

补骨脂酚的提取纯化工工艺优选及其对骨质疏松症的治疗作用分析

杨胜杰, 钟少达, 杨进平, 刘敏, 洪达, 刘明川, 王昭日*
(杏辉医药集团 杏辉天力(杭州)药业有限公司研究所, 杭州 311100)

[摘要] 目的: 优选补骨脂酚的提取纯化工工艺, 并考察其对骨质疏松症的治疗作用。方法: 使用乙醇回流法提取, 经 D101 型大孔树脂纯化, 通过单因素试验优选工艺条件, 冷冻干燥后得到补骨脂酚; 采用斑马鱼体内试验评价补骨脂酚对骨密度和骨骼发育钙化的影响。结果: 优选的工艺条件为加 8 倍量 85% 乙醇浸泡过夜, 回流提取 3 次, 每次 2 h, 边搅拌边往补骨脂酚粗提物中加入 0.2% 氢氧化钠水溶液至完全溶解, 过预处理好的 D101 型大孔树脂柱处理, 上样流速 $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 静置 4 h, 加水 6 BV 洗脱, 用 60% 乙醇 2 BV 洗脱, 加 95% 乙醇 4 BV 洗脱, 收集 95% 乙醇的洗脱液; 制备的补骨脂酚质量分数 $> 80\%$, 收率 $> 10\%$ 。斑马鱼体内活性研究表明补骨脂酚能提高斑马鱼骨质疏松症的骨密度, 且能促进正常斑马鱼骨骼发育钙化。结论: 此工艺具有绿色环保、操作简便等优点, 所得补骨脂酚的纯度和收率均比较理想, 可开发成预防或治疗骨质疏松症的药品和食品。

[关键词] 补骨脂; 补骨脂酚; 大孔树脂; 斑马鱼; 骨质疏松症; 依替膦酸二钠; 维生素 D₃

[中图分类号] R283.6; R945; R284.1; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)22-0043-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017220043

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170731.1016.012.html>

[网络出版时间] 2017-07-31 10:16

Optimization of Extraction and Purification Process of Bakuchiol and Analysis of Its Effect on Osteoporosis

YANG Sheng-jie, ZHONG Shao-da, YANG Jin-ping, LIU Min, HONG Da, LIU Ming-chuan, WANG Chao-jih*
(Institute of Sinphar Tianli Pharmaceutical Co. Ltd. (Hangzhou), Sinphar Group, Hangzhou 311100, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a simple and efficient method for the preparation of bakuchiol, and study on its antiosteoporotic activity. **Method:** The powder of Psoraleae Fructus was extracted with ethanol to get the crude extract of bakuchiol, and bakuchiol was purified with D101 macroporous resin. Moreover, antiosteoporotic activity of bakuchiol on the osteoporosis model was evaluated by zebrafish *in vivo*. **Result:** Optimum process for the purification of bakuchiol was as follows, the powder of Psoraleae Fructus was soaked in 85% ethanol overnight and the ratio of ethanol to sample was 1:8, it was refluxed thrice for 2 h each time. The crude extract was concentrated by a vacuum rotary evaporator, and it was dissolved with 0.2% NaOH solution, it was adsorbed by D101 macroporous resin column with a flow rate of $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, washed by 6 BV of water after 4 h and 2 BV of 60% ethanol, 4 BV of 95% ethanol was used to wash the column at last, and eluent was concentrated to get bakuchiol. The yield and purity of bakuchiol prepared by the method were 10% and 80% at least, respectively. In addition, the bioassay indicated that it could prevent bone loss of zebrafish induced by prednisolone, and accelerate growth of zebrafish bone. **Conclusion:** The method combines the advantages of generality, rapidity and simplicity with high purity. Bakuchiol can be developed into drugs and foods for preventing or treating osteoporosis.

[收稿日期] 20170419(004)

[第一作者] 杨胜杰, 博士, 高级研究员, 从事中药及保健品研发工作, Tel:0571-86168905, E-mail:popcosen@sinphar.com.tw

[通讯作者] * 王昭日, 博士, 从事新产品研究及公司运营管理等相关工作, Tel:0571-86168933, E-mail:zrwang@sinphar.com.tw

[Key words] Psoraleae Fructus; bakuchiol; macroporous resin; zebrafish; osteoporosis; disodium etidronate; vitamin D₃

补骨脂又名胡韭子、婆固脂、破故纸、黑故子、怀故子等,为一年生草本豆科植物补骨脂的成熟果实^[1-2],分布于河南、安徽、广东、陕西、山西、江西、四川、云南、贵州等地,喜温暖湿润气候,宜向阳平坦、日光充足的环境,主要产地为四川省合川县^[3]。补骨脂是我国传统中药,其性温,味辛、苦,归肾、脾经,具有温肾助阳、纳气、止泻的功效,主要用于治疗银屑病、白癜风、骨质疏松等^[4-6]。现代医学研究表明补骨脂具有多种生物活性,如抗肿瘤^[7]、雌激素样作用^[8]、提高免疫系统的功能^[9]、促进骨骼再生与重建^[6]、抑菌等^[10]。

补骨脂中含有多种活性成分,已从补骨脂中分离出香豆素类、黄酮类、单萜酚类及甾醇、谷甾醇、葡萄糖苷、棉子糖等化合物,其中香豆素类、黄酮类及单萜酚类是其主要活性化合物^[11-13]。补骨脂酚是补骨脂的主要有效成分,具有抗癌、抗氧化和肝脏保护等药理活性^[14-15]。如何快速制备大量的补骨脂酚是工业生产中密切关注的问题。张波泳等^[16]将补骨脂药材粉碎,经石油醚冷浸提取,得到补骨脂酚粗提物,经 2 次硅胶柱分离,使用石油醚-乙酸乙酯混合液洗脱,得到补骨脂酚纯品。虽然实现了较高纯度补骨脂酚的制备,但此分离方法采用了大量有机溶剂,使得安全性和环境保护方面受到影响。刘二伟等^[17]使用乙醇对补骨脂进行回流提取,经 D101 型大孔树脂富集得到补骨脂酚提取物。该方法主要使用的溶剂为水和乙醇,避免了有毒有害试剂的使用,但所得补骨脂酚的纯度仅 45.6%。为了实现补骨脂酚的大规模生产,简化制备工艺,避免有毒试剂的使用,提高补骨脂酚的收率及其纯度,本实验拟研究补骨脂酚的提取与分离工艺,并通过斑马鱼体内实验评价补骨脂酚对骨质疏松症的治疗作用。

1 材料

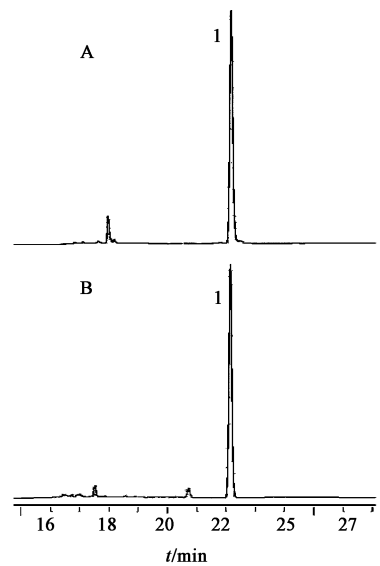
R-210 型旋转蒸发仪和 V-700 型真空隔膜泵(瑞士步琪公司),1525 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Milli-Q Reference 型纯水机(美国 Millipore 公司),XS-205 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FreeZone 型冷冻干燥机(美国 Labconco 公司)。补骨脂药材购自浙江南方药材有限公司,经台湾国防医学院林汉钦教授鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* 的干燥成熟果

实,补骨脂酚质量分数 14.81%,样品编号 20150122,储存于杏辉天力(杭州)药业有限公司研究所;D101 型大孔吸附树脂(南开大学化工厂),补骨脂酚对照品(美国 ChromaDex 公司,批号 00002034-001,纯度 91.0%),乙腈为色谱级,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 补骨脂酚的含量测定

2.1.1 色谱条件 采用 YMC-Pack Pro C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 11 min, 55% A; 11 ~ 13 min, 55% ~ 90% A, 13 ~ 27 min, 90% A),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 260 nm,柱温 40 °C,进样量 10 μL。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 补骨脂酚

图 1 补骨脂酚的 HPLC

Fig. 1 HPLC of bakuchiol

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂酚对照品 50 mg,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇超声使溶解(频率 50 Hz,功率 100 W,下同)并定容至刻度,得 1.004 g · L⁻¹储备液。精密移取该储备液 5 mL 至 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得 200.8 mg · L⁻¹。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取制备得到的补骨脂酚 10 mg,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇超声使溶解并定容至刻度,精密移取 10 mL 至 20 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得。

2.1.4 线性范围考察 精密吸取补骨脂酚对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 10.0 mL,分别置于 20 mL

量瓶中,用甲醇稀释并定容,摇匀,得系列质量浓度的对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 10 μL ,按 2.1.1 项下条件测定,以补骨脂酚的质量浓度为横坐标,该成分峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 26\ 376X - 3\ 677.5 (r = 0.999\ 9)$,线性范围 5.02 ~ 200.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.1.5 精密度考察 取同一对照品溶液按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算补骨脂酚峰面积的 RSD 0.6%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性考察 取同一供试品溶液,在制备后 0,2,4,6,8,12 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算补骨脂酚峰面积的 RSD 1.7%,表明供试品溶液至少在 12 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性考察 取补骨脂酚适量,共 6 份,分别按 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,计算补骨脂酚的平均质量分数 84.7%,RSD 1.9%,表明该方法重复性良好。

2.1.8 回收率考察 取已知成分准确质量分数 (847 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 的补骨脂酚样品 6 份,每份约 5 mg,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,加入 1.004 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 补骨脂酚对照品储备液 4 mL,加甲醇溶解并定容,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算回收率。结果表明补骨脂酚的平均加样回收率 99.8%,RSD 1.7%,见表 1。

表 1 补骨脂酚的加样回收率试验
Table 1 Recovery test of bakuchiol

称样量 /mg	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
5.100 0	4.319 7	8.355 8	100.5	99.8	1.7
5.020 0	4.251 9	8.211 2	98.6		
4.970 0	4.209 6	8.318 0	102.3		
4.850 1	4.108 0	8.019 5	97.4		
5.110 0	4.328 2	8.352 2	100.2		
4.860 0	4.116 4	8.116 4	99.6		

注:加入量均为 4.016 mg。

2.2 补骨脂酚粗提物的制备

2.2.1 乙醇体积分数考察 取补骨脂药材 100 g,共 3 份,固定料液比 1:8,分别加体积分数 75%,85%,95% 的乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,测定含固量,计算提取物收率分别为 8.12%,12.51% 和 11.44%,补骨脂酚的纯度分别为 27.33%,42.25% 和 45.00%。考虑到工业生产中溶剂成本,选择 85% 乙醇为提取溶剂。

2.2.2 提取时间考察 取补骨脂药材 100 g,共 4

份,固定料液比 1:8,分别加 85% 乙醇回流提取 3 次,合并提取液,考察不同提取时间 (1,2,3,4 h) 对补骨脂酚得率的影响。结果发现随着提取时间的增加,提取液中补骨脂酚的质量浓度随之提高,到 2 h 达到最高值 (5.328 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),而后随之降低 (提取 3 h 时则为 4.890 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),故选择提取时间 2 h。

2.2.3 料液比考察 取补骨脂药材 100 g,共 3 份,按不同料液比 (1:6,1:8,1:10) 加 85% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,加 85% 乙醇稀释至相同体积后测定,计算补骨脂酚质量浓度分别为 3.525,4.171,4.202 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,考虑到生产成本,选用料液比 1:8。

综上所述,最佳提取工艺为取适量补骨脂药材,称定质量,加 8 倍量 85% 乙醇浸泡过夜,回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,减压浓缩至无醇味,即得补骨脂酚粗提物。

2.3 补骨脂酚粗提物的纯化 由于补骨脂酚粗提物中含有的杂质成分 (如补骨脂素、异补骨脂素等) 相比目标成分补骨脂酚具有较好的碱溶性,因此需往补骨脂酚粗提物加入碱液,这样可以增加杂质的溶解性以更好的除去杂质,保留目标成分^[17]。边搅拌边往补骨脂酚粗提物中加入 0.2% 氢氧化钠水溶液至完全溶解,直接上预处理好的 D101 型大孔树脂,上样流速 1 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ (1 BV 表示 1 个柱体积),上柱完毕后加水 6 BV 洗脱以除去补骨脂素、异补骨脂素等杂质成分,加 60% 乙醇 2 BV 洗脱,用 95% 乙醇 4 BV 洗脱,收集 95% 乙醇洗脱液,减压浓缩并冷冻干燥,即可。为了确保工艺的稳定性,考察了树脂最佳吸附时间及最佳上样量。

2.3.1 吸附时间考察 取经碱液溶解后的上样液 100 mL,加入 D101 型大孔树脂 25 g,搅拌均匀,测定 1,2,3,4,5 h 时补骨脂酚的质量浓度,计算吸附率分别为 81.22%,92.61%,96.44%,97.89%,98.03%。说明随着吸附时间的延长,补骨脂酚的吸附率在 4 h 后趋于稳定,故选择吸附时间 4 h。

2.3.2 上样量考察 为了确保 D101 型大孔树脂的最佳利用率,考察补骨脂酚粗提物上样量与树脂质量 (干重) 的关系,比例分别选择 1:4,1:6,1:8,结果补骨脂酚的收率分别为 93.6%,95.4% 和 99.5%,说明随着树脂用量的增加,补骨脂酚的回收率也随之提高,1:8 为最佳上样量。

2.4 验证试验 称取补骨脂药材 100 g,共 3 份,分别加 8 倍量 85% 乙醇浸泡过夜,回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,减压浓缩至无醇味。边搅拌边

往补骨脂酚粗提取物中加入 0.2% 氢氧化钠水溶液至完全溶解,直接上预处理好的 D101 型大孔树脂 (250 g) 柱处理,上样流速 1 BV·h⁻¹。上柱完毕静置 4 h,加水 6 BV 洗脱,用 60% 乙醇 2 BV 洗脱,加 95% 乙醇 4 BV 洗脱,收集 95% 乙醇的洗脱液,减压浓缩并冷冻干燥,分别得干燥物 15.1,13.9,14.3 g,经 HPLC 测得其补骨脂酚质量分数分别为 84.7%,83.5%,83.3%。说明优选的工艺稳定可行。

2.5 补骨脂酚对骨质疏松症治疗作用的活性评价

2.5.1 补骨脂酚对骨质疏松症斑马鱼骨密度的影响

AB 品系斑马鱼,以自然成对交配繁殖方式进行。每个试验组为 30 尾,年龄为受精后 3 d。选取受精后 3 d 的斑马鱼,用 10 mg·L⁻¹ 泼尼松龙处理 6 d,建立斑马鱼骨质疏松模型,每个试验组均处理 30 尾已建模斑马鱼。样品与泼尼松龙共同作用,以依替膦酸二钠为阳性组,同时设置模型组及空白组 (不做任何处理)。6 d 后,移去培养液,加入体积分数为 0.2% 的钙黄绿素溶液 1 mL,避光染色 1 h 后,将染剂吸出,使用培养液清洗 2 遍;在荧光显微镜下观察、拍照并保存,见图 2。利用 NIS-Elements D 3.1 图像处理软件进行图像分析,计算骨荧光强度 (S),药效计算公式为治疗作用 = $(S_{\text{药物组}} - S_{\text{模型组}}) / (S_{\text{空白组}} - S_{\text{模型组}}) \times 100\%$ 。统计学分析采用方差分析和 Dunnett's t -检验, $P < 0.05$ 表示差异性显著,见表 2。

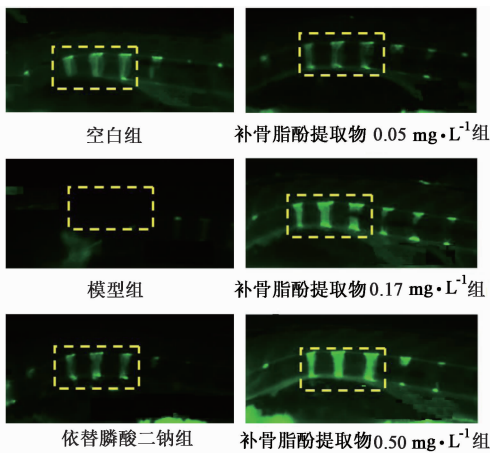


图 2 补骨脂酚对骨质疏松症斑马鱼骨密度影响
Fig. 2 Effect of bakuchiol on bone mineral density in zebrafish with osteoporosis

由图 2 可知,空白组为未经泼尼松龙处理的斑马鱼,呈现明显的荧光,而经泼尼松龙处理的模型组,荧光较暗,说明泼尼松龙能使斑马鱼骨密度降低,骨质疏松症状明显。使用阳性药依替膦酸二钠

表 2 补骨脂酚对骨质疏松症斑马鱼骨密度影响的数据分析 ($n = 10$)

Table 2 Effect of bakuchiol on bone mineral density in zebrafish with osteoporosis ($n = 10$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	骨荧光强度 ($\bar{x} \pm s$)	治疗效率 /%
空白	-	95 493 ± 6 388	-
模型	-	39 891 ± 2 368	-
依替膦酸二钠	300	84 937 ± 6 807 ¹⁾	81 ¹⁾
补骨脂酚提取物	0.05	76 467 ± 5 448 ¹⁾	66 ¹⁾
	0.17	92 378 ± 4 418 ¹⁾	94 ¹⁾
	0.50	120 521 ± 7 012 ¹⁾	145 ¹⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.001$ 。

能使患有骨质疏松症的斑马鱼骨密度增加,呈现较强的荧光强度。使用补骨脂酚处理后,荧光强度随着药物质量浓度的升高而增强,说明补骨脂酚能浓度依赖性地增加骨质疏松症斑马鱼的骨密度。表 2 数据也说明了这点。

2.5.2 补骨脂酚对正常斑马鱼骨骼发育钙化的影响

AB 品系斑马鱼,以自然成对交配繁殖方式进行。每个试验组为 30 尾,年龄为受精后 3 d。用样品处理斑马鱼 6 d,以 0.1 mg·L⁻¹ 维生素 D₃ 为阳性组,养鱼用水处理组为空白组,每个试验组均处理 30 尾正常斑马鱼。样品处理结束后,用体积分数为 0.2% 的钙黄绿素溶液染色,染色步骤同 2.5.1 项,染色图像见图 3。利用 NIS-Elements D 3.1 图像处理软件进行图像分析,计算斑马鱼脊椎骨的数目 (N)。药效计算公式为骨发育促进率 = $N_{\text{药物组}} / N_{\text{空白组}} \times 100\%$ 。统计学分析采用方差分析和 Dunnett's t -检验, $P < 0.05$ 表示差异性显著,见表 3。

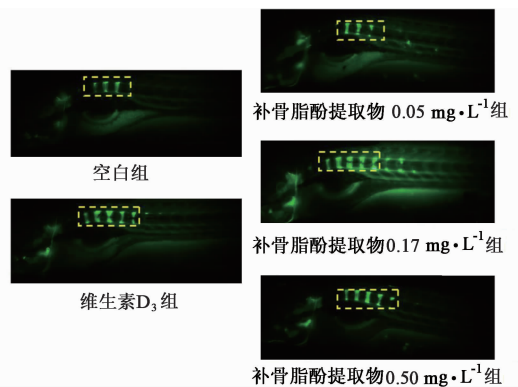


图 3 补骨脂酚对斑马鱼骨骼发育钙化的作用
Fig. 3 Effect of bakuchiol on bone growth of normal zebrafish

由图 3 可知,与空白组比较,经维生素 D₃ 和补

表 3 补骨脂酚对促进正常斑马鱼骨骼发育钙化的定量分析
(n = 10)

Table 3 Effect of bakuchiol on bone growth of normal zebrafish
(n = 10)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	脊椎骨数目 ($\bar{x} \pm s$)/根	骨发育钙化 促进率/%
空白	-	3.5 ± 0.18	-
维生素 D ₃	0.10	5.3 ± 0.44 ³⁾	51 ³⁾
补骨脂酚提取物	0.05	3.9 ± 0.26	12
	0.17	4.9 ± 0.36 ²⁾	41 ²⁾
	0.50	4.6 ± 0.42 ¹⁾	30 ¹⁾

注:与空白组相比¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01, ³⁾P < 0.001。

骨脂酚处理后的斑马鱼骨骼荧光强度较为明显,说明两者均可促进斑马鱼骨骼发育的钙化。由表 3 可知,阳性药维生素 D₃ 的脊椎骨数目与空白组比较具有显著性差异(P < 0.01),说明维生素 D₃ 对正常斑马鱼的骨骼发育钙化具有明显的促进作用。补骨脂酚在质量浓度为 0.05, 0.17, 0.50 mg·L⁻¹ 时,斑马鱼脊椎骨数目平均值分别为 3.9, 4.9, 4.6 根,其钙化促进率分别为 12%, 41% 和 30%。提示补骨脂酚对正常斑马鱼骨骼发育钙化有明显的促进作用。

3 讨论

补骨脂作为我国的传统中药,具有多种药理活性,其主要活性成分之一为补骨脂酚。本文建立了补骨脂酚的提取纯化工艺,即将补骨脂药材经乙醇回流提取,减压浓缩至无醇味,再加碱溶液搅拌均匀,经 D101 型大孔树脂纯化,冷冻干燥后得到补骨脂酚。此工艺制备所得的补骨脂酚收率 > 10%,并通过 HPLC 分析了补骨脂酚的纯度,结果显示补骨脂酚的质量分数均 > 80%。此工艺具有以下优点:①制备方法仅使用乙醇和水作为提取溶剂,具有绿色环保的特点;②补骨脂酚的纯化使用了价格低廉同时可反复再生的 D101 型大孔树脂,在很大程度上降低了成本,同时此型号大孔树脂来源广,避免了局限性;③所制得的补骨脂酚收率 > 10%,纯度 > 80%,收率和纯度均较为理想。此工艺的不足之处在于碱液的使用加重了废水处理的负担,是本工艺目前所需解决的主要问题。

此外,为进一步探索对补骨脂酚的开发价值,本文以斑马鱼为实验动物,评价了补骨脂酚对骨质疏松症的治疗作用。结果表明补骨脂酚能明显提高斑马鱼骨质疏松症的骨密度,并且对正常斑马鱼骨骼

发育钙化有明显的促进作用。因此,补骨脂酚对于骨质疏松症的治疗作用机制值得深入研究,同时,斑马鱼模型与现有模型的相关性也需深入开展研究。

[参考文献]

[1] 徐以亮. 补骨脂配方颗粒质量标准研究[J]. 中国药业, 2008, 17(9): 20-21.

[2] 梁建军, 徐亚莉, 田树喜, 等. 补骨脂研究现状及前景[J]. 河北中医, 2013, 35(12): 1904-1906.

[3] 黄泰康. 常用中成药分子药理手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 1177-1179.

[4] 汪庆飞, 高家荣. 补骨脂的药理作用研究进展[J]. 中国妇幼健康研究, 2016, 27(1): 256-257.

[5] 陶益, 蒋妍慧, 李伟东, 等. 炮制对补骨脂中 12 种化学成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21): 6-9.

[6] 柴丽娟, 张晗, 王少峡, 等. 中药补骨脂的药理作用研究进展[J]. 海峡药学, 2013, 25(7): 12-14.

[7] 郭江宁, 吴侯, 翁新楚, 等. 补骨脂中活性成分的提取分离与抗癌实验研究[J]. 中药材, 2003, 26(3): 185-187.

[8] 韦妍妍, 张紫佳, 徐颖, 等. 补骨脂对去卵巢大鼠雌激素样作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 158-161.

[9] 李发胜, 杨光, 徐恒瑰, 等. 补骨脂多糖的提取及免疫活性的研究[J]. 中国药师, 2008, 11(2): 140-142.

[10] 关丽杰, 赵礼慧, 邵双, 等. 补骨脂抑菌活性成分分析及鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2003, 29(4): 655-660.

[11] 吴疆, 魏巍, 袁永兵. 补骨脂的化学成分和药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 217-219.

[12] 辛丹, 颜冬梅, 王跃飞, 等. 补骨脂及其相关化学成分的药理与毒理研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(7): 70-72.

[13] 张红莲, 王雅楠, 王建华, 等. 补骨脂的化学成分及药理活性研究概况[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(5): 909-913.

[14] 于悦, 王亚静, 皮佳鑫, 等. 补骨脂酚研究进展[J]. 山东中医药大学学报, 2013, 37(2): 174-176.

[15] 黄莎华, 黄梦媛, 贾学顺, 等. 补骨脂酚的化学与生物学研究进展[J]. 有机化学, 2014, 34(12): 2412-2423.

[16] 张波泳, 柴欣, 王跃飞, 等. 一种制备补骨脂酚的简单、高效的方法[J]. 天津中医药, 2016, 33(4): 245-247.

[17] 刘二伟, 王家龙, 韩立峰. D101 大孔吸附树脂法富集补骨脂中补骨脂酚的研究[J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(2): 95-97.

[责任编辑 刘德文]