

[科研报道]

昆葵保肾颗粒提取工艺优化

田明鑫^{1,2}, 倪昌荣¹, 周洪亮¹, 余江毅^{1*}
(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

摘要: **目的** 优化昆葵保肾颗粒提取工艺。**方法** 在单因素试验基础上, 以加水量、提取时间、浸泡时间为影响因素, 莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-*O*-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素含量及干膏率的综合评分为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。**结果** 最佳条件为加水量 10 倍, 提取时间 40 min, 浸泡时间 20 min, 综合评分为 1.452 分。**结论** 该方法稳定可靠, 可为昆葵保肾颗粒后期开发和应用提供依据, 也能为其他医疗机构中药制剂研究提供思路。

关键词: 昆葵保肾颗粒; 提取工艺; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)12-4066-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.12.035

糖尿病肾病是糖尿病导致终末期肾脏病、心血管死亡的主要原因之一^[1-2], 本病发病初期较隐匿, 至中后期出现大量蛋白尿、肾功能衰竭等^[3-4]。昆葵保肾方为江苏省名中医余江毅教授临床经验方, 由黄蜀葵花、火把花根、黄芪、酒萸肉组成, 具有减轻蛋白尿、保护肾功能、逆转糖尿病肾病等作用, 但本方还停留在临床应用阶段, 无法大规模生产, 故将其开发成医疗机构制剂。

目前, 中药提取工艺研究以选择指标成分含量较高的工艺参数为主, 并未与临床汤剂进行比较, 后者经多年临床应用证实了其安全性、有效性, 但一味地追求某一含量较高的工艺参数则忽略了中药多成分之间的协同作用, 并且往往采用砂锅、陶罐进行煎煮, 其工艺参数无法直接应用于多功能提取罐等工业化生产设备, 故实现现代提取工艺与传统制法的质量一致性是中药制剂开发的关键^[5-8]。本实验采用 Box-Behnken 响应面法优化昆葵保肾颗粒提取工艺, 以期为该制剂研发提供参考依据、技术支持。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); BP-211D 电子分析天平 (德国赛多利斯公司); SK6200H 超声仪 (上海科导超声仪器有限公司); HH-6 数显恒温水浴锅 (常州国华仪器制造有限公司)。

1.2 试剂与药物 所有对照品均购于南京聚康医药化工有限公司, 纯度均 $\geq 98\%$, 其中金丝桃苷批号 220522, 异槲皮苷批号 220317, 棉花皮素-8-*O*-葡萄糖醛酸苷批号 220421, 表儿茶素批号 220421, 毛蕊异黄酮批号 220405, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷批号 220509, 芒柄花苷批号 220314, 芒柄花黄素批号 220314, 莫诺苷批号 220510, 马钱苷批号 220412。

黄蜀葵花 (批号 220805, 产地安徽)、酒萸肉 (批号 220801, 产地河南) 均购于马鞍山井泉中药饮片有限公司, 火把花根 (批号 20220901-01, 产地云南)、黄芪 (批号 20220801-01, 产地甘肃) 均购于贵州同德药业股份有限公司, 经南京中医药大学附属医院主任中药师刘志辉鉴定为正品, 符合 2020 年版《中国药典》及地方标准要求。乙腈为色谱纯 (美国 Tedia 公司); 其余试剂均为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 临床汤剂制备 依据《医疗机构中药煎药室管理规范》^[9]及江苏省中医院草药煎服须知, 按处方比例称取黄蜀葵花 30 g、火把花根 15 g、黄芪 30 g、酒萸肉 10 g, 第一煎加水超过液面 3~5 cm, 浸泡 30 min, 煮沸后小火煎煮 30 min; 第二煎加水至药面, 煮沸后小火煎煮 20 min, 纱布趁热过滤, 合并 2 次煎液, 混匀, 即得。

2.2 指标成分含量测定 采用 HPLC 法。

2.2.1 色谱条件 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μ m); 流动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 7% A; 5~22 min, 7%~17% A; 22~40 min, 17% A; 40~55 min, 17%~60% A; 55~60 min, 60%~80% A; 60~70 min, 80% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 检测波长 240 nm; 进样量 10 μ L。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇定容, 得到金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-*O*-葡萄糖醛酸苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、芒柄花黄素、莫诺苷、马钱苷对照品质量浓度分别为 0.404、0.400、0.350、0.396、

收稿日期: 2023-07-02

基金项目: 国家自然科学基金 (82174293); 江苏省中医药管理局重点项目 (ZD202208, ZT202206); 江苏省中医院高峰人才项目 (y2021rc12)

作者简介: 田明鑫 (1999—), 女, 硕士生, 从事中药制剂、中药药理研究。E-mail: tianmx961@163.com

* 通信作者: 余江毅 (1961—), 男, 硕士, 主任医师, 从事内分泌、代谢病研究。E-mail: yjj202105@njucm.edu.cn

0.411、0.354、0.406、0.407、0.400、0.405 mg/mL 的贮备液，分别精密吸取适量，置于同一 10 mL 量瓶中，甲醇定容，即得（各成分质量浓度分别为 27.742、15.520、34.645、6.178、0.122、2.195、0.811、0.070、15.185、8.347 μg/mL）。

2.2.3 供试品溶液制备 取临床汤剂、各试验号样品各 1 mL，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解定容至刻度，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.2.4 系统适用性试验 取供试品、对照品溶液适量，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，对照品、供试品溶液在同一保留时间内有对应成分色谱峰，并且与相邻峰之间的分离度较好（均大于 1.5），表明该方法系统适用性良好。

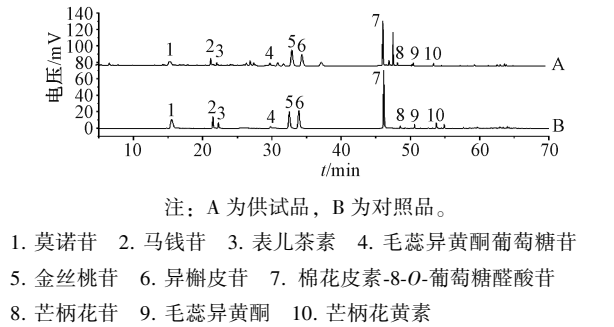


图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.2.5 线性关系考察 取“2.2.2”项下对照品溶液适量，甲醇依次稀释成 6 个质量浓度，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	R^2	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
莫诺苷	$Y=12.837X-7.973$	0.999 9	2.498~79.920
马钱苷	$Y=11.744X-2.470$	0.999 9	0.633~20.260
表儿茶素	$Y=6.4169X-1.656$	0.999 4	0.619~19.800
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=24.039X-1.672$	0.999 8	0.514~16.448
金丝桃苷	$Y=15.934X-5.977$	0.999 9	1.264~40.440
异槲皮苷	$Y=17.993X-6.307$	0.999 9	1.250~40.000
棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷	$Y=15.199X-6.930$	0.999 9	2.185~69.920
芒柄花苷	$Y=28.566X-0.684$	0.999 9	0.127~4.056
毛蕊异黄酮	$Y=47.308X-0.474$	0.999 9	0.032~1.028
芒柄花黄素	$Y=50.651X-0.318$	0.999 9	0.032~1.017

2.2.6 精密度试验 取“2.2.3”项下临床汤剂适量，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素峰面积 RSD 分别为 1.40%、0.37%、1.94%、0.96%、0.36%、0.37%、0.30%、1.16%、2.02%、2.34%，表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.3”项下临床汤剂适量，于

0、2、4、8、12、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素峰面积 RSD 分别为 2.15%、1.06%、2.03%、0.67%、0.84%、1.65%、1.09%、1.02%、2.81%、2.52%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素峰面积 RSD 分别为 2.17%、1.13%、1.83%、1.33%、0.93%、1.77%、1.58%、1.29%、2.11%、2.36%，表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取临床汤剂 0.5 mL，共 6 份，按 100% 水平加入对照品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素平均加样回收率分别为 96.69%、96.18%、100.33%、99.63%、104.46%、100.79%、102.97%、100.23%、100.92%、100.10%，RSD 分别为 2.42%、1.37%、2.18%、2.42%、1.49%、1.92%、2.02%、2.51%、2.29%、2.24%。

2.3 干膏率测定 取适量提取液至蒸发皿中，水浴蒸干，置于 105 ℃ 烘箱中干燥 3 h 至恒重，再放到干燥器中冷却 30 min，精密称定质量，计算干膏率，公式为干膏率= [（浸膏质量×样品总体积）/（饮片质量×取样量）] ×100%。

2.4 提取工艺优化

2.4.1 单因素试验 影响提取效果的主要因素包括加水量、浸泡时间、提取时间、提取次数^[10]，其中提取次数为非连续变量，不宜作为 Box-Behnken 响应面法优化的考察因素，故根据实际生产情况固定为 2 次^[11]。本实验以加水量（6、8、10、12 倍）、浸泡时间（0、20、40、60 min）、提取时间（30、45、60、75 min）为影响因素进行单因素试验，测定各指标成分含量、干膏率，计算其综合评分，

公式为综合评分 = $\frac{1}{\left| 11 - \sum_{i=a}^p \frac{n_i}{X_i} \right|}$ ，其中 $\frac{n_i}{X_i}$ 为第 n （ $n=$

1, 2, 3, …, 17）个试验样品的 i 指标（指标成分含量、干膏率）与 X 实验组 i 指标的比值，结果见图 2。由此可知，随着加水量增加综合评分呈升高趋势，10 倍后趋于平缓，故以 10 倍水量为中心点；随着浸泡、提取时间延长综合评分呈升高-平缓-降低的趋势，从实际生产中的节能省时角度出发，以 20 min 为浸泡时间中心点，45 min 为提取时间中心点。

2.4.2 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上，固定提取次数 2 次，以加水量（A）、提取时间（B）、浸泡时间（C）为影响因素，综合评分（M）为评价指标，采用

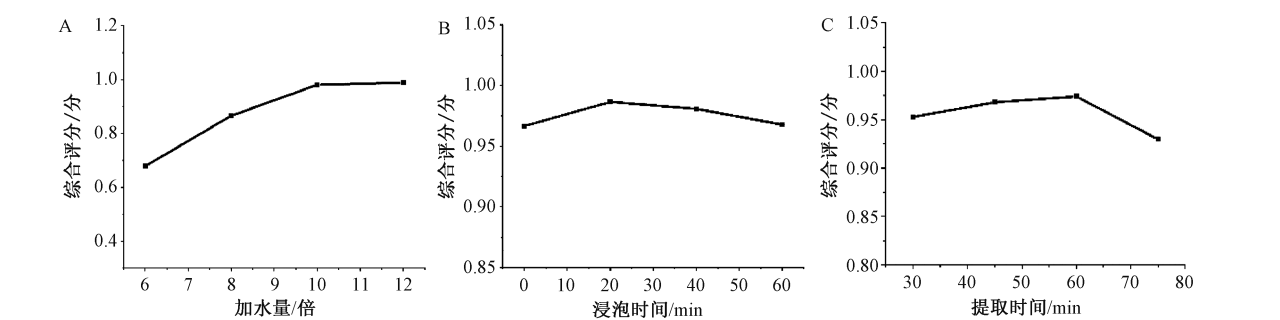


图 2 加水量 (A)、浸泡时间 (B)、提取时间 (C) 单因素试验结果

Design-Expert 13.0 软件建立三因素三水平试验^[12]，因素水平见表 2，结果见表 3。

表 2 因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/min	C 浸泡时间/min
-1	8	30	0
0	10	45	20
1	12	60	40

将表 3 数据导入 Design-Expert 12.0 软件进行多元二次回归拟合，得方程为 $M=1.430\ 0-0.049\ 9A-0.139\ 3B-0.008\ 4C-0.103\ 7AB-0.054\ 0AC+0.255\ 7BC-0.598\ 7A^2-0.323\ 9B^2-0.563\ 2C^2$ ($R^2=0.985\ 6$)，方差分析见表 4。由此可知，模型 $P<0.01$ ，具有高度显著性；失拟项 $P>0.05$ ，表明模型拟合度较高，误差较小，可用于预测分析；因素 B 、 BC 、 A^2 、 B^2 、 C^2 有显著或极显著影响 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)。

表 3 试验设计与结果

试验号	A 加水量/倍	B 提取时间/min	C 浸泡时间/min	含量/(mg·g ⁻¹)											p/%	M 综合评分/分
				a	b	c	d	e	f	g	h	j	k			
X	—	—	—	1.467	0.805	0.597	0.211	2.676	1.688	3.342	0.080	0.012	0.007	24.168	—	
1	12	45	40	1.370	1.033	0.784	0.146	2.640	1.536	2.744	0.049	0.084	0.014	36.466	0.137	
2	10	60	40	1.285	0.813	0.771	0.154	2.485	1.365	2.594	0.050	0.060	0.007	27.971	0.291	
3	8	30	20	1.239	0.871	0.815	0.184	2.432	1.457	2.707	0.064	0.066	0.010	30.395	0.202	
4	10	45	20	1.302	0.657	0.609	0.165	2.267	1.367	2.541	0.074	0.044	0.010	26.035	0.458	
5	10	30	0	1.417	0.950	0.735	0.264	2.512	1.606	2.953	0.077	0.016	0.010	27.848	0.747	
6	12	60	20	1.183	0.815	0.760	0.157	2.610	1.576	2.785	0.048	0.092	0.013	30.463	0.138	
7	10	45	20	1.671	1.122	0.948	0.174	3.351	1.920	3.594	0.063	0.021	0.013	31.438	0.313	
8	10	45	20	1.347	0.706	0.692	0.210	2.699	1.508	3.089	0.140	0.014	0.009	29.712	0.764	
9	8	45	0	1.408	0.688	0.712	0.173	2.869	1.687	3.207	0.059	0.038	0.011	28.594	0.373	
10	12	30	20	1.255	0.851	0.711	0.168	2.488	1.415	2.609	0.061	0.013	0.007	24.637	1.462	
11	10	60	0	1.284	0.704	0.635	0.194	2.352	1.405	3.118	0.068	0.033	0.009	25.006	0.671	
12	8	45	40	1.202	0.889	0.603	0.159	2.370	1.494	2.759	0.069	0.012	0.007	24.842	1.359	
13	12	45	0	0.932	0.616	0.533	0.120	1.828	1.055	1.921	0.032	0.010	0.007	22.232	0.331	
14	8	60	20	1.318	0.901	0.735	0.172	2.467	1.372	3.083	0.064	0.019	0.010	25.331	1.499	
15	10	45	20	1.423	0.722	0.702	0.164	2.833	1.624	3.051	0.053	0.026	0.010	28.077	0.850	
16	10	45	20	1.247	0.866	0.622	0.157	2.504	1.401	2.536	0.060	0.014	0.008	24.496	1.459	
17	10	30	40	1.236	0.844	0.698	0.163	2.499	1.453	2.621	0.039	0.013	0.008	25.014	1.372	

注：a、b、c、d、e、f、g、h、j、k、p 分别为莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-*O*-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素含量及干膏率。

响应面分析见图 3。由此可知，沿 B 轴的坡度与沿 A 轴的相比较陡，表明提取时间对综合评分的影响比加水量大；沿 A 轴的坡度略陡于沿 C 轴的，表明与浸泡时间相比加水量对综合评分的影响稍大；沿 B 轴的坡度大于沿 C 轴的，表明提取时间对综合评分的影响大于浸泡时间，与方差分析结果一致。采用 Design-Expert 12.0 软件，得到最优工艺为加水量 9.96 倍，煎煮时间 41.46 min，浸泡时间 18.80 min，结合实际生产需求，将其修正为加水量 10 倍，煎煮时间 40 min，浸泡时间 20 min，综合评分为 1.447 分。

2.5 验证试验 按“2.4”项下优化工艺制备 3 批样品，进行验证试验，结果见表 5。由此可知，平均综合评分为 1.452 分，与预测值（1.447 分）接近（相对误差<1.0%），表明该工艺稳定可靠，模型预测性良好。

3 讨论

本实验通过前期文献调研及网络药理学研究，明确了昆葵保肾颗粒中 10 种与糖尿病肾病密切相关的指标成分，其中黄蜀葵花中棉花皮素-8-*O*-葡萄糖醛酸苷、金丝桃苷、异槲皮苷可通过抑制 NADPH/ROS/ERK 信号通路来改善大

表 4 方差分析

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	4.130 0	9	0.459 3	53.05	<0.000 1
A	0.019 9	1	0.019 9	2.30	0.172 9
B	0.155 2	1	0.155 2	17.93	0.003 9
C	0.000 6	1	0.000 6	0.06	0.805 8
AB	0.043 0	1	0.043 0	4.97	0.061 1
AC	0.011 7	1	0.011 7	1.35	0.283 8
BC	0.261 6	1	0.261 6	30.22	0.000 9
A ²	1.510 0	1	1.510 0	174.32	<0.000 1
B ²	0.441 8	1	0.441 8	51.04	0.000 2
C ²	1.340 0	1	1.340 0	154.28	<0.000 1
残差	0.060 6	7	0.008 7	—	—
失拟度	0.045 6	3	0.015 2	4.07	0.104 4
纯误差	0.015 0	4	0.003 7	—	—
总误差	4.190 0	16	—	—	—

鼠肾小管间质纤维化^[13-14]；王丽娟等^[15]研究表明，火把花根片可升高 HGF 水平，下调 TGF-β1 水平；黄芪中毛蕊异黄酮可显著下调 DKD 小鼠肾组织中 TNF-α、IL-1β 表达；芒柄花黄素可增加 T2DM 大鼠肾组织 SIRT1 表达，减轻肾脏损害^[16-17]；沈红胜等^[18-19]发现，马钱苷、莫诺苷可降低 RAGE 蛋白表达，抑制 NF-κB 表达。然后，采用 DAD 检测器进行 200~400 nm 全波长扫描，考察各成分色谱峰数目、峰形、分离度等参数，发现它们在 240 nm 左右均有较好吸收，并且峰形较好，故选择 240 nm 作为检测波长。

Box-Behnken 响应面法将体系的响应作为一个或多个因素的函数，通过图形技术显示函数关系，可直观选择试验设计中的最佳条件^[20-21]。目前，采用响应面法考察中药复方提取工艺时选取的指标较少，难以反映中药多成分内在本质。本实验将各成分含量及干膏率共同纳入综合评分，更能反映中药多成分相互协同发挥药效的内在本质。

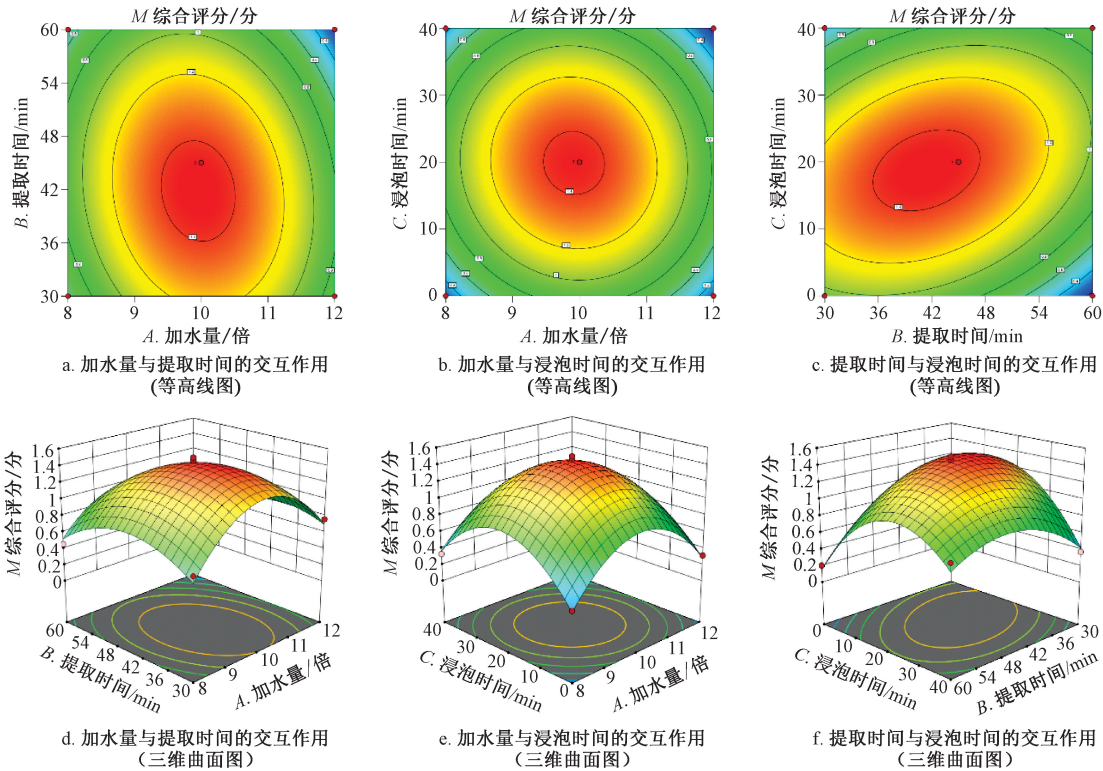


图 3 各因素响应面图

表 5 验证试验结果 (n=3)

试验号	含量/(mg·g ⁻¹)										p/%	M 综合 评分/分
	a	b	c	d	e	f	g	h	j	k		
1	1.264	0.731	0.624	0.198	2.064	1.605	2.765	0.060	0.010	0.009	24.882	1.453
2	1.239	0.710	0.587	0.201	2.174	1.567	2.504	0.069	0.010	0.010	24.736	1.449
3	1.294	0.772	0.575	0.185	2.151	1.590	2.521	0.068	0.012	0.008	24.924	1.454

注：a、b、c、d、e、f、g、h、j、k、p 分别为莫诺苷、马钱苷、表儿茶素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、棉花皮素-8-O-葡萄糖醛酸苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素含量及干膏率。

4 结论

目前，对中药提取工艺的研究大多采用均匀设计、正交设计等方法，对浸泡时间、提取时间等参数进行多因素、多水平分析，从而优化指标成分较多的工艺，虽然能增加

提取效率，但难以保证临床汤剂与制剂质量的一致性、临床使用的安全性、有效性。本实验优化昆葵保肾颗粒提取工艺，可最大程度地与临床汤剂昆葵保肾方保持一致，并且所用的 Box-Behnken 响应面法稳定可行，重复性良好，可

为该制剂进一步研发提供参考依据、技术支持，也能为后续其他医疗机构中药制剂提取工艺优化提供思路。

参考文献：

[1] 张燕媚,蔡 寸,刘嘉玲,等. 基于代谢组学中医湿证不同分期糖尿病肾病患者生物标志物研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(2): 143-155.

[2] 李佳佳,黄 皓,陶立坚,等. 糖尿病肾病主要发病机制的研究进展[J]. 生命科学, 2023, 35(3): 396-404.

[3] 马锋锋,范增慧. 糖尿病肾病中医病因病机研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(8): 1373-1377.

[4] Alicic R Z, Rooney M T, Tuttle K R. Diabetic kidney disease: Challenges, progress, and possibilities [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017, 12(12): 2032-2045.

[5] 代 珊,李 帅,张爱军,等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法综合评价经典名方小续命汤古今提取工艺[J]. 中草药, 2022, 53(3): 726-734.

[6] 赵玥瑛,王昌海,张泽康,等. Box-Behnken 设计-响应面法结合基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方小承气汤的提取工艺[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6472-6480.

[7] 张 星,赖文静,林 夏,等. Box-Behnken 设计-响应面法优化经典名方四妙勇安汤煎煮工艺研究[J]. 中草药, 2023, 54(10): 3109-3119.

[8] 刁元元,邱智东,张宇航,等. 基于基准关联度和 FAHP-熵权法综合优化经典名方保元汤提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(4): 887-891.

[9] 佚名. 国家中医药管理局、卫生部 关于印发医疗机构中药煎药室管理规范的通知（国中医药发〔2009〕3 号）[R]. 2009.

[10] 李 杰,熊维建,龙 梅,等. 星点设计-效应面法优化肾衰灵灌肠液提取工艺研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2767-2770.

[11] 王晶晶,程 媛,忻晓东,等. Box-Behnken 响应面法优化大

黄泻浊颗粒提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(8): 1886-1889.

[12] 黄 莉,邹纯才,鄢海燕,等. 基于指纹图谱的 Box-Behnken 响应面法结合 BP 神经网络多指标优化决明子总蒽醌提取工艺[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(7): 619-631.

[13] 王 玉,曹东维,万毅刚,等. 基于 IRS1/PI3K/Akt 通路探究黄蜀葵花总黄酮改善糖尿病肾脏疾病胰岛素抵抗和足细胞转分化的作用和机制[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(10): 2646-2656.

[14] 陈学麟,胡剑卓,陶灵霞. 基于网络药理学和分子对接的黄蜀葵花干预糖尿病肾病的作用机制研究[J]. 现代药物与临床, 2022, 37(2): 252-263.

[15] 王丽娟,范丽萍,殷美琦,等. 火把花根片治疗 2 型糖尿病肾病的疗效及对血清 HGF、尿 TGF-β₁ 水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(19): 2057-2059; 2082.

[16] 孟思璇,姚兴梅,吴歆叶,等. 黄芪有效成分治疗糖尿病肾病的机制研究进展[J]. 中国医药导报, 2023, 20(4): 60-63.

[17] 林郭健,夏雪宜. 基于网络药理学的黄芪治疗糖尿病肾病 miRNA 表达分析[J/OL]. 云南民族大学学报（自然科学版）, 2023 (4): 1-14. (2022-05-31) [2023-09-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1192.N.20220530.1709.006.html>.

[18] 柳 洋,王 丽. 山茱萸治疗糖尿病肾病研究概况[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(9): 1778-1782.

[19] 沈红胜,许惠琴,陆春红,等. 山茱萸环烯醚萜苷类成分对 AGEs 诱导 HUVEC 损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(8): 1063-1067.

[20] 朱晓东,陈红霞,郭君婷,等. Box-Behnken 响应面法优选海马益智方提取工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(4): 394-398.

[21] 王伶俐,应泽茜,孙贝贝,等. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法优化蜜麦麸的制备工艺[J]. 中草药, 2021, 52(12): 3538-3543.