文章编号:1001-6880(2017)8-1333-06

不同采收期水栀子果实中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ和栀子苷含量变化研究

刘和平[1,2,3],许　彦[1,2],尚　强[1,2],闵建华[1,2],周光雄[3*]

[1] 国家中药现代化工程技术研究中心;[2]丽珠医药集团股份有限公司,珠海 519020 ;[3]暨南大学药学院,广州 510632

摘　要:建立水栀子药材中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ超高效液相色谱法(UPLC)含量测定的方法,研究不同采收期的水栀子药材中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ和栀子苷含量的变化趋势。西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量测定采用80%甲醇超声提取,通过UPLC-DAD法测定。色谱条件:Aglient Pro120 EC-C_{18}(50 mm×4.6 mm,2.7 μm)色谱柱,以水(A)-乙腈(B)为流动相梯度洗脱,0~5 min,5%~20% B;5~17 min,20%~27% B;柱温15 ℃,流速0.8 mL/min,检测波长440 nm。栀子苷含测采用《中国药典》2015年版一部栀子项下的含量测定方法检测。通过实验,红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ分别在49.5560~955.6000 ng、5.9045~1180.9000 ng线性范围内与各自峰面积呈良好的线性关系(r=0.9996、r=0.9998),平均回收率分别为98.17%、99.67%(n=9)。表明建立的西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量测定方法简便,稳定性、重复性、分离度均好;随着采收期的延长,样本中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ的含量逐步增加,而栀子苷含量先降低后再逐步增加到一个平衡值。本研究为水栀子药材最佳采收期的确定提供了实验依据。

关键词:水栀子;西红花苷Ⅰ;西红花苷Ⅱ;栀子苷;UPLC-DAD;含量测定

中图分类号:R284　　**文献标识码**:A　　DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.8.013

Content Variations of Crocin I, Crocin II and Gardenoside in *Gardenia jasminoides* var. *grandiflora* with Different Harvesting Times

LIU He-ping[1,2,3], XU Yan[1,2], SHANG Qiang[1,2], MIN Jian-hua[1,2], ZHOU Guang-xiong[3*]

[1] *National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine*;

[2] *Livzon Pharmaceutical Group Inc. Zhuhai 519020, China*;

[3] *College of Pharmacy Jinan University, Guangzhou 510632, China*

Abstract: This research aims to establish an UPLC method for the determination of crocin I and crocin II in *Gardenia jasminoides* var. *grandiflora*, and study on content variations of crocin I, crocin II and gardenoside in *G. jasminoides* var. *grandiflora* with different harvesting times. The extract from 80% methanol ultrasonic extraction was used to determine the contents of crocin Ⅰ and crocin Ⅱ by UPLC-DAD. System suitability conditions were as follows: column: Agilent Pro120 EC-C_{18}(50 mm×4.6 mm, 2.7 μm), mobile phase: water(A)-acetonitrile (B) with gradient elution mode (0-5 min, 5%-20% B; 5-17 min, 20%-27% B), column temperature: 15 ℃, flow speech: 0.8 mL/min, detection wavelength: 440 nm. The content of gardenoside was determined by the method of content determination of *G. jasminoides* from Chinese Pharmacopoeia (2015 edition). The methodological studies showed that the linear ranges were 49.5560-955.6000 ng (r=0.9995) for crocin I, 5.9045-1180.9000 ng (r=0.9997) for crocin II. The average recoveries of crocin I and crocin II were 98.17% and 99.67% (n=9), respectively. It was proved that the method for the determination of crocin I and crocin II was simple, stable, reproducible and well separated. With prolonging of harvesting time, the contents of crocin I and crocin II increased gradually. However, the content of gardenoside decreased firstly and then increased gradually to a balance value. The study provided experimental basis for determining the optimal harvesting time of *G. jasminoides* var. *grandiflora* fruits.

Key words: *Gardenia jasminoides* var. *grandiflora*; crocin I; crocin II; gardenoside; UPLC-DAD; assay

收稿日期:2017-03-20　　接受日期:2017-05-15

基金项目:"重大新药创制"科技重大专项公共资源平台课题(2011ZX09307-002-01);国家工业和信息化部扶持中药材生产建设项目(2012-138);广东省部产学研结合项目(2010A090200064)

*通信作者 Tel:86-20-85221469;E-mail:guangxzh@sina.com

水栀子未列入历版《中国药典》和部颁标准,仅

www.nrdw.acm

作为栀子药材的伪品进行了记载,主流商品水栀子药材来源于茜草科植物大花栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis *var. grandiflora* Nakai 的干燥果实[1,2],主产于安徽、浙江、湖北、湖南、广西、福建、江西等省份,现已有大量的人工种植。已有文献报道[3-6],水栀子药材基源除了上述的大花栀子外,还有狭叶栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis var. *radicans* Makino、大黄栀子 *Gardenia sootpensis* Hutch.、水栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis f. *longicarpa* Z. W. Xie et Okada.、海南栀子 *Gardenia hainanensis* Merr. 等。水栀子药材中主要含有栀子苷等环烯醚萜苷类成分,以及西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ等西红花苷类成分。栀子苷为栀子属药材药效成分之一,同时近年有文献报道[7],西红花苷类成分对心血管系统有明显作用,具有很大的药用价值。水栀子果实的生长期较长,在不同生长阶段果实的大小和颜色差异明显,但未见有其质量相关的研究文献报道。为了研究水栀子果实不同生长期主要化学成分的含量变化,本课题组从安徽省奕龙水栀子种植基地收集了不同生长时间的水栀子果实,进行西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ和栀子苷的含量变化研究。本文首次建立了同时测定水栀子药材中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量的 UPLC 分析方法,并按照《中国药典》2015 年版一部栀子项下的栀子苷含量测定方法,测定了 11 批不同生长期水栀子中 3 个指标性成分含量,分析不同生长时间西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ和栀子苷含量变化趋势,为水栀子药材最佳采收期的确定提供了实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器设备

Agilent 1260 超高效液相色谱仪(含 G1311B 四元泵、G1329B 自动控温自动进样器、G4218B DAD 检测器、Chemstation 色谱数据处理工作站,美国安捷伦),KQ-500VDE 型双频数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司),水分测定仪(梅勒特),十万分之一电子天平(梅勒特)。

1.2 试剂与试药

甲醇、乙腈为色谱纯(Merck 公司),水为 GMP 车间制药用水,其他试剂均为分析纯。红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ和栀子苷化学对照品(中国药品生物制品检定所,批号:111588-201303、111588-201304、110749-201316)。委托安徽省奕龙水栀子种植基地在水栀子同一种植区不同生长时间段各采摘 3 kg 鲜果,采用相同的干燥方法烘干,共得到 11 批,每批约 1 kg 的不同采收期水栀子药材,经暨南大学药学院周光雄教授鉴定为茜草科植物大花栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis var. *grandiflora* Nakai,凭证标本存于国家中药现代化工程技术研究中心生药标本室,样本信息见表 3.

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent pro120 EC-C_{18},4.6 × 50 mm,2.7 μm;以 A(水)-B(乙腈)为流动相梯度洗脱,0 ~ 5 min,5% ~ 20% B;5 ~ 17 min,20% ~ 27% B;进样量:5 μL;流速:0.8 mL/min;柱温:15 ℃;检测波长:440 nm。西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ分离度均大于 1.5,理论板数按西红花苷Ⅰ计算应不低于 20000。测定法:照高效液相色谱法(《中国药典》2015 年版四部通则 0512)测定,精密吸取对照品溶液和供试品溶液 5 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.2 对照品溶液制备

取西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ化学对照品适量,精密称定,加 80% 甲醇超声 10 min 使溶解,分别制成 0.1、0.01 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

取本品粉末(过四号筛)0.2 g,精密称定,置于 100 mL 三角瓶中,精密加 80% 甲醇 50 mL,称重,超声处理(功率 500 W,频率 45 KHz)30 min,取出,放冷,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,过滤,取续滤液用微孔滤膜(0.22 μm)滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 供试液制备方法考察

2.4.1 提取方式考察

取同一样品粉末 0.2 g,精密称定,平行两份,按 2.3 项下方法分别比较了超声提取 30 min 补足重量、回流提取 2 h 补足重量两种提取方式,按 2.1 项下方法测定,以西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ计算峰面积(A)与称样量(M)的比值,结果:西红花苷Ⅰ两种提取方式测定比值分别为 36137.17 和 34967.25,西红花苷Ⅱ两种提取方式测定比值分别为 4125.42 和 3998.40,表明超声提取 30 min 补足减失的重量的方法提取效率最好,故选取超声 30 min 补足重量的提取方式。

2.4.2 提取溶剂考察

取同一样品粉末 0.2 g,精密称定,平行三份,按

www.rcnp.ac.cn

2.3 项下方法分别比较了 50% 甲醇、80% 甲醇和甲醇三种提取溶剂,按 2.1 项下方法测定,结果:西红花苷Ⅰ三种提取溶剂测定比值分别为 34371.48、36256.53 和 34822.87,西红花苷Ⅱ三种提取溶剂测定比值分别为 3743.67、4414.93 和 4332.24,80% 甲醇提取率最高,故选 80% 甲醇。

2.4.3 提取时间考察

取同一样品粉末 0.2 g,精密称定,平行三份,按 2.3 项下方法分别比较了超声 15、30、60 min 三种提取时间,按 2.1 项下方法测定,结果:西红花苷Ⅰ三种提取时间测定比值分别为 37380.77、39031.84 和 39130.21,西红花苷Ⅱ三种提取溶剂测定比值分别为 4397.392、4601.266 和 4547.812,表明超声处理 30 min,基本可以提取完全,故选用超声 30 min。

2.4.4 提取溶剂用量考察

取同一样品粉末 0.2 g,精密称定,平行三份,按 2.3 项下方法分别比较了 25、50、75 mL 的三种溶剂用量,制备成相同体积的溶液,按 2.1 项下方法测定,结果:西红花苷Ⅰ三种溶剂用量测定比值分别为 37860.38、39307.16 和 39225.75,西红花苷Ⅱ三种溶剂用量测定比值分别为 4440.00、4676.69 和 4642.22,表明用 50 mL 提取溶剂,基本可以提取完全,故选用 50 mL 溶剂。

2.5 色谱条件的优化及方法学考察

2.5.1 柱温

相同条件下分别比较了不同柱温 15、20、25、30、35 ℃,结果表明,15 ℃时主要色谱峰分离度及响应值最佳。

2.5.2 流速

相同条件下分别比较了 0.6、0.8、1.0 mL/min 流速,结果表明,流速为 0.8 mL/min 时主要色谱峰分离度较佳。

2.5.3 流动相耐受性

相同条件下改变流动相比例 ±5%,试验结果表明流动相耐受性良好。

2.5.4 仪器精密度

取同一份供试品溶液和对照品,按 2.1 项下方法测定,各连续进样 6 次,测得样品中的西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ峰面积 RSD 分别为 0.46%、0.60%,对照品 RSD 分别为 0.92%、0.19%,结果表明仪器精密度良好。

2.5.5 稳定性试验

取同一供试品溶液和对照品溶液,分别在 0、1、3、6、12、24、48 h 不同时间按 2.1 项下方法测定,测得样品 48h 内的西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ峰面积 RSD 分别为 1.80%、1.51%,对照品 48h 内的西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ峰面积 RSD 分别为 1.67%、3.10%,表明供试品溶液和对照品溶液在 48 h 内基本稳定。

2.5.6 重复性试验

取同一样品粉末 0.2 g,平行 6 份,按 2.3 项下方法制成供试品溶液,按 2.1 项下方法进样测定,测得西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量的 RSD 分别为 1.90%、3.65%,结果表明本法重复性良好。

2.5.7 线性关系考察

分别精密吸取浓度为 95.56 μg/mL 的西红花苷Ⅰ对照品溶液 5、10 μL,浓度为 9.5560 μg/mL 的西红花苷Ⅰ对照品溶液 2.5、5、10 μL,浓度为 0.9556 μg/mL 的西红花苷Ⅰ对照品溶液 10 μL;浓度为 118.0900 μg/mL 的西红花苷Ⅱ对照品溶液 5、10 μL,浓度为 11.8090 μg/mL 的西红花苷Ⅱ对照品溶液 4、6、8、10 μL,浓度为 1.1809 μg/mL 的西红花苷Ⅱ对照品溶液 5、10 μL,注入液相色谱仪中按 2.1 项下方法测定。以西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ对照品绝对量为横坐标 X,峰面积为纵坐标 Y,绘制标准曲线,得到线性方程 $Y = 20.776248X - 223.09298$ ($r = 0.9996$)、$Y = 24.5164866X - 209.82022$ ($r = 0.9998$)。结果表明,西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ分别在 9.5560 ~ 955.6000 ng、5.9045 ~ 1180.9000 ng 质量范围内,标准曲线呈良好的线性关系,定量限度分别为 0.96、2.95 ng。

2.5.8 准确度试验

取已知含量的样品 0.1 g,平行 9 份,精密称定,置 100 mL 带塞三角瓶中,每 3 份为一组,每组分别按照对照品加入量与供试液中待测成分量之比为 0.5∶1、1∶1、1.5∶1左右的三个水平分别加入红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ对照品溶液,按 2.3 项下方法制备样品溶液,按 2.1 项下方法进样分析,结果每组西红花苷Ⅰ的回收率在 95% ~ 101% 之间,西红花苷Ⅱ在 93% ~ 105% 之间,RSD 均小于 2%,表明方法准确度良好(表 1、2)。

2.6 样品测定

取不同采摘时间的 11 批样本,采用本文方法制备样品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量测定(色谱图见图 1),并按照《中国药典》2015 年版一部栀子项下的栀子苷含量测定方法测定栀子苷含量,不同采收期的样本测定结果见

www.trcw.ac.cn

表 1 西红花苷Ⅰ准确度试验结果($n=3$)

Table 1 Results of recovery test for crocin Ⅰ ($n=3$)

水平 Level	序号 No.	取样量 Sample (g)	原有量 Original (mg)	加入量 Added (mg)	测得量 Found (mg)	加样回收率 Recovery (%)	平均回收率 Mean recovery (%)	RSD (%)
50%	1	0.10393	1.8341	0.8393	2.6473	96.90	95.11	1.62
	2	0.10164	1.7936	0.8393	2.5848	94.27		
	3	0.09901	1.7472	0.8393	2.5377	94.18		
100%	1	0.10167	1.7942	1.6828	3.4731	99.77	98.75	1.96
	2	0.10283	1.8146	1.6828	3.4969	99.97		
	3	0.10001	1.7649	1.6828	3.3892	96.53		
150%	1	0.10208	1.8014	2.5179	4.3546	101.40	100.64	1.74
	2	0.10101	1.7825	2.5179	4.3478	101.88		
	3	0.10497	1.8524	2.5179	4.3358	98.63		

表 2 西红花苷Ⅱ准确度试验结果($n=3$)

Table 2 Results of recovery test for crocin Ⅱ ($n=3$)

水平 Level	序号 No.	取样量 Sample (g)	原有量 Original (mg)	加入量 Added (mg)	测得量 Found (mg)	加样回收率 Recovery (%)	平均回收率 Mean recovery (%)	RSD (%)
50%	1	0.09902	0.2006	0.12086	0.3139	93.74	93.60	1.58
	2	0.09843	0.1994	0.12086	0.3107	92.07		
	3	0.09903	0.2006	0.12086	0.3155	95.01		
100%	1	0.10171	0.2061	0.24172	0.4488	100.42	100.86	1.13
	2	0.10093	0.2045	0.24172	0.4514	102.15		
	3	0.10183	0.2063	0.24172	0.4480	99.99		
150%	1	0.10679	0.2164	0.36591	0.6035	105.80	104.55	1.06
	2	0.10461	0.2119	0.36591	0.5914	103.71		
	3	0.10479	0.2123	0.36591	0.5933	104.14		

表 3。测定结果显示,7~8 月采摘的幼果栀子苷含量达最高值 13.12%,而西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ在此色谱条件下基本检测不出;12 月份的成熟果西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量之和达最高值 2.26%,但栀子苷含量相对较低。

2.7 结果分析

此前未见有同时测定水栀子药材中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量的文献报道,本文首次建立了同时测定水栀子药材中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ的 UPLC 含量测定方法,方法操作简便,稳定性、重复性好、分离度好。水栀子果实按照不同采摘时间将其分为幼果、青果、早期果、中期果、晚期果。检测结果表明:西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ以及两者总含量在幼果中基本检测不出,青果、早期果含量较低,中期果含量逐步升高,后期果含量达到最高,其不同采摘时间含量变化趋势见图 2;栀子苷含量以幼果含量最高,随着果实长大,青果、早期果中含量逐步下降,近成熟的早期果中含量最低,然后随着果实的成熟,中、晚期果中逐步再升高后达到一个平衡值,其不同采摘时间含量变化趋势见图 3。此结果与文献报道的栀子药材不同采收期中栀子苷含量先下降后再升高的变化趋势一致[8]。

根据以上结果整体分析,以西红花苷类成分评价水栀子质量时,每年的 11 月下旬至 12 月上旬采收的晚期果最佳;若以栀子苷类成分评价水栀子质量时,每年的 7 月至 8 月采摘的幼果最佳,其栀子苷含量是成熟果的 2~3 倍。但综合考虑不同采摘时间的栀子苷含量、产量与干燥难度,故结合实际情况确定中、晚期采摘最佳。

www.ircw.ac.cn

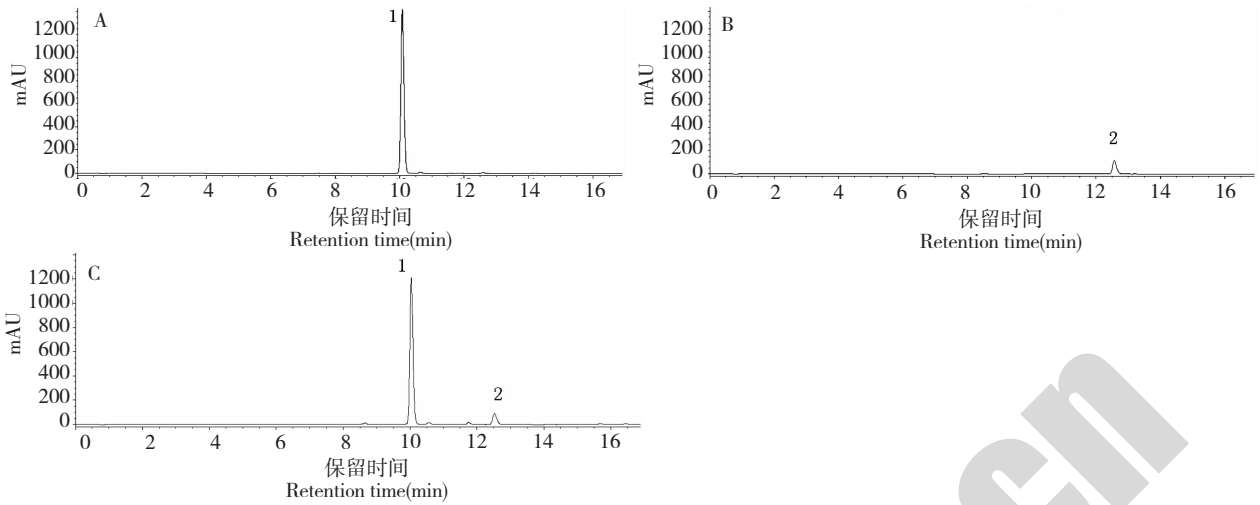

图 1　西红花苷Ⅰ标准品(A)、西红花苷Ⅱ标准品(B)及水栀子样品(C)UPLC 色谱图

Fig. 1　UPLC chromatograms of crocin Ⅰ standard (A) and crocin Ⅱ standard (B) and *G. jasminoides* var. *grandiflora* sample (C)

表 3　不同采收期样本西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ、栀子苷含量测定结果(%,$n=3$)

Table 3　Contents of crocin Ⅰ, crocin Ⅱ and gardenoside in *G. jasminoides* var. *grandiflora* with different harvest time (%, $n=3$)

序号 No.	批号 Batch	名称 Name	采摘时间 Harvesting Time	西红花苷Ⅰ Crocin Ⅰ		西红花苷Ⅱ Crocin Ⅱ		栀子苷 Gardenoside	
				含量 Assay	RSD	含量 Assay	RSD	含量 Assay	RSD
1	S-14-1#	幼果 Young fruit	2016.07.18	0.001	1.87	–	–	13.118	1.04
2	S-14-2#	幼果 Young fruit	2016.08.03	0.001	1.91	–	–	11.427	1.90
3	S-14-3#	幼果 Young fruit	2016.08.20	0.019	1.67	0.003	1.88	10.630	1.98
4	S-14-4#	青果 Blue fruit	2016.09.07	0.285	1.35	0.017	1.53	9.249	1.24
5	S-14-5#	青果 Blue fruit	2016.09.25	0.661	0.56	0.063	1.06	6.553	0.20
6	S-14-6#	早期果 Early fruit	2016.10.08	0.771	0.43	0.120	1.08	4.392	1.40
7	S-14-7#	早期果 Early fruit	2016.10.19	1.057	0.95	0.125	0.92	4.680	0.76
8	S-14-8#	中期果 Medium fruit	2016.10.30	1.449	0.46	0.146	1.11	5.480	1.02
9	S-14-9#	中期果 Medium fruit	2016.11.11	1.674	0.27	0.149	1.37	5.480	0.56
10	S-14-10#	晚期果 Late fruit	2016.11.21	1.915	1.53	0.189	1.94	5.386	1.54
11	S-14-11#	晚期果 Late fruit	2016.12.03	2.026	1.62	0.228	1.77	5.589	0.68

注:"-"表示在此色谱条件下未检出

Note:"-" indicated not detected

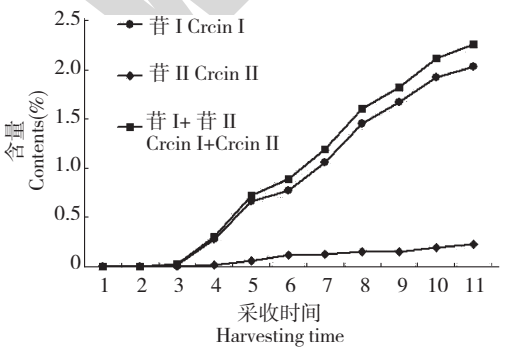

图 2　不同采收期样本中西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ含量变化趋势图

Fig. 2　Trend chart of crocin Ⅰ and crocin Ⅱ in *G. jasminoides* var. *grandiflora* with different harvesting time

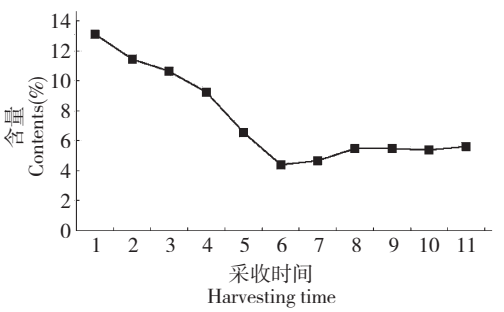

图 3　不同采收期样本栀子苷含量变化趋势图

Fig. 3　Trend chart of gardenoside in *G. jasminoides* var. *grandiflora* with different harvesting time

www.trcwf.ac.cn

3 讨论与结论

许多文献报道[9-11]，中药材产地不同采摘时间是影响中药材质量的重要环节，不同的采收期的药材质量存在较大差异。水栀子药材的果实生长期较长，从每年的 6 月中旬到 12 月的下旬，根据上述结果分析可以看出，不同的生长期果实所含的主要化学成分西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ和栀子苷的含量存在显著差异，需要根据水栀子的药材实际应用的要求确定最佳的采收时间。

参考文献

1 Liu SJ(刘素娟), Zhang XT(张现涛), Wang WM(王文明), *et al*. Studies on chemical constituents of *Gardenia jasminoides* var. *radicans*. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2012, 43: 238-241.

2 Tan FM(覃芳敏), Meng LJ(孟令杰), Yuan HE(袁红娥), *et al*. Chemical Constituents in the fruits of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* Makino. *Chin J Pharm*(中国药学杂志), 2014, 49: 275-278.

3 Fu XM(付小梅), Ge F(葛菲), Zhu XL(褚小兰), *et al*. Study on morphology and histology of *Gardeniajas minoide* and *Gardenia jasminoides* var. *radicans*. *China Pharm*(中国药业), 2001, 10: 53-54.

4 Zhou HB(周惠斌). Pharmacognosy identification on *Gardenia jasminoides* var. *radicans*. of adulterants of *Gardeniajas minoide*. *China Pharm*(中国药业), 1998, 7: 17-18.

5 Huang BK(黄必奎). Research Identification between *Gardeniajas minoide* and *Gardenia jasminoides* var. *radicans*. *Youjiang Med J*(右江医学), 2003, 31: 4.

6 Fu XM(付小梅), Lai XW(赖学文), Ge F(葛菲), *et al*. Resources investigation and identification of *Gardenia*. *Chin J Wild Plant Res*(中国野生植物资源), 2002, 21: 23-25.

7 Wang P(王平), Tong YP(童应鹏), Tao LL(陶露霞), *et al*. Research progress on chemical constituents of *Crocus sativus* and their pharmacological activities. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2014, 45: 3015-3028.

8 Liu T(刘涛), Guo XH(郭晓恒), Xu YL(徐玉玲), *et al*. Effects of different harvest times and processing methods on quality of Gardeniae Fructus. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2012, 37: 1932-1934.

9 He YN(何燕宁), Zhao YL(赵引利), Yang DL(杨冬丽), *et al*. Determination and comparison of luteoloside, apigenin-7-*O*-*β*-D-glucosidase, and luteolin in *Humulus scandens* from different habitats in Hebei province. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2016, 47: 3707-3711.

10 Zhang G(张杲), Duan F(段飞). Determination of phillyrin, forsythiaside and rutin in *Folium forsythia* gathered in different periods. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2005, 17: 790-793.

11 Xiong K(熊珂), Yao CF(姚成芬), Xiong DFF(熊荻菲菲), *et al*. Content determination of 3 compounds in *Euphorbia chrysocoma* harvested during different period by HPLC. *J Guizhou Med Univ*(贵州医科大学学报), 2017, 42: 1-4.

www.rcw.ac.cn