

## HPLC 法比较野生刺五加中的异嗪皮啶

于丽云, 李云鹏, 罗 影, 段丽萌

天津世纪天龙药业有限公司, 天津 301741

**摘要:** **目的** 建立刺五加中异嗪皮啶的定量方法, 并对主产区采集的刺五加野生药材的不同部位、不同生长年限及不同生长环境的异嗪皮啶的量进行测定, 为分析刺五加野生药材的质量提供参考。**方法** 刺五加异嗪皮啶的提取采用超声提取法, HPLC 法测定, 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸 (20:80), 检测波长 344 nm, 体积流量 1.0 mL/min。**结果** 异嗪皮啶进样量在 16.8~252.0 ng 呈现良好的线性关系 ( $r=0.999\ 9$ ), 平均回收率为 100.4%, RSD 值为 1.0% ( $n=6$ )。刺五加不同部位中, 皮的异嗪皮啶含量最高, 茎次之, 根及根茎含量较低。不同生长年限中, 5 年生刺五加异嗪皮啶含量最高, 3 年生含量次之, 2 年以下含量最低。阳坡生长的异嗪皮啶含量高于阴坡生长的药材。总体分析异嗪皮啶的含量黑龙江高于吉林。**结论** 本方法可操作性强, 简便快速, 重复性好, 回收率高, 稳定可靠, 可作为刺五加药材的质控方法。鉴于野生药材生长年限不一, 分布不集中, 与栽培的药材相比含量波动大, 因此, 在药品生产过程中, 根据对中间体或成品中异嗪皮啶含量的要求, 有必要建立刺五加药材异嗪皮啶的含量标准, 以保证生产药品的质量。

**关键词:** 刺五加; 异嗪皮啶; 不同部位; 生长年限; 生长环境

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)03-0250-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.03.013

## Comparison of isofraxidin in wild *Acanthopanax senticosus* by HPLC

YU Li-yun; LI Yun-peng; LUO Ying; DUAN Li-meng

Tianlong Pharmacy, Tianjin 301741, China

**Abstract: Objective** To establish a method for the determination of isofraxidin in *Acanthopanax senticosus*, and the content of isofraxidin in wild *A. senticosus* collected from main producing areas in different parts, growth years, and growth conditions were measured. This provides a reference for quality analysis of wild *A. senticosus*. **Methods** Isofraxidin in *A. senticosus* was extracted using ultrasonic extraction. The HPLC analysis was carried out on a Diamonsil C<sub>18</sub> column (1) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (20:80) and the flow rate was 1.0 mL/min. The detective wavelength was set to 344 nm. **Results** The calibration curve was linear with the sample load of 0.016 8—0.252 0 μg ( $r = 0.999\ 9$ ). The average recovery was 100.4% with RSD of 1.0% ( $n = 6$ ). The highest content of isofraxidin from same herb was in skin, followed by stems, and in roots and rhizomes the content was the lowest. The highest content of different ages was for five years to birth, followed by three years, and for less than two years was the lowest. The growth content of herbs in sunny area was higer than that in shady area. Based on the above analyzed, the content of isofraxidin in *A. senticosus* from Heilongjiang were higher than those from Jilin. **Conclusion** Considering about the different growth periods, distribution and fluctuation of content compared with the cultivation of medicinal materials, it is necessary to establish the content standards for isofraxidin of *A. senticosus* to ensure the quality of pharmaceuticals production, according to the isofraxidin content requirements of the intermediate or finished medicine. This method is simple, rapid, accurate, and replicate. And it can be adopted for the quality control of *A. senticosus*.

**Key words:** *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms; isofraxidin; different parts; growth years; growth conditions

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及根茎或茎<sup>[1]</sup>。具有补肾健脾、扶正固本、益智安神等功效。临床主要用于脾肾阳虚、体虚乏力、食欲不振、

腰膝酸软等<sup>[2]</sup>。临床已用于治疗心脑血管疾病、白细胞减少症、低血压、风湿性关节炎和肿瘤等<sup>[3]</sup>。刺五加在我国主要生长在东北地区。其中以中国黑龙江省流域产量最大。吉林、辽宁、河北等地也有

收稿日期: 2014-03-12

基金项目: 天津市重大科技专项(工程)项目: 龙加通络胶囊产业化研究

作者简介: 于丽云, 副研究员。E-mail: yuly2003@163.com

分布<sup>[4]</sup>。

刺五加主要含有刺五加总苷,包括紫丁香苷、异嗪皮啶、刺五加苷 D 等成分。2010 年版《中国药典》中收载有紫丁香苷含量测定方法和异嗪皮啶薄层鉴别方法,但未收载异嗪皮啶的含量测定方法。

异嗪皮啶(isofraxidin)为刺五加中重要的活性成分之一,具有镇静、抗肿瘤及心血管作用<sup>[5]</sup>。因此药材中异嗪皮啶的含量高低,直接影响成品的质量。为了更有效的控制成品质量,本实验以异嗪皮啶含量作为检测指标,建立了刺五加药材的含量测定方法,并对主产区黑龙江、吉林的野生刺五加药材中异嗪皮啶的含量进行测定,为刺五加药材质量控制提供科学依据。

## 1 仪器、试剂和样品

### 1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱(美国安捷伦公司), 9860D 超声波清洗器(天津科贝尔光电技术有限公司), 电子分析天平(梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 试剂

异嗪皮啶对照品(供含量测定用,批号 110837-201206)由中国食品药品检定研究院提供,乙腈(色谱纯,天津康科德科技有限公司),其余试剂均为分析纯,市售。

### 1.3 药材

刺五加野生药材采自黑龙江、吉林。由天津世纪天龙药业有限公司李云鹏、罗影依据 2010 版《中国药典》鉴定为五加科植物刺五加 *A. senticosus* Harms 的干燥根及根茎或茎。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为Diamonsil C<sub>18</sub> (1) (250 mm×4.6 mm, 5 mm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸(20:80), 检测波长 344 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 20 mL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取异嗪皮啶对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 8 μg/mL 的溶液备用。

**2.2.2 供试品溶液制备** 取本品粉末(过三号筛)约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 备用。

### 2.3 线性关系考察

分别精密吸取 8 μg/mL 对照品溶液 2、5、10、15、20、25、30 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件实验。以异嗪皮啶峰面积积分值为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线。回归方程为  $Y=50\ 257X+15\ 486$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围为 16.8~252.0 ng。

### 2.4 精密度试验

精密吸取异嗪皮啶对照品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 10 μL, 测定峰面积。其峰面积的 RSD 值为 0.19%。

### 2.5 稳定性试验

取供试品溶液, 室温放置, 分别于 0、2、4、6、9、12、15、18、21、24、28 h 后进样分析, 记录色谱峰面积。测得异嗪皮啶峰面积的 RSD 值为 0.79%。表明该样品室温放置 28 h 内稳定。

### 2.6 重复性试验

取同一批号样品 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 以“2.1”项下色谱条件测定各色谱峰峰面积, 计算其质量分数 RSD 为 1.2%。

### 2.7 回收率试验

分别精密称取刺五加药材样品 1 g, 6 份, 再分别加入适量异嗪皮啶对照品, 按“2.2.2”项下方法进行溶液制备, 进样测定, 求得平均回收率为 100.4%, RSD 值为 1.0%。

### 2.8 含量测定

**2.8.1 采集黑龙江、吉林野生刺五加药材, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 以“2.1”项下色谱条件分别对不同部位异嗪皮啶的含量进行测定, 结果见表 1。**

表 1 不同部位野生刺五加中异嗪皮啶测定结果

Table 1 Content of isofraxidin in different parts of wild *A. senticosus*

| 产地     | 批号 | 异嗪皮啶/(μg·g <sup>-1</sup> ) |       |      |
|--------|----|----------------------------|-------|------|
|        |    | 皮                          | 茎     | 根及根茎 |
| 黑龙江伊春  | 1  | 120.1                      | 87.0  | 47.5 |
|        | 2  | 180.2                      | 110.3 | 30.7 |
|        | 3  | 130.4                      | 85.1  | 29.6 |
| 黑龙江双鸭山 | 1  | 140.5                      | 99.2  | 44.6 |
|        | 2  | 184.1                      | 89.3  | 30.9 |
|        | 3  | 214.0                      | 110.1 | 40.5 |
| 吉林白山   | 1  | 161.2                      | 71.0  | 55.0 |
|        | 2  | 99.0                       | 72.5  | 33.2 |
|        | 3  | 91.2                       | 74.2  | 43.2 |

**2.8.2** 采集黑龙江、吉林不同生长年限的野生刺五加药材,均选取药材的茎部进行异嗪皮啶的含量测定,结果见表2。

表2 不同生长年限野生刺五加中异嗪皮啶测定结果  
Table 2 Content of isofraxidin in different growth years of wild *A. senticosus*

| 产地    | 批号 | 异嗪皮啶/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |      |      |
|-------|----|--|------|------|
|       |    | 5年                                       | 3年   | 2年以下 |
| 黑龙江铁力 | 1  | 110.5                                    | 87.3 | 29.2 |
|       | 2  | 99.3                                     | 80.1 | 30.0 |
|       | 3  | 85.0                                     | 65.0 | 39.3 |
| 牡丹江   | 1  | 120.2                                    | 99.0 | 34.1 |
|       | 2  | 101.3                                    | 88.0 | 20.3 |
|       | 3  | 89.0                                     | 85.2 | 15.3 |
| 吉林通化  | 1  | 93.3                                     | 79.4 | 30.5 |
|       | 2  | 82.2                                     | 74.5 | 29.4 |
|       | 3  | 85.6                                     | 72.3 | 28.3 |

**2.8.3** 采集黑龙江、不同生长环境的野生刺五加药材,均选取3年生药材的茎部进行异嗪皮啶的含量测定,结果见表3。

表3 不同生长环境野生刺五加中异嗪皮啶测定结果  
Table 3 Content of isofraxidin in different growth conditions of wild *A. senticosus*

| 产地 | 批号 | 异嗪皮啶/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |      |
|----|----|--|------|
|    |    | 阳坡                                       | 阴坡   |
| 铁力 | 1  | 65.0                                     | 33.2 |
|    | 2  | 80.7                                     | 41.2 |
|    | 3  | 77.2                                     | 35.3 |
| 鹤岗 | 1  | 120.2                                    | 88.5 |
|    | 2  | 133.1                                    | 68.4 |
|    | 3  | 101.3                                    | 71.5 |
| 伊春 | 1  | 110.5                                    | 64.0 |
|    | 2  | 98.3                                     | 45.3 |
|    | 3  | 85.5                                     | 38.3 |

### 3 讨论

**3.1** 从上述野生刺五加主产区采收到的药材检测可以看出,同一药材的不同部位皮的异嗪皮啶含量最高,茎次之,根及根茎含量较低。不同年限5年生含量最高,3年生含量次之,2年以下含量最低。阳坡的含量高于阴坡的药材。总体分析异嗪皮啶的含量黑龙江高于吉林。鉴于野生药材生长年限不一,分布不集中,与栽培的药材相比含量波动大,因此,在药品生产过程中,根据对中间体或成品中异嗪皮啶含量的要求,有必要建立刺五加药材异嗪皮啶的含量标准,以保证生产药品的质量。

**3.2** 本文建立了测定刺五加中异嗪皮啶的含量检测方法,除上述考查实验外,还分别对供试品的提取时间、流动相比比例、体积流量、波长等进行考查研究,优化测定条件,从而使样品的提取及分离的色谱条件更科学合理。

**3.3** 本研究建立的刺五加异嗪皮啶的测定方法可操作性强,简便快速,重复性好,回收率高,稳定可靠,可作为刺五加药材的质控方法。

### 参考文献

- [1] 中国药典 [M]. 一部. 2010.
- [2] 孟庆艳, 李莹, 刘圆, 等. 共有峰率和变异峰率双指标序列法分析藏药材红毛五加与濒危药材刺五加的亲缘相似性 [J]. 西南民族大学学报: 自然科学版, 2008, 34(2): 290-293.
- [3] 中国药材公司. 中国中药资源志 [M]. 北京: 科学出版社, 1994. 831.
- [4] 李庆勇, 祖元刚, 付玉杰, 等. 高效液相色谱法测定刺五加超临界提取物中异嗪皮啶的含量 [J]. 植物研究, 2004, 24(4): 461-463.