

张亚青,李莎,汪洋,等. 生酸枣仁总黄酮的提取及 HPLC 法同时测定斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素[J]. 江苏农业科学,2017,45(23):198-202. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.23.056

生酸枣仁总黄酮的提取及 HPLC 法同时测定斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素

张亚青,李莎,汪洋,孙梦影,黄园园,赵仁邦

(河北农业大学食品科技学院,河北保定 071001)

摘要:以生酸枣仁为原料,以总黄酮的提取量为指标确定生酸枣仁中总黄酮的提取条件,并建立了一种同时测定生酸枣仁中斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素含量的高效液相色谱(HPLC)分析方法。利用单因素试验和响应面法进行优化,最终确定超声提取法提取总黄酮的最佳条件为:料液比为 1 g : 50 mL,超声时间为 60 min,超声功率为 270 W,乙醇浓度为 50%。在此条件下,生酸枣仁中总黄酮的提取量为 6.37 mg/g。测定的色谱条件为: COSMOSIL C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 梯度洗脱,流速为 0.80 mL/min; 柱温为 25 ℃,检测波长为 335 nm。斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素在 50 ~ 500 μg/mL 范围内具有良好的线性关系($r^2 = 0.999$, $r^2 = 0.999$),平均加标回收率为 99.96% 和 100.11%,最低检出限为 2.07 μg/mL 和 1.54 μg/mL。该方法灵敏度高,专属性强,可用于生酸枣仁中斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素的测定。

关键词:生酸枣仁;总黄酮;提取;HPLC;斯皮诺素;6'''-阿魏酰斯皮诺素

中图分类号:R284 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)23-0198-05

《中华人民共和国药典》2000 年版一部收载酸枣仁为鼠李科植物酸枣(*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou) 的干燥成熟种子^[1]。其味酸性平、归肝、胆、心经,具有补肝、宁心、敛汗和生津功效,是较常用的镇静催眠中药^[2-6]。酸枣仁总黄酮是酸枣仁的重要成分,现代药理研究表明,它对动物有着镇静催眠的作用,是酸枣仁中起镇静催眠作用的活性物质之一^[7]。而 Li 等的试验结果表明酸枣仁黄酮(主要是斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素)是酸枣仁中发挥镇静催眠的活性物质之一^[8]。鲍康德等曾采用高效液相色谱和蒸发光散射检测器联用法(HPLC-ELSD)同时测定中药酸枣仁中 6 种主要黄酮及皂苷类成分的含量^[9]。闫艳等采用 HPLC-DAD-ELSD 法同时测定酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 和 B 的含量^[10];刘昌辉等采用 LC-MS/MS 法测定酸枣仁中酸枣仁皂苷 A、B 和斯皮诺素的含量^[11]。曾有人采用高效液相色谱法(HPLC)测定酸枣仁颗粒^[12]、酸枣仁汤^[13]以及理枣仁^[14]中的斯皮诺素含量,但是近年研究报道中未出现采用 HPLC 法同时测定生酸枣仁中的斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素,所以笔者采用响应面法优化生酸枣仁中总黄酮提取条件,并首次采用 HPLC 法对生酸枣仁总黄酮中的主要成分斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素进行含量测定,建立快速、灵敏、同时测定生酸枣仁中斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素的方法,以期对酸枣仁质量控制提供简便快速的方法,

为临床使用生酸枣仁提供合理依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

KQ 5200 DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SHD-Ⅲ型循环水式多用真空泵(保定高新区阳光科教仪器厂);RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);CP114 电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];TD4-5K 台式低速离心机(湖南长沙易达仪器有限公司);UV-5200PC 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);Waters 2998 高效液相色谱仪(低压梯度泵,PDA 检测器)(美国 Waters 公司);COSMOSIL C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)(日本 NACALAI 公司)

1.2 试剂

生酸枣仁,购于河北省保定市安国药材市场;无水乙醇(分析纯),天津市天力化学试剂有限公司;石油醚(60 ~ 90 ℃,分析纯),天津市富起化工有限公司;亚硝酸钠(分析纯),北京亚太龙兴化工有限公司;硝酸铝(分析纯),天津市天力化学试剂有限公司;氢氧化钠(分析纯),天津市天力化学试剂有限公司;芸香苷标准品,上海源叶生物科技有限公司;斯皮诺素标准品(纯度 ≥ 99%),上海源叶生物科技有限公司;6'''-阿魏酰斯皮诺素标准品(纯度 ≥ 99%),上海源叶生物科技有限公司;乙腈(色谱纯),赛默飞世尔科技(中国)有限公司;娃哈哈纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司。

2 试验方法

2.1 原料预处理

将洗净的生酸枣仁用高速万能粉碎机粉碎,40 目过筛,备用。

收稿日期:2016-07-12

基金项目:河北省自然科学基金(编号:B2012204073);河北省科技支撑项目(编号:13273301D、14236810D-3)。

作者简介:张亚青(1990—),女,河北保定人,硕士研究生,研究方向为食品加工与安全。E-mail:1073399706@qq.com。

通信作者:赵仁邦,博士,副教授,研究方向为食品加工与安全。E-mail:zhaorenbang@sina.com。

将干燥的生酸枣仁粉末置于索氏提取器中,用 20 倍量的石油醚(60~90 ℃)水浴回流提取 3 次,每次 5 h,回收石油醚。将脱脂后的酸枣仁粉末挥尽残留的石油醚至无醚味,混匀后于干燥器中密封备用。

2.2 方法

2.2.1 酸枣仁总黄酮含量测定 采用紫外分光光度计法,以芸香苷作为标准品,采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法^[15]测定生酸枣仁中的总黄酮含量。

2.2.2 样品溶液的制备 精确称取脱脂后的生酸枣仁粉 1.0 g,置于 100 mL 三角瓶中,加入一定浓度适量乙醇溶液,浸泡 45 min,超声波提取,在 5 000 r/min 条件下,离心 15 min。旋蒸至 1~2 mL,用 95% 乙醇定容至 100 mL。将上述处理做 3 个平行。

2.2.3 超声波提取生酸枣仁中总黄酮单因素试验 分别以超声波提取时间、超声功率、料液比、乙醇浓度进行单因素试验。

2.2.3.1 超声波提取时间单因素试验 选取不同的超声时间(20、30、40、50、60、70 min),50 mL 50% 的乙醇溶液,200 W 功率,按“2.2.2”节操作。

2.2.3.2 超声功率单因素试验 选取不同的超声功率(100、200、300、400、500 W),50 mL 50% 的乙醇溶液,提取 20 min,按“2.2.2”节操作。

2.2.3.3 料液比单因素试验 选取不同的料液比(1:30、1:40、1:50、1:60、1:70,g:mL),50% 的乙醇溶液,提取 20 min,200 W 功率,按“2.2.2”节操作。

2.2.3.4 乙醇浓度单因素试验 选取不同的乙醇浓度(40%、50%、60%、70%、80%),50 mL 乙醇溶液,提取 20 min,200 W 功率,按“2.2.2”节操作。

2.2.4 响应面法优化提取条件 在单因素考察的基础上采用响应面法试验设计对影响提取的因素(超声波提取时间、超声功率、料液比、乙醇浓度)进行优化,以生酸枣仁中总黄酮提取量为评价指标,采用响应面试验设计软件进行试验设计,按表 1、表 2 进行设计,筛选生酸枣仁中总黄酮提取的最佳工艺条件。

表 1 生酸枣仁总黄酮提取工艺的中心组合试验设计因素水平				
水平	因素			
	A:功率 (W)	B:料液比 (g:mL)	C:乙醇浓 度(%)	D:超声 时间(min)
-1	100	1:60	40	50
0	200	1:50	50	60
1	300	1:40	60	70

2.2.5 样品中总黄酮含量的测定 取 2.5 mL 的样品,按照“2.2.1”节的方法测定样品中总黄酮的含量。

2.2.6 提取次数的确定和最终得率计算 选取本试验条件下最佳提取工艺,确定提取次数并计算总黄酮得率。结果与模拟结果比较,预测所建立的酸枣仁总黄酮提取工艺是否合理。

2.2.7 HPLC 法测定酸枣仁斯皮诺素和 6''-阿魏酰斯皮诺素的样品前处理 按上述试验所得的最佳试验条件对生酸枣仁中的总黄酮进行提取,得到总黄酮提取液,浓缩至 10 mL,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,用于 HPLC 法测定。

2.2.8 HPLC 分析条件 色谱柱: COSMOSIL C₁₈ 色谱柱

表 2 生酸枣仁中总黄酮提取工艺试验设计					
序号	超声功率 (W)	料液比 (g:mL)	乙醇浓度 (%)	超声时间 (min)	含量 (mg/g)
1	200	1:50	40	70	4.75
2	200	1:60	60	60	6.01
3	200	1:50	40	50	5.16
4	200	1:50	60	70	5.61
5	200	1:50	50	60	6.37
6	200	1:60	40	60	4.90
7	200	1:50	50	60	6.36
8	100	1:60	50	60	4.93
9	200	1:50	60	50	5.50
10	100	1:50	40	60	4.75
11	200	1:50	50	60	6.47
12	300	1:50	50	70	4.69
13	300	1:50	40	60	5.01
14	100	1:50	50	70	4.41
15	100	1:40	50	60	5.04
16	300	1:50	60	60	5.60
17	100	1:50	60	60	5.20
18	200	1:50	50	60	6.35
19	300	1:60	50	60	5.35
20	200	1:60	50	70	5.27
21	300	1:50	50	50	4.97
22	200	1:50	50	60	6.42
23	200	1:40	50	70	5.12
24	300	1:40	50	60	5.29
25	200	1:40	50	50	5.38
26	200	1:40	40	60	5.49
27	200	1:40	60	60	5.36
28	200	1:60	50	50	5.23
29	100	1:50	50	50	4.88

(4.6 mm×250 mm,5 μm);柱温度:25 ℃;流动相:乙腈-水梯度洗脱,加入 0.05% 甲酸,梯度洗脱见表 3;流速:0.80 mL/min;检测波长 335 nm,进样量:10 μL。

表 3 乙腈-水梯度洗脱程序			
时间 (min)	流速 (mL/min)	A:乙腈 (%)	B:水 (%)
0	0.80	19.0	81.0
9	0.80	21.0	79.0
20	0.80	29.0	71.0
21	0.80	50.0	50.0

2.2.9 标准溶液的配制与曲线的绘制 精确称取 1.00 mg 斯皮诺素和 1.00 mg 6''-阿魏酰斯皮诺素,溶解于 1 mL 甲醇中,配置成浓度为 1 mg/mL 的储备液。精确吸取储备液,分别稀释成 500、400、300、200、100、50 μg/mL,置于样品瓶中,4 ℃ 保存。按照上述色谱条件进行 HPLC 法测定,以标准溶液浓度(X)为横坐标,以峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,进行直线回归,得到回归方程。

3 结果与分析

3.1 超声波提取单因素试验

3.1.1 超声波提取时间对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响 由图 1 可知,生酸枣仁在不同的超声波提取时间下测得的

吸光度不同。在所选的水平中生酸枣仁中总黄酮的提取量呈现先上升后趋于平稳的趋势,其中在 60 min 时吸光度达到最大值。所以,基于本单因素试验结果,选择超声时间 60 min 作为本试验条件下最优提取时间。

3.1.2 超声功率对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响 由图 2 可知,生酸枣仁在不同的超声功率下测得的吸光度有所不同。在所选的水平中生酸枣仁中总黄酮的提取量呈现先上升后下降,最后趋于不变的趋势,其中在 200 W 时吸光度达到

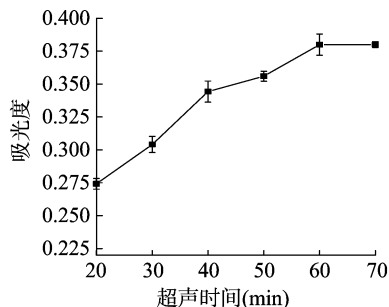


图1 超声波提取时间对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响

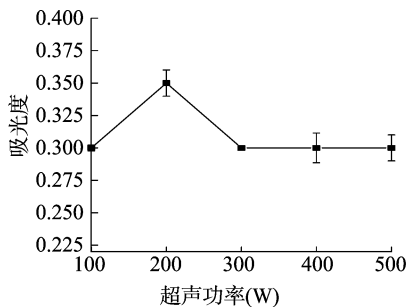


图2 超声功率对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响

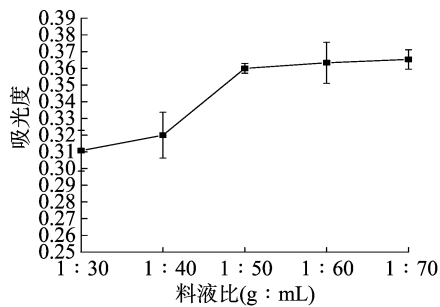


图3 料液比对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响

3.1.4 乙醇浓度对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响 由图 4 可知,生酸枣仁在不同的乙醇浓度下测得的吸光度有所不同。在所选的水平中生酸枣仁中总黄酮的提取量呈现先上升后下降的趋势,其中在乙醇浓度为 50% 时,吸光度达到最大值。所以,基于本单因素试验结果,选择 50% 乙醇作为本试验条件下最佳的提取溶液。

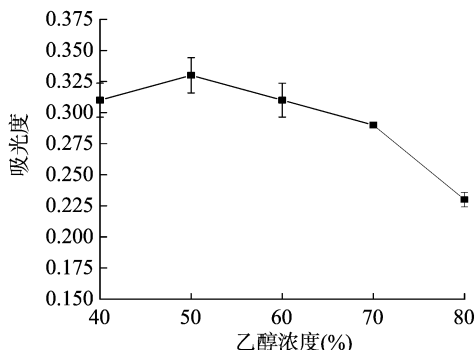


图4 乙醇浓度对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响

3.2 响应面法试验设计分析

生酸枣仁总黄酮的响应面试验结果见表 2。利用 Design - Expert 8.0.5.0 软件对表 2 中的数据进行多元回归拟合,得到表 4。由表 4 可知,回归模型具有高显著性 ($P < 0.001$)。一次项 A 、 C 、 D ,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 ,交互项 AD 、 BC 都表现出极显著影响。该模型的 $R^2 = 0.9905$ 、 $R_{Adj}^2 = 0.9811$,表明该模型能解释 98.11% 响应值的变化,拟合程度良好,试验误差小,适合对生酸枣仁总黄酮的提取量进行分析和预测;从模型的失拟性方差分析可以看出,失拟项为 0.066,不显著 ($P > 0.05$),表明该模型是稳定的,能很好地预测实际生酸枣仁中总黄酮含量的变化。通过 F 值大小可看出,影响生酸枣仁中总黄酮提取率的主次因素依次为 $C > A > D$,即乙醇浓度 > 超声功率 > 超声时间。

采用逐步回归法得到超声功率、超声时间、料液比、乙醇浓度 4 个影响因素与提取总黄酮的拟合方程:总黄酮含量 =

最大值。所以,基于本单因素试验结果,选择 200 W 作为本试验条件下最佳提取功率。

3.1.3 料液比对生酸枣仁中总黄酮提取量的影响 由图 3 可知,生酸枣仁在不同的料液比下测得的吸光度有所不同。在所选的水平中,生酸枣仁中总黄酮的含量呈先上升后趋于平稳的趋势,其中在 1 g : 50 mL 时吸光度达到最大值。所以,基于本单因素试验结果,选择 1 g : 50 mL 作为本试验条件下最佳提取料液比。

6.39 + 0.14A + 0.00008333B + 0.27C - 0.11D - 0.044AB + 0.035AC + 0.049AD - 0.31BC - 0.074BD + 0.13CD - 0.84A² - 0.44B² - 0.44C² - 0.74D²。由响应面分析得出的优化结果,超声功率 269.94 W,料液比 48.3 ℃,乙醇浓度 53.91%,超声时间 59.95 min。按照模型给出的近似适宜提取条件(超声功率 270 W,料液比 1 g : 50 mL,乙醇浓度 50%,超声时间 60 min)进行验证试验,每个处理 3 次平行,得到生酸枣仁总黄酮的含量为 (6.37 ± 0.16) mg/g,略低于前人的试验结果 (8.64 mg/g) [16],这可能跟原料有关,与模型的理论差值为 (0.12 ± 0.01) mg/g。

3.4 色谱条件的优化

3.4.1 检测波长的选择 依据斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素的理化性质,它们在紫外区域有最大吸收,故取斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素对照品溶于甲醇后在 200 ~ 400 nm 波长范围内进行扫描,结果显示斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素在 335 nm 波长处具有最大吸收,所以选取 335 nm 作为 HPLC 法测定斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素含量的检测波长。

3.4.2 流动相的选择 色谱甲醇的最大吸收波长为 210 nm,色谱乙腈的最大吸收波长为 190 nm,斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素的最大吸收波长在 335 nm,为减少干扰,提高信噪比,选择乙腈作为流动相,可在消除背景干扰且保证基线较平稳和检测的灵敏度。试验过程中在流动相中加入甲酸可减少色谱峰拖尾的情况,所以最终选择加入了甲酸的乙腈 - 水体系。

3.4.3 流动相组成的选择 流动相中有机相的比例越大,色谱峰的保留时间越短,色谱峰出峰越快。本试验在其他相同条件下,分别试验了乙腈的不同体积百分比下进标准溶液和样品溶液的分析。结果显示,表 3 的洗脱程序下标准品和样品的分离效果最好,所以选择本洗脱程序。

3.4.4 流动相流速的选择 在色谱分离过程中,流动相的流速大时,色谱柱柱压升高,缩短了色谱柱的寿命。系统压力增加,增大了泵的负荷,使泵损坏加快。流速过低,待分离物质

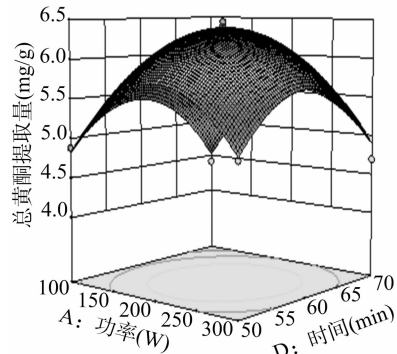


图5 超声功率和超声时间对生酸枣仁中总黄酮提取量的响应面

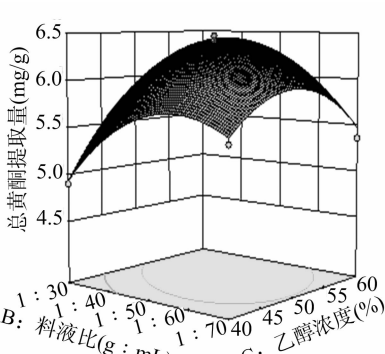


图6 料液比和乙醇浓度对生酸枣仁中总黄酮提取量的响应面

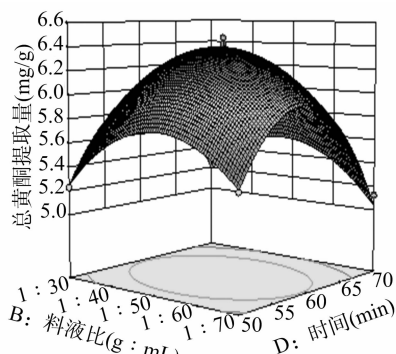


图7 料液比和超声时间对生酸枣仁中总黄酮提取量的响应面

表 4 生酸枣仁总黄酮提取试验回归方程系数及显著性检验

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	9.030 00	14	0.65	65.40	<0.001	极显著
A	0.240 00	1	0.24	24.18	0.000 2	
B	0.003 30	1	0.003 3	0.65	0.432 0	
C	0.870 00	1	0.87	87.85	<0.001	极显著
D	0.130 00	1	0.13	13.54	0.002 5	
AB	0.007 50	1	0.007 5	0.77	0.395 9	
AC	0.004 83	1	0.004 83	0.49	0.495 6	
AD	0.004 90	1	0.004 9	94.60	<0.001	极显著
BC	0.003 80	1	0.003 8	74.75	<0.001	极显著
BD	0.022 00	1	0.022	2.24	0.157 1	
CD	0.067 00	1	0.067	6.80	0.020 7	
A ²	4.620 00	1	4.62	467.84	<0.001	极显著
B ²	1.250 00	1	1.25	126.52	<0.001	极显著
C ²	1.270 00	1	1.27	128.55	<0.001	极显著
D ²	3.530 00	1	3.53	358.14	<0.001	极显著
残差	0.000 72	14	0.000 05			
失拟	0.000 67	10	0.000 06	5.46	0.066	不显著
误差	0.004 90	4	0.000 01			
总变异	0.076 00	28				
确定系数	0.990 50		调整确定系数	0.981 1		

的保留时间延后,使分析时间增长。综合考虑,本试验选择流速为 0.80 mL/min。

3.5 斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素标准曲线

按“2.2.9”节配制斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素的系

列标准溶液,按“2.2.8”节色谱条件进样分析,求得线性回归方程、相关系数和线性范围。最低检出限以 3 倍信噪比所对应的进样质量求得,结果列于表 5。结果表明,响应值与进样量之间具有良好线性相关性。

表 5 斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素的标准曲线和最低检出限

成分	回归方程	相关系数	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	最低检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
斯皮诺素	$Y = 14\,997X - 66\,453$	0.999	50 ~ 500	2.07
6'''-阿魏酰斯皮诺素	$Y = 16\,865X - 62\,029$	0.999	50 ~ 500	1.54

注:以峰高 3 倍于基线噪声所对应浓度为检出限。

3.6 HPLC 分析方法的评价

3.6.1 方法的精密度和稳定性试验 取斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素混合标准溶液 10 μL ,在相同色谱条件下平行 5 次进样,以色谱峰的峰面积为指标计算 RSD,考察方法的精密度,斯皮诺素标准溶液的精密度试验 RSD 为 0.49%,6'''-阿魏酰斯皮诺素标准溶液的精密度试验 RSD 为 2.67%,说明本方法具有良好的精密度;将混合标准溶液在室温放置 2、4、8、16、32 h 后进行 HPLC 测定,以色谱峰的峰面积为指标计算

RSD,考察其稳定性,斯皮诺素标准溶液的稳定性试验 RSD 为 0.82%,6'''-阿魏酰斯皮诺素标准溶液的稳定性试验 RSD 为 3.45%,说明本方法具有良好的稳定性。

3.6.2 回收率试验 准确平行称取 5 份生酸枣仁样品按“2.2.8”节色谱条件分析。另将同一水平的斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素混合标准溶液添加到同一样品中,在相同条件下进行分析测定,与未加标样品进行含量比较,计算每份样品的加标回收率,并进行统计。结果表明,斯皮诺素的平均回

收率为 99.96%, 相对标准偏差为 5.69%; 6"-阿魏酰斯皮诺素的平均回收率为 100.11%, 相对标准偏差为 4.23%。

从方法评价的结果来看, 此方法具有较好的精密性、稳定性和准确性, 可用于生酸枣仁中斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素的含量分析。

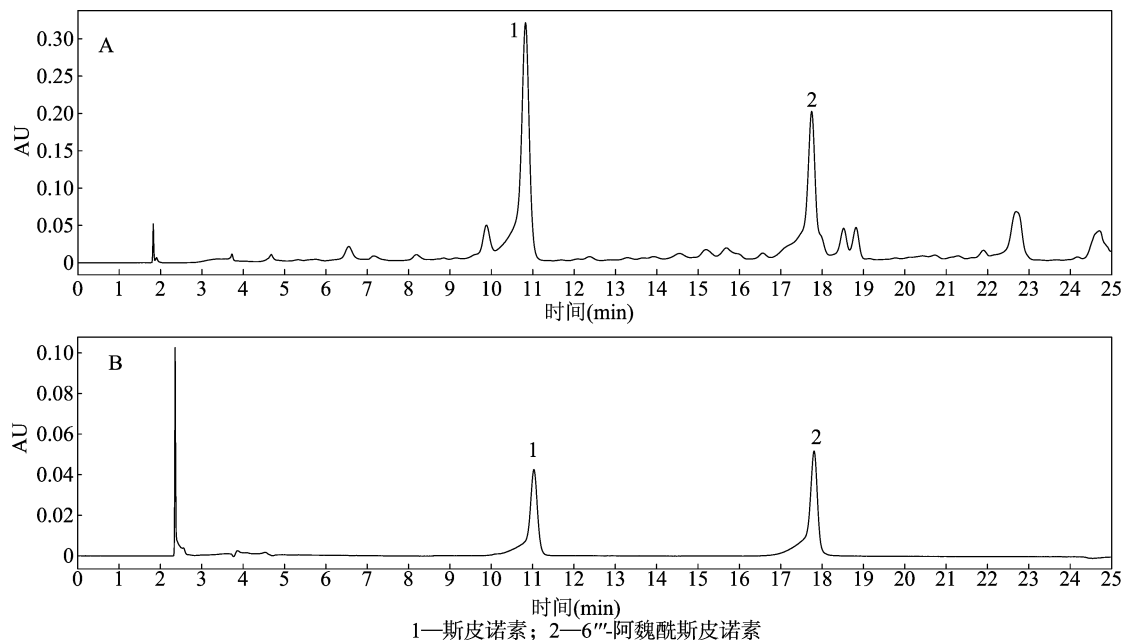


图8 斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素标准品(A)及生酸枣仁样品(B)的HPLC色谱图

根据表 5 所给出的标准曲线及样品中 2 种物质的峰面积计算得出生酸枣仁中斯皮诺素的含量为 3.48 mg/g, 6"-阿魏酰斯皮诺素的含量为 2.24 mg/g, 略高于前人试验结果^[17]。

4 结论

本试验采用响应面设计优化总黄酮提取工艺。由响应面分析得出的优化结果是: 超声功率 270 W, 料液比 1 g : 50 mL, 乙醇浓度 50%, 超声时间 60 min 提取 2 次。此条件下生酸枣仁中总黄酮提取量达 6.37 mg/g。

本试验开发了一种梯度淋洗高效液相色谱分析法, 用于生酸枣仁中斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素的定量分析可以获得比较满意的分析结果。通过对生酸枣仁中斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素进行 HPLC 测定得出酸枣仁中斯皮诺素的含量为 3.48 mg/g, 6"-阿魏酰斯皮诺素的含量为 2.24 mg/g。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 300-301.
- [2] 马进杰, 刘 萍, 马百平. 酸枣仁化学成分及其镇静催眠作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(3): 206-211.
- [3] 任燕萍. 酸枣仁有效成分的提取及其药理作用研究[J]. 海峡药学, 2011, 23(12): 89-91.
- [4] 崔思娇, 贾 英, 罗 洁, 等. 酸枣仁镇静催眠活性部位的筛选[J]. 中国药房, 2013(23): 2128-2129.
- [5] 曾碧映, 李嘉滢, 李新才, 等. 中药酸枣仁研究现状[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(12): 74-75.
- [6] 李秋玲, 王二丽, 郭素华. 中药酸枣仁镇静催眠化学成分及药理

3.7 样品色谱图和含量分析

按照“2.2.8”节所述分析方法对生酸枣仁中的斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素的含量进行分析, 斯皮诺素和 6"-阿魏酰斯皮诺素标准品和样品的色谱图见图 8。

- 作用[J]. 天津药学, 2010, 22(5): 59-61.
- [7] Jiang J G, Huang X J, Chen J, et al. Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from Semen Ziziphus jujube[J]. Natural Product Research, 2007, 21(4): 310-320.
- [8] Li Y J, Bi K S. Study on the therapeutic material basis of traditional Chinese medicinal preparation Suanzaoren decoction[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2006, 54(6): 847-851.
- [9] 鲍康德, 李 萍, 李会军, 等. HPLC-ELSD 法同时测定酸枣仁中黄酮及皂苷类成分[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2009(1): 47-53.
- [10] 闫 艳, 杜晨晖, 李小菊, 等. HPLC-DAD-ELSD 法同时测定酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 和 B 的含量[J]. 药物分析杂志, 2011(1): 30-33.
- [11] 刘昌辉, 黄小桃, 李颖仪, 等. LC-MS/MS 法测定酸枣仁中酸枣仁皂苷 A、B 和斯皮诺素的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(1): 69-72.
- [12] 刘文亮, 郑 玥, 凌雪宇. HPLC 法测定酸枣仁颗粒中斯皮诺素的含量[J]. 生物技术世界, 2014(4): 107-107.
- [13] 王守勇, 李正国, 孔祥德, 等. 不同制法酸枣仁汤中总黄酮和斯皮诺素的含量比较[J]. 中华中医药学刊, 2015(10): 2426-2429.
- [14] 黄玉英, 黄卓谦. HPLC 法测定理枣仁中斯皮诺素的含量[J]. 中国中医药科技, 2016, 23(3): 302-303.
- [15] 张 玲. 河北滨海地区白刺及碱蓬属盐生植物营养成分分析 [D]. 保定: 河北农业大学, 2013.
- [16] 高剑峰, 张朝华, 周福勤, 等. 酸枣仁中总黄酮的含量测定及提取工艺研究[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(4): 52-54.
- [17] 李会军, 李 萍. HPLC 法测定酸枣仁不同炮制品中两种黄酮碳苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(4): 260-262.