

文章编号:1001-6880(2016)6-0874-06

UPLC 同时测定杜仲中 6 种有效成分的含量

孙 佳^{1,2}, 陆 苑^{1,2}, 向文英^{1,3}, 曹 旭^{1,2}, 巩仔鹏^{1,2}, 王爱民^{1,3*}

¹ 贵州医科大学药学院; ² 贵州省药物制剂重点实验室; ³ 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004

摘要:建立 UPLC 同时测定杜仲药材中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷的分析方法。以 Waters BET C₁₈ (2.1 × 150 mm, 1.7 μm) 为色谱柱, 0.1% 甲酸乙腈溶液-0.1% 甲酸水溶液进行梯度洗脱, 检测波长为 205 nm, 流速 0.25 mL/min, 柱温 45 °C。在该色谱条件下, 杜仲中的六种有效成分能得到较好的分离, 方法的加样回收率为 96.92% ~ 101.01%, RSD < 3%。39 批杜仲药材中六个被测成分的总含量 0.4406% ~ 4.2282%, 差异较大。该方法简便、准确, 重复性好, 可用于杜仲中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷的含量测定, 为杜仲的质量控制研究提供依据。

关键词:杜仲; 超高效液相色谱; 桃叶珊瑚苷; 绿原酸; 京尼平苷酸; 京尼平苷; 松脂醇二葡萄糖苷; 松脂醇单葡萄糖苷

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.6.011

Simultaneous Determination of Six Components in *Eucommia ulmoides* by UPLC

SUN Jia^{1,2}, LU Yuan^{1,2}, XIANG Wen-ying^{1,3}, CAO Xu^{1,2}, GONG Zi-peng^{1,2}, WANG Ai-min^{1,3*}

¹ School of Pharmacy, Guizhou medical university; ² Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics; ³ Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education), Guiyang 550004, China

Abstract: To establish an UPLC method for simultaneous determination of six compounds, namely aucubin, geniposidic acid, chlorogenic acid, geniposide, pinoresinol diglucoside and pinoresinol singleglucoside in *Eucommia ulmoides*. UPLC analysis was carried out on Waters BET C₁₈ column (2.1 × 150 mm, 1.7 μm), with the mobile phase of 0.1% formic acid acetonitrile solution-0.1% formic acid aqueous solution in gradient elution mode. The flow rate was 0.25 mL/min. The UV detection wavelength was 205 nm. The column temperature was 45 °C. The six components of *E. ulmoides* can be separated in the chromatographic conditions. The recoveries of six components were 96.92% -101.01%, with RSD less than 3%. The total content of six components from 39 batch *E. ulmoides* were 0.4406% -4.2282%. The developed UPLC method was simple, accurate and highly reproducible. It can be used for the simultaneous detection and determination of aucubin, geniposidic acid, chlorogenic acid, geniposide, pinoresinol diglucoside and pinoresinol singleglucoside.

Key words: *Eucommia ulmoides*; UPLC; aucubin; geniposidic acid; chlorogenic acid; geniposide; pinoresinol diglucoside; pinoresinol singleglucosid

杜仲为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮, 又名思仙、思仲、木棉, 为我国名贵滋补药材。杜仲作为中药在我国已有 2000 多年的药用历史, 具有补肝肾、强筋骨、降血压、抗肿瘤、安胎等诸多功效, 《神农本草经》将其列为上品^[1,2]。

目前已知杜仲的主要化学成分有木质素类、环烯醚萜类、苯丙素类、黄酮类等几十种化合物^[3,4], 研究表明其中部分活性成分桃叶珊瑚苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷、绿原酸、京尼平苷酸、京尼平苷具有抗肿瘤、降血压、抗菌、抗血栓等药理作用^[5-8]。《中国药典》2010 版中收录用高效液相法测定松脂醇二葡萄糖苷单一成分。本实验以 UPLC 作为分析手段建立多指标定量分析方法^[9,10], 在同一色谱条件下同时对杜仲药材中的桃叶珊瑚苷、绿原酸、京尼平苷酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷 6 个有效成分进行含量测定, 较为全

收稿日期:2015-12-04 接受日期:2016-04-06

基金项目: 国家自然科学基金(81560683); 贵阳医学院博士启动基金(院博合 J 字[2014]017 号); 贵州省优秀青年科技人才培养对象专项(2015-11); 贵州省教育厅(2013-122); 贵州省中医药、民族医药科学技术研究专项(QZYY-2015-079)

* 通讯作者 Tel:86-851-6908468; E-mail:gywam100@163.com

面的覆盖了药材中所含的木质素类、环烯醚萜类及酚酸类成分,克服了药材质量控制的片面性,进一步提高了杜仲药材的质量控制研究、为杜仲药材的开发利用提供实验依据。

1 仪器与材料

Acquity UPLC-PDA 系统(Waters 公司,包含二元超高压梯度泵、自动进样器、色谱柱温箱、阵列二级管检测器、Empower 工作站);AE240 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);DK-98-11 恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司)。

京尼平苷酸对照品、京尼平苷对照品、桃叶珊瑚苷对照品和松脂醇二葡萄糖苷对照品购自四川省维克奇生物科技有限公司(批号 141020、140915、141014、140619),松脂醇单葡萄糖苷对照品购自江苏弘惠医药有限公司(批号 070801),绿原酸对照品购自北京世纪奥科生物技术有限公司(批号 MUST-11042802),对照品纯度均大于 98%。

乙腈(上海振兴化工一厂,色谱纯),甲醇(上海振兴化工一厂,分析纯),甲酸(美国 TEDIA 有限公司,优级纯),实验用杜仲药材由贵州医科大学药学院药用植物与生药学教研室龙庆德副教授鉴定为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮,标本存于贵州省中药民族药研究开发中心。

2 方法与结果

2.1 UPLC 条件

色谱柱为:Waters BET C₁₈(2.1 × 150 mm, 1.7 μm),流动相为 0.1% 甲酸乙腈溶液(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱程序:0 ~ 1 min, 4% A; 1 ~ 6 min, 4% ~ 10.5% A; 6 ~ 13 min, 10.5% A; 13 ~ 25 min, 10.5% ~ 23.5% A。检测波长 205 nm,流速 0.25 mL/min,柱温 45 ℃,进样量 1 μL。

2.2 对照品溶液制备

分别精密称取桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷对照品适量至 6 个 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度。获得桃叶珊瑚苷(1.169 mg/mL)、京尼平苷酸(1.205 mg/mL)、绿原酸(1.253 mg/mL)、京尼平苷(1.000 mg/mL)、松脂醇二葡萄糖苷(1.190 mg/mL)、松脂醇单葡萄糖苷(1.100 mg/mL)的对照品储备液。分别精密量取上述 6 种对照

品储备液置同一个 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液(0.2221、0.1808、0.0376、0.1000、0.0595、0.0088 mg/mL),于 4 ℃ 保存备用。

2.3 供试品溶液制备

精密称取粉碎的杜仲药材 2 g,精密加入 20 mL 甲醇回流提取 2 次,每次 1.5 h,冷却,过滤,浓缩并用甲醇定容至 25 mL 容量瓶,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适应性考察

分别取混合对照品溶液和供试品溶液各 1 μL,在“2.1”项的色谱条件下,用 UPLC-PDA 测定,得色谱图,6 种化合物与其他物质峰分离完全,见图 1。

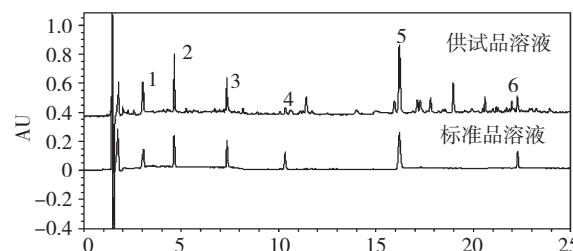


图 1 混合对照品及供试品溶液的 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatogram of mixed standard and *E. ulmoides* sample

Note: 1 桃叶珊瑚苷;2 京尼平苷酸;3 绿原酸;4 京尼平苷;5 松脂醇二葡萄糖苷;6 松脂醇单葡萄糖苷

Note: 1 aucubin;2 geniposidic acid;3 chlorogenic acid;4 geniposide;5 pinoresinol diglucoiside;6 pinoresinol singleglucoside

2.4.2 线性关系考察

精密量取“2.2”项下对照品储备液 1.25 mL 置 10 mL 容量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品稀释液。分别精密吸取混合对照品稀释液 1、2、4 μL 和“2.2”项下对照品储备液 1、2、4、8 μL,按“2.1”项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制工作曲线,结果见表 1。

2.4.3 精密度实验

取同一供试品溶液,连续进样 6 次,计算桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷峰面积的 RSD 分别为 1.6%、2.1%、2.7%、2.8%、0.4%、1.9%,结果说明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性实验

取同一批号杜仲药材 6 份,精密称定,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别测定。6 份供试品

溶液中 6 个成分含量结果 RSD 分别为 2.0%、0.8%、2.3%、2.6%、0.9%、2.5%，表明重复性良好。

表 1 回归方程和线性范围

Table 1 Regression equations and linear ranges of the 6 components

成分 Analyte	回归方程 Calibration curve	相关系数 <i>r</i>	线性范围 Linear range (μg)
桃叶珊瑚苷 Aucubin	$y = 1.804 \times 10^6 x + 4.449 \times 10^4$	0.9999	0.0278 ~ 1.7768
京尼平苷酸 Geniposidic acid	$y = 2.245 \times 10^6 x + 3.624 \times 10^4$	0.9997	0.0226 ~ 1.4467
绿原酸 Chlorogenic acid	$y = 8.774 \times 10^6 x + 1.125 \times 10^4$	0.9996	0.0047 ~ 0.3007
京尼平苷 Geniposide	$y = 2.624 \times 10^6 x + 2.758 \times 10^4$	0.9999	0.0125 ~ 0.8000
松脂醇二葡萄糖苷 Pinoresinol diglucoside	$y = 1.361 \times 10^7 x + 1.344 \times 10^5$	0.9996	0.0074 ~ 0.4760
松脂醇单葡萄糖苷 Pinoresinol singleglucoside	$y = 2.577 \times 10^7 x + 1.729 \times 10^4$	0.9999	0.0011 ~ 0.0704

2.4.5 稳定性实验

分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 分别进样, 测定各指标成分峰面积。桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷、松脂醇单葡萄糖苷峰面积的 RSD 分别为 1.7%、2.4%、1.6%、2.2%、0.9%、1.2%，表明供试品在 24 h 内稳定。

2.4.6 加样回收率实验

称取已知含量的杜仲药材 6 份, 精密加入一定量 6 种被测成分混合对照品, 室温挥干, 其余按“2.3”项下方法制备加样回收供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件测定, 结果见表 2。结果表明 6 个待测成分回收率良好。

表 2 回收率试验结果 (n = 6)

Table 2 Results for recovery tests (n = 6)

成分 Analytes	称样量 Sample amount (g)	样品含量 Content in sample (mg)	加入量 Standard added (mg)	测得量 Measured value (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
桃叶珊瑚苷 Aucubin	0.4083	0.9971	0.9935	1.9620	98.56	96.93	1.3
	0.4024	0.9827	0.9935	1.9292	97.62		
	0.4001	0.9770	0.9935	1.8694	94.87		
	0.4068	0.9934	0.9935	1.9379	97.53		
	0.4015	0.9805	0.9935	1.8943	95.96		
	0.4010	0.9792	0.9935	1.9137	97.01		
京尼平苷酸 Geniposidic acid	0.4083	1.0428	0.9640	2.0365	101.48	99.80	2.4
	0.4024	1.0277	0.9640	1.9844	99.63		
	0.4001	1.0219	0.9640	1.9132	96.34		
	0.4068	1.0390	0.9640	2.0141	100.56		
	0.4015	1.0254	0.9640	1.9456	97.80		
	0.4010	1.0242	0.9640	2.0482	103.02		
绿原酸 Chlorogenic acid	0.4083	0.2019	0.1880	0.3917	100.47	101.01	1.3
	0.4024	0.1990	0.1880	0.4006	103.51		
	0.4001	0.1978	0.1880	0.3899	101.04		
	0.4068	0.2012	0.1880	0.3925	100.87		
	0.4015	0.1985	0.1880	0.3842	99.41		
	0.4010	0.1983	0.1880	0.3893	100.79		
京尼平苷 Geniposide	0.4083	0.3736	0.3500	0.7321	101.18	98.74	2.7

	0.4024	0.3682	0.3500	0.7314	101.84		
	0.4001	0.3661	0.3500	0.7113	99.33		
	0.4068	0.3722	0.3500	0.7147	98.96		
	0.4015	0.3674	0.3500	0.6849	95.40		
	0.4010	0.3669	0.3500	0.6857	95.65		
松脂醇二葡萄糖苷 Pinoresinol diglucoside	0.4083	0.6345	0.6545	1.2715	98.65	99.38	2.6
	0.4024	0.6253	0.6545	1.3247	103.51		
	0.4001	0.6218	0.6545	1.2425	97.35		
	0.4068	0.6322	0.6545	1.3082	101.67		
	0.4015	0.6239	0.6545	1.2400	97.00		
	0.4010	0.6232	0.6545	1.2313	98.10		
松脂醇单葡萄糖苷 Pinoresinol singleglucoside	0.4083	0.0678	0.0660	0.1329	99.32	98.43	1.9
	0.4024	0.0668	0.0660	0.1334	100.45		
	0.4001	0.0664	0.0660	0.1259	95.09		
	0.4068	0.0675	0.0660	0.1327	99.41		
	0.4015	0.0666	0.0660	0.1307	98.53		
	0.4010	0.0666	0.0660	0.1297	97.80		

2.5 样品测定

取收集的不同产地及采收期的杜仲药材,按“2.3”项下方法操作,并按“2.1”项下色谱条件进样分析,测定 31 批不同产地和 8 批不同采收期(龙里

S32 ~ S39 分别为 3、4、5、6、7、8、9、10 月份采收)杜仲药材中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷和松脂醇单葡萄糖苷的含量,含量测定结果见表 4。

表 4 不同产地和采收期杜仲药材含量测定结果

Table 4 Content determination results of the 6 targeted components in *E. ulmoides* from different sources and collecting stage

批号 Batch	桃叶珊瑚苷 Aucubin (%)	京尼平苷酸 Geniposidic acid (%)	绿原酸 Chlorogenic acid (%)	京尼平苷 Geniposide (%)	松脂醇二葡萄糖苷 Pinoresinol diglucoside (%)	松脂醇单葡萄糖苷 Pinoresinol singleglucoside (%)	总含量 Total content (%)
四川 S1Sichuan S1	0.6580	1.3878	0.0656	0.1724	0.2577	0.0096	2.5511
四川 S2Sichuan S2	0.6405	1.2596	0.0594	0.0457	0.1392	0.0138	2.1581
四川 S3Sichuan S3	1.0537	1.1273	0.0579	0.0250	0.1582	0.0049	2.4269
湖南 S4Hunan S4	0.8955	0.8950	0.1320	0.1501	0.2060	0.0192	2.2977
湖南 S5Hunan S5	0.1834	0.1399	0.0139	0.0277	0.1632	0.0430	0.5712
湖南 S6Hunan S6	0.1359	0.1750	0.0613	0.0511	0.3181	0.0459	0.7873
云南 S7Yunnan S7	0.0929	0.1347	0.0275	0.0173	0.1334	0.0347	0.4406
云南 S8Yunnan S8	0.1041	0.2147	0.0378	0.0213	0.1273	0.0289	0.5341
云南 S9Yunnan S9	0.1143	0.2781	0.0331	0.0419	0.1601	0.0352	0.6628
甘肃 S10Gansu S10	0.1774	0.3081	0.0401	0.0685	0.2559	0.0297	0.8797
甘肃 S11Gansu S11	0.4133	0.7005	0.0325	0.1580	0.1693	0.0134	1.4870
甘肃 S12Gansu S12	0.4562	0.5822	0.0201	0.1065	0.1787	0.0166	1.3603
重庆 S13Chongqing S13	1.8520	1.5209	0.0717	0.0241	0.2704	0.0211	3.7602
重庆 S14Chongqing S14	1.8776	1.6661	0.0664	0.0954	0.2522	0.0090	3.9667
重庆 S15Chongqing S15	2.1618	1.2369	0.0584	0.1607	0.2914	0.0102	3.9194

黔西 S16Qianxi S16	0.1680	0.3515	0.0590	0.0350	0.1839	0.0184	0.8157
黔西 S17Qianxi S17	0.3478	0.4348	0.0277	0.0287	0.2135	0.0159	1.0683
黔西 S18Qianxi S18	0.3868	0.8861	0.0672	0.1723	0.4451	0.0339	1.9914
开阳 S19Kaiyang S19	0.4162	0.1993	0.0442	0.0190	0.1351	0.0070	0.8208
开阳 S20Kaiyang S20	0.6617	0.2230	0.0254	0.0268	0.1420	0.0059	1.0848
开阳 S21Kaiyang S21	0.8654	0.8768	0.0480	0.1356	0.2325	0.0129	2.1711
遵义 S22Zunyi S22	1.7834	1.4419	0.0454	0.5811	0.2500	0.0045	4.1062
遵义 S23Zunyi S23	1.9427	1.2093	0.0596	0.3049	0.2527	0.0066	3.7758
遵义 S24Zunyi S24	1.4342	1.4582	0.0542	0.0305	0.2542	0.0082	3.2396
遵义 S25Zunyi S25	2.0111	1.5618	0.0710	0.3297	0.2487	0.0059	4.2282
江口 S26Jiangkou S26	0.8193	0.4587	0.0793	0.1113	0.2555	0.0226	1.7467
江口 S27Jiangkou S27	0.6408	0.5392	0.0554	0.0811	0.1922	0.0335	1.5422
江口 S28Jiangkou S28	0.3415	0.2796	0.0346	0.0672	0.1518	0.0105	0.8853
雷山 S29Leishan S29	0.1401	0.3582	0.0692	0.0584	0.4683	0.0194	1.1135
雷山 S30Leishan S30	0.2164	0.6233	0.0351	0.1362	0.2611	0.0235	1.2956
雷山 S31Leishan S31	0.1033	0.3253	0.0327	0.0318	0.2719	0.0104	0.7753
龙里 S32Longli S32	0.9477	0.5534	0.0636	0.1177	0.0542	0.0016	1.7382
龙里 S33Longli S33	0.9964	0.4938	0.0676	0.2373	0.1218	0.0058	1.9227
龙里 S34Longli S34	0.8598	0.5957	0.0637	0.4066	0.1976	0.0096	2.1330
龙里 S35Longli S35	1.4799	0.7588	0.0842	0.2751	0.1695	0.0049	2.7723
龙里 S36Longli S36	1.6257	1.0097	0.0504	0.1984	0.1287	0.0040	3.0169
龙里 S37Longli S37	2.1136	0.7882	0.0317	0.1457	0.2211	0.0060	3.3063
龙里 S38Longli S38	1.4752	0.4780	0.0517	0.1744	0.1730	0.0066	2.3589
龙里 S39Longli S39	0.9857	0.2751	0.0712	0.2319	0.2461	0.0105	1.8205
平均值 Average	0.8610	0.7130	0.0531	0.1308	0.2141	0.0160	1.9880
RSD(%)	77.8	65.1	41.0	93.1	37.9	73.3	57.4

3 讨论与结论

3.1 测定波长的选择

由于所测杜仲中的木质素类、环烯醚萜类、酚酸类成分均具有紫外吸收,所以实验选择紫外检测器;并且利用二极管阵列检测器(PDA)检测,得到各波段的三维色谱及光谱图,根据信息最大化原则及6个待测化合物的吸收波长,最终选定205 nm为检测波长,经过方法学考察,证明本方法准确可靠,重复性好。

3.2 提取方法的选择

取同批杜仲药材以甲醇回流提取、索式提取及超声提取,并以峰信息程度、药材中各共有峰的单位质量峰面积及含量测定中各指标成分含量为指标选择相对较好的提取方法。实验结果显示,回流提取能有效的、充分的将杜仲药材中的成分提取完全。

2010年版《中国药典》杜仲项下松脂醇二葡萄糖苷采用甲醇提取,本实验涉及不同性质的6个化合物,因此以甲醇、50%甲醇、乙醇、60%乙醇、水作为杜仲药材的提取溶剂进行考察。实验结果发现甲醇提取效率较高。因此实验选用甲醇作为杜仲药材的提取溶剂。对回流提取的提取次数进行考察,结果表明甲醇回流提取2次后,指纹图谱中各峰的峰面积及各指标成分含量总体趋于稳定,综合考虑,提取回流次数定为2次。

3.3 结果分析

本实验采用UPLC为分析手段,对杜仲药材中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、松脂醇二葡萄糖苷和松脂醇单葡萄糖苷进行含量测定,该方法操作简便,在此色谱条件下所测的多种成分分离度好,线性关系,精密度,稳定性,回收率均较好,可应用于杜仲质量控制研究。

从测定结果可以看出,不同产地和不同采收期杜仲药材中 6 个被测成分的含量波动相对较大,它们的 RSD 值介于 37.9%~93.1% 之间,为此需要多指标成分对药材质量进行控制。其中环烯醚萜类的桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、京尼平苷含量差别较大,可能是产地对其有影响,也可能是由于环烯醚萜类化合物本身化学性质不是很稳定,在加工过程中易分解,从而导致含量差别大。松脂醇二葡萄糖苷和绿原酸对于不同产地或采收期的药材时,含量差别较小,可能由于产地和采收期对其影响较小。3 月份采收的杜仲皮中松脂醇二葡萄糖苷含量为 0.0542%,不建议 3 月作为杜仲的采收期。

参考文献

- 1 Jiangsu new medical college(江苏新医学院). The Dictionary of Traditional Chinese Medicine (中药大辞典). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986. 2090.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I,154.
- 3 Zhao YY(赵玉英), Geng Q(耿权), Cheng TM(程铁民). A survey of the studies on chemical constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1995, 7:46-52.
- 4 He XR, Wang JH, Li MX, et al. *Eucommia ulmoides* Oliv.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151:78-92.
- 5 Guan SY(管淑玉), Su WW(苏薇薇). Advance in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Eucommia ulmoides* Oliv. *Chin Med Mat*(中药材), 2003, 26: 124-129.
- 6 Cheng GL(程光丽). Advance in studies on active constituent and their pharmacological activities of *Eucommia ulmoides* Oliv.. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2006, 28:723-725.
- 7 Deyama T, Nishibe S, Nakazawa Y. Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and Siberian ginseng. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22:1057-1070.
- 8 Luo LF, Wu WH, Zhou YJ, et al. Antihypertensive effects of *Eucommia ulmoides* Oliv. extracts in spontaneously hypertensive rats. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129:238-243.
- 9 Wang AM(王爱民), Liu Z(刘智), Wang HJ(王海军), et al. Determination of ellagic acid compounds in *Euscaphis japonica* by using UPLC. *Chin J Chin MaterMed*(中国中药杂志), 2009, 34:3235-3237.
- 10 Han YC(韩永成), Liu W(刘伟), Chen N(陈宁), et al. Simultaneous determination of six compounds in *Lonicera japonica* Thunb by UHPLC. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27:89-93.