

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.06.07

# HPLC 法同时测定杜仲叶提取物中 5 种成分含量

房春林<sup>1</sup>, 吴学渊<sup>1</sup>, 章林<sup>1,2</sup>, 卜发玉<sup>2</sup>, 卢超<sup>2</sup>, 尹佳<sup>2</sup>

(1. 成都农业科技职业学院, 成都 611130; 2. 四川恒瑞通达生物科技有限公司, 成都 611380)

[收稿日期] 2022-09-01 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 06-0046-06 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 建立同时测定杜仲叶提取物中 5 种成分含量的 HPLC 方法, 色谱柱为岛津 WondaCract ODS2 C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.4% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 流速 1 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL; 京尼平苷酸、车叶草苷检测波长为 238 nm, 桃叶珊瑚苷、绿原酸、芦丁的检测波长分别为 200、327、254 nm。结果表明, 5 种成分在检测范围内线性关系良好 ( $R^2 \geq 0.9999$ ), 平均加样回收率为 98.4% ~ 101.0%,  $RSD$  1.06% ~ 1.50%, 10 批杜仲叶提取物中 5 种成分含量的平均值分别为 25.83、40.21、13.12、64.72、11.03 mg/g, 本方法稳定可靠, 重复性好, 可对杜仲叶提取物样品中 5 种指标成分的含量进行同时测定。

**[关键词]** 杜仲叶提取物; 5 种成分; HPLC

## Simultaneous Determination of Five Compounds in *Eucommiae Folium* Extract by HPLC

FANG Chun-lin<sup>1</sup>, WU Xue-yuan<sup>1</sup>, ZHANG Lin<sup>1,2</sup>, BU Fa-yu<sup>2</sup>, LU Chao<sup>2</sup>, YIN Jia<sup>2</sup>

(1. Chengdu Agricultural College, Chengdu 611130, China; 2. Sichuan HengRuiTongDa Biotechnology Co., Ltd, Chengdu 611380, China)

**Abstract:** To establish a method for the simultaneous determination of five compounds in *Eucommiae Folium* extract by HPLC, the quantitative analysis was carried out on a Shimadzu WondaCract ODS2 C18 column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with mobile phase of methanol (A) - 0.4% phosphoric acid aqueous solution (B) for gradient elution. The flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The column temperature was maintained at 30 ℃. The injection volume was 10 μL. The detection wavelength of geniposidic acid and asperuloside was 238 nm. The detection wavelength of aucubin, chlorogenic acid and rutin was 200 nm, 327 nm and 254 nm, respectively. The results show that the linear relationship of the five compounds was good ( $R^2 \geq 0.9999$ ). The average recovery was 98.4% ~ 101.0%,  $RSD$  1.06% ~ 1.50%. The average contents of five components in 10 batches of *Eucommiae Folium* extracts were 25.83, 40.21, 13.12, 64.72 and 11.03 mg/g, respectively. The method is stable, reliable and reproducible. It can simultaneously determine the contents of five target ingredients in *Eucommiae Folium* extract sample.

**Key words:** *Eucommiae Folium* extract; Five compounds; HPLC

基金项目: 成都农业科技职业学院兽用中药研发中心平台建设 (CNY19-20)

作者简介: 房春林, 博士, 研究员, 研究方向为中兽药新产品研发, E-mail: 49898837@qq.com

杜仲叶为杜仲科植物杜仲(*Eucommia ulmoides Oliv*)的干燥叶,性微辛、温,归肝、肾经,于 2005 年被收载入《中国药典》,具有补肝肾,强筋骨等功效<sup>[1]</sup>。研究表明,杜仲叶中的主要活性成分包括环烯醚萜类、苯丙素类、黄酮类、木脂素类等化合物<sup>[2-4]</sup>,其中含量较高的化学成分为桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷、绿原酸、芦丁<sup>[5-7]</sup>,研究在调研杜仲叶化学成分基础上,结合相关指标成分的药理学活性<sup>[8-11]</sup>,采用二极管阵列检测器对杜仲叶提取物的成分进行了全扫描分析,建立了杜仲叶提取物中含量较高的 5 个指标成分的 HPLC 同时测定方法,为更好控制杜仲叶提取物、相关兽药制剂和添加剂的质量,建立更加合理可行的质量标准提供参考。

## 1 仪器与材料

1.1 仪器 岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪,包括 LC-20AT 四元梯度泵、SIL-20AHT 进样器、CTO-20A 柱温箱、SPD-M20A 检测器和 Labsolutions 色谱数据系统,日本 Shimadzu 公司;CPA225D 型十万分之一电子分析天平,德国 Sartorius 公司;Acculab ALC-210 型万分之一电子分析天平,德国 Sartorius 公司;KQ5200DE 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试剂与材料 桃叶珊瑚苷(CAS 479-98-1,纯度 $\geq 99.2\%$ ),京尼平苷酸(CAS 27741-01-1,纯度 $\geq 99.82\%$ ),车叶草苷(CAS 14259-45-1,纯度 $\geq 98.5\%$ ),购于成都普菲德生物技术有限公司;绿原酸(CAS 327-97-9,纯度 $\geq 98.0\%$ ),芦丁(CAS 153-18-4,纯度 $\geq 98.0\%$ ),购于成都金麦瑞生物科技有限公司;乙腈(色谱级)、甲醇(色谱级),购于 Fisher 公司;甲酸、磷酸等其他试剂均为分析纯,购于成都市科隆化学品有限公司;纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司。杜仲叶提取物(批号 211101 ~ 211103, 220201 ~ 220204, 220301 ~ 220303),由四川恒瑞通达生物科技有限公司提供。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 岛津 WondaCract ODS2 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m),流动相甲醇-0.4% 磷酸水溶液,梯度洗脱:0 ~ 10 min, 10% ~ 10% 甲醇;10 ~ 23 min, 10% ~ 33% 甲醇;23 ~ 28 min, 33% ~ 60% 甲醇;28 ~ 35 min, 60% ~ 75% 甲醇;35 ~ 38 min, 75% ~ 10% 甲醇;柱温 30  $^{\circ}$ C;体积流量 1 mL/min;进样量 10  $\mu$ L;京尼平苷酸、车叶草苷检测波长为 238 nm,桃叶珊瑚苷、绿原酸、芦丁检测波长分别为 200 nm、327 nm、254 nm。

2.2 混合对照品溶液配制 分别精密取桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷、绿原酸和芦丁对照品适量,置同一量瓶中,加 50% 甲醇制成质量浓度分别为 288.8、306.4、416.0、351.2、514.4  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液,过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取杜仲叶提取物 0.1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,称定质量,超声提取(40 kHz,功率 200 W) 30 min,放冷,50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜,即得杜仲叶提取物供试品溶液。

2.4 系统适应性试验 按照 2.1 项下色谱条件测定混合对照品溶液和供试品溶液,结果表明,样品中各成分均能达到基线分离,5 种指标成分的理论塔板数均大于 5000,各成分与其他成分间的分离度均大于 1.5,混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图,见图 1、图 2。

### 2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 取 2.2 项下混合对照品溶液,分别稀释 2, 4, 8, 16, 32 倍,制成系列质量浓度的混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定。以色谱峰峰面积(Y)对质量浓度(X)进行回归,得各成分的线性回归方程,结果见表 1,表明各指标成分在测定范围内线性关系良好。

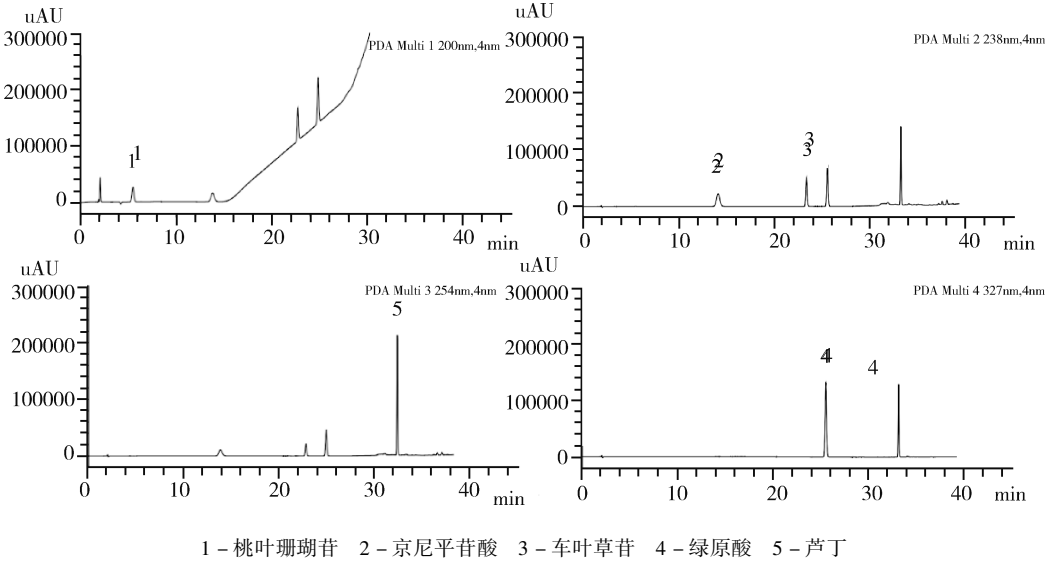


图 1 对照品溶液 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of reference solution

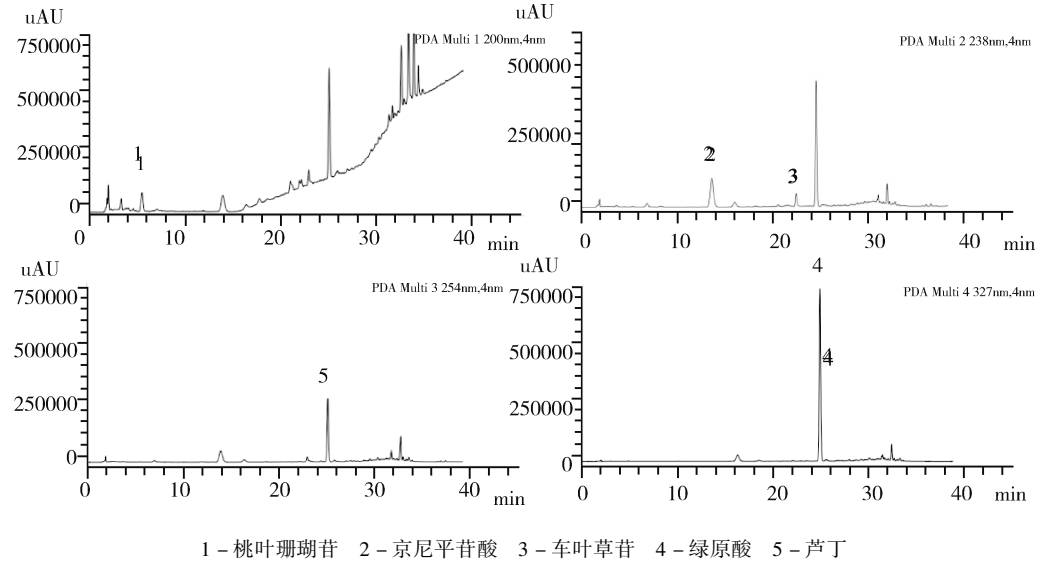


图 2 杜仲叶提取物样品 HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC chromatogram of *Eucommiae Folium* extract sample

表 1 线性范围实验结果

Tab 1 Results of linear relationship tests

| 成分    | 回归方程                             | R <sup>2</sup> | 线性范围(μg·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|----------------------------------|----------------|----------------------------|
| 桃叶珊瑚苷 | $Y = 11074.0589X + 18256.4925$   | 0.9999         | 9.0 ~ 288.8                |
| 京尼平苷酸 | $Y = 13,741.7601X + 13,562.7910$ | 0.9998         | 9.6 ~ 306.4                |
| 车叶草苷  | $Y = 9595.9791X + 503.0249$      | 0.9999         | 13.0 ~ 416.0               |
| 绿原酸   | $Y = 30324.4041X + 22770.1891$   | 0.9999         | 11.0 ~ 351.2               |
| 芦丁    | $Y = 18862.5783X + 40359.0597$   | 0.9999         | 16.1 ~ 514.4               |

2.5.2 精密度试验 取 4.2 项下混合对照品溶液,按 4.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算各成分峰面积的 *RSD*。结果表明,桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、车叶草苷和芦丁的 *RSD* 分别为 0.54%、0.36%、0.58%、0.39%、0.34%,表明该方法精密度良好。

2.5.3 重复性试验 按 2.3 项下杜仲叶提取物供试品溶液制备方法,分别平行制备供试品溶液 6 份,按 2.1 项下色谱条件进行测定,计算各成分含量。结果杜仲叶提取物供试品溶液中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、车叶草苷和芦丁的 *RSD* 分别为 1.13%、1.45%、1.57%、0.66%、1.28%,表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 按 2.3 项下杜仲叶提取物供

试品溶液制备方法,制备供试品溶液,室温放置,按 2.1 项下色谱条件,分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样,计算各成分峰面积的 *RSD*。结果桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、车叶草苷和芦丁峰面积的 *RSD* 分别为 0.72%、0.74%、0.34%、0.59%、0.37%,表明该供试品溶液在室温条件下 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的杜仲叶提取物 6 份,每份 0.05 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入各对照品适量,精密加入 50% 甲醇 25 mL,称定质量,超声提取 (40 kHz,功率 200 W)30 min,放冷,50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,制备供试品溶液。按 2.1 项下色谱条件进行测定,记录峰面积,计算 5 种指标成分的回收率和 *RSD*。结果见表 2。

表 2 加样回收率实验结果 (*n* = 6)  
Tab 2 Results of recovery tests (*n* = 6)

| 成分    | 取样量/g  | 样品中总量/mg | 加入对照品量/mg | 测得量/mg | 回收率/% | 平均回收率/% | <i>RSD</i> /% |
|-------|--------|----------|-----------|--------|-------|---------|---------------|
| 桃叶珊瑚苷 | 0.0511 | 1.308    | 1.320     | 2.618  | 99.3  | 98.4    | 1.07          |
|       | 0.0499 | 1.277    | 1.320     | 2.574  | 98.3  |         |               |
|       | 0.0509 | 1.303    | 1.320     | 2.612  | 99.2  |         |               |
|       | 0.0511 | 1.308    | 1.320     | 2.602  | 98.1  |         |               |
|       | 0.0503 | 1.287    | 1.320     | 2.595  | 99.1  |         |               |
|       | 0.0506 | 1.295    | 1.320     | 2.569  | 96.5  |         |               |
| 京尼平苷酸 | 0.0511 | 2.103    | 2.060     | 4.208  | 102.2 | 100.7   | 1.31          |
|       | 0.0499 | 2.053    | 2.060     | 4.164  | 102.5 |         |               |
|       | 0.0509 | 2.095    | 2.060     | 4.165  | 100.5 |         |               |
|       | 0.0511 | 2.103    | 2.060     | 4.152  | 99.5  |         |               |
|       | 0.0503 | 2.070    | 2.060     | 4.133  | 100.2 |         |               |
|       | 0.0506 | 2.082    | 2.060     | 4.131  | 99.5  |         |               |
| 车叶草苷  | 0.0511 | 0.701    | 0.710     | 1.406  | 99.3  | 99.0    | 1.06          |
|       | 0.0499 | 0.685    | 0.710     | 1.398  | 100.5 |         |               |
|       | 0.0509 | 0.698    | 0.710     | 1.395  | 98.1  |         |               |
|       | 0.0511 | 0.701    | 0.710     | 1.396  | 97.9  |         |               |
|       | 0.0503 | 0.690    | 0.710     | 1.389  | 98.4  |         |               |
|       | 0.0506 | 0.694    | 0.710     | 1.404  | 100.0 |         |               |
| 绿原酸   | 0.0511 | 3.218    | 3.220     | 6.423  | 99.5  | 101.0   | 1.50          |
|       | 0.0499 | 3.143    | 3.220     | 6.445  | 102.6 |         |               |
|       | 0.0509 | 3.206    | 3.220     | 6.429  | 100.1 |         |               |
|       | 0.0511 | 3.218    | 3.220     | 6.418  | 99.4  |         |               |
|       | 0.0503 | 3.168    | 3.220     | 6.431  | 101.3 |         |               |
|       | 0.0506 | 3.187    | 3.220     | 6.498  | 102.8 |         |               |
| 芦丁    | 0.0511 | 0.567    | 0.560     | 1.123  | 99.3  | 98.7    | 1.09          |
|       | 0.0499 | 0.553    | 0.560     | 1.105  | 98.5  |         |               |
|       | 0.0509 | 0.564    | 0.560     | 1.122  | 99.6  |         |               |
|       | 0.0511 | 0.567    | 0.560     | 1.121  | 99.0  |         |               |
|       | 0.0503 | 0.558    | 0.560     | 1.112  | 99.0  |         |               |
|       | 0.0506 | 0.561    | 0.560     | 1.102  | 96.6  |         |               |

结果表明,桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷、绿原酸和芦丁的平均回收率分别为 98.4%、100.7%、99.0%、101.0%、98.7%,*RSD* 分别为 1.07%、1.31%、1.06%、1.50%、1.09%,表明该方法准确可靠。

2.5.6 样品含量测定结果 按上述研究得到的 5 种成分含量同时测定方法,对 10 批杜仲叶提取物样品进行了测定,结果见表 3。

表 3 杜仲叶提取物样品含量测定结果( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )

Tab 3 Results of component determination in the samples of *Eucommiae Folium* extract( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )

| 样品     | 桃叶珊瑚苷 | 京尼平苷酸 | 车叶草苷  | 绿原酸   | 芦丁    |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 211101 | 25.59 | 41.15 | 13.72 | 61.98 | 11.09 |
| 211102 | 26.79 | 40.85 | 13.21 | 61.21 | 11.25 |
| 211103 | 25.64 | 41.1  | 12.88 | 61.21 | 11.32 |
| 220201 | 23.69 | 41.23 | 13.49 | 63.24 | 10.78 |
| 220202 | 24.54 | 40.68 | 13.52 | 62.89 | 10.89 |
| 220203 | 24.95 | 40.72 | 13.59 | 62.51 | 10.65 |
| 220204 | 25.89 | 41.38 | 13.68 | 63.59 | 10.21 |
| 220301 | 26.52 | 38.49 | 12.13 | 70.72 | 11.21 |
| 220302 | 27.81 | 38.82 | 12.68 | 68.59 | 11.55 |
| 220303 | 26.89 | 37.63 | 12.25 | 71.25 | 11.38 |
| 平均值    | 25.83 | 40.21 | 13.12 | 64.72 | 11.03 |

结果表明,10 批杜仲叶提取物样品中,桃叶珊瑚苷含量的平均值为  $25.83 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,京尼平苷酸含量的平均值为  $40.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,车叶草苷含量的平均值为  $13.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,绿原酸含量的平均值为  $64.72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,芦丁含量的平均值为  $11.03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ;研究得到的方法稳定可靠,可对杜仲叶提取物样品中 5 种指标成分含量同时进行测定,有效地控制杜仲叶提取物的质量,也为杜仲叶药材及相关产品含量测定提供了参考。

3 讨论与结论

3.1 供试品溶液和对照品溶液的制备方法 实验前期,首先对提取溶剂种类(甲醇、80% 甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇)进行了筛选研究,结果表明,当采用纯甲醇溶解配制混合对照品溶液时,对桃叶珊瑚

苷峰形干扰严重,出现变形现象,严重影响其含量测定结果,这可能是因为提取溶剂和流动相差太大所致。因此,确定采用 50% 甲醇作为样品提取溶剂和对照品配制溶剂;同时,分别对杜仲叶提取物取样量(0.05、0.1、0.2 g)、超声提取时间(20、30、40、50 min)等进行了筛选研究,结果表明,当杜仲叶提取物取样量为 0.1 g,超声提取时间为 30 min,可保证杜仲叶提取物中 5 种指标成分提取完全,有利于进一步的方法学考察研究,为保证样品的均一性,提高分析准确度,最终确定了杜仲叶提取物供试品溶液的制备方法。

3.2 色谱条件筛选和优化 实验研究中,对不同厂家色谱柱(Agilent、岛津、DIKMA、依利特)的分离效果进行了比较研究,同时比较了不同色谱柱长度(150、250 mm)对 5 种成分的分离效果,结果表明,岛津 WondaCract ODS2 C18 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5  $\mu\text{m}$ )分离效果最优,保留时间适宜,故选择该色谱柱进行进一步色谱条件考察。

3.3 杜仲叶提取物的质量评价 2020 年版《中国药典》关于杜仲叶质量控制指标为为绿原酸含量<sup>[1]</sup>,但该成分非杜仲叶专属性成分,采用绿原酸含量作为杜仲叶主要成分测定指标,不利于更好的控制药材尤其是提取物的质量;本研究结合杜仲叶提取工艺,依据二极管阵列检测器(PDA)对供试品溶液色谱峰全波长扫描结果,选择样品中含量较高的 5 种药效活性成分作为指标成分开展含量测定研究,同时,对文献资料报道的杜仲叶多成分含量测定方法的色谱条件和方法进行了改进研究<sup>[12-15]</sup>,特别是对流动相梯度洗脱条件进行了系统的评价和优化,最终建立了杜仲叶提取物中 5 种指标成分的含量同时测定方法,可对杜仲叶中提取物中主要药效活性成分含量进行同时测定,为今后更好的控制杜仲叶提取物、相关兽药制剂及添加剂质量,建立更加合理可行的质量标准提供参考和借鉴。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia(part

- 1) [S].
- [2] 晏媛,郭丹.杜仲叶的化学成分及药理活性研究进展[J].中成药,2003,25(6):491-492.
- YAN Y, GUO D. Research Progress on Chemical Component and pharmacological activities of *Eucommia Folium* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2003, 25(6): 491-492.
- [3] 吴红艳,彭呈军,邓后勤.杜仲叶化学成分研究进展[J].食品工业科技,2019,40(17):360-364.
- WU Y J, PENG C J, DENG H Q. Research Progress on Chemical Component of *Eucommia Folium* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(17): 360-364.
- [4] 曾桥,韦承伯,吕生华.杜仲叶主要活性成分研究进展[J].安徽农业科学,2017,45(34):133-135.
- ZENG Q, WEI C B, LV H S. Research Progress On Main Active Components of *Eucommia ulmoides* Leaves [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(34): 133-135.
- [5] 屠万倩,李宁,张留记,等.不同加工方式生产的杜仲叶中 8 种化学成分的含量及抗氧化活性研究[J].中国新药杂志,2020,29(16):1863-1867.
- TU W Q, LI N, ZHANG L J, *et al.* Comparison of contents and antioxidant activity of eight components in *Eucommia ulmoides* leaves processed by different methods [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2020, 29(16): 1863-1867.
- [6] 孙彦超,李钦,杜红岩,等.RP-HPLC 测定杜仲叶中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷的含量[J].中成药,200,31(10):1608-1609.
- SUN Y C, LI Q, DU H Y, *et al.* Determination on the Content of Geniposidic Acid, Chlorogenic Acid and Geniposide in *Eucommia ulmoides* Leaves by RP-HPLC [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 200, 31(10): 1608-1609.
- [7] 田吉,何兵,李春红. HPLC 法同时测定杜仲叶中绿原酸和芦丁含量[J].泸州医学院学报,2010,33(5):490-493.
- TIAN J, HE B, LI C H. Determination Of Chlorogenic Acid And Rutin In *Folium Eucommiae* By HPLC [J]. Journal of LuZhou Medical College, 2010, 33(5): 490-493.
- [8] 龚频,韩业雯,翟鹏涛,等.杜仲叶的活性成分、药理作用及其在食品加工中的应用[J].食品工业科技,2022,43(10):395-404.
- GONG Pin, HAN Yewen, ZHAI Pengtao, *et al.* Active Components, Pharmacological Action and Application in Food Processing of *Eucommia ulmoides* Leaves [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 395-404.
- [9] 杨志友,马智慧,邓嘉航.药食同源植物杜仲叶中有效成分京尼平苷酸的抗炎作用研究[J].广大化工,2020,47(22):47-48.
- YANG Z Y, MA Z H, DENG J H. Anti-inflammatory Effect of Geniposidic Acid from the Leaves of *Eucommia Ulmoides* Oliver [J]. Guangdong Chemical Industry, 2020, 47(22): 47-48.
- [10] 朱志铭,任朝兴,马博.桃叶珊瑚苷药理作用及分子机制研究进展[J].生物加工过程,2021,19(5):482-487.
- ZHU Z M, REN C X, MA B. Pharmacology and molecular mechanism of aucubin: a review [J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2021, 19(5): 482-487.
- [11] 孙桂梅.杜仲叶的有效成分及绿原酸提取工艺研究[D].陕西:西北大学,2007.
- SUN G M. Study on the Effective Components of *Eucommia ulmoides* Leaves and the Extraction Process of Chlorogenic Acid [D]. SanXi: Northwest University.
- [12] 王学军,梁旭华,徐恒. HPLC 法同时测定杜仲叶中 4 种成分的含量[J].中医药信息,2017,34(1):33-35.
- WANG X J, LIANG X H, XU H. Simultaneous Determination of Four Compounds in Leaves of *Oliv.* by HPLC [J]. Information On Traditional Chinese Medicine, 2017, 34(1): 33-35.
- [13] 张欣,张春风,祁东利,等. HPLC 同时测定杜仲叶中 7 种成分的含量[J].中国药科大学学报,2012,43(5):435-437.
- ZHANG X, ZHANG C F, QI D L, *et al.* Simultaneous determination of seven compounds in *Eucommiae Folium* by HPLC [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2012, 43(5): 435-437.
- [14] 张留记,李宁,屠万倩,等. HPLC 法同时测定杜仲叶中 8 种成分的含量[J].中国药房,2019,30(24):3383-3387.
- ZHANG L J, LI N, TU W Q, *et al.* Simultaneous Determination of Contents of 8 Components in *Eucommia ulmoides* Leaves by HPLC [J]. China Pharmacy, 2019, 30(24): 3383-3387.
- [15] 周云雷,郭婕,王志宏,等. HPLC 法同时测定矮林杜仲叶中 6 种成分含量[J].中药材,38(3):540-543.
- ZHOU Y L, GUO J, WANG Z H, *et al.* Simultaneous Determination of Contents of 8 Components in *Eucommia ulmoides* Leaves in coppice by HPLC [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 38(3): 540-543.

(编辑:陈希)