

威灵仙挥发油的超临界萃取工艺优化及 GC-MS 分析

傅瑶^{1,2}, 李颜¹, 霍炎¹, 郭澄^{1,2*}

(1. 上海交通大学附属第六人民医院药剂科, 上海 200233; 2. 上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 目的: 优选超临界 CO₂ 萃取威灵仙挥发油的工艺, 并对挥发油成分进行 GC-MS 分析。方法: 以挥发油提取率为指标, 通过单因素试验和正交试验考察提取时间、原料粒度、萃取压力和温度对威灵仙挥发油的超临界 CO₂ 萃取工艺的影响, 并通过 GC-MS 对威灵仙挥发油中化学成分进行分析。结果: 各因素对挥发油得率的影响顺序为萃取压力 > 萃取时间 > 萃取温度; 最佳萃取工艺为压力 20 MPa, 时间 1.5 h, 温度 45 °C; 挥发油得率 0.44%。GC-MS 分析确认了 156 种化学成分, 占挥发油总含量的 85.03%, 相对含量 > 1% 的成分占挥发油总含量的 51.78%。结论: 超临界 CO₂ 萃取法用于提取威灵仙挥发油具有时间短、收率高等优点, 较传统的水蒸气蒸馏法提取效率高, 优化的工艺稳定可靠, 通过 GC-MS 发现威灵仙挥发油中活性成分原白头翁素。

[关键词] 威灵仙, 挥发油, 超临界 CO₂ 萃取工艺, 正交试验设计, GC-MS

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0041-05

[doi] 10.11653/zgsyfyjxzz2013070041

Optimization of Supercritical Fluid_Extraction Technology and GC-MS Analysis of Volatile Oil from *Clematis chinensis*

FU Yao^{1,2}, LI Yan¹, HUO Yan¹, GUO Cheng^{1,2*}

[收稿日期] 20121031(004)

[基金项目] 上海市卫生局中医药科研基金课题(2010Y008A)

[第一作者] 傅瑶, 硕士, 从事中药有效成分及质量标准研究, Tel: 021-24058789, E-mail: jzzyfy1987@126.com

[通讯作者] * 郭澄, 教授, 主任药师, 博士生导师, 博士, 从事中药有效成分、质量标准及临床药理学研究, E-mail: gboss@126.com

流提取 2 次, 每次 1.5 h; 该工艺提取物中羟基红花黄色素 A 质量分数为 0.25%。

3 讨论

羟基红花黄色素 A 为具有单查尔酮苷类结构的化合物, 是红花活血化瘀的有效成分, 具有扩张周围血管、降低血压、抗血小板和抗心肌缺血等作用^[6]。但有报道其对光、热敏感, 长时间加热或暴露在空气中, 含量会下降^[7], 说明其稳定性不好, 故推测回流时间增加, 其含量会有所下降, 与正交试验结果正好相符。另外, 羟基红花黄色素 A 为水溶性成分, 但其在 70% 乙醇中含量较高, 有文献以羟基红花黄色素 A 为指标考察制剂提取工艺, 最终也将提取溶剂确定为 70% 乙醇^[8], 分析原因可能为在此条件下, 其水解降低或方中其他成分对羟基红花黄色素 A 有增溶作用, 具体机制还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 杨云, 张晶, 陈玉婷. 天然药物化学成分提取分离手册 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 336.
- [2] 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: 103.
- [3] 王永新, 徐荣, 白霜. 高效液相色谱法测定红花散瘀胶囊中羟基红花黄色素 A 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(1): 12.
- [4] 庞来祥, 刘艳梅, 张丽艳, 等. 乳疾一贴灵巴布剂水提工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 26.
- [5] 王振辉, 李超生, 王海森, 等. 甘草苷提取工艺正交试验优化 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 30.
- [6] 姚苗苗, 董仲才, 任爱农. 羟基红花黄色素 A 的研究进展 [J]. 中南药学, 2009, 7(12): 931.
- [7] 王慧, 张立伟, 晋民杰, 等. 羟基红花黄色素 A 稳定性研究 [J]. 太原科技大学学报, 2010, 31(1): 81.
- [8] 李德华, 严锦贤. 正交法提取神农颈痛灵软膏中有效成份的工艺研究 [J]. 海峡药学, 2011, 23(11): 24.

[责任编辑 全燕]

(1. Department of Pharmacy, the 6th People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China;
2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Objective: To optimize supercritical carbon dioxide fluid extraction (SFE-CO₂) process of volatile oil from the roots of *Clematis chinensis*, and components of volatile oil were analyzed by GC-MS. **Method:** With yield of volatile oil as index, effects of extraction time, particle size of raw materials, fluid extraction pressure and temperature on SFE-CO₂ process of volatile oil from the roots of *C. chinensis* were investigated by single factor test and orthogonal test, and chemical constituents of volatile oil were analyzed by GC-MS. **Result:** Effects of three factors on yield of volatile oil were in order of extraction pressure > extraction time > extraction temperature; Optimal fluid extraction technology was as following: extraction pressure 20 MPa, extraction time 1.5 h, temperature 45 °C; Yield of volatile oil under these conditions was 0.44%. 156 compounds were identified by GC-MS and they were accounting for 85.03% of the total content of volatile oil, compositions that the relative content was more than 1% accounted for 51.78% of the total content of volatile oil. **Conclusion:** SFE-CO₂ method had higher extraction efficiency than steam distillation, this optimized technology was stable and reliable. In addition, chemical compositions of volatile oil were complicated, and protoanemonin, the major bioactive component in volatile oil from the roots of *C. chinensis*, was found by GC-MS for the first time.

[Key words] *Clematis chinensis*; volatile oil; supercritical carbon dioxide fluid extraction process; orthogonal design; GC-MS

威灵仙为常用中药,其单方和复方制剂在临床上被广泛应用于治疗骨质增生和风湿性关节炎等疾病^[1-3]。有文献报道威灵仙注射液中主要含挥发性成分^[4],该注射液是由威灵仙药材经水蒸气蒸馏法提取的芳香水剂制得的灭菌溶液,在临床上已使用多年,具有良好的抗炎镇痛疗效,同时具有解痉^[5]、保护软骨细胞^[6-7]等作用。目前,对威灵仙化学成分的研究多集中于皂苷类化合物^[8-10],对其挥发油的相关研究报道较少。本实验采用超临界 CO₂ 萃取技术提取威灵仙中挥发油,通过单因素试验和正交试验筛选挥发油的最佳提取工艺;同时,采用 GC-MS 对其挥发油进行化学成分分析,通过面积归一化法确定各成分的相对含量,为进一步开发利用威灵仙挥发油提供实验依据。

1 材料

HA121-50-02 型超临界 CO₂ 萃取设备(江苏南通华安超临界萃取有限公司),DB-5MS 型气相色谱仪(美国 Agilent 公司),JA5002 型电子天平(上海精天电子仪器有限公司),AWH-7.5(SA)型电子天平(上海英展机电企业有限公司),DFY-500 型万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。

威灵仙药材购自上海同济堂药业有限公司(批号 110701,产地河北),经上海交通大学附属第六人民医院药剂科主任郭澄教授鉴定为毛茛科铁线莲属威灵仙 *Clematis chinensis* Osbeck 的干燥根及根茎;

试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超临界 CO₂ 提取工艺优化

2.1.1 原料粒度的考察^[9] 以挥发油提取率为指标,固定萃取温度 40 °C,萃取压力 15 MPa,萃取时间 2 h,考察不同粒度(<24,24~40,>40 目)对萃取效果的影响。结果提取率依次为(0.528 ± 0.093)%,(0.830 ± 0.042)%,(1.140 ± 0.005)%,确定原料粒度为 >40 目。

2.1.2 提取时间考察^[9] 在萃取温度 40 °C,萃取压力 15 MPa 的条件下,考察萃取时间分别为 0.5,1,1.5,2,2.5 h 对萃取效果的影响,结果挥发油提取率依次为(0.059 ± 0.083)%,(0.110 ± 0.146)%,(0.134 ± 0.105)%,(0.152 ± 0.111)%,(0.164 ± 0.144)%,确定萃取时间范围 1.5~2.5 h。

2.1.3 正交试验设计 在单因素试验基础上,以挥发油提取率为指标,选取萃取温度、萃取压力、萃取时间为考察因素,每个因素取 3 个水平,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 威灵仙挥发油的超临界 CO₂ 萃取工艺正交试验因素水平

| 水平 | A 萃取温度/°C | B 萃取压力/MPa | C 萃取时间/h |
|----|-----------|------------|----------|
| 1 | 35 | 15 | 1.5 |
| 2 | 40 | 20 | 2 |
| 3 | 45 | 25 | 2.5 |

表2 威灵仙挥发油的超临界 CO₂ 萃取工艺正交试验安排

| No. | A | B | C | D(空白) | 挥发油得率/% |
|----------------|-------|-------|-------|-------|---------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0.342 ± 0.007 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 0.440 ± 0.098 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 0.183 ± 0.003 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 0.293 ± 0.009 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0.337 ± 0.004 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0.281 ± 0.001 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 0.296 ± 0.016 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 0.598 ± 0.003 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0.305 ± 0.006 |
| K ₁ | 0.322 | 0.310 | 0.407 | 0.328 | |
| K ₂ | 0.304 | 0.458 | 0.346 | 0.339 | |
| K ₃ | 0.400 | 0.256 | 0.272 | 0.358 | |
| R | 0.096 | 0.202 | 0.135 | 0.030 | |

表3 方差分析

| 方差来源 | SS | f | MS | F | P |
|-------|-------|---|-------|--------|-------|
| A | 0.048 | 2 | 0.024 | 11.820 | >0.05 |
| B | 0.205 | 2 | 0.103 | 50.475 | <0.05 |
| C | 0.080 | 2 | 0.040 | 19.699 | <0.05 |
| D(误差) | 0.004 | 2 | 0.002 | | |

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,各因素对萃取工艺的影响顺序为 $B > C > A$,即萃取压力对萃取效果的影响最大,其次为萃取时间。方差分析表明,因素 B, C 对挥发油得率的影响具有统计学意义,萃取温度则无

显著性差异。确定最佳提取条件为 $A_3B_2C_1$,即萃取温度 45 °C,萃取压力 20 MPa,萃取时间 1.5 h。

2.1.4 验证试验 称取威灵仙药材粉末 (>40 目) 3 份,每份 530 g,按优选的萃取工艺进行 3 次验证试验。结果挥发油得率分别 0.647%, 0.661%, 0.639%,说明优化的超临界 CO₂ 萃取工艺稳定可靠。

2.2 GC-MS 分析 色谱柱 Agilent DB-5MS (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱,升温程序为初始温度 40 °C,之后以 5 °C · min⁻¹ 升至 280 °C。按上述条件对超临界萃取得到的威灵仙挥发油进行分析,得到总离子图(图 1),对总离子流图中各峰经质谱扫描后得质谱图,经过质谱数据系统(NIST08 标准图库)检索,并结合有关文献人工图谱进行解析,用峰面积归一化法确定各组分的相对含量,共鉴定出 156 种化合物,占挥发油总含量的 85.03%,结果见表 4(按相对含量高低顺序列出其中 50 种成分)。

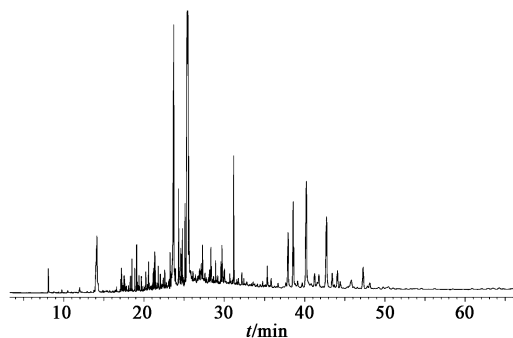


图1 威灵仙挥发油总离子流

表4 威灵仙挥发油中部分化学成分的 GC-MS 分析

| No. | 化合物名称 | t _R /min | 相对分子 质量 | 分子式 | 相对含量 /% | 相似度 /% |
|-----|---|------------------------|------------|--|------------|-----------|
| 1 | linoleic acid (亚油酸) | 25.413 | 280 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 18.47 | 95 |
| 2 | L-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate L-(+)-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯 | 23.705 | 652 | C ₃₈ H ₆₈ O ₈ | 8.83 | 89 |
| 3 | clionasterol (穿贝海绵甾醇) | 40.227 | 414 | C ₂₉ H ₅₀ O | 5.48 | 86 |
| 4 | betulin (白桦脂醇) | 42.723 | 442 | C ₃₀ H ₅₀ O ₂ | 3.33 | 82 |
| 5 | stigmasterol (豆甾醇) | 38.584 | 412 | C ₂₉ H ₄₈ O | 3.16 | 86 |
| 6 | (S)-5-Hydroxymethyl-2[5H]-furanone (S)-(-)-5-羟甲基-2(5H)-呋喃酮 | 14.131 | 114 | C ₅ H ₆ O ₃ | 2.79 | 92 |
| 7 | squalene (角鲨烯) | 31.171 | 410 | C ₃₀ H ₅₀ | 2.30 | 94 |
| 8 | campesterol (菜油甾醇) | 37.935 | 400 | C ₂₈ H ₄₈ O | 2.12 | 83 |
| 9 | octadecanoic acid (硬脂酸) | 25.584 | 284 | C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 2.03 | 84 |
| 10 | (-)-spathulenol [(-)-斯巴醇] | 25.097 | 220 | C ₁₅ H ₂₄ O | 1.16 | 71 |

续表 4

| No. | 化合物名称 | 保留时间 /min | 相对分子 质量 | 分子式 | 相对含量 /% | 相似度 /% |
|-----|--|--------------|------------|---|------------|-----------|
| 11 | 2-[1-(4-methoxyphenyl)-2-nitroethyl]cyclohexanone 2-[1-(4-甲氧苯基)-2-硝基乙基]环己酮 | 24.306 | 277 | C ₁₅ H ₁₉ NO ₄ | 1.09 | 71 |
| 12 | linoleic acid trimethylsilyl (亚油酸甲基硅) | 29.699 | 352 | C ₂₁ H ₄₀ O ₂ Si | 1.02 | 70 |
| 13 | costunolide (木香烃内酯) | 24.773 | 232 | C ₁₅ H ₂₀ O ₂ | 0.79 | 73 |
| 14 | cis-9-Hexadecenoic acid (顺-9-十六碳烯酸) | 23.508 | 254 | C ₁₆ H ₃₀ O ₂ | 0.75 | 94 |
| 15 | β -amyrin (白桦酯醇) | 41.249 | 426 | C ₃₀ H ₅₀ O | 0.65 | 89 |
| 16 | germanicol (计曼尼醇) | 43.442 | 426 | C ₃₀ H ₅₀ O | 0.64 | 73 |
| 17 | hexatriacontane (正三十六烷) | 35.357 | 506 | C ₃₆ H ₇₄ | 0.62 | 95 |
| 18 | lup-20(29)-en-3-one (羽扇烯酮) | 41.775 | 424 | C ₃₀ H ₄₈ O | 0.59 | 90 |
| 19 | hexadecanoic acid trimethylsilyl ester (甲基硅棕榈酸酯) | 28.328 | 328 | C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si | 0.59 | 60 |
| 20 | lup-20(29)-en-3-ol,acetate, (3 β)- (乙酸羽扇醇酯) | 45.831 | 468 | C ₃₂ H ₅₂ O ₂ | 0.55 | 89 |
| 21 | dotriacontane (正三十二烷) | 30.017 | 450 | C ₃₂ H ₆₆ | 0.55 | 95 |
| 22 | triarachine (三花生精) | 30.675 | 974 | C ₆₃ H ₁₂₂ O ₆ | 0.52 | 77 |
| 23 | neosterone | 27.727 | 378 | C ₂₇ H ₃₈ O | 0.47 | 64 |
| 24 | pentadecanoic acid (正十五烷酸) | 22.561 | 242 | C ₁₅ H ₃₀ O ₂ | 0.40 | 94 |
| 25 | 3-pentadecyl-phenol (间十五烷基酚) | 28.396 | 304 | C ₂₁ H ₃₆ O | 0.40 | 75 |
| 26 | (R)-(-)-14-methyl-8-hexadecyn-1-ol (R)-(-)-14-甲基-8-十六烷基-1-醇 | 28.785 | 252 | C ₁₇ H ₃₂ O | 0.40 | 84 |
| 27 | 1-bromotriacontane (1-溴三十烷) | 29.174 | 500 | C ₃₀ H ₆₁ Br | 0.40 | 83 |
| 28 | tetradecanamide (肉豆蔻酰胺) | 25.749 | 227 | C ₁₄ H ₂₉ NO | 0.39 | 73 |
| 29 | oleic acid (顺式十八碳-9-烯酸) | 23.413 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | 0.38 | 92 |
| 30 | 4-biphenylcarboxaldehyde (4-联苯甲醛) | 21.768 | 182 | C ₁₃ H ₁₀ O | 0.37 | 86 |
| 31 | cis-9-Hexadecenal (顺-9-十六烯醛) | 27.126 | 238 | C ₁₆ H ₃₀ O | 0.35 | 90 |
| 32 | lanosterol (羊毛甾醇) | 41.579 | 426 | C ₃₀ H ₅₀ O | 0.34 | 78 |
| 33 | azulene (甘菊蓝烃) | 24.656 | 204 | C ₁₅ H ₂₄ | 0.33 | 77 |
| 34 | 1-docosanol (山嵛醇) | 26.659 | 326 | C ₂₂ H ₄₆ O | 0.33 | 90 |
| 35 | 2-hexadecanoyl glycerol (2-十六酰甘油) | 28.501 | 330 | C ₁₉ H ₃₈ O ₄ | 0.33 | 82 |
| 36 | protoanemonin (原白头翁素) | 8.064 | 96 | C ₅ H ₄ O ₂ | 0.30 | 98 |
| 37 | curzerene (莪术烯) | 20.562 | 216 | C ₁₅ H ₂₀ O | 0.30 | 77 |
| 38 | cyclododecanemethanol | 30.469 | 198 | C ₁₃ H ₂₆ O | 0.29 | 68 |
| 39 | tetrapentacontane (五十四烷) | 33.598 | 758 | C ₅₄ H ₁₁₀ | 0.29 | 87 |
| 40 | tocopheryl acetate (生育酚乙酸酯) | 44.439 | 472 | C ₃₁ H ₅₂ O ₃ | 0.29 | 73 |
| 41 | cis,cis-7,10,-hexadecadienal | 26.883 | 236 | C ₁₆ H ₂₈ O | 0.27 | 87 |
| 42 | 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester (1-亚油酸单甘油酯) | 29.964 | 354 | C ₂₁ H ₃₈ O ₄ | 0.27 | 82 |
| 43 | ethanone,1-[4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylphenyl]- (4-叔丁基-2,6-二甲苯基乙酰苯-) | 20.215 | 204 | C ₁₄ H ₂₀ O | 0.26 | 80 |
| 44 | (+)-grandiflorenic acid | 28.012 | 300 | C ₂₀ H ₂₈ O ₂ | 0.26 | 67 |
| 45 | diisooctyl phthalate (邻苯二甲酸二异辛酯) | 28.650 | 390 | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | 0.25 | 96 |
| 46 | lariciresinol (落叶松树脂醇) | 37.659 | 360 | C ₂₀ H ₂₄ O ₆ | 0.25 | 64 |
| 47 | heptanoic acid, anhydride (庚酸酐) | 25.824 | 242 | C ₁₄ H ₂₆ O ₃ | 0.24 | 73 |
| 48 | cis-9-hexadecenal (顺-9-十六烯醛) | 26.225 | 238 | C ₁₆ H ₃₀ O | 0.24 | 89 |
| 49 | fenipentol (苯戊醇) | 21.148 | 164 | C ₁₁ H ₁₆ O | 0.23 | 86 |
| 50 | (6Z)-6-octadecenoic acid (十八碳-6-烯酸) | 22.391 | 282 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | 0.22 | 87 |

从威灵仙挥发油中共检测出 335 个峰,初步鉴定了 156 种化合物,占挥发油总含量的 85.03%。挥发油中的成分复杂,数量较多,主要包括有机酸、有机酸酯、萜类、醇类、酚类等化合物,且大部分成分的含量较低。与文献报道的威灵仙中挥发油主要成分一致,但与其相同的化学成分很少^[11]。检出的挥发油化学成分中,主要成分为亚油酸(18.47%),*l*-(+)-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯(8.83%),穿贝海绵甾醇(5.48%),白桦脂醇(3.33%),豆甾醇(3.16%),(*S*)-(-)-5-羟甲基-2(5H)-呋喃酮(2.79%),角鲨烯(2.30%),菜油甾醇(2.12%),硬脂酸(2.03%),(-)-斯巴醇(1.16%),2-[1-(4-甲氧苯基)-2-硝基乙基]环己酮(1.09%),亚油酸甲基硅(1.02%)等,占挥发油总含量的 51.78%。此外,本试验通过 GC-MS 分析首次发现文献报道的有效成分原白头翁素(0.30%),这为威灵仙挥发油中有效成分的深入研究提供了实验依据。

3 讨论

工艺研究表明,超临界 CO₂ 萃取技术用于提取威灵仙挥发油具有时间短、收率高等优点,与传统的水蒸气蒸馏法相比,提取效果更优越^[11]。本实验通过 GC-MS 发现威灵仙挥发油中含有原白头翁素,有研究认为,威灵仙主要有效成分为原白头翁素和白头翁素,可能与治疗骨性关节炎有关,两者具有轻度的镇痛、抗组胺、松弛平滑肌、抗菌等作用^[12]。另外,通过 GC-MS 分析发现,威灵仙挥发油中的相对含量较高的成分为亚油酸,医学研究已表明^[13-14],亚油酸能降低血液中胆固醇,起到利尿、降低高血压、防治动脉粥样硬化等作用。本实验 GC-MS 分析结果为威灵仙挥发油中有效成分及其药理作用的研究提供了重要参考依据。

[参考文献]

[1] 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,2010:234.

- [2] 龚小雪,孙定隆,陈继婷,等. 细辛、威灵仙联合应用止痛疗效观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):248.
- [3] 穆翠英. 中药治疗腰椎骨质增生症 52 例[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(6):64.
- [4] 何明,张静华,胡昌奇. 威灵仙化学成分的研究[J]. 药学学报,2001,36(4):278.
- [5] 章蕴毅,张宏伟,李佩芬,等. 威灵仙的解痉抗炎镇痛作用[J]. 中成药,2001,23(11):810.
- [6] 陈飞雁,王旭,黄加张,等. 威灵仙注射液对骨关节炎模型动物软骨组织形态和胶原表达的影响[J]. 中国矫形外科杂志,2006,14(5):362.
- [7] 陈飞雁,顾湘杰,钟明康,等. 威灵仙注射液对骨关节炎关节液与软骨白介素-1 水平的的影响[J]. 中国矫形外科杂志,2004,12(7):526.
- [8] 黄莉,黄纯兰,周云,等. 威灵仙总皂苷的分离纯化[J]. 四川中医,2009,27(3):40.
- [9] 赵阳,梁丽珍,李厚金,等. 威灵仙的化学成分研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,2012,51(3):63.
- [10] 张倩. 甘肃产威灵仙总皂苷提取工艺及药效学研究[D]. 兰州:兰州理工大学,2010.
- [11] 何明,张静华,胡昌奇. 威灵仙中挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中草药,1993,30(11):812.
- [12] 华英汇,顾湘杰,陈世益,等. 威灵仙注射液对骨关节炎影响的实验研究[J]. 中国运动医学杂志,2003,22(4):422.
- [13] 朱小勇,赵红艳,黄贵庆,等. 超临界 CO₂ 提取天茄子挥发油化学成分的分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):141.
- [14] 王祥培,黄婕,靳风云,等. 桂果铁线莲挥发油化学成分分析[J]. 安徽农业科学,2008,36(25):10936.

[责任编辑 仝燕]