

## 基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量对刺五加的质量评价

宋娟, 张晶玉, 吕重宁, 路金才\*

沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

**摘要:** **目的** 建立刺五加 *Acanthopanax senticosus* HPLC 指纹图谱及原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚 7 种成分含量测定方法。**方法** 采用 Diamonsil 5  $\mu\text{m}$  C<sub>18</sub> (2) 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱; 检测波长 210 nm, 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ , 体积流量 0.8 mL/min, 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。通过“中国色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 建立了刺五加 HPLC 指纹图谱, 同时测定了 7 种成分的含量。结合主成分分析、正交偏最小二乘法判别分析和皮尔逊相关性分析对刺五加进行了质量评价。**结果** 建立了刺五加 HPLC 指纹图谱, 共确定了 18 个共有色谱峰; 原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E 以及丁香树脂酚线性关系良好,  $r^2$  均大于等于 0.999 1, 平均回收率分别为 92.51%、97.63%、95.11%、101.08%、105.29%、98.92%、85.44%、94.89%。主成分分析提取了 2 个主成分, 其方差累积为 66.920%, 表明这 2 个主成分可包含原有数据的大部分信息; 正交偏最小二乘法判别分析筛选出刺五加样品中 2 个差异性成分(紫丁香苷、刺五加苷 B1); 皮尔逊相关性分析显示紫丁香苷、绿原酸和刺五加苷 B1 与其他化学成分的相关性最强。**结论** 建立的刺五加 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法简单、准确、重复性好, 可用于刺五加的质量评价, 为其质量控制提供依据。

**关键词:** 刺五加; 指纹图谱; 原儿茶酸; 松柏苷; 紫丁香苷; 绿原酸; 刺五加苷 B1; 刺五加苷 E; 丁香树脂酚; 主成分分析  
中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)04-1326-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.04.025

## Quality evaluation of *Acanthopanax senticosus* based on HPLC fingerprint and multi-component content determination

SONG Juan, ZHANG Jingyu, LYU Chongning, LU Jincai

School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

**Abstract: Objective** To establish the HPLC fingerprint of *Acanthopanax senticosus* and determination method of seven major constituents such as protocatechuic acid, coniferin, syringin, chlorogenic acid, eleutheroside B1, eleutheroside E, and syringaresinol. **Methods** The chromatography was performed on the Diamonsil 5  $\mu\text{m}$  C<sub>18</sub> (2) chromatographic column (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) with acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution as the mobile phase and gradient elution; the detection wavelength was 210 nm, the column temperature was 30  $^{\circ}\text{C}$ , the flow rate was 0.8 mL/min, and the injection volume was 10  $\mu\text{L}$ . The “Chinese Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System” (2012 Edition) was used to establish the HPLC fingerprint of *A. senticosus*, and the contents of the seven components were simultaneously determine. A combination of principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) and Pearson’s correlation analysis was used to evaluate the quality of *A. senticosus*. **Results** HPLC fingerprint of *A. senticosus* was established, and a total of 18 common chromatographic peaks were identified. Protocatechuic acid, coniferin, syringin, chlorogenic acid, eleutheroside B1, eleutheroside E, and syringaresinol showed good linearity with  $r^2$  greater than or equal to 0.999 1, and the average recoveries of these were 92.51%, 97.63%, 95.11%, 101.08%, 105.29%, 98.92%, and 94.89%, respectively. Two principal components were extracted by the PCA, and the cumulative percentage of variance was 66.920%, which indicated that these two principal components could contain most of the information of the original data; the OPLS-DA screened out the two differential components (syringin and eleutheroside B1) in the samples of *A. senticosus*. Pearson’s correlation analysis showed that syringin, chlorogenic acid and eleutheroside B1 had the strongest correlation with other chemical components. **Conclusion** The established HPLC fingerprint and multi-component content determination method of *A. senticosus* are simple, accurate and reproducible, which can be used for the quality evaluation of *A. senticosus* and provide the basis for its quality control.

**Key words:** *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms; fingerprint; protocatechuic acid; coniferin; syringin; chlorogenic acid; eleutheroside B1; eleutheroside E; syringaresinol; principle component analysis

收稿日期: 2023-09-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (U20A20407)

作者简介: 宋娟 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生药学。E-mail: yolanda980704@163.com

\*通信作者: 路金才 (1971—), 男, 博士研究生导师, 教授, 主要研究方向为药用植物资源开发及创新药物研究。E-mail: jincailu@126.com

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根和根茎或茎, 具益气健脾、补肾安神之效<sup>[1]</sup>。是重要的药食同源药材, 有着“宁得一把五加, 不用金玉满车”之盛誉, 自 20 世纪 70 年代起, 我国对刺五加的需求日渐增长, 大量无节制地采挖地下部分使其资源量急剧减少。由于野生资源的剧减, 刺五加混淆品开始出现, 其主要混淆品为无梗五加 *Eleutherococcus sessiliflorus* (Rupr. & Maxim.) S. Y. Hu, 同时人们已开始大力发展刺五加的人工栽培, 以缓解供需矛盾。

在古代本草中未有刺五加相关记载, 大多仅载五加皮, “刺五加”一词始见于《中药大辞典》, 其明确指出刺五加为五加皮的来源植物之一<sup>[2]</sup>。现代研究表明, 刺五加中主要含有苷类、黄酮类、多糖类、香豆素、木脂素及多种微量元素和氨基酸等成分, 具有改善心脑血管系统、中枢神经系统、降血糖、抗辐射、抗肿瘤、抗疲劳等药理作用, 其中酚苷类化合物是刺五加根及根茎的主要活性成分<sup>[3-13]</sup>。

目前《中国药典》2020 年版将紫丁香苷作为刺五加化学成分含量测定的唯一内容, 但中药的药理药效是源自其复杂的化学成分, 而非某一单一成分, 故仅以紫丁香苷作为其质量评价指标, 难以准确地控制其质量<sup>[14-16]</sup>。本研究对 32 批市售刺五加饮片进行 HPLC 指纹图谱研究, 并同时测定原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E 及丁香树脂酚 7 种主要成分的含量, 旨在通过多指标、多成分含量测定, 以更精

确、更科学的方法综合评价刺五加的质量; 此外, 结合多元综合分析对其进行综合评价, 旨在找出对其质量影响较大的关键性成分, 为其质量控制提供参考依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC-20 高效液相色谱仪 (SPD-M20A 光电二极管阵列紫外可见光检测器、LabSolutions 色谱工作站, 岛津中国有限公司), 万分之一 BS124S 型电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司), 十万分之一 MS105DU 型电子天平 (瑞士梅特勒托利多仪器有限公司), 洁盟牌 JP-040 超声波清洗机 (深圳市洁盟清洗设备有限公司)。

### 1.2 试剂

乙腈 (色谱纯, 山东禹王和天下新材料有限公司), 磷酸 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 甲醇 (分析纯, 山东禹王和天下新材料有限公司), 水为娃哈哈纯净水。原儿茶酸 (批号 110809-201906, 中国食品药品检定研究院); 紫丁香苷 (批号 111574-201605, 中国食品药品检定研究院); 绿原酸 (批号 PU0100-0025, 成都普斯生物科技股份有限公司); 刺五加苷 E (批号 PU1120-0025, 成都普斯生物科技股份有限公司); 松柏苷、刺五加苷 B1、丁香树脂酚、丁香树脂酚-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 4 种成分均为实验室自制, 质量分数大于 95.0%。

32 批市售刺五加饮片信息见表 1, 经沈阳药科大学中药学院路金才教授鉴定其基原植物为刺五加 *A. senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms。

表 1 市售刺五加饮片信息

Table 1 Information on commercially available *A. senticosus* decoction pieces

编号	批号	产地	编号	批号	产地
AS1	190301	吉林	AS17	C201103601	吉林
AS2	2008001	吉林	AS18	201107	吉林
AS3	2006001	吉林	AS19	C267210101	吉林
AS4	190802	吉林	AS20	202108151	吉林
AS5	171101	吉林	AS21	171001	吉林
AS6	20171201	吉林	AS22	1911011227	辽宁
AS7	191218	吉林	AS23	1705021227	辽宁
AS8	210301CP0345	吉林	AS24	2004011227	辽宁
AS9	180501	吉林	AS25	200801	黑龙江
AS10	210210	吉林	AS26	160318	黑龙江
AS11	2005001	吉林	AS27	21090704	黑龙江
AS12	2201002	吉林	AS28	210501	河北
AS13	210401	吉林	AS29	200801	河北
AS14	1910001	吉林	AS30	20211101	河北
AS15	21011414	吉林	AS31	190314	安徽
AS16	19111801	吉林	AS32	200701	内蒙古

## 2 方法与结果

### 2.1 刺五加 HPLC 指纹图谱研究

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱 (Diamonsil 5  $\mu\text{m}$  C<sub>18</sub> (2), 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相为乙腈 (B)-0.1% 磷酸水 (A); 梯度洗脱 (0~1 min, 7%~8% B; 1~10 min, 8%~10% B; 10~23 min, 10%~15% B; 23~53 min, 15%~30% B; 53~63 min, 30%~45% B; 63~73 min, 45% B) 检测波长 210 nm; 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 体积流量 0.8 mL/min。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 取原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚-4'-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷、丁香树脂酚对照品适量, 加 50% 甲醇溶解, 分别配制成含原儿茶酸 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、松柏苷 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、紫丁香苷 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、绿原酸 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、刺五加苷 B1 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、刺五加苷 E 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、丁香树脂酚-4'-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、丁香树脂酚 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的溶液, 过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜, 即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取刺五加粗粉约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用提取溶剂补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜, 即得。

**2.1.4 精密度试验** 取同一批刺五加粉末 (编号 AS30) 1 份, 按照“2.1.3”项下的方法进行供试品溶液的制备, 按照“2.1.1”项下的色谱条件连续进样 6 次, 计算其色谱峰相对保留时间和相对峰面积, 结果表明: 相对保留时间的 RSD 小于 0.08%, 相对峰面积的 RSD 小于 2.98%。

**2.1.5 重复性试验** 取同一批刺五加药材粉末 (编号 AS30), 按照“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积, 结果表明: 各共有色谱峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.12%, 相对峰面积的 RSD 均小于 3.19%, 结果表明该方法的重复性良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取同一批刺五加药材粉末 (编号 AS30) 一份, 按照“2.1.3”项下的方法进行供试品溶液的制备, 按照“2.1.1”项下的色谱条件分别于 0、3、6、9、12 h 进样分析, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积, 结果表明, 相对保留时间 RSD 小于 0.09%, 相对峰面积的 RSD 小于 2.85%,

结果表明该供试品溶液在 12 h 内的稳定性良好。

#### 2.1.7 刺五加 HPLC 指纹图谱的建立

(1) 共有峰及内参照峰的确立: 所建立的刺五加 HPLC 指纹图谱, 共确定 18 个共有峰 (内参照峰为紫丁香苷), HPLC 色谱图如图 1 所示。并指认了 8 个色谱峰, 分别为原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚-4'-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷和丁香树脂酚, 对照品色谱图如图 2 所示。

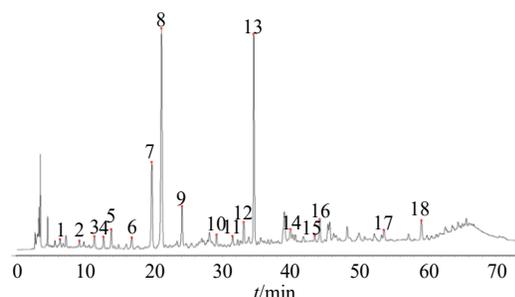
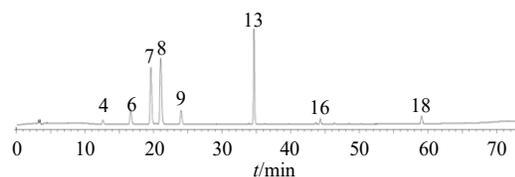


图 1 刺五加 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC fingerprint of *A. senticosus*



4-原儿茶酸, 6-松柏苷, 7-紫丁香苷 (S), 8-绿原酸, 9-刺五加苷 B1, 13-刺五加苷 E, 16-丁香树脂酚-4'-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷, 18-丁香树脂酚。

4-protocatechuic acid, 6-coniferin, 7-syringin (S), 8-chlorogenic acid, 9-eleutheroside B1, 13-eleutheroside E, 16-syringaresinol-4'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, 18-syringaresinol.

图 2 混合对照品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of mixed control substance

(2) HPLC 指纹图谱的建立: 取 32 批市售刺五加饮片, 按照“2.1.3”项下方法进行供试品溶液的制备, 按照“2.1.1”项下的色谱条件进样分析, 将所得色谱数据文件导入《中国色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》进行处理分析。以 AS30 作为参照图谱, 经多点校正进行自动匹配, 生成指纹图谱, 结果见图 3; 对其匹配结果进行相似度评价, 结果表明: 32 批市售刺五加样品的相似度范围为 0.945~0.999, 均大于 0.945, 说明各批次市售刺五加样品间主要化学成分较为一致, 符合中药指纹图谱的研究要求, 可用于刺五加的质量评价, 为其质量控制提供依据, 相似度结果见表 2。

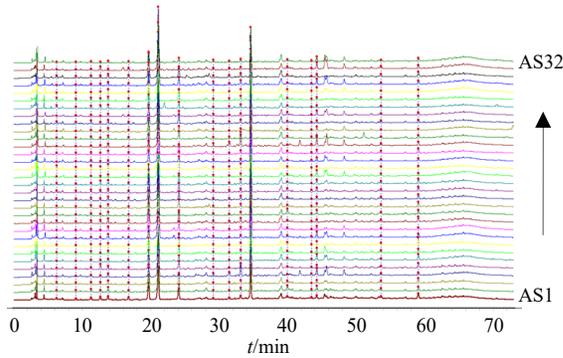


图3 市售刺五加指纹图谱

Fig. 3 Fingerprint of commercially available *A. senticosus*

表2 市售刺五加相似度值

Table 2 Similarity value of commercially available *A. senticosus*

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
AS1	0.985	AS12	0.974	AS23	0.987
AS2	0.993	AS13	0.983	AS24	0.985
AS3	0.977	AS14	0.973	AS25	0.976
AS4	0.976	AS15	0.982	AS26	0.990
AS5	0.977	AS16	0.985	AS27	0.962
AS6	0.991	AS17	0.945	AS28	0.987
AS7	0.999	AS18	0.969	AS29	0.993
AS8	0.979	AS19	0.988	AS30	0.984
AS9	0.957	AS20	0.990	AS31	0.951
AS10	0.990	AS21	0.964	AS32	0.992
AS11	0.981	AS22	0.995		

**2.1.8 指纹图谱结果分析** 本研究对 32 批市售刺五加饮片进行了指纹图谱分析, 32 批样品指纹图谱相似度结果均在 0.945 以上, 说明各批次刺五加间主要化学成分较为一致, 符合中药指纹图谱的研究要求, 可用于刺五加的质量评价, 为其质量控制提供依据。此外与对照品对比, 指认了 8 种成分, 分别为原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五

加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷和丁香树脂酚。

**2.2 刺五加 HPLC 多成分含量测定**

**2.2.1 色谱条件及溶液的制备** 同“2.1.1”“2.1.2”和“2.1.3”项下。

**2.2.2 线性关系考察** 取原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚对照品适量, 加 50% 甲醇分别配制成含原儿茶酸 111 μg/mL、松柏苷 104 μg/mL、紫丁香苷 197 μg/mL、绿原酸 498 μg/mL、刺五加苷 B1 106 μg/mL、刺五加苷 E 150 μg/mL、丁香树脂酚 115 μg/mL 的溶液, 作为对照品母液, 备用。分别精密吸取各对照品适量, 分别配制成 6 个不同质量浓度的对照品溶液, 按照“2.1.1”项下的色谱条件进样分析, 以进样质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程, 如表 3 所示。

**2.2.3 精密度试验** 取同一批刺五加粉末 (编号 AS30) 1 份, 按照“2.1.3”项下的方法进行供试品溶液的制备, 按照“2.1.1”项下的色谱条件连续进样 6 次, 计算各待测色谱峰面积 RSD 值, 结果表明, 原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚峰面积的 RSD 分别小于 2.89%、0.68%、0.27%、0.27%、2.79%、0.32%、0.28%, 说明仪器的精密度良好。

**2.2.4 重复性试验** 取同一批刺五加药材粉末 (AS30), 按照“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 计算各待测成分的质量分数 RSD 值, 结果表明, 原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷 B1、刺五加苷 E、丁香树脂酚质量分数的 RSD 分别小于 2.26%、3.11%、3.38%、2.97%、3.70%、2.92%、2.80%, 表明该方法的重复性良好。

表3 线性回归方程

Table 3 Linear regression equation

化学成分	回归方程	r <sup>2</sup>	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
原儿茶酸	Y=71 628 X-21 328	0.999 1	1.11~22.20
松柏苷	Y=29 153 X+7 756.7	0.999 6	2.08~20.80
紫丁香苷	Y=42 289 X-49 054	0.999 1	9.85~197.00
绿原酸	Y=223 277 X-176 982	0.999 3	49.80~498.00
刺五加苷 B1	Y=41 463 X-23 833	0.999 3	5.30~106.00
刺五加苷 E	Y=52 041 X-39 215	0.999 2	15.00~150.00
丁香树脂酚	Y=119 371 X+2 673.4	0.999 9	0.46~9.20

**2.2.5 稳定性试验** 取同一批刺五加药材粉末(AS30)一份,按照“2.1.3”项下的方法进行供试品溶液的制备,按照“2.1.1”项下的色谱条件分别于0、3、6、9、12 h 进样分析,计算各待测色谱峰面积RSD值,结果表明,原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷B1、刺五加苷E、丁香树脂酚的峰面积RSD分别小于2.59%、0.60%、0.27%、0.25%、2.77%、0.32%、0.29%。

**2.2.6 加样回收率试验** 精密称取已测定的同一批次(AS30)刺五加样品0.5 g,分别精密加入适量对照品,按照“2.1.3”项下的方法平行制备供试品溶

液6份,按照“2.1.1”项下的色谱条件进样分析,计算得到原儿茶酸、松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、刺五加苷B1、刺五加苷E、丁香树脂酚平均加样回收率分别为92.51%、97.63%、95.11%、101.08%、105.29%、98.92%、94.89%,RSD分别为2.69%、3.44%、2.42%、2.24%、1.32%、2.71%、2.99%,表明该方法的准确度良好。

**2.2.7 样品测定** 取32批市售刺五加饮片,按照“2.1.3”项下方法进行供试品溶液的制备,按照“2.1.1”项下的色谱条件进样分析并计算样品中7种成分的含量,结果见表4。

表4 32批市售刺五加饮片多成分含量测定结果

Table 4 Multi-component content determination of 32 batches of commercially available *A. senticosus* decoction pieces

编号	质量分数/( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )						
	原儿茶酸	松柏苷	紫丁香苷	绿原酸	刺五加苷B1	刺五加苷E	丁香树脂酚
AS1	81.03	170.63	728.91	2 898.11	889.22	647.95	64.64
AS2	60.61	156.86	812.51	3 200.63	697.56	723.30	47.96
AS3	62.94	100.52	730.37	2 355.08	704.81	573.72	65.91
AS4	69.34	100.68	405.04	3 870.73	301.64	910.08	40.63
AS5	159.20	157.27	625.64	2 458.34	693.59	741.87	64.14
AS6	73.39	137.03	543.25	3 593.86	552.75	650.12	90.26
AS7	64.94	157.67	758.82	3 831.08	674.70	779.93	51.70
AS8	91.35	148.94	724.83	2 629.92	728.66	711.91	104.09
AS9	73.68	202.45	601.44	6 236.48	500.13	698.64	51.78
AS10	56.68	279.62	1 011.47	5 771.10	899.55	918.03	25.21
AS11	117.23	252.73	1 187.11	3 435.53	955.72	768.92	62.89
AS12	85.03	168.91	614.70	2 676.75	495.67	786.53	48.56
AS13	93.16	217.85	976.84	3 153.93	996.17	744.64	64.69
AS14	79.31	217.75	1 136.18	2 776.82	772.13	754.86	64.71
AS15	89.64	145.32	826.58	2 487.52	988.67	659.57	65.14
AS16	109.33	173.06	947.57	2 945.00	854.80	693.48	69.44
AS17	59.84	208.30	368.00	5 281.40	341.36	545.15	44.36
AS18	113.71	322.33	1 200.63	3 825.81	1 456.27	765.55	35.95
AS19	34.10	175.06	476.49	3 676.05	427.47	582.57	34.65
AS20	66.59	184.29	840.35	2 908.91	816.03	691.31	67.69
AS21	53.04	54.73	269.05	4 724.46	217.88	959.45	56.52
AS22	54.42	149.29	889.60	3 330.78	720.41	750.71	45.86
AS23	63.03	126.40	643.79	4 603.97	493.99	776.13	18.07
AS24	80.19	215.99	962.90	2 816.64	896.35	773.13	43.99
AS25	34.01	116.55	450.98	4 313.46	564.43	657.19	35.98
AS26	107.29	196.17	640.01	2 362.32	606.64	594.15	32.33
AS27	83.64	217.88	1 134.13	2 820.56	944.67	736.34	52.51
AS28	47.33	160.02	544.40	5 023.59	360.46	837.18	27.36
AS29	74.09	183.14	713.68	5 084.30	759.14	915.91	51.25
AS30	73.86	181.02	1 051.31	2 817.28	928.26	680.54	79.68
AS31	91.51	144.10	388.86	5 514.66	322.06	617.39	51.50
AS32	72.66	163.02	546.22	3 910.90	424.00	702.61	59.94

**2.2.8 含量测定结果分析** 以指纹图谱方法为基础,对其中7种成分进行了含量测定,结果表明32批样品中各成分含量分别为原儿茶酸为0.003%~0.016%;松柏苷为0.032%~0.005%;紫丁香苷为

0.027%~0.120%;绿原酸为0.236%~0.624%;刺五加苷B1为0.022%~0.146%;刺五加苷E为0.055%~0.096%;丁香树脂酚为0.002%~0.010%;由上可知不同批次市售刺五加饮片中各成分含量波

动较大。

(1) 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, PLSA-DA): 在进行 PCA 之前, 使用 IBM SPSS Statistics 26 软件对 32 批市售刺五加饮片中 7 种成分的色谱峰面积进行 KMO 和巴特利特检验, 得到 KMO 度量值为 0.574,  $P$  为  $1.1506 \times 10^{-13}$ , 虽然 KMO 值相对较小, 但是其值大于 0.5, 此外  $P$  值小于 0.05, 提示可以进行 PCA 分析, 故利用上述软件进行数据分析, 得到特征值及方差贡献比例, 见表 5。以特征

值及方差累计贡献率作为确定主成分个数的选择依据, 共有 2 个主成分的特征值大于 1, 其方差累计贡献率为 66.920%, 从碎石图 (图 4) 可知, 所提取的主成分中, 前 2 个主成分的斜率较大, 而后各主成分的斜率相对较小, 说明前 2 个主成分在一定程度上可以用来表示刺五加的质量。对所选择的 2 个主成分进行分析及得分计算, 结果见表 5。通过 SIMCA 14.1 软件对 32 批样品中 7 种成分的色谱峰面积进行主成分分析并绘图, 所得 PCA 的 Biplot 图 (图 5); 此外对数据进行 OPLS-DA, 可得 VIP 值, 结果见图 6。

表 5 主成分得分、综合得分及排序

Table 5 Principal component score, composite score and ranking

编号	因子得分		综合得分及排序		编号	因子得分		综合得分及排序	
	F1	F2	F	排序		F1	F2	F	排序
AS1	0.80	-0.98	0.10	8	AS17	-1.94	0.11	-0.81	28
AS2	-0.11	-0.05	-0.06	9	AS18	3.85	2.51	2.25	1
AS3	-0.13	-2.14	-0.57	14	AS19	-1.79	-0.13	-0.80	27
AS4	-2.42	0.23	-0.98	16	AS20	0.79	-0.64	0.19	11
AS5	1.26	-1.49	0.18	7	AS21	-3.56	-0.11	-1.55	32
AS6	-0.55	-1.99	-0.71	15	AS22	-0.13	0.22	0.00	16
AS7	-0.37	0.29	-0.09	10	AS23	-1.84	1.18	-0.51	22
AS8	0.93	-2.33	-0.16	11	AS24	1.36	0.71	0.76	6
AS9	-1.27	1.11	-0.28	13	AS25	-2.22	-0.02	-0.96	30
AS10	0.44	3.88	1.12	2	AS26	0.45	-0.62	0.04	15
AS11	2.74	0.69	1.34	1	AS27	1.98	0.45	0.96	4
AS12	-0.36	-0.32	-0.23	12	AS28	-2.33	1.59	-0.62	24
AS13	1.92	0.11	0.85	3	AS29	-0.44	1.58	0.19	11
AS14	1.72	0.09	0.76	4	AS30	1.68	-0.94	0.49	8
AS15	1.26	-1.26	0.24	6	AS31	-1.85	-0.47	-0.91	29
AS16	1.61	-0.90	0.47	5	AS32	-1.47	-0.38	-0.72	26

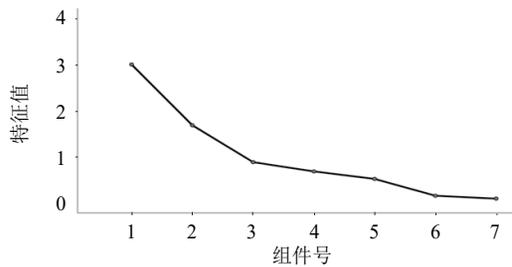


图 4 主成分碎石图

Fig. 4 Scree plot of principal components

由表 5 和图 4 可知, 2 个主成分所反映的信息和主成分分析所得结果相符, 可以得到以下相关信息:

(1) 可以将 32 批样品分成 2 类, 第 1 类: AS1、

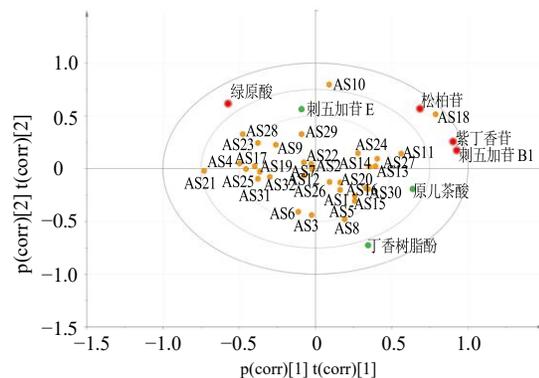


图 5 主成分 Biplot 图

Fig. 5 Biplot of principal components

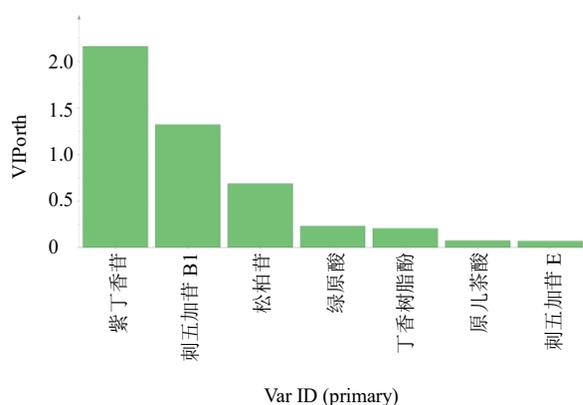


图 6 OPLS-DA VIP 值  
Fig. 6 VIP value of OPLS-DA

AS5、AS10、AS11、AS13、AS14、AS15、AS16、AS18、AS20、AS22、AS24、AS26、AS27、AS29、AS30；第 2 类：AS2、AS3、AS4、AS6、AS7、AS8、AS9、AS12、AS17、AS19、AS21、AS23、AS25、AS28、AS31、AS32。(2) 图 5 中每个圆点代表 1 个成分，其离原点越远表示组间差异性越大，从图中

可知紫丁香苷、刺五加苷 B1、松柏苷及绿原酸明显偏离原点。(3) 通过图 6 中 VIP 值大于 1，可以筛选出 2 个差异成分（紫丁香苷、刺五加苷 B1），该结果和主成分分析结果较为一致，表明这 2 个成分可能是对刺五加质量差异影响较大的成分。

(2) Pearson 相关性分析：Pearson 相关性分析是用来衡量 2 个变量之间是否存在线性关系的分析方法，其衡量标准用相关系数 ( $r$ ) 来表示，其数值为  $\pm 1$ ，可表示 2 个变量间的线性关系强度及方向。使用 IBM SPSS Statistics 26 软件对 32 批刺五加中 7 种成分含量进行 Pearson 相关性分析，结果见表 6。由  $r$  可知紫丁香苷、绿原酸与刺五加苷 B1 与其他成分的相关性最强，其中紫丁香苷与原儿茶酸、松柏苷、刺五加苷 B1 呈显著正相关，与绿原酸呈显著负相关；绿原酸与原儿茶酸、紫丁香苷、刺五加苷 B1 和丁香树脂酚呈显著负相关；刺五加苷 B1 与原儿茶酸、松柏苷和紫丁香苷呈显著正相关，与绿原酸呈显著负相关。

表 6 Pearson 相关性分析结果

Table 6 Pearson correlation analysis results

成分	$r$						
	原儿茶酸	松柏苷	紫丁香苷	绿原酸	刺五加苷 B1	刺五加苷 E	丁香树脂酚
原儿茶酸	1.000	0.326	0.356*	-0.375*	0.439*	-0.054	0.305
松柏苷	0.326	1.000	0.698**	0.051	0.674**	0.008	-0.165
紫丁香苷	0.356*	0.698**	1.000	-0.404*	0.888**	0.103	0.159
绿原酸	-0.375*	0.051	-0.404*	1.000	-0.425*	0.286	-0.460**
刺五加苷 B1	0.439*	0.674**	0.888**	-0.425*	1.000	-0.003	0.197
刺五加苷 E	-0.054	0.008	0.103	0.286	-0.003	1.000	-0.231
丁香树脂酚	0.305	-0.165	0.159	-0.460**	0.197	-0.231	1.000

\*在 0.05 级别 (双尾)，相关性显著；\*\*在 0.01 级别 (双尾)，相关性显著。

\*At 0.05 level (two-tailed), the correlation was significant; \*\* At level 0.01 (two-tailed), the correlation was significant.

### 3 讨论

该实验研究前期进行色谱条件优化时，对刺五加供试品溶液在 190~400 nm 紫外-可见光全波长扫描，结果表明 210 nm 下的色谱峰数目、峰形、分离度较好，较为适宜指纹图谱的研究，故该研究选择 210 nm 作为检测波长；此外该研究为了寻求较优的色谱条件，先后考察了不同提取溶剂（水、30% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇、50% 乙醇、无水乙醇）、提取方式（加热回流提取，超声提取）、提取时间（15、30、45 min）、料液比（1:10、1:25、1:40）、不同流动相体系（甲醇-水，乙腈-水，乙腈-0.1% 甲酸水，乙腈-0.1% 磷酸水）、柱温（25、30、35 °C）、体积流量（0.8、1.0、1.2 mL/min），结果表

明选择柱温 30 °C，体积流量 0.8 mL/min，流动相体系为乙腈-0.1% 磷酸水，50% 甲醇超声提取 30 min 时，所得色谱结果的色谱峰数目、峰形以及分离度较好。

通过 HPLC 法建立了刺五加指纹图谱，并基于该方法同时测定了 7 种成分的含量。基于刺五加含量测定结果，以 7 种主要成分进行了 PCA 分析、OPLS-DA 分析和 Pearson 相关性分析，结果表明紫丁香苷、绿原酸和刺五加苷 B1 可能为刺五加质量差异的关键性成分，其中 Pearson 相关性分析表明绿原酸与各成分多呈负相关，紫丁香苷和刺五加苷 B1 除了与绿原酸呈负相关外，与其他成分均呈正相关，说明这 3 种成分对其他组分存在较为紧密的联

系,综合各分析方法结果,说明紫丁香苷、绿原酸和刺五加苷B1在一定程度上可代表刺五加的质量。

我国现有的中药质量评价模式多采取传统鉴别(性状鉴别、显微鉴别)和化学成分分析相结合的方式<sup>[14-15]</sup>。但中药的化学成分十分复杂,不同于成分单一、疗效及机制相对明确的化药,故该评价方式并不能十分准确的评价中药材或中药复方的质量。因此,对指标成分的选取原则以及选择的指标成分能否有效地反映中药的质量,能否代表整个中药或复方,成为当前中药分析研究的重点与难点。本研究结果表明刺五加中紫丁香苷、绿原酸和刺五加苷B1对刺五加质量联系紧密,故在其质量控制中可综合考虑这3种成分;此外,本实验通过色谱优化以及方法学考察建立了刺五加指纹图谱和含量测定的方法,该方法简单、准确、重复性好;可用于刺五加的质量评价,为其质量控制提供依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 215-216.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 26.
- [3] Park S Y, Chang S Y, Yook C S, *et al.* New 3, 4-secolupane-type triterpene glycosides from *Acanthopanax senticosus* forma *inermis* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(12): 1630-1633.
- [4] 郭丽丽, 张茜, 郭如洹, 等. 刺五加总苷的提取工艺优化及其抗氧化作用 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(18): 152-159.
- [5] 白雪, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 刺五加活性成分的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2016, 37(4): 378-381.
- [6] 白雪, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 刺五加主要活性物质及其药理作用的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2016, 37(6): 396-399.
- [7] Li J L, Li N, Lee H S, *et al.* Four new sesqui-lignans isolated from *Acanthopanax senticosus* and their diacylglycerol acyltransferase (DGAT) inhibitory activity [J]. *Fitoterapia*, 2016, 109: 185-189.
- [8] 高彦宇, 李文慧, 寇楠, 等. 刺五加化学成分和药理作用研究进展 [J]. *中医药信息*, 2019, 36(2): 113-116.
- [9] Wang R J, Liu S, Liu T S, *et al.* Mass spectrometry-based serum lipidomics strategy to explore the mechanism of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. leaves in the treatment of ischemic stroke [J]. *Food Funct*, 2021, 12(10): 4519-4534.
- [10] Wang R J, Shi L Q, Liu S, *et al.* Mass spectrometry-based urinary metabolomics for the investigation on the mechanism of action of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. leaves against ischemic stroke in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 241: 111969.
- [11] Song J, Lee D H, Kim Y S, *et al.* Neuroprotective effects of herbal mixture HT070 on global cerebral ischemia in rats [J]. *Korea J Herbology*, 2016, 31(4): 101-109.
- [12] Zhou H, Xing J P, Liu S, *et al.* Screening and determination for potential  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from leaves of *Acanthopanax senticosus* harms by using UF-LC/MS and ESI-MS(n) [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(4): 315-323.
- [13] 刘起华, 朱礼, 李文兰. 刺五加主要活性成分化学与药理研究 [J]. *时珍国医国药*, 1999, 10(4): 305.
- [14] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用 [J]. *中草药*, 2022, 53(20): 6319-6327.
- [15] 王帅, 包永睿, 李天娇, 等. 中药质量评价关键问题与分析方法探讨 [J]. *分析测试学报*, 2021, 40(1): 132-138.
- [16] 魏锋, 程显隆, 荆文光, 等. 中药材及饮片质量标准研究有关问题思考 [J]. *中国药学杂志*, 2022, 57(18): 1493-1503.

[责任编辑 时圣明]