

本文引用: 姜美玲, 陈 杨, 刘向前. 高效液相色谱法同时测定新变种太白白毛五加叶中 5 种苯丙素成分的含量[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(10): 1869–1873.

高效液相色谱法同时测定新变种太白白毛五加叶中 5 种苯丙素成分的含量

姜美玲, 陈 杨, 刘向前*
湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

〔摘要〕目的 采用高效液相色谱(HPLC)同时检测新变种太白白毛五加叶中 5 种苯丙素类成分的含量, 以期为该植物叶的质量标准建立提供参考。方法 运用高效液相色谱仪, 采用 Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 2.7 μm), 流动相为 0.1% 磷酸(A)-乙腈(B), 梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 230 nm。结果 在优化的色谱条件下, 5 种成分均有良好的分离度和良好的线性关系, 方法精密度 RSD<2.0%, 待测样品于室温 24 h 内能保持稳定, 绿原酸、咖啡酸、4-香豆酸、阿魏酸、酒维宁线性范围分别为 0.175 0~1.750 0 μg($r_1=0.999\ 2$)、0.008 4~0.084 0 μg($r_2=0.999\ 3$)、0.002 4~0.024 0 μg($r_3=0.999\ 1$)、0.003 0~0.030 0 μg($r_4=0.999\ 5$)、0.026 0~0.260 0 μg ($r_5=0.999\ 1$), 平均加样回收率分别为 99.93%(RSD=1.02%)、96.42%(RSD=2.32%)、99.17%(RSD=2.19%)、98.17%(RSD=1.71%)、99.03%(RSD=1.32%)($n=6$)。结论 该方法准确、重现性好, 专属性强, 可为系统研究新变种太白白毛五加叶有效成分含量及其药用资源开发提供参考。

〔关键词〕新变种太白白毛五加叶; 高效液相色谱; 绿原酸; 咖啡酸; 4-香豆酸; 阿魏酸; 酒维宁

〔中图分类号〕R284.1

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.10.009

Simultaneous determination of five phenylpropanoids in the leaves of *Acanthopanax senticosus* var. *taibeiensis* X.Q.Liu, S.K.Ko, J.Luo, et C.S. Yook, a new variety of *Acanthopanax* Miq. (Araliaceae) by HPLC

JIANG Meiling, CHEN Yang, LIU Xiangqian*

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

〔Abstract〕Objective To simultaneously determine the content of five phenylpropanoids in the leaves of *Acanthopanax senticosus* var. *taibeiensis* X.Q.Liu, S.K.Ko, J.Luo, et C.S.Yook, a new variety of *Acanthopanax* Miq. (Araliaceae) using the HPLC method, aiming to provide a reference for establishing the quality standard of its leaves. Methods A HPLC system was used with a Poroshell 120 EC-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 2.7 μm). The mobile phase consisted of 0.1% phosphoric acid (A) and acetonitrile (B) with gradient elution. The column temperature was set at 30℃, the flow rate at 1.0 mL/min, and the detection wavelength at 230 nm. Results Under the optimized chromatographic conditions, all five components showed good resolution and linearity. The method demonstrated acceptable precision (RSD<2.0%), and the analytes remained stable at room temperature within 24 hours. The linear ranges of chlorogenic acid, caffeic acid, 4-coumaric acid, ferulic acid, and Savinin were 0.175 0~1.750 0 μg ($r_1=0.999\ 2$), 0.008 4~0.084 0 μg ($r_2=0.999\ 3$), 0.002 4~0.024 0 μg ($r_3=0.999\ 1$), 0.003 0~0.030 0 μg ($r_4=0.999\ 5$), 0.026 0~0.260 0 μg ($r_5=0.999\ 1$), average recovery rates were 99.93% (RSD=1.02%), 96.42% (RSD=2.32%), 99.17% (RSD=2.19%), 98.17% (RSD=1.71%), 99.03% (RSD=1.32%) ($n=6$). Conclusion This method is accurate, reproducible, and specific, which can provide a reference for the systematic study of the effective components and medicinal resource development of the new variety of *Acanthopanax*.

〔收稿日期〕2025-07-05

〔基金项目〕湖南省自然科学基金项目(2024JJ7357); 湖南中医药大学“十四五”重点学科——生物工程学科(校行发规字[2023]2 号)。

〔通信作者〕* 刘向前, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: lxq0001cn@163.com。

0.084 0 μg ($r_2=0.999\ 3$), 0.002 4–0.024 0 μg ($r_3=0.999\ 1$), 0.003 0–0.030 0 μg ($r_4=0.999\ 5$), and 0.026 0–0.260 0 μg ($r_5=0.999\ 1$), respectively. The average spiked recovery rates ($n=6$) were 99.93% (RSD=1.02%), 96.42% (RSD=2.32%), 99.17% (RSD=2.19%), 98.17% (RSD=1.71%), and 99.03% (RSD=1.32%), respectively. **Conclusion** This method is stable, accurate, reproducible, and highly specific, providing a reference for the systematic research on the active ingredients in the leaves of *Acanthopanax senticosus* var. *taibeiensis* X.Q.Liu, S.K.Ko, J.Luo, et C.S.Yook and the development of its medicinal resources.

[**Keywords**] leaves of *Acanthopanax senticosus* var. *taibeiensis* X.Q.Liu, S.K.Ko, J.Luo, et C.S.Yook; HPLC; chlorogenic acid; caffeic acid; 4-coumaric acid; ferulic acid; Savinin

太白白毛五加 (*Acanthopanax senticosus* var. *taibeiensis* X.Q.Liu, S.K.Ko, J.Luo, et C.S.Yook) 是本团队发现的五加科五加属植物刺五加的一个新变种, 具有降糖和抗氧化等药理作用, 分布于太白山海拔 2 260 m 的红桦林下灌木丛中, 带有独特的形态特征, 如茎上互生短粗的三角形状白色刺, 叶背面密生白色绵毛, 使其与刺五加原变种相区别^[1-2]。2021 年版《中华人民共和国药典》一部收录的五加属植物(如细柱五加)以“五加皮”入药, 具有祛风湿、强筋骨之效, 但资源分布有限且采集难度较高^[3]。作为目前只在陕西太白山区域新发现的变种, 其叶中苯丙素类成分具有较高的药用价值。

在前期研究中^[4-5], 本课题组对五加属植物的化学成分进行了深入的系统研究, 揭示了苯丙素类成分在五加属植物中不仅普遍存在还具有显著的药理活性, 包括抗炎、抗氧化、抗肿瘤、改善心脑血管系统、改善神经系统等。本研究通过高效液相色谱法(high pressure chromatography, HPLC)对新变种叶中苯丙素类成分进行定量分析, 不仅为其化学成分研究提供数据支撑, 更通过与药典品种的成分对比, 凸显新变种在药用资源开发中的潜在优势。

1 材料

1.1 主要仪器

LC-10AT vp 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); Poroshell 120 EC- C_{18} 色谱柱(2.7 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm); SB-3200DT 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); VE-202AA 型超纯水机(深圳市宏森环保科技有限公司); FA2104N 型电子分析天平(上海菁海仪器有限公司); DFY-300 型中药粉碎机(上海新诺仪器设备有限公司)。

1.2 主要试剂

绿原酸(纯度: 98.2%, 批号: 327-97-9)、咖啡酸

(纯度: 98.0%, 批号: 331-39-5)均购于成都德思特生物技术有限公司; 4-香豆酸(纯度: 98.0%, 批号: 501-98-4)、阿魏酸(纯度: 98.5%, 批号: 537-98-4)均购于成都普思生物科技股份有限公司; Savinin(纯度: 97.0%, 批号: 493-95-8, 宝鸡市辰光生物科技有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 安徽天地高纯溶剂有限公司); 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 试药

该研究所用太白白毛五加药材分别于 2009 年 5 月、10 月和 2021 年 5 月、10 月采集于陕西省宝鸡市太白山, 经湖南中医药大学刘向前教授鉴定为五加科五加属植物太白白毛五加(*Acanthopanax senticosus* var. *taibeiensis* X.Q. Liu, S.K. Ko, J.Luo, et C.S. Yook)的叶, 编号为 200905、200910、202105、202110。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Poroshell 120 EC- C_{18} (2.7 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm); 流动相: 0.1% 磷酸(A)-乙腈(B), 梯度洗脱, 洗脱程序为: 0~10 min, 10%~15% B; 10~13 min, 15%~20% B; 13~18 min, 20%~25% B; 18~28 min, 25%~70% B; 28~35 min, 70%~80% B; 35~45 min, 80%~10% B; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1.0 mL/min; 检测波长: 230 nm。在此色谱条件下, 各成分保留时间及分离度较好, 色谱图见图 1。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称定各对照品适量, 加入适量甲醇溶解制成质量浓度分别为绿原酸 0.35 mg/mL、咖啡酸 0.42 mg/mL、4-香豆酸 0.60 mg/mL、阿魏酸 0.30 mg/mL、洒维宁 0.26 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

称取太白白毛五加叶粉末(过二号筛)各 2.0 g,

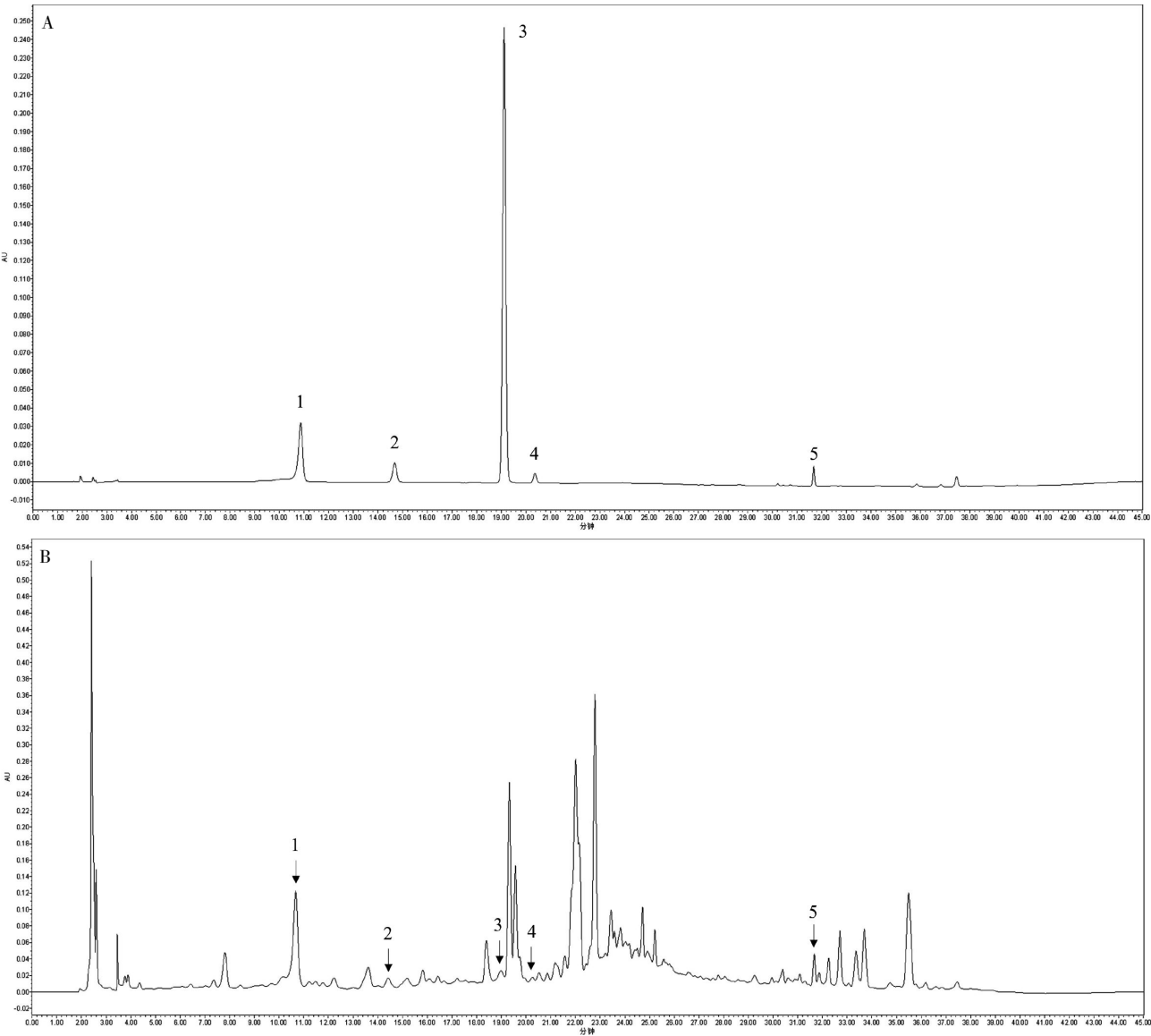


图 1 HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram

注:A.混合对照品溶液;B.供试品溶液;1.绿原酸;2.咖啡酸;3. 4-香豆酸;4.阿魏酸;5.酒维宁。

加入甲醇 60 mL 超声 30 min,抽滤,回收溶剂,加入甲醇定容至 10 mL 容量瓶中,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别吸取适量的上述对照品溶液,配制成含有绿原酸 87.50 μg/mL、咖啡酸 4.20 μg/mL、4-香豆酸 1.20 μg/mL、阿魏酸 1.50 μg/mL 和酒维宁 13.00 μg/mL 的混合对照品溶液。按照“2.1”项下的色谱条件,取该混合对照品溶液 2、5、10、15、20 μL 进行进样分析,以进样体积对应的各成分质量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。详见表 1。

2.4.2 精密度试验 按“2.1”项下的色谱条件,对混

表 1 各成分线性关系

Table 1 Linearity of various components

成分	回归方程	r	线性范围/μg
绿原酸	$Y=(1.00\times10^6)X-44\ 944.0$	0.999 2	0.175 0~1.750 0
咖啡酸	$Y=(3.00\times10^6)X-1\ 524.0$	0.999 3	0.008 4~0.084 0
4-香豆酸	$Y=(3.00\times10^6)X-598.1$	0.999 1	0.002 4~0.024 0
阿魏酸	$Y=(3.00\times10^6)X+703.0$	0.999 5	0.003 0~0.030 0
酒维宁	$Y=(2.00\times10^6)X-10\ 800.0$	0.999 1	0.026 0~0.260 0

合对照品溶液连续进样 6 次,每次进样体积为 10 μL,并记录峰面积。结果显示,绿原酸、咖啡酸、4-香豆酸、阿魏酸和酒维宁峰面积的相对标准偏差 RSD 分别为 0.12%、0.90%、0.63%、1.16%、0.54% (n=6),表明仪器精密度良好。

表 2 各成分的回收率($n=6$)

Table 2 Recoveries of various components ($n=6$)

成分	含有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
绿原酸	1.125 0	1.200 0	2.325 8	100.07	99.93	1.02
	1.145 7		2.342 0	99.70		
	1.142 6		2.343 1	100.04		
	1.141 0		2.320 3	98.27		
	1.151 3		2.341 2	99.16		
	1.149 6		2.368 6	101.60		
咖啡酸	0.033 8	0.040 0	0.072 1	95.75	96.42	2.32
	0.033 0		0.070 5	93.75		
	0.033 4		0.071 3	94.75		
	0.032 7		0.072 4	99.25		
	0.032 1		0.072 0	99.75		
	0.031 6		0.069 8	95.50		
4-香豆酸	0.026 6	0.030 0	0.056 8	100.67	99.17	2.19
	0.026 0		0.055 3	97.67		
	0.026 6		0.055 7	97.00		
	0.026 4		0.056 9	101.67		
	0.027 3		0.056 2	96.33		
	0.026 9		0.057 1	100.67		
阿魏酸	0.007 0	0.010 0	0.016 8	98.00	98.17	1.71
	0.007 1		0.016 9	98.00		
	0.006 9		0.016 7	98.00		
	0.007 0		0.017 1	101.00		
	0.006 8		0.016 5	97.00		
	0.007 0		0.016 6	96.00		
洒维宁	0.087 9	0.100 0	0.187 0	99.10	99.03	1.32
	0.088 2		0.186 9	98.70		
	0.088 7		0.185 7	97.00		
	0.089 0		0.190 0	101.00		
	0.089 3		0.187 7	98.40		
	0.088 1		0.187 4	99.30		

2.4.3 稳定性试验 取同一份供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件,在 0、2、4、8、12、24 h 分别进样 10 μ L,计算得绿原酸、咖啡酸、4-香豆酸、阿魏酸和洒维宁峰面积的 RSD 值分别为 2.3%、1.77%、2.77%、2.98%、0.93%($n=6$),说明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.4.4 重复性试验 精密称取同一批(批号:200905)太白白毛五加叶样品粉末,按“2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,计算得到绿原酸、咖啡酸、4-香豆酸、阿魏酸和洒维宁峰面积的 RSD 值分别为 0.86%、2.49%、1.70%、1.51%、

0.64%,结果表明该实验重现性良好。

2.4.5 加样回收试验 精密称取同一批(批号:200905)含量已测的太白白毛五加叶粉末 1.0 g,共 6 份,分别加入一定量的 6 种对照品,按“2.3”项方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定并记录峰面积,计算各成分的平均回收率及 RSD。详见表 2。

2.4.6 样品含量测定 取四批太白白毛五加叶,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液。按“2.1”项色谱条件,以 10 μ L 进样量进行测定,计算样品中 5 种苯丙素成分的含量。详见表 3。

表 3 各成分含有量测定结果(mg/g, n=3)

Table 3 Content determination results of various components (mg/g, n=3)

样品	绿原酸	咖啡酸	4-香豆酸	阿魏酸	洒维宁
200905	1.488 8	0.026 8	0.021 3	0.005 0	0.052 4
200910	1.557 2	0.028 6	0.021 2	0.005 2	0.054 2
202105	1.543 6	0.027 8	0.020 2	0.005 1	0.052 6
202110	1.569 1	0.027 1	0.021 2	0.005 1	0.052 1

3 讨论

本实验考察了超声提取和回流提取对新变种太白白毛叶中成分提取效率的影响,发现这两种提取方法效果无显著性差异。考虑到回流提取法操作烦琐、耗时长,而超声提取法快速简便,故该试验采用超声提取法。提取溶剂考察了甲醇和乙醇,结果表明以甲醇超声提取优于乙醇提取,同时又比较了百分比甲醇、50%甲醇、75%甲醇提取效果和超声不同时间,最终结果显示以甲醇超声 30 min 的效果最佳。

比较了 3 种不同流动相体系(水-乙腈、0.1%磷酸水-乙腈和水-甲醇)的分离效果^[6-7]。当采用乙腈-水和甲醇-水作为流动相时,部分目标成分(咖啡酸、绿原酸)与药材中其他干扰成分未能完全分离。当采用 0.1%磷酸水-乙腈作为流动相时,5 种苯丙素类成分分离效果较好。在检测波长的选择上,对 5 种单体进行全波长扫描,发现其在 230 nm 检测波长下,分离度及峰形较好,杂质峰较少。

本研究发现,太白白毛五加叶中 5 种苯丙素化合物原植物含量整体不高,其中绿原酸是该植物主要的含量效高的单体成分,其含量(1.488 8~1.569 1 mg/g)显著高于其他 4 种苯丙素成分,能有效清除自由基,抑制炎症因子的释放,减轻关节局部的氧化损伤与炎症反应,缓解风湿痹痛^[8]。而阿魏酸不仅具有抗炎、抗氧化作用,还具有改善血液循环的作用^[9-10];咖啡酸、4-香豆酸等也具备一定的抗氧化和抗炎作用^[11-12],其活性虽相对较弱,但可与绿原酸、阿魏酸产生协同作用,共同调节炎症与氧化平衡。

基于以上特征,该研究具有重要的应用价值。太白白毛五加叶可能具有绿原酸资源开发潜力,为天然抗氧化剂、抗炎药物的研发提供原料;其叶中的多种苯丙素成分的协同作用,也让该植物在药用资源开发中具备独特优势,可作为五加属药用资源的

有益补充,缓解现有五加属药材资源有限且采集困难的问题,为相关医药和保健品产业的发展提供新的方向。

本研究建立的方法对各成分的分离不仅有良好的效果,而且操作简单、便捷,结果稳定可靠,可用于新变种太白白毛五加叶中苯丙素含量的测定,为该植物的进一步研究与开发利用提供参考。

参考文献

[1] 罗 姣, 陈 杨, 陆昌洙, 等. 中国五加属(五加科)一新变种: 太白白毛五加[J]. 贵州科学, 2024, 42(2): 14-15, 73.

[2] 任玲芸, 王新莹, 徐 源, 等. 刺五加 10 个居群叶片表型性状多样性分析[J/OL]. 森林工程, 1-13. [2025-05-30]. <https://link.cnki.net/urlid/23.1388.S.20250521.0937.002>.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2025 年版 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 67.

[4] 张斌贝, 李小军, 高大林, 等. 五加属植物化学成分多样性研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(4): 556-561.

[5] 蒋诗琴, 罗 姣, 韦春玲, 等. 五加属植物苯丙素类成分及药理作用研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(7): 1335-1345.

[6] 肖 珊, 罗 姣, 许 忠, 等. HPLC 法同时检测 16 种五加属植物中 14 种苯丙素类成分[J]. 中草药, 2020, 51(14): 3791-3796.

[7] 褚洪标, 张志华, 陈 冬, 等. 大王马先蒿苯丙素类含量测定及有效部位抗疲劳活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(5): 754-760.

[8] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展[J]. 药学报, 2020, 55(10): 2273-2280.

[9] 李欣怡, 向超群, 陈启文, 等. 当归药用价值与上市药品研究进展[J]. 中草药, 2025, 56(3): 1037-1049.

[10] 唐潇潇, 温伟烜, 李佳乐, 等. 阿魏酸药理活性研究进展[J]. 广州化工, 2024, 52(6): 22-25.

[11] 孙皓熠, 郝宝燕, 张浩超, 等. 咖啡酸研究概况[J]. 食品与药品, 2017, 19(2): 151-154.

[12] 管西芹, 毛近隆, 唐迎雪, 等. 对香豆酸的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4162-4170.

(本文编辑 苏 维)