

RP-HPLC 法测定糙叶五加不同部位中刺五加苷 B 和 E

冯 胜¹, 刘向前^{1,2*}, 张伟兰³, 高敬铭⁴, 李建昊⁵

1. 中南大学 制药工程系, 湖南 长沙 410083

2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

3. 湖南人文科技学院, 湖南 娄底 417000

4. 长沙博海生物科技有限公司, 湖南 长沙 410205

5. 首尔大学校医科大学, 韩国 首尔

摘 要: 目的 建立同时测定糙叶五加不同部位中的刺五加苷 B 和刺五加苷 E 的方法。方法 采用 RP-HPLC 法, 色谱柱为 Lichrom C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱, 柱温 35 ℃, 0.1% 磷酸水溶液-乙腈梯度洗脱 (0→15 min, 90:10; 15→30 min, 90:10→84:16), 检测波长为 220 nm, 体积流量 1.0 mL/min。结果 刺五加苷 B 的线性范围为 14.4~72.0 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 98.97%; 刺五加苷 E 的线性范围 37.4~187.0 μg/mL ($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 99.13%。糙叶五加根、茎、叶中刺五加苷 B 的质量分数分别为: 0.463 4、2.452 4、0.016 5 mg/g ($n=3$); 刺五加苷 E 的质量分数分别为 0.143 9、1.375 4、0.187 7 mg/g ($n=3$)。结论 该方法简便快速, 结果准确可靠。

关键词: 糙叶五加; 刺五加苷 B; 刺五加苷 E; 高效液相色谱法; 药用部位

中图分类号: R286.02 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)06-1144-03

Determination of eleutherosides B and E from different parts of *Acanthopanax henryi* by RP-HPLC

FENG Sheng¹, LIU Xiang-qian^{1,2}, ZHANG Wei-lan³, GAO Jing-ming⁴, LEE Geon-ho⁵

1. Department of Pharmaceutical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China

2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Hunan Institute of Humanities, Science and Technology, Loudi 417000, China

4. Changsha Broad-Ocean Bio-Science & Technique Co., Ltd., Changsha 410205, China

5. College of Medicine, Seoul National University, Seoul, South Korea

Key words: *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms; eleutheroside B; eleutheroside E; HPLC; medicinal part

我国五加科五加属植物种类占世界首位, 其中糙叶五加、无梗五加、刺五加、轮伞五加等以根皮入药, 称为五加皮^[1], 始载于《神农本草经》, 列为上品^[2]。其性温, 味辛、苦, 归肝、肾经, 具有祛风湿、补肝肾、强筋骨、通瘀血、利水肿、镇痛解热等功效。研究表明五加皮中的刺五加苷 B 和 E 是其主要有有效成分, 但迄今未见对糙叶五加中刺五加苷 B 和 E 进行系统研究的报道。作为系统研究五加属植物资源的一部分^[3-4], 本实验首次采用 RP-HPLC 法对糙叶五加不同部位中的刺五加苷 B

和 E 进行测定, 以期对糙叶五加的开发利用提供科学依据。

1 仪器与试剂

LC—10AT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SPD—10A 紫外检测器 (日本岛津公司); CBM—102 自动进样器 (日本岛津公司); LC—10AT 双泵 (日本岛津公司); AUW120D 高精度电子天平 (日本岛津公司), AS3120A 超声波清洗器 (天津奥特塞恩斯仪器有限公司), DZF—6020 型真空干燥箱 (上海金鹏分析仪器有限公司)。

收稿日期: 2010-08-19

基金项目: 长沙市科技计划项目 (K1005044-11); 中南大学研究生创新工程项目 (2009ssxt046); 湖南中医药大学科研启动基金 (48010101-37)

作者简介: 冯 胜 (1985—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药及天然产物的分析研究。

*通讯作者 刘向前 E-mail: lxq0001cn@163.com

实验用糙叶五加 2009 年 11 月份采集于湖南，自然阴干。经韩国庆熙大学陆昌洙教授鉴定为糙叶五加 *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms 的叶、茎和根皮，标本存于中南大学制药工程系标本室（标本号：ZNZY096）。

刺五加苷 B、刺五加苷 E 对照品购于湖南省药品检验所，甲醇、乙腈为色谱纯，磷酸为分析纯，水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Lichrom C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)，流动相为 0.1% 磷酸水溶液-乙腈梯度洗脱 (0→15 min, 90:10; 15→30 min, 90:10→84:16)，检测波长 220 nm，柱温 35 ℃，体积流量 1.0 mL/min，进样量 10 μL^[5-6]。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定刺五加苷 B 对照品 3.60 mg 和刺五加苷 E 对照品 9.35 mg，混合，甲醇溶解定容至 50 mL，摇匀，得刺五加苷 B 72.0 μg/mL，刺五加苷 E 187.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

比较超声和回流提取法，确定回流提取法对刺五加苷 B 和 E 的提取效率较高。精密称取干燥的糙叶五加根、茎、叶粗粉各 5.0 g，分别用 50 mL 50% 甲醇回流提取 2 h，滤过，减压蒸干，残渣用 50% 甲醇溶解转移至 25 mL 量瓶中，定容至刻度，摇匀，过 0.45 μm 微孔滤膜，取滤液即得供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密吸取刺五加苷 B 和 E 的混合对照品溶液 2、4、6、8、10 μL，分别注入液相色谱仪中，测定峰面积，以质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标进行线性回归，所得刺五加苷 B 的回归方程为 $Y=15\,234\,560 X-7\,881.767$ ， $r=0.999\,9$ 。结果表

明，刺五加苷 B 在 14.4~72.0 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。刺五加苷 E 的回归方程为 $Y=34\,264\,584 X-2\,380.803$ ； $r=0.999\,7$ 。结果表明，刺五加苷 E 在 37.4~187.0 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2”项下对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件连续进样 5 次，测定刺五加苷 B 的峰面积 RSD 为 0.52%，刺五加苷 E 的峰面积 RSD 为 0.56%。

2.6 重现性试验

按“2.3”项下的供试品溶液的制备方法制备糙叶五加叶的供试液 5 份，按“2.1”项下色谱条件进样，测定峰面积，计算刺五加苷 B 的质量分数 RSD 为 2.25%；刺五加苷 E 的质量分数为 2.64%。

2.7 稳定性试验

精密移取“2.3”项制备的供试品溶液，在室温下，分别于 0、2、4、6、8、10 h 按“2.1”项下色谱条件进样，测定峰面积，刺五加苷 B 的 RSD 为 3.25%；刺五加苷 E 的 RSD 为 1.98%。表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

精密称取已测定刺五加苷 B 和 E 的糙叶五加叶粗粉 5 份，分别置于 25 mL 量瓶中，分别精密加入含 72.0 μg/mL 刺五加苷 B 和含 187.0 μg/mL 刺五加苷 E 的混合对照品溶液 2.00 mL，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，精密移取 2 mL 供试品溶液置 25 mL 量瓶中，甲醇定容，摇匀，按“2.1”项下色谱条件进行测定。计算得刺五加苷 B 和 E 的平均回收率分别为 98.9% 和 99.3%。

2.9 样品测定

分别取对照品溶液与供试品溶液 10 μL，进样分析，分别进样 3 次，测定峰面积，按照外标法计算刺五加苷 B 和 E 的量，结果见图 1 和表 1。

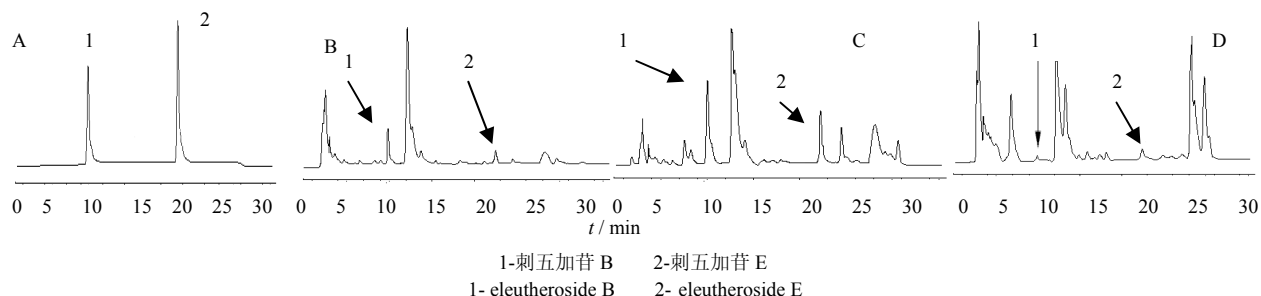


图 1 对照品 (A) 和根 (B)、茎 (C) 和叶 (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A), roots (B), stems (C), and leaves (D)

表 1 糙叶五加不同部位中刺五加苷 B 和 E 测定结果($n=3$)
Table 1 Determination of eleutheroside B and E from different parts of *A. henryi* ($n=3$)

样 品	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	
	刺五加苷 B	刺五加苷 E
糙叶五加根	0.463 4	0.143 9
糙叶五加茎	2.452 4	1.375 4
糙叶五加叶	0.016 5	0.187 7

3 讨论

刺五加苷是五加属植物的主要有效成分之一,具有良好的抗疲劳、抗衰老作用,并能明显提高耐缺氧能力,同时具有促进腺发育、止血等疗效^[7-8]。本实验结果表明,糙叶五加不同部位中刺五加苷 B 的量由大到小依次为茎、根、叶;刺五加苷 E 的量由大到小依次为茎,叶,根;其中糙叶五加茎中刺五加苷 B 和 E 的量均为最高。由于糙叶五加不同部位中含有一定量的刺五加苷 B 和 E,比已经作为新资源食品的短梗五加茎叶高^[5],且资源丰富,因此糙叶五加将在药品、食品领域拥有广泛的应用价值和巨大的应用前景。

比较了甲醇-水、甲醇-磷酸水溶液、乙腈-磷酸水溶液流动相系统的洗脱情况,因甲醇-水系统下刺五加苷 B 和 E 与其他成分较难分开,甲醇-磷酸水溶液系统也不能实现较好的分离。故选择乙腈-磷酸

水溶液系统。比较了 0.1%磷酸水溶液-乙腈(0→25 min, 90:10→80:20), 0.1%磷酸水溶液-乙腈(0→15 min, 90:10; 15→30 min, 90:10→84:16), 后者对样品中刺五加苷 B 和 E 的分离效果更好,故采用其为流动相系统。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1978.
[2] 顾观光. 神农本草经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1958.
[3] 倪娜, 刘向前. 五加科五加属植物的研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(12): 1895-1900.
[4] 倪娜, 刘向前, 张晓丹. 8 种五加属植物根皮中五加酸和贝壳烯酸的 RP-HPLC 法定量分析 [J]. 中南大学学报: 自然科学版, 2009, 40(5): 1216-1221.
[5] 李丽丽, 郑礼胜, 刘向前, 等. 新资源短梗五加及其同属植物根皮中紫丁香苷的 HPLC 测定研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(10): 140-143.
[6] 杨敬芝, 李建北, 张东明, 等. HPLC 法测定不同产地的刺五加中刺五加苷 B 和 E 含量 [J]. 中药材, 2005, 28(8): 669-670.
[7] 徐峰, 赵江燕, 刘天硕. 刺五加提取物抗疲劳作用的研究 [J]. 食品科学, 2005, 26(9): 453-456.
[8] 梁启明, 曲绍春, 于晓风, 等. 刺五加叶皂苷 B 对急性心肌梗死大鼠的保护作用 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 444-447.

《中药现代研究策论》简介

本书根据全军中药研究所所长,解放军第三〇二医院中西医结合中心主任肖小河教授所发表的专论性和述评性文章编撰而成,反映了肖教授多年来对中药现代研究关键学科问题所进行的潜心思考与大胆探索,也可从一方面窥见我国中药现代化发展概貌。

全书内容广泛,涵盖中药现代科技产业的上游、中游、下游各个环节的关键科技问题,涉及中医药基本概念与内涵的创新诠释,中药现代化国际化发展战略与对策、道地药材品质辨识与中药资源可持续发展、中药质量评价与控制模式的创新发展、中药药性理论与合理用药、中药新药科学创制等。既有理论探索,又有方法创新;既有专题论述,又有系统分析;既有回顾性研究,又有前瞻性分析。

本书的出版发行对有志于中医药科技事业的各界朋友将具有良好的启示和参考价值,对中药科技事业可持续发展将产生一定推动作用。

(本刊讯)