提取量依次为 0.147 3, 0.169 4, 0.198 7, 0.183 7, 0.153 2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 故选择提取时间 0.5 ~ 3.5 h。

2.4 星点设计-效应面法优选醇提工艺

2.4.1 试验设计及分析 根据 Box-Behnken 中心组合原理, 结合单因素试验结果, 选取乙醇体积分数、加液量、提取时间为考察因素。因提取次数为非连续性数据, 故选取提取数为 1 次, 准确按处方比例称取各药材饮片 20 份, 每份 57.5 g, 根据设计方案进行三因素五水平的响应面试验, 用代码 $-\alpha$, -1 , $0, 1, \alpha$ ($\alpha = 1.732$) 表示。试验安排及结果见表 1。以丹参酮 II_A (Y_1), 隐丹参酮 (Y_2) 提取量及抗凝活性 (Y_3) 数值标准化为 0 ~ 1 的“归一值”, 将“归一值”求算几何平均数, 得总评“归一值” (overall desirability, OD)。 $OD = (d_1 d_2 \cdots d_n)^{1/n}$, n 为指标数, $d_{\min} = (y_{\max} - y_i) / (y_{\max} - y_{\min})$, $d_{\max} = (y_i - y_{\min}) / (y_{\max} - y_{\min})$, 其中 y_i 为评价指标的实测值, y_{\min} 为该评价指标的最小值, y_{\max} 为该评价指标的最大值。抗凝活性、丹参酮 II_A 和隐丹参酮提取量越大越好。

2.4.2 模型拟合与显著性检验 试验数据运用 Statistica 7.0 软件进行响应面分析, 以各 OD (Y) 对各单因素进行多元线性回归和二项式拟合, 得回归方程 $Y = -4.726 + 0.110X_1 - 0.00087X_1^2 + 0.231X_2 - 0.021X_2^2 + 0.014X_3 - 0.00008X_3^2 + 0.00077X_1X_2 + 0.00005X_1X_3 + 0.00052X_2X_3$ ($R^2 = 0.9813$), 对模型采用 F 检验进行方差分析, 见表 2。结果显示各因素对抗凝活性、丹参酮 II_A 和隐丹参酮提取量的影响顺序为 $X_3 > X_2 > X_1$, 二项式模型 $P < 0.001$, 达到极显著水平, 说明该方程与实际情况拟合度良好, 且相对于多元线性拟合的相关系数有提高, 表明该方程有较大的可信度, 预测性较好, 可利用该模型分析预测心脑血管颗粒的工艺条件。

2.4.3 工艺优化与预测 根据星点试验结果应用 Statistica 7.0 软件绘制 OD 的三维效应面图, 见图 1。对二项式回归模型进行预测分析, 结合实际操作的可性, 得最优醇提工艺为乙醇体积分数 70%, 溶剂用量 8 倍, 提取时间 120 min。

2.4.4 验证试验 为了检验该模型的准确度, 按处方量称取各饮片, 共 3 份, 每份 57.5 g, 分别加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 120 min, 计算抗凝活性、丹参酮 II_A 和隐丹参酮提取量平均值分别为 $92.599 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,

表 1 心脑血管颗粒提取工艺星点试验分析

Table 1 Central composite test analysis of extraction process of Xinnaosu granules

No.	X_1 乙醇体积 分数/%	X_2 加液量 /倍	X_3 提取时间 /min	丹参酮 II _A /mg·g ⁻¹	隐丹参酮 /mg·g ⁻¹	抗凝活性 /U·g ⁻¹	OD	总因子得分
1	58.44	4	30	0.370 8	0.168 2	74.892 1	0	-3.860
2	81.56	5.69	68	0.448 7	0.179 8	81.754 3	0.340 1	-1.583
3	58.44	10.31	68	0.465 3	0.181 1	82.443 8	0.387 9	-1.222
4	81.56	10.31	68	0.450 3	0.184 1	82.903 2	0.400 5	-1.296
5	58.44	5.69	172	0.461 1	0.182 1	85.321 8	0.436 2	-0.922
6	81.56	5.69	172	0.467 3	0.183 5	86.324 7	0.474 8	-0.674
7	58.44	10.31	172	0.477 7	0.198 7	87.378 5	0.636 8	0.063
8	81.56	10.31	172	0.480 2	0.187 9	87.917 4	0.562 5	-0.169
9	50	8	120	0.491 1	0.193 2	86.318 9	0.601 8	-0.031
10	90	8	120	0.493 2	0.198 6	89.878 2	0.707 2	0.573
11	70	4	120	0.451 9	0.198 6	89.644 2	0.613 3	-0.056
12	70	12	120	0.487 2	0.203 9	86.986 2	0.683 1	0.316
13	70	8	30	0.431 1	0.170 2	78.312 9	0.137 8	-2.528
14	70	8	210	0.440 9	0.193 2	87.325 9	0.517 0	-0.647
15	70	8	120	0.520 3	0.224 7	92.427 8	0.979 3	2.059
16	70	8	120	0.521 1	0.220 1	92.786 1	0.960 2	1.971
17	70	8	120	0.523 4	0.223 6	91.784 9	0.967 5	1.997
18	70	8	120	0.521 9	0.225 8	92.391 3	0.988 5	2.112
19	70	8	120	0.520 1	0.221 1	92.832 1	0.965 0	1.992
20	70	8	120	0.518 9	0.219 8	92.578 9	0.949 9	1.906

注:总因子得分越高,说明提取工艺越好。

表 2 回归方程的方差分析

Table 2 Variance analysis of regression equation

方差来源	SS	f	MS	F	P
X_1	0.000 4	1	0.000 4	0.066 2	0.802 1
X_1^2	0.214 1	1	0.214 1	35.954 5	0.000 1
X_2	0.004 7	1	0.004 7	0.785 8	0.396 2
X_2^2	0.221 9	1	0.221 9	37.256 6	0.000 1
X_3	0.078 6	1	0.078 6	13.197 1	0.004 6
X_3^2	0.838 4	1	0.838 4	140.783 6	<0.000 1
X_1X_2	0.003 6	1	0.003 6	0.603 1	0.455 4
X_1X_3	0.006 2	1	0.006 2	1.043 6	0.331 1
X_2X_3	0.042 3	1	0.042 3	7.105 5	0.023 7
失拟项	0.059 7	10	0.006 0		
纯误差	1.607	19			

0.523 mg·g⁻¹和 0.225 mg·g⁻¹,OD 分别为 0.989 4, 0.991 1,0.990 7,与 OD 预测值(1.019 9)的偏差分别为 3.0%,2.8%,2.9%。说明该拟合值与实际试验点拟合较好,模型方程可靠实用。

2.5 主成分分析^[8] 将丹参酮 II_A和隐丹参酮提取量、抗凝效价 3 个指标进行标准化,运用 SPSS 19.0 得到相关系数矩阵、解释的总方差及主成分载荷矩阵,以提取得到的主因子成分得分与其方差贡献率乘积作为主成分的综合因子,结果见表 1。由初始因子载荷矩阵可以看出 3 个影响因素对主成分 1 的贡献相差不大,将样品总得分进行排序后可知,

15~20 号试验得分均高于其他,说明加 70% 乙醇提取 2 h,只提取 1 次是最佳提取工艺。

3 讨论

心脑血管处方由丹参、黄芪、三七等药味组成,临床使用多年。在现有的药品质量标准中,缺少能够定性甚至量化这一功能的测定方法。《中国药典》2010 年版一部新增了附录 X VIII 中药生物活性测定指导原则,指出仅控制少数成分不能完全控制质量和反映临床疗效,提出有必要在含量测定的基础上增加生物活性测定的要求^[3]。

丹参的化学成分主要分为脂溶性和水溶性 2 类,其中丹参酮 II_A和隐丹参酮等是丹参的主要脂溶性有效成分,具有抗氧化、抑制血小板聚集、扩血管、抗感染、抗癌等作用^[9]。凝血酶可催化纤维蛋白元变成纤维蛋白而促使血液凝固,在血液凝固系统中发挥重要作用。在药物的作用下凝血酶活性降低,说明该药物可延长血液凝固时间^[10]。因此,抗凝血酶活性可作为指标反映活血化瘀、通经活络功能。凝血酶滴定法目前被《中国药典》2010 年版一部用于水蛭的测定,本文创新之处在于将抗凝活性这一生物学指标作为一个评价指标,与丹参酮 II_A和隐丹参酮提取量一起用于醇提工艺的优选,以药效为指标能综合反映中药多成分的复合作用。与动物实验相比,抗凝效价试验能耗低,操作相对简单,

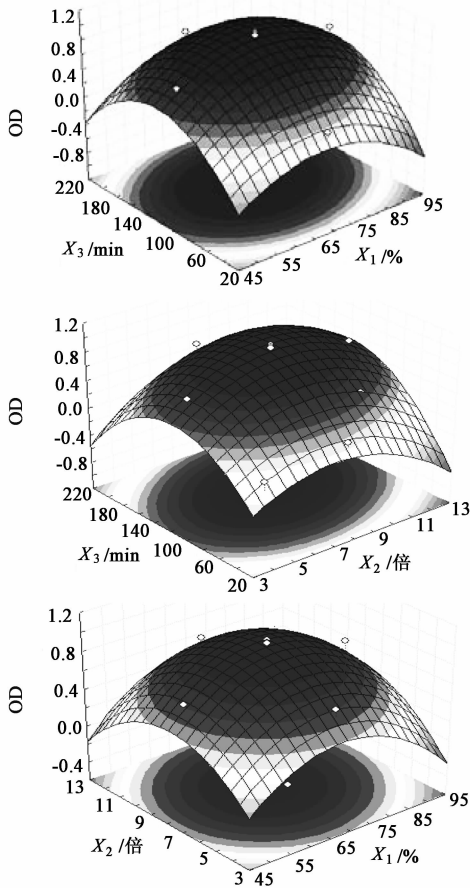


图 1 乙醇体积分数、加液量、提取时间对心脑血管颗粒提取工艺影响的响应曲面

Fig.1 Response surfaces of effects of interaction among extraction time, ethanol amount and concentration on extraction process of Xinnaosu granules

但不足之处在于需重复多次以排除操作者技术带来的误差及假阳性。

由于测定指标中包含抗凝效价这一生物指标, 本文采用星点设计-响应面优化法, 通过非线性数学模型拟合, 找到一个明确的函数式来表达各因素和响应值之间的关系, 进而找到考察因素的最佳组合^[11]。利用主成分分析法^[12]对指标进行降维处理, 消除了各指标权重的不同给实验造成的影响, 结果发现 3 个成分对主成分 1 都有较大的贡献率。排序后试验 13 的综合得分明显偏低, 可能是因为加热时间过长, 某些有效成分变性失活, 表明心脑血管处方在煎煮过程中要注意不能提取时间过长。将指标成分总提取率与抗凝效价值标准化后进行比较, 发现基本走势相同, 说明在优化工艺过程中以生物指标作为考察因素是有一定合理性的, 见图 2。

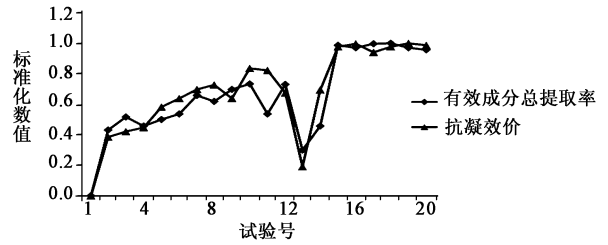


图 2 心脑血管颗粒提取工艺中指标成分与抗凝效价的趋势

Fig.2 Tendency chart of index component and activity of anti-thrombin in extraction process of Xinnaosu granules

[参考文献]

[1] 周娟,王守涛,何晓静,等. 丹参酮 II_A 静脉乳剂对大鼠血液流变学及血栓形成的影响[J]. 沈阳大学学报, 2008, 25(2): 144-145.

[2] 潘金火. 心脑血管提取物对离体豚鼠心脏冠脉流量的影响实验[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1535-1536.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 11, 38, 70, 77, 283.

[4] 曹健,张诗龙,刘军,等. 复方丹参片中七种主要成分的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(5): 365-370.

[5] 范尚坦,李金兰,张勇,等. 水蛭中水蛭素含量测定的改进[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2277-2280.

[6] 陈华友,邢自力,李媛媛,等. 凝血酶滴定法测定水蛭素活性的改进[J]. 生物技术, 2002, 12(6): 24-26.

[7] 邓国彤,梁少瑜,吴燕梅,等. 抗凝血酶滴定法优化水蛭煮散提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17): 10-13.

[8] 李明珠,宋顺平,赵建邦. HPLC 测定烈香杜鹃中 6 种黄酮成分的含量及主成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 81-85.

[9] 陈芬燕,郭韧,张毕奎. 丹参酮 II_A 的心血管药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1649-1653.

[10] 曲范娜,王一博,张丽英,等. 疏血通、血塞通、血栓通注射液的抗凝血酶活性测定及比较[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(9): 1561-1564.

[11] 李瑶,韩翠艳,李津明. 星点设计-效应面法优化葫芦素 B 纳米脂质载体处方[J]. 中国医药工业杂志, 2014, 45(11): 1042-1045.

[12] 张南,廖正根,乔军辉,等. 主成分分析法用于中药混合粉流动性表征的研究[J]. 中国现代药物应用, 2015, 9(2): 224-227.

[责任编辑 刘德文]