

超声辅助萃取-高效液相色谱同时测定 益母草中8种有效成分

陈军华¹, 周光明^{1*}, 邓永利¹, 秦红英¹, 彭贵龙¹, 高意¹, 陈定军²

(1.西南大学 发光与实时分析教育部重点实验室, 重庆 400715;

2.成都金建人民医院药剂科, 四川 成都 610000)

摘要: 目的: 建立高效液相色谱法同时测定益母草中丁香酸、阿魏酸、芦丁、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素8种有效成分的方法。方法: 采用InertSustain C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为甲醇(A)-0.1%乙酸溶液(B); 线性梯度洗脱; 流速1.0 mL/min; 紫外检测波长285 nm; 柱温35 °C; 进样量20 μL。结果: 该条件下8种成分的分度良好, 标准曲线在线性范围内呈良好线性, 相关系数均不小于0.999 1 (n=7)。加样回收率 (n=3) 平均值为89.93%~102.01%, 相对标准偏差为1.17%~3.11%。结论: 实验结果表明本方法简单、快速、准确, 为药用植物益母草的质量控制提供了实验依据。

关键词: 高效液相色谱; 益母草; 黄酮; 有机酸; 定量

Simultaneous Determination of 8 Active Ingredients in *Herba Leonuri* by Ultrasonic-Assisted Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography

CHEN Junhua¹, ZHOU Guangming^{1*}, DENG Yongli¹, QIN Hongying¹, PENG Guilong¹, GAO Yi¹, CHEN Dingjun²

(1. Key Laboratory on Luminescence and Real-Time Analysis, Ministry of Education, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Chengdu People's Hospital of Jinjian, Pharmacy Department, Chengdu 610000, China)

Abstract: Objective: To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of syringic acid, ferulic acid, rutin, daidzein, quercetin, quercetin and quercetin in *Herba Leonuri*. Methods: The analytes were separated on an InertSustain C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol and 0.1% acetic acid (pH 3.0) with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL/min. The UV detection wavelength was set at 285 nm. The column temperature was maintained at 35 °C. The injection volume was 20 μL. Results: The eight compounds were well separated, showing good linear correlations with correlation coefficient (r) ≥ 0.999 1 (n = 7). The average recoveries were 89.93%–102.01%, with relative standard deviations (RSDs) between 1.17% and 3.11%. Conclusion: The method is simple, rapid and accurate, which can provide an experimental basis for quality control of *Herba Leonuri*.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); *Herba Leonuri*; flavonoids; organic acid; quantification

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201608015

中图分类号: O657.72

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2016) 08-0086-05

引文格式:

陈军华, 周光明, 邓永利, 等. 超声辅助萃取-高效液相色谱同时测定益母草中8种有效成分[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 86-90. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201608015. <http://www.spkx.net.cn>

CHEN Junhua, ZHOU Guangming, DENG Yongli, et al. Simultaneous determination of 8 active ingredients in *Herba Leonuri* by ultrasonic-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. Food Science, 2016, 37(8): 86-90. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201608015. <http://www.spkx.net.cn>

益母草 (*Herba Leonuri*) 为唇形科植物 (*Leonurus japonicus* Houtt) 的新鲜或干燥地上部分, 鲜品春季幼苗

期至初夏花前期采摘; 干品夏季茎叶茂盛、花未开或初开时采割, 切断晒干。其味辛、苦, 性微寒, 归肝、心

收稿日期: 2015-05-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (21277110); 中央高校基本科研业务费专项 (100030-2120130993)

作者简介: 陈军华 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为色谱分析。E-mail: chenjunh999@163.com

*通信作者: 周光明 (1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为色谱及其联用技术。E-mail: gmzhou@swu.edu.cn

包、膀胱经,具有利尿消肿、活血调经的功效,用于治疗疮疡肿毒、月经不调、痛经闭经、恶露不尽、水肿尿少等疾病^[1]。目前已从益母草中分离得到黄酮类、多肽类、二萜类、生物碱类、芳香族化合物等成分^[2-7]。目前国内外已有很多关于益母草的药理和临床应用的报道,如相关文献对益母草在防治弥散性血管内凝血、治疗急性脑梗死、痛经心肌缺血以及在妇产科中的应用进行了深入研究^[8-12];亦有报道^[13]对益母草的种族药理学、植物化学和药物学进行了归纳总结,并且指出益母草中含有丁香酸、阿魏酸、芦丁、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素等达140多种化学物质,其中的主要活性成分为生物碱、二萜类和黄酮类物质。亦有很多研究表明益母草具有抗氧化、缓解细胞凋亡和心肌衰弱的功效^[14-17]。但是,目前关于益母草中有效成分定量分析的报道并不多,少量文献报道了益母草中水苏碱和益母草碱的分离和测定^[18-24],而鲜见对其中有有机酸和黄酮的定量分析,如翁爱彬等^[25]用高效液相色谱法仅测定了益母草中的芦丁和槲皮素,丛悦等^[26]高效液相色谱法也仅测定了其中的丁香酸和芦丁。本实验采用超声辅助萃取前处理样品,具有操作简单、萃取效率高和适用性广的优点,另外超声波萃取的工艺成本和能源消耗也较低。结合高效液相色谱法快速分离和测定了益母草中丁香酸、阿魏酸、芦丁、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素8种有效成分,为益母草药材的进一步研究提供了实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

益母草 市购。丁香酸、阿魏酸、芦丁、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素对照品(纯度均不小于98.5%) 上海晶纯实业有限公司;乙酸(分析纯)、甲醇(色谱纯) 重庆川东化工有限公司化学试剂厂;二次蒸馏水 实验室自制。

1.2 仪器与设备

LC-20A高效液相色谱仪(包括SPD-20A紫外检测器、CTO-10AS柱温箱、LC-20AT泵) 日本岛津公司;KH-3200B型超声波清洗器 昆山禾创超声仪器有限公司;SZ-2自动双重纯化水蒸馏器 上海沪西分析仪器有限公司;XY型电热恒温干燥箱 上海精宏实验设备有限公司;FA2004A型分析天平 上海精天电子仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 供试品溶液的制备

精密称取益母草干燥粉末(过60目筛)0.1 g,置于具塞锥形瓶中,准确加入80%甲醇溶液8 mL,称定质量,超声20 min(100 W, 40 kHz),放冷,再称定质

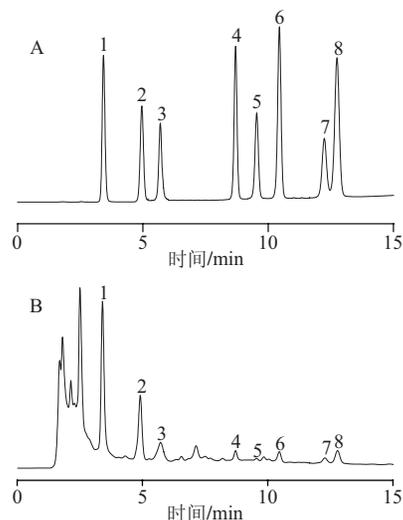
量,用80%甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,静止,取上清液用0.45 μm微孔滤膜过滤,即得。

1.3.2 对照品溶液的制备

精密称定各对照品适量于10 mL容量瓶中,甲醇稀释至刻度,分别配制成质量浓度为500.0 μg/mL丁香酸、530.0 μg/mL阿魏酸、1 000.0 μg/mL芦丁、500.0 μg/mL大豆素、500.0 μg/mL槲皮素、500.0 μg/mL橙皮素、490.0 μg/mL山柰酚和320.0 μg/mL芹菜素的对照品溶液。分别精密吸取丁香酸和芦丁对照品溶液各2.0 mL,阿魏酸、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素对照品溶液各1.0 mL于10 mL容量瓶中,用甲醇定容至刻度,制成混合对照品溶液,置于冰箱(4 ℃)内避光保存备用。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: InertSustain C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇为流动相A, 0.1%乙酸溶液(pH 3.0)为流动相B, 梯度洗脱(0~5 min, 45%~60% A; 5~10 min, 60%~60% A; 10~15 min, 60%~70% A; 15~20 min, 70%~45% A);流速: 1.0 mL/min;进样量: 20 μL;检测波长: 285 nm;柱温: 35 ℃。混合对照品和样品的色谱图见图1。



1.丁香酸; 2.阿魏酸; 3.芦丁; 4.大豆素;
5.槲皮素; 6.橙皮素; 7.山柰酚; 8.芹菜素。

图1 混合对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig.1 Chromatograms of standard mixture (A) and sample (B)

1.3.4 标准曲线绘制

精密量取1.3.2节的混合对照品溶液,以甲醇逐步稀释为7个不同质量浓度的混合对照品溶液。不同质量浓度的混合对照品溶液按质量浓度由低到高的顺序,在1.3.3节的条件下依次进样两次进行分析。以对照品平均峰面积(mAU)为纵坐标Y,质量浓度(μg/mL)为横坐标X作图,并进行线性回归。8种化合物的线性关系考察结果见表1。

表1 8种化合物的线性关系考察结果
Table 1 Calibration curve equations with linear ranges for 8 compounds

化合物	线性方程	线性范围/ ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 ($n=7$)	检出限/ ($\mu\text{g/mL}$)
丁香酸	$Y=3\ 051.84+216\ 644.78X$	0.06~50.00	0.999 9	0.000 8
阿魏酸	$Y=-33\ 646.94+170\ 850.93X$	0.07~26.50	0.999 6	0.001 2
芦丁	$Y=-7\ 386.43+16\ 482.31X$	0.03~100.00	0.999 1	0.005 8
大豆素	$Y=-1\ 415.12+59\ 034.18X$	0.03~25.00	0.999 9	0.002 7
槲皮素	$Y=2\ 297.66+44\ 543.25X$	0.03~54.00	0.999 8	0.001 5
橙皮素	$Y=-24\ 543.40+75\ 842.84X$	0.03~25.00	0.999 9	0.002 9
山柰酚	$Y=-13\ 059.10+92\ 461.20X$	0.03~25.00	0.999 8	0.014 3
芹菜素	$Y=28\ 225.82+100\ 539.82X$	0.04~32.00	0.999 8	0.004 8

2 结果与分析

2.1 提取条件的优化

2.1.1 流动相的选择

分别考察甲醇-水、乙腈-水、乙醇-水作为流动相的分离效果,发现甲醇和水作为流动相时能够有效分离。当甲醇-水(50:50, V/V)等度洗脱时对照品能够彼此分开,但是山柰酚和芹菜素的保留时间太长且峰形展宽,为了有效改善色谱峰展宽的现象同时是各成分达到完全分离,最终确定了1.3.3节中的梯度洗脱条件。同时本实验进一步比较了不同pH值的流动相对分离效果的影响,当用pH 3的乙酸溶液代替纯水时能有效改善色谱峰的前延和拖尾,故最终选择甲醇和0.1%乙酸溶液(pH 3)作为流动相。

2.1.2 提取溶剂的选择

在考察了乙醇、环己烷和甲醇作为提取溶剂后,发现甲醇作为萃取溶剂的提取量明显高于另外两种溶剂。用乙醇和环己烷作为提取溶剂,在进样分析中可能与流动相甲醇存在溶剂效应导致了低的提取量,所以选择甲醇作为提取溶剂。同时进一步考察了不同比例的甲醇-水溶液对有效成分提取量的影响,依次考察20%、40%、60%、80%和100%的甲醇体积分数对有效成分提取的影响。20%和40%甲醇体积分数提取溶剂可能与提取目标物的极性相差太大使得提取率不高,结果见图2。

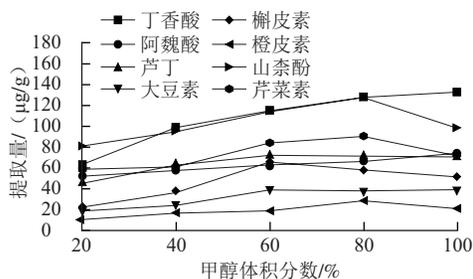


图2 甲醇体积分数对提取量的影响

Fig.2 Effect of methanol concentration on extraction efficiency

2.1.3 超声时间的影响

比较超声提取10、20、30、40 min和50 min的提取量,超声提取大于30 min时,部分有效成分的提取量逐渐减小,可能是过长的超声时间破坏了浸出的有效成分,结果见图3。

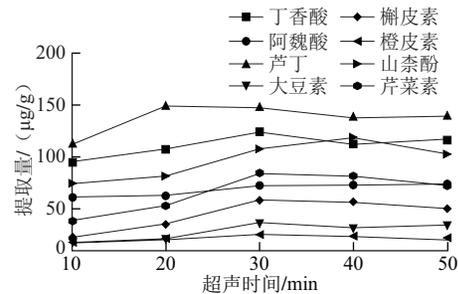


图3 超声时间对提取量的影响

Fig.3 Effect of ultrasound radiation time on extraction efficiency

2.1.4 超声功率的影响

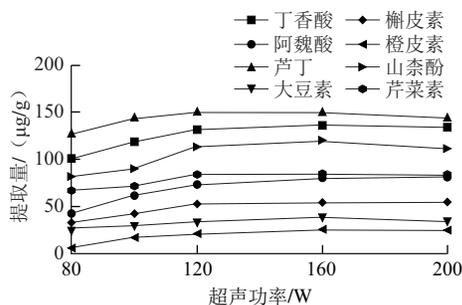


图4 超声功率对提取量的影响

Fig.4 Effect of ultrasound power on extraction efficiency

考察不同超声提取功率对8种有效成分提取量的影响,由图4可知,功率由80 W增至120 W时,各成分的提取量逐渐增大;提取功率大于120 W时,各成分的提取量稍有降低,故选择120 W超声功率进行后续的单因素试验。

2.1.5 固液比和波长的选择

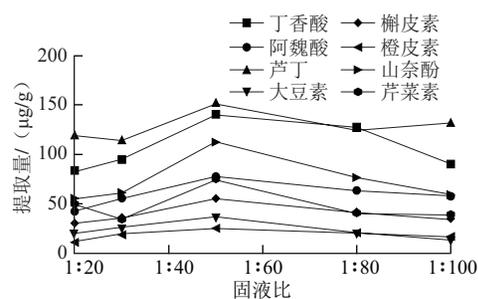


图5 固液比对提取量的影响

Fig.5 Effect of solid to liquid ratio on extraction efficiency

考察固液比为1:20、1:30、1:50、1:80和1:100 (g/mL)的提取效果,不同固液比对有效成分的提取量影响较大,或许是由于不同质量浓度的样品提取液导致了有效成分

的浸出率, 结果见图5。根据8种有效成分的最大吸收波长, 综合考虑含量较低成分的最大吸收强度, 最终选择285 nm作为检测波长。

2.1.6 正交试验结果

在单因素试验的基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进一步优化实验参数, 选定甲醇体积分数、固液比、超声时间和超声功率4个影响因素, 各取3个水平进行正交试验。试验中根据8种活性成分的提取总量来评价萃取性能。正交试验设计的结果及直观分析见表2。由极差 R 可知, 各因素对8种活性成分提取总量的影响程度依次为 $B>A>D>C$, 即固液比是影响提取总量的主要因素, 甲醇体积分数和超声功率次之, 超声时间的影响最小。比较 k_1 、 k_2 、 k_3 的值可得提取8种活性成分的最佳条件为 $A_2B_3C_2D_1$, 即甲醇体积分数80%、固液比1:80、超声时间30 min、超声功率100 W。

表2 正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal array design with direct analysis of experimental results

试验号	A甲醇体积分数/%	B固液比(g/mL)	C超声时间/min	D超声功率/W	提取总量/($\mu\text{g/g}$)
1	1 (60)	1 (1:30)	1 (20)	1 (100)	985.7
2	1	2 (1:50)	2 (30)	2 (120)	1 028.0
3	1	3 (1:80)	3 (40)	3 (160)	1 122.1
4	2 (80)	1	2	3	1 055.2
5	2	2	3	1	1 145.3
6	2	3	1	2	1 366.4
7	3 (100)	1	3	2	990.3
8	3	2	1	3	981.9
9	3	3	2	1	1 259.7
k_1	1 045.3	1 010.4	1 111.3	1 130.2	
k_2	1 189.0	1 051.7	1 114.3	1 128.2	
k_3	1 077.3	1 249.4	1 085.9	1 053.1	
R	143.7	239.0	28.4	77.2	

2.2 精密度实验结果

混合对照品溶液在1.3.3节的条件下重复进样6次, 测定各个对照品的峰面积, 结果丁香酸、阿魏酸、芦丁、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素对照品的峰面积相对标准偏差均在0.63%~1.59%之间, 表明仪器精密度良好。

2.3 稳定性实验结果

用同一供试品溶液48 h内每间隔6 h连续测定, 结果8种有效成分峰面积的相对标准偏差均在1.01%~2.52%之间, 表明供试品溶液稳定性良好。

2.4 重复性实验结果

取同一批次益母草样品粉末5份, 按1.3.1节的步骤制备供试品溶液, 进样分析, 计算得到8种有效成分峰面积的相对标准偏差($n=5$)在1.19%~1.66%之间, 表明仪器重复性良好。

2.5 样品的含量测定及回收率实验结果

按1.3.1节的步骤制备供试品溶液3份, 每份供试品溶液进样分析3次, 根据线性方程测定样品含量, 结果见表3。精密称取9份0.1 g同一批益母草样品, 分为3组, 每组按低、中、高分别加入一定量的对照品溶液, 然后按照供试品溶液的制备方法进行处理, 每组重复进样3次, 计算平均回收率, 结果见表3。各成分加标回收率平均值为89.93%~102.01%, 结果令人满意; 相对标准偏差为1.17%~3.11%, 表明该分离测定方法相当稳定。

表3 样品含量测定及加标回收率实验 ($n=3$)
Table 3 Results of determination of real samples and spiked recoveries ($n=3$)

化合物	样品中含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
丁香酸	14.10	8.00	21.10	95.48	95.13	1.17
	14.45	10.00	22.94	93.82		
	14.33	12.00	25.30	96.09		
阿魏酸	8.19	6.00	14.61	102.96	102.01	3.11
	8.45	8.00	16.21	98.54		
	8.28	10.00	19.11	104.54		
芦丁	14.72	10.00	24.38	98.62	97.64	1.57
	14.68	12.00	26.27	98.46		
	14.73	14.00	27.53	95.82		
大豆素	3.71	2.00	5.34	93.52	96.54	2.66
	3.72	4.00	7.53	97.54		
	3.65	6.00	9.51	98.55		
槲皮素	5.07	5.00	10.01	99.40	97.53	2.25
	5.16	10.00	14.88	98.15		
	5.15	15.00	19.15	95.04		
橙皮素	2.91	1.00	3.57	91.30	89.93	2.52
	2.93	3.00	5.16	87.02		
	2.73	5.00	7.07	91.46		
山柰酚	12.23	6.00	18.72	97.35	98.19	1.48
	12.04	8.00	21.02	99.90		
	12.52	10.00	22.89	97.32		
芹菜素	8.67	6.00	14.33	97.68	94.66	2.64
	8.71	8.00	15.63	93.54		
	8.52	10.00	17.18	92.76		

3 结论

本实验利用高效液相色谱法结合紫外检测器, 实现了益母草中丁香酸、阿魏酸、芦丁、大豆素、槲皮素、橙皮素、山柰酚和芹菜素的分离及测定, 取得了满意的效果。采用超声萃取前处理样品, 方法简单、快速、经济。分别考察了不同流动相、甲醇体积分数、萃取剂体积、超声功率及时间对提取8种有效成分的影响, 为益母草药材的进一步研究提供了实验依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 272-273.

- [2] 邓岫, 王涛, 吴春华, 等. 益母草黄酮类成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2013, 23(3): 209-212. DOI:10.14142/j.cnki.cn21-1313/r.2013.03.006.
- [3] 吴玲. 益母草化学成分和药理作用研究进展[J]. 现代教育, 2010(10): 164-165. DOI:10.3969/j.issn.1008-1496.2010.10.116.
- [4] 蔡晓菡, 车镇涛, 吴斌益, 等. 益母草的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(1): 13-14. DOI:10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2006.01.004.
- [5] 丛悦, 王金辉, 郭洪仁, 等. 益母草化学成分的分离与鉴定 II [J]. 中国药物化学杂志, 2003, 13(6): 349-352. DOI:10.14142/j.cnki.cn21-1313/r.2003.06.010.
- [6] KUCHTA K, ORTWEIN J, HENNIG L, et al. ¹H-qNMR for direct quantification of stachydrine in *Leonurus japonicus* and *L. cardiaca*[J]. Fitoterapia, 2014, 96: 8-17. DOI:10.1016/j.fitote.2014.03.023.
- [7] NARUKAWA Y, NIIMURA A, NOGUCHI H, et al. New diterpenoids with estrogen sulfotransferase inhibitory activity from *Leonurus sibiricus* L.[J]. Journal of Nature Medicine, 2014, 68: 125-131. DOI:10.1007/s11418-013-0781-0.
- [8] 李凤娟. 浅析妇产科中的益母草应用[J]. 中国临床研究, 2012, 4(8): 53. DOI:10.3969/j.issn.1674-7860.2012.08.030.
- [9] 熊立红, 侯亚利. 益母草在弥散性血管内凝血防治中的应用[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(14): 3094-3096. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2012.14.104.
- [10] 许楚芸, 陈少如, 何文贞, 等. 益母草注射液治疗急性脑梗死[J]. 中国新药与临床杂志, 2002, 21(5): 271-273. DOI:10.3969/j.issn.1007-7669.2002.05.005.
- [11] 金若敏, 陈兆善, 陈长勋, 等. 益母草治疗痛经机制探索[J]. 中国现代应用药学杂志, 2004, 21(2): 90-93. DOI:10.3969/j.issn.1007-7693.2004.02.003.
- [12] 陈少如, 郑鸿翔, 陈韩秋, 等. 益母草制剂治疗心肌缺血及其机制研究[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14(1): 19-22. DOI:10.3760/j.issn:1003-0603.2002.01.005.
- [13] SHANG Xiaofei, PAN Hu, WANG Xuezh, et al. *Leonurus japonicus* Houtt.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 152: 14-32. DOI:10.1016/j.jep.2013.12.052.
- [14] SUN Jian, HUANG Shanhong, ZHU Yichun, et al. Anti-oxidative stress effects of *Herba Leonuri* on ischemic rat hearts[J]. Life Sciences, 2005, 76: 3043-3056. DOI:10.1016/j.lfs.2004.11.024.
- [15] LOH K P, HUANG Shanhong, TAN B K H, et al. Cerebral protection of purified *Herba Leonuri* extract on middle cerebral artery occluded rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 125: 337-343. DOI:10.1016/j.lfs.2004.11.024.
- [16] XIN Hong, LIU Xinhua, ZHU Yizhun. *Herba Leonuri* neattenuates doxorubicin-induced apoptosis in H9c2 cardiac muscle cells[J]. European Journal of Pharmacology, 2009, 612: 75-79. DOI:10.1016/j.ejphar.2009.03.067.
- [17] LIU Xinhua, PAN Lilong, DENG Haiyan, et al. Leonurine (SCM-198) attenuates myocardial fibrotic response via inhibition of NADPH oxidase 4[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2013, 54: 93-104. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.555.
- [18] 晁志, 马丽玲, 周秀佳. 反向离子对色谱法测定益母草药材中水苏碱和益母草碱的含量[J]. 第一军医大学学报, 2004, 24(11): 1223-1226. DOI:10.3321/j.issn:1673-4254.2004.11.002.
- [19] 杨琼. HPLC法测定益母草药材中盐酸水苏碱含量[J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(1): 17-18.
- [20] 江帆, 聂晶, 余建清, 等. 高效液相法测定益母草中益母草碱含量研究[J]. 分析科学学报, 2008, 24(3): 347-349.
- [21] 黄家利. 益母草药材及其制剂中水苏碱测定方法的研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(12): 267-268. DOI:10.3969/j.issn.1672-2779.2009.12.221.
- [22] 姜舜尧. 益母草药材中水苏碱成分的高效液相色谱法分析[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(4): 243-246. DOI:10.16155/j.0254-1793.2001.04.007.
- [23] 巩长芹, 周礼玲, 王永平, 等. 益母草中益母草碱的HPLC检测[J]. 广东药学院学报, 2007(23): 247-248. DOI:10.3969/j.issn.1006-8783.2007.03.007.
- [24] 唐哲, 刘莉, 张玮. RP-HPLC法测定益母草不同药用部位中盐酸水苏碱的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(8): 51-52. DOI:10.3969/j.issn.1005-5304.2008.08.023.
- [25] 翁爱彬, 郑荔莉, 方剑英. HPLC法测定益母草中的黄酮类化合物[J]. 河北医药, 2013, 35(6): 926-927. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2013.06.072.
- [26] 丛悦, 王艳, 谢欣梅, 等. HPLC-UV法测定益母草和酒炙益母草中丁香酸和芦丁的含量[J]. 河南大学学报(自然科学版), 2010, 40(5): 507-510. DOI:10.3969/j.issn.1003-4978.2010.05.016.