

赖红芳,潘立卫,吕贵密,等. 大孔树脂纯化翠云草中穗花杉双黄酮的工艺[J]. 江苏农业科学,2018,46(7):201-204.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.07.050

大孔树脂纯化翠云草中穗花杉双黄酮的工艺

赖红芳,潘立卫,吕贵密,黄秀香

(河池学院化学与生物工程学院,广西宜州 546300)

摘要:为研究翠云草中穗花杉双黄酮的大孔树脂纯化工艺,利用静态和动态吸附-解吸附试验对 8 种大孔吸附树脂进行筛选,并优选该树脂的最佳分离纯化条件。结果表明:NKA-9 大孔吸附树脂比较适用于穗花杉双黄酮的纯化,最佳纯化工艺的上样液质量浓度为 0.033 24 mg/mL,上样体积流速为 0.3 mL/min,上样量为 35 mL,用 90% 乙醇在洗脱流速为 0.5 mL/min、洗脱体积为 35 mL 下进行洗脱,分离纯化后的穗花杉双黄酮的回收率达 64.26%。因此,NKA-9 大孔吸附树脂能有效分离纯化翠云草中的穗花杉双黄酮。

关键词:翠云草;穗花杉双黄酮;大孔树脂;纯化工艺;回收率

中图分类号:R284.2

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2018)07-0201-04

翠云草[*Selaginella uncinata* (Desv.) spring] 别称蓝地柏、绿绒草,系蕨类卷柏科卷柏属(*Selaginella*)植物,其味微苦、性寒,具有清热利湿、解毒、消淤止血的功效^[1]。翠云草中含有黄酮类、氨基酸、酚类、多糖等多种对人体有益的活性物质,其中的主要成分穗花杉双黄酮(amentoflavone)具有较好的抗肿瘤和抗病毒作用^[2-3],且无显著毒性,抗衰老、抗氧化性强,还有抗炎、抗菌^[4]、血管舒张等生理活性,是极好的天然抗氧化剂,有良好的保健作用,应用前景极为广阔。有学者在研究 DNA 氧化损伤时发现,穗花杉双黄酮对其具有保护作用,因而穗花杉双黄酮还可作为一种潜在的基因治疗药物^[5]。

大孔吸附树脂是近几十年发展起来的一种具有多孔立体结构、人工合成的有机高分子新型分离材料^[6],其理化性质稳定,不溶于有机溶剂及酸碱,不受低分子化合物、无机盐类及强离子的干扰,吸附成效好,容易再生,使用周期长,被广泛

用于分离纯化天然产物^[7]。近年来,我国在使用大孔树脂对天然产物的分离、纯化工作已十分普遍^[8-9]。查阅文献可知,关于利用大孔吸附树脂分离纯化翠云草中穗花杉双黄酮的优化工艺目前未见报道。本试验用静态吸附-解吸法从 8 种大孔吸附树脂中初选出 3 种,再利用动态吸附-解吸的方法筛选出 1 种吸附-解吸效果最好的大孔树脂,并优化其工艺条件,目的在于得到较高纯度的穗花杉双黄酮,为开发以穗花杉双黄酮为主的药品及功能性食品提供重要理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于 2016—2017 年在河池学院化学与生物工程学院实验室进行。翠云草购买于广西玉林药材市场,经潘立卫实验师鉴定为翠云草全草;穗花杉双黄酮标准品(批号: MUST-15012505,纯度>99.5%),成都曼斯特生物科技有限公司;无水乙醇、95%乙醇、磷酸等均为分析纯;大孔树脂 AB-8、HPD600、D4020、DM130、NKA-9、HP20、HPD450、D101,郑州华溢科技新材料股份有限公司;色谱纯乙腈,美国天地有限公司。

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(四元泵,VWD 检测器,柱温箱,自动进样器)、Agilent 1260 series 色谱工作站、Agilent

收稿日期:2017-11-21

基金项目:广西教育厅科研重点项目(编号:KY2015ZD104);广西自然科学基金(编号:2017GXNSFAA198118、2015GXNSFAA139030)。作者简介:赖红芳(1975—),女,广西柳州人,硕士,副教授,主要从事天然有机化学研究。E-mail: lai hongfang263@163.com。通信作者:黄秀香,硕士,教授,主要从事天然有机化学研究。E-mail: hxx1372@163.com。

- its extracts[J]. Food Chemistry,2014,153(9):279-284.
- [8] Zeng W C, Zhang Z, Jia L R. Antioxidant activity and characterization of antioxidant polysaccharides from pine needle (*Cedrus deodara*) [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 108(108): 58-64.
- [9] 李孟秋,翟俊乐,田欢,等. 黄秋葵提取物体外抗氧化活性的研究[J]. 中国食品添加剂,2015(10):65-69.
- [10] DuBois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.
- [11] Li X C, Lin J, Gao Y X, et al. Antioxidant activity and mechanism of rhizoma Cimicifugae [J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6(1): 140.
- [12] 文镜,贺素华,杨育颖,等. 保健食品清除自由基作用的体外

- 测定方法和原理[J]. 食品科学,2004,25(1):190-195.
- [13] Benzie I F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [J]. Anal Biochem, 1996, 239(1): 70-76.
- [14] Pulido R, Bravo A L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(8): 3396-3402.
- [15] 续洁琨,姚新生,栗原博. 抗氧化能力指数(ORAC)测定原理及应用[J]. 中国药理学通报,2006,22(8):1015-1021.
- [16] Dávalos A, Gómez-Cordovés C, Bartolomé B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(1): 48-54.

8453 型紫外 - 可见分光光度计 (美国安捷伦公司); KQ2200DE 超声波清洗机 (江苏省昆山市超声仪器有限公司); AUW220D 型十万分之一天平 (日本岛津公司); RE - 52A 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); MilliporeD - Q3 超纯水机 (美国密理博公司); SHA - C 型国华恒温振荡器 (中外合资深圳天南海北有限公司)。

1.2 高效液相色谱分析

1.2.1 色谱条件 色谱柱为 Kramasil C₁₈; 流动相 $V_{\text{乙醇}}: V_{0.1\% \text{磷酸水溶液}} = 40:60$; 流速为 0.6 mL/min; UV 检测波长为 269 nm; 柱温为 30 ℃; 进样量为 10 μL。

1.2.2 标准品溶液的制备 精确称取穗花杉双黄酮标准对照品 2.1 mg, 置于干净干燥的 25 mL 烧杯中, 加入浓度为 80% 乙醇溶解, 恒温超声 5 min, 待溶解完全后冷却, 容量瓶定容至 50 mL, 即可制得 50 mL 浓度为 0.042 mg/mL 的穗花杉双黄酮标准对照溶液。

1.2.3 标准曲线的绘制 精确移取上述穗花杉双黄酮标准对照溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 分别置于 6 个 25 mL 容量瓶中, 用浓度为 80% 的乙醇定容至刻度线, 摇匀后静置。用 0.45 μm 的滤膜过滤后按“2.1.1”方法测不同浓度穗花杉双黄酮标准对照品溶液的峰面积 (S), 以穗花杉双黄酮的质量浓度 (mg/mL) 为横坐标、穗花杉双黄酮峰面积 (S) 为纵坐标作图, 绘制标准曲线。

1.3 样品溶液的制备

将翠云草洗净干燥后粉碎, 过 40 目筛, 料液比为 1 g:20 mL, 乙醇体积分数为 70%。在超声提取功率为 80 W、温度为 60 ℃ 的提取条件下, 超声提取 0.5 h。重复提取 2 次后合并滤液, 得到翠云草总提取物, 旋转蒸发浓缩得到浸膏, 试验前用 80% 乙醇溶解即可得到样品溶液。

1.4 大孔吸附树脂的选择

1.4.1 大孔吸附树脂静态吸附试验 精确称取预处理好的 8 种大孔吸附树脂各 1 g 至 150 mL 干净干燥的锥形瓶中, 分别加入处理好的粗提取液 25 mL (穗花杉双黄酮的质量浓度为 0.012 334 mg/mL), 用保鲜膜密封锥形瓶瓶口, 并用橡皮筋固定, 于 25 ℃、120 r/min 下恒温恒速振荡吸附 24 h, 抽滤得上清液, 分别以“1.2.3”方法测定各上清液中的穗花杉双黄酮的质量浓度, 计算各种型号树脂的吸附率。砂芯漏斗抽滤上述吸附饱和的树脂, 除去树脂表面残留的溶液, 再置于原来的锥形瓶中, 准确加入 80% 乙醇 25 mL 后, 将锥形瓶放在恒温恒速振荡器中振荡 24 h, 充分洗脱后过滤, 得到滤液, 测定洗脱后穗花杉双黄酮的质量浓度, 并按照以下的计算公式对各种型号大孔吸附树脂的静态解吸率进行计算。

$$\text{吸附率} = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100\%;$$

$$\text{解吸率} = C_2 / (C_0 - C_1) \times 100\%;$$

$$\text{富集回收率} = \text{吸附率} \times \text{解吸率}。$$

式中: C_0 为吸附前穗花杉双黄酮的质量浓度; C_1 为吸附后穗花杉双黄酮的质量浓度; C_2 为解吸附后穗花杉双黄酮的质量浓度。

1.4.2 动态吸附 - 解吸性能试验 取从静态吸附中选择好的 3 种大孔吸附树脂各 4 g, 湿法装柱, 将质量浓度为 0.023 74 mg/mL 的穗花杉双黄酮样液 35 mL 加于柱顶, 以 0.5 mL/min 的流速进行吸附, 吸附完全后, 用蒸馏水以同样的流速进行清洗, 清洗至流出液没有颜色, 收集过柱液和洗脱

液。用体积分数为 80% 乙醇以 0.5 mL/min 的速度洗脱至流出液没有颜色, 按“1.2.3”方法测定并计算大孔树脂的吸附率和解吸率。

1.5 大孔吸附树脂纯化工艺的优选

1.5.1 样品溶液质量浓度的考察 精确称取 4 份经过处理的 NKA - 9 大孔吸附树脂各 4 g, 装入玻璃柱中。取质量浓度分别为 0.005 876、0.019 73、0.022 35、0.033 24 mg/mL 的上样液 35 mL 加于各柱顶, 以相同的流速通过柱内的大孔树脂, 待完全吸附后, 测定吸附后样液的穗花杉双黄酮质量浓度, 计算各项 NKA - 9 型树脂的吸附率。

1.5.2 样品溶液不同流速对吸附率的影响 精确称取 4 份经过处理的 NKA - 9 大孔吸附树脂各 4 g, 装入玻璃柱中。选取穗花杉双黄酮质量浓度为 0.033 24 mg/mL 的上样液 35 mL 加于柱顶, 以不同的流速通过树脂柱, 分别收集流出液, 测定流出液穗花杉双黄酮质量浓度, 计算吸附率。

1.5.3 泄露曲线的考察 精确称取经过处理的 NKA - 9 大孔吸附树脂 4 g, 湿法装柱, 选取穗花杉双黄酮质量浓度为 0.033 24 mg/mL 的样品溶液 70 mL 进行动态吸附考察。样品通过树脂柱的速度为 0.3 mL/min, 分段收集流出液, 每份 5 mL, 收集 14 份, 测定流出液中穗花杉双黄酮的质量浓度。

1.5.4 洗脱剂浓度的考察 精确称取处理好的 NKA - 9 大孔吸附树脂各 4 g, 取穗花杉双黄酮质量浓度为 0.033 24 mg/mL 的样液 35 mL, 以 1 mL/min 的流速进行动态吸附, 吸附完全后, 各个树脂柱以相同的流速用 10 mL 蒸馏水冲洗, 收集流出液和水洗液, 分别用不同浓度的乙醇进行洗脱, 收集并测定这 5 份洗脱液的穗花杉双黄酮质量浓度, 并计算其解吸率。

1.5.5 洗脱剂流速的考察 精确称取 4 份经过处理的 NKA - 9 大孔吸附树脂各 4 g, 装入玻璃柱中。取 35 mL 质量浓度为 0.033 24 mg/mL 的翠云草穗花杉双黄酮样液分别加于柱顶, 以 0.3 mL/min 的速度通过树脂柱进行动态吸附, 吸附完全后, 用 10 mL 的蒸馏水冲洗, 合并流出液和水洗液, 移取 35 mL 90% 乙醇加于各个吸附后的树脂柱, 分别以不同流速进行洗脱, 收集洗脱液, 测定其洗脱液中穗花杉双黄酮的质量浓度, 计算解吸率。

1.5.6 洗脱剂用量的考察 精确称取处理好的 1 份 NKA - 9 大孔吸附树脂 4.0 g, 湿法装柱, 移取 35 mL 质量浓度为 0.332 4 mg/mL 穗花杉双黄酮的样品溶液进行吸附, 吸附完全后用 10 mL 蒸馏水冲洗, 合并流出液和水洗液, 用 90% 乙醇以 0.3 mL/min 的体积流量进行解吸试验, 加于柱顶的 90% 乙醇为 70 mL, 每 5 mL 解吸液收集 1 份并测定其质量浓度, 以收集到的份数作为横坐标、每份解吸液穗花杉双黄酮质量浓度作为纵坐标绘制曲线。

1.6 验证试验

精确称取 3 份处理好的大孔吸附树脂 4.0 g, 分别装柱, 按照优选出各项纯化工艺条件进行平行试验, 收集吸附后的流出液、水洗液、洗脱液, 测定并计算吸附率、解吸率。

2 结果与分析

2.1 穗花杉双黄酮的测定方法

2.1.1 色谱条件优化 在色谱柱为 Kramasil C₁₈、流动

相 $V_{\text{乙腈}}:V_{0.1\% \text{ 磷酸水溶液}}=40:60$ 、流速为 0.6 mL/min 、UV 检测波长为 269 nm 、柱温为 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、进样量为 $10 \text{ }\mu\text{L}$ 的条件下,标准品溶液和样品溶液的出峰时间为 5.8 min ,穗花杉双黄酮与相邻色谱峰的分度度大于 1.5 ,理论塔板数大于 $3\,000$ (图 1)。

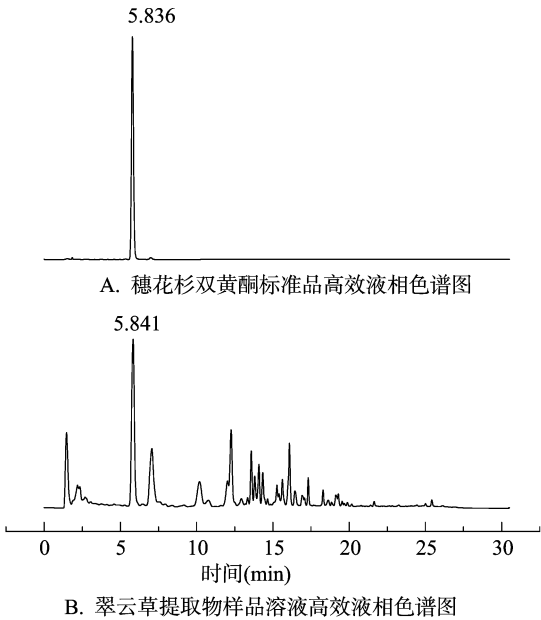


图1 穗花杉双黄酮标准品和翠云草提取物样品溶液高效液相色谱

2.1.2 标准曲线的绘制 按“1.2.3”操作后测不同浓度穗花杉双黄酮标准对照品溶液的峰面积(S),以穗花杉双黄酮的质量浓度(mg/mL)为横坐标、穗花杉双黄酮峰面积(S)为纵坐标作图,绘制标准曲线,其线性回归方程为: $y=88\,520x-5\,271\,4$, $r=0.999\,7$ 。

2.2 大孔吸附树脂的选择

2.2.1 大孔吸附树脂静态吸附试验 以吸附率和解吸率为主要参考因素,结合穗花杉双黄酮回收率,由表 1 的数据对比可选择出 NKA-9、HP20、HPD450,用这 3 种大孔吸附树脂进行下一步的动态吸附试验。

表 1 大孔吸附树脂对穗花杉双黄酮的静态吸附与解吸附性能

树脂型号	吸附率 (%)	解吸率 (%)	穗花杉双黄酮回收率 (%)
NKA-9	78.41	76.31	59.83
AB-8	93.86	16.25	15.25
HPD600	81.36	20.38	16.58
HP20	69.21	70.00	48.45
DM130	73.97	49.38	36.52
HPD450	72.21	64.08	46.27
D4020	72.17	52.34	37.77
D101	71.17	51.69	36.79

2.2.2 动态吸附-解吸性能试验 取处理好的 HP20、NKA-9、HPD450 大孔吸附树脂各 4 g ,按“1.4.2”节操作后测定并计算 NKA-9、HP20 及 HPD450 大孔树脂的吸附率和解吸率,结果见表 2。根据试验结果可知,NKA-9 的吸附和解吸效果比 HP20 和 HPD450 好,所以选择使用 NKA-9 大孔吸附树脂进行纯化条件的优选。

表 2 2 种大孔吸附树脂对穗花杉双黄酮的动态吸附和解吸附性能

树脂型号	吸附率 (%)	解吸率 (%)	穗花杉双黄酮回收率 (%)
NKA-9	81.39	74.42	60.49
HP20	41.07	44.66	18.34
HPD450	46.27	46.97	21.73

2.3 大孔吸附树脂纯化工艺的优选

2.3.1 样品溶液质量浓度的考察 取按“1.3”节制备得到的浸膏适量,用 80% 乙醇配成质量浓度分别为 $0.005\,876$ 、 $0.019\,73$ 、 $0.022\,35$ 、 $0.033\,24 \text{ mg/mL}$ 的上样液 35 mL 按“1.5.1”节操作后计算各项 NKA-9 型树脂的吸附率 (表 3)。

表 3 翠云草中穗花杉双黄酮不同质量浓度对吸附率的影响

编号	吸附前质量浓度 (mg/mL)	吸附后质量浓度 (mg/mL)	吸附率 (%)
1	0.005 876	0.005 341	9.11
2	0.019 730	0.009 300	53.03
3	0.022 350	0.008 636	61.36
4	0.033 240	0.006 538	80.33

当上样液中穗花杉双黄酮质量浓度为 $0.033\,24 \text{ mg/mL}$ 时,吸附率较好。上样液浓度过低,大孔树脂没有得到充分吸收,会降低大孔树脂的吸附率;浓度高,吸附效果较好,但浓度为 $0.332\,4 \text{ mg/mL}$ 时已是饱和质量浓度,再旋转蒸发浓缩就呈现膏状,所以 $0.033\,24 \text{ mg/mL}$ 为最佳上样浓度。

2.3.2 样品溶液不同流速对吸附率的影响 按“1.5.2”节操作后以不同的流速即 0.2 、 0.3 、 0.5 、 1.0 mL/min 通过树脂柱,分别收集流出液,测定流出液穗花杉双黄酮质量浓度,计算吸附率,结果见表 4。

表 4 翠云草中穗花杉双黄酮不同流速对吸附率的影响

流速 (mL/min)	吸附前浓度 (mg/mL)	吸附后浓度 (mg/mL)	吸附率 (%)
0.2	0.033 24	0.005 591	83.18
0.3	0.033 24	0.006 206	81.33
0.5	0.033 24	0.008 067	75.73
1.0	0.033 24	0.009 799	70.52

样品溶液的流出速度越大,穗花杉双黄酮没被吸附就泄露了,导致吸附率越低。当样品溶液的流出速度为 0.2 mg/mL 时,吸附率最高,但速度过慢,耗时较长。所以选择流出速度 0.3 mL/min ,这样既保证了较快的进度,又能得到较好的吸附率。

2.3.3 泄露曲线的考察 按“1.5.3”节操作后分段收集流出液,每份 5 mL ,收集 14 份,测定 14 份流出液中穗花杉双黄酮的质量浓度 (图 2)。当收集到第 2 个 5 mL 时,黄酮溶液开始泄露,当收集到第 7 个 5 mL 时,流出的穗花杉双黄酮质量浓度基本达到峰值且不再有太大变化,说明当质量浓度为 $0.033\,24 \text{ mg/mL}$ 的穗花杉双黄酮样品溶液为 35 mL 时,基本达到饱和状态,因此建议上样量为 35 mL 。

2.3.4 洗脱剂浓度的考察 按“1.5.4”节操作后分别用 60% 、 70% 、 80% 、 90% 、无水乙醇进行洗脱,收集并测定这 5 份洗脱液的穗花杉双黄酮质量浓度,并计算其解吸率,结果见表 5。

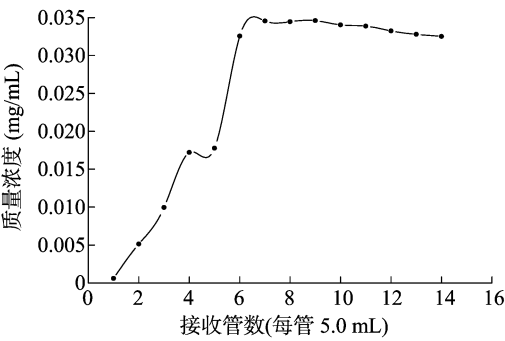


图2 泄露曲线

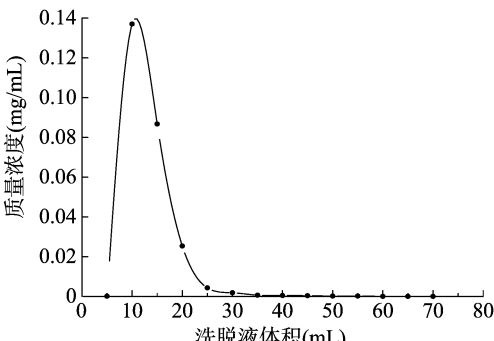


图3 洗脱曲线

表 5 不同浓度洗脱剂对解吸率的影响

解吸剂浓度 (%)	吸附前浓度 (mg/mL)	吸附后浓度 (mg/mL)	解吸后浓度 (mg/mL)	解吸率 (%)
60	0.033 24	0.009 268	0.014 30	59.65
70	0.033 24	0.009 349	0.015 19	63.58
80	0.033 24	0.008 693	0.016 28	66.33
90	0.033 24	0.009 049	0.018 45	76.28
100	0.033 24	0.009 216	0.017 15	71.39

用 90% 乙醇进行洗脱时解吸率最高,说明过低或过高的乙醇浓度都会对解吸率有影响。

2.3.5 洗脱剂流速的考察 按“1.5.5”节操作后分别以 0.2、0.5、1.0、2.0 mL/min 的速度进行洗脱,收集洗脱液,测定其洗脱液中穗花杉双黄酮的质量浓度,计算解吸率(表 6)。

表 6 不同洗脱流速对穗花杉双黄酮解吸率的影响

流速 (mL/min)	吸附前浓度 (mg/mL)	吸附后浓度 (mg/mL)	解析后浓度 (mg/mL)	解吸率 (%)
0.2	0.033 24	0.006 835	0.023 650	89.75
0.5	0.033 24	0.006 185	0.021 640	80.04
1.0	0.033 24	0.006 991	0.016 720	62.00
2.0	0.033 24	0.006 675	0.009 714	36.57

由表 6 可知,洗脱速度越大,解吸率越低,因为流速高使得洗脱液与吸附树脂的接触时间减少,物质吸附-解析不充分。当洗脱速度为 0.2 mL/min 时,解吸率最高,但是速度过慢,生产周期会延长,效率较低,故选 0.5 mL/min 为最佳洗脱流速。

2.3.6 洗脱剂用量的考察 按“1.5.6”节操作后用 90% 乙醇以 0.3 mL/min 的体积流量进行解吸试验,加于柱顶的 90% 乙醇为 70 mL,每 5 mL 解吸液收集 1 份并测定其质量浓度,以收集到的份数作为横坐标、每份解吸液穗花杉双黄酮质量浓度作为纵坐标绘制曲线,结果见图 3。由图 3 可知,当洗脱液体积为 35 mL 时,穗花杉双黄酮基本洗脱完全,因而选择洗脱液体积为 35 mL。

2.4 验证试验

精确称取处理好的大孔吸附树脂 4.0 g,共 3 份,分别装柱,按照各项优选出的含穗花杉双黄酮质量浓度为 0.033 24 mg/mL 的翠云草样品溶液 35 mL,上柱,按上述各项纯化工艺优选进行平行试验,收集吸附后的流出液、水洗液、洗脱液,测定并计算吸附率、解吸率,结果(表 7)表明,该纯化工艺重复性良好。

表 7 验证试验

编号	吸附率 (%)	解吸率 (%)	回收率 (%)
1	79.37	80.09	63.56
2	78.83	80.86	63.74
3	81.42	80.42	65.48

3 结论与讨论

将提取出来的穗花杉双黄酮用 NKA-9 等 8 种大孔树脂进行纯化,其中 NKA-9、HP20 和 HPD450 大孔树脂的吸附率较好。穗花杉双黄酮属于极性稍大物质,而 NKA-9 的极性相对较强,利用相似相容原理,穗花杉双黄酮更容易被 NKA-9 吸附,所以其吸附率相对比其他树脂要高。

通过静态试验从 8 种大孔吸附树脂中筛选出 NKA-9、HP20 和 HPD450 进行动态试验,最终对 NKA-9 型大孔吸附树脂进行条件优化,得到最佳纯化条件:上样液质量浓度为 0.033 24 mg/mL、上样流速为 0.3 mL/min、上样体积为 35 mL,用 90% 的乙醇在洗脱流速为 0.5 mL/min、用量为 35 mL 进行洗脱。试验结果表明,NKA-9 大孔吸附树脂对穗花杉双黄酮的吸附-解吸附比较合适,分离纯化效果较好,穗花杉双黄酮的回收率达 57.09%,NKA-9 大孔吸附树脂为穗花杉双黄酮的纯化生产提供了一种新的途径。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979:2582-2583.

[2] 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,2005:210.

[3] 范晓磊,徐嘉成,林幸华,等. 翠云草中双黄酮类成分研究[J]. 中国药杂志,2009,44(1):15-19.

[4] 宋 慧,李 勇. 黄酮类化合物的保健作用[J]. 中国食物与营养,2004,10(11):45-47.

[5] 王 力. 穗花双黄酮对 DNA 氧化损伤的体外保护作用及其机理研究[D]. 广州:广州中医药大学,2013.

[6] 娄 嵩,刘永峰,白清清,等. 大孔吸附树脂的吸附机理[J]. 化学进展,2012,24(8):1427-1436.

[7] 刘 丹,吴叶红,李玮恒,等. 大孔吸附树脂在天然产物分离纯化中的应用[J]. 中草药,2016,47(15):2764-2770.

[8] 丁洲洲,冯少斌,崔 倩,等. 大孔树脂纯化过岗龙总多酚的工艺研究[J]. 时珍国医国药,2017,28(9):2103-2105.

[9] 黄凯敏,杨海梅,覃春虑,等. 大孔吸附树脂分离纯化鸡骨草总皂苷的工艺研究[J]. 时珍国医国药,2015,26(12):2868-2869.