

Simultaneous Determination of Eleutheroside E, Isothiazine, Chlorogenic Acid, Protocatechuic Acid and Oleanolic Acid in *Acanthopanax* by LC-MS/MS

Shaodi Xu¹, Baoguo Cui¹, Guixiang Zhao¹, Yuxiang Zhang¹, Jun Ying¹, Dongfa Qiu¹, Yanhui Yang¹, Longqi Bao¹, Zhencai Liu¹, Jia Liu², Zhonghua Tang^{2*}

¹The Xinglong Forestry Administration, Harbin Heilongjiang

²Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

Email: *tangzh@nefu.edu.cn

Received: Jun. 11th, 2017; accepted: Jun. 26th, 2017; published: Jul. 3rd, 2017

Abstract

Objective: To establish an UPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of eleutheroside E, sofraxidin, chlorogenic acid, protocatechuic acid and oleanolic acid in *Acanthopanax* Stems and leaves. **Methods:** water-methanol is used as mobile phase to operate gradient elution; **Flowing Speed:** 0.25 mL/min; **Temperature:** 25°C; **Injection volume:** 10 µL. **Mass Condition:** ESI ion source, positive, MRM scanning mode is used, and external standard method is used to ration. **Results:** eleutheroside E, sofraxidin, chlorogenic acid, protocatechuic acid and oleanolic acid have good linear relationship by the range of 10 - 10,000 mg/mL, 0.1 - 5000 mg/mL, 1 - 10,000 mg/mL, 0.1 - 10,000 mg/mL and 100 - 30,000 mg/mL respectively, and $R^2 > 0.9993$ in all over. The spiked recovery is between 94.67% - 98.03%. This method is successfully applied to measure the contents of target compound in wild and cropped *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms stem and leaf. **Conclusions:** This method has the advantages of high sensitivity, good selectivity and shorter analysis time, and can be applied to make accuracy quantitative analysis for the eleutheroside E, sofraxidin, chlorogenic acid, protocatechuic acid and oleanolic acid in *Acanthopanax*.

Keywords

UPLC-MS/MS, *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms, Eleutheroside E, Sofraxidin, Chlorogenic Acid, Protocatechuic Acid, Oleanolic Acid

*通讯作者。

文章引用: 徐绍娣, 崔宝国, 赵桂香, 张玉香, 尹军, 邱东法, 杨延辉, 包龙琦, 刘真才, 刘佳, 唐中华. LC-MS/MS 同时测定刺五加中刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸的含量[J]. 植物学研究, 2017, 6(4): 201-210. <https://doi.org/10.12677/br.2017.64026>

LC-MS/MS同时测定刺五加中刺五加苷E、异嗪皮啉、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸的含量

徐绍娣¹, 崔宝国¹, 赵桂香¹, 张玉香¹, 尹 军¹, 邱东法¹, 杨延辉¹, 包龙琦¹, 刘真才¹, 刘 佳², 唐中华^{2*}

¹黑龙江省兴隆林业局, 黑龙江 哈尔滨

²东北林业大学, 黑龙江 哈尔滨

Email: tangzh@nefu.edu.cn

收稿日期: 2017年6月11日; 录用日期: 2017年6月26日; 发布日期: 2017年7月3日

摘 要

目的: 建立一次测定刺五加中刺五加苷E、异嗪皮啉、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸的含量的方法。方法 采用超高效液相色谱-质谱联用(UPLC-MS/MS)法。质谱条件: 采用电喷雾离子源, 正离子扫描模式, 多离子反应监测扫描方式; 采用外标法进行定量分析。结果: 刺五加苷E、异嗪皮啉、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸五种物质的含量分别在10~10,000 mg/mL、0.1~5000 mg/mL、1~10,000 mg/mL、0.1~10,000 mg/mL 和100~30,000 mg/mL浓度范围内, 线性关系良好, R^2 均 > 0.9993; 加标实验回收率在94.67%~98.03%之间。结论 此方法灵敏度高、选择性好、分析时间短, 可以对刺五加中刺五加苷E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啉和原儿茶酸进行准确的定量分析。

关键词

超高效液相色谱-质谱联用(UPLC-MS/MS), 刺五加, 刺五加苷E, 异嗪皮啉, 绿原酸, 原儿茶酸, 齐墩果酸

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

刺五加(*Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms)是五加科(*Araliaceae*)刺五加属(*Acanthopax*)的落叶灌木, 分布于东北地区和河北、山西, 生于海拔 800 m 以下(东北)至 1500~2000 m (华北)处的针阔混交林内[1], 朝鲜半岛、前苏联、日本也有分布。该植物的叶、茎、果实亦可供药用, 树皮作五加皮入药。其嫩茎和叶既是人们习食的最佳山野菜, 又是新型的保健食品的原料。刺五加具有增强机体非特异性防御能力的功能, 除具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗辐射及抗疲劳的作用外, 还可用于治疗心脑血管疾病、糖尿病、神经衰弱、高血压及增强机体免疫力等[2] [3] [4] [5] [6]。其皂苷所制成的注射液对睡眠具有促进作用, 其在民间作为镇定安神药被广泛应用, 能促进睡眠, 缓解心悸、健忘、乏力等症状, 作用与人参相似[7] [8] [9] [10]。

《本草纲目》称刺五加为“本经上品”，能“补中益气，坚筋骨，强意志，久服轻身耐老”。民间有“宁得一把五加，不用金玉满车”的说法[11][12][13]。野生及人工五加茎和叶中含有大量的皂苷类和酚类物质，其中含有刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸等活性成分[14][15]。由于多年来的掠夺性开发，刺五加野生资源已日渐匮乏，人工种植药材将成为中药原料的主要来源。为了探讨野生和人工刺五加的叶、茎中刺五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶和原儿茶酸五种目标化合物对比，以期对刺五加资源开发和保护利用提供理论基础。在过去的研究中 HPLC 方法被广泛应用在对刺五加中的目标化合物含量的测定中。2009 年胡广东等使用高效液相色谱法对刺五加中刺五加苷 E 的含量进行测定[16]。2010 年，张萍等使用 HPLC 方法测定了不同产地的刺五加中异嗪皮啶的含量[17]，张海丰等同样使用 HPLC 方法同时测定了刺五加果实中齐墩果酸和熊果酸的含量[18]。通过超快速液相色谱技术，于风平等对刺五加注射液中绿原酸和紫丁香苷的含量进行测定[19]。2012 年赵陶钧等使用 RP-HPLC 法测定了刺五加叶片中绿原酸的含量[20]。本研究建立了一种高效、快速、准确的 LC-MS/MS 法，为野生刺五加和人工刺五加茎、叶中刺五加苷 E、异嗪皮啶和绿原酸、原儿茶酸、齐墩果酸的含量控制和开发利用提供了方法和参考依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

刺五加采于吉林省延吉市八家子镇泉水洞林场野生刺五加茎、叶和人工栽培刺五加茎、叶，实验前使用粉碎机粉碎至粉末，将粉末过 20 目筛备用；刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸化学结构式如图 1 所示，五种标准品(纯度均 $\geq 98\%$)均购于中国药品生物制品检定所；色谱级甲醇、乙腈均购于北京百灵威公司；色谱甲酸购买于美国 Sigma 公司；去离子水用超纯水仪自制。

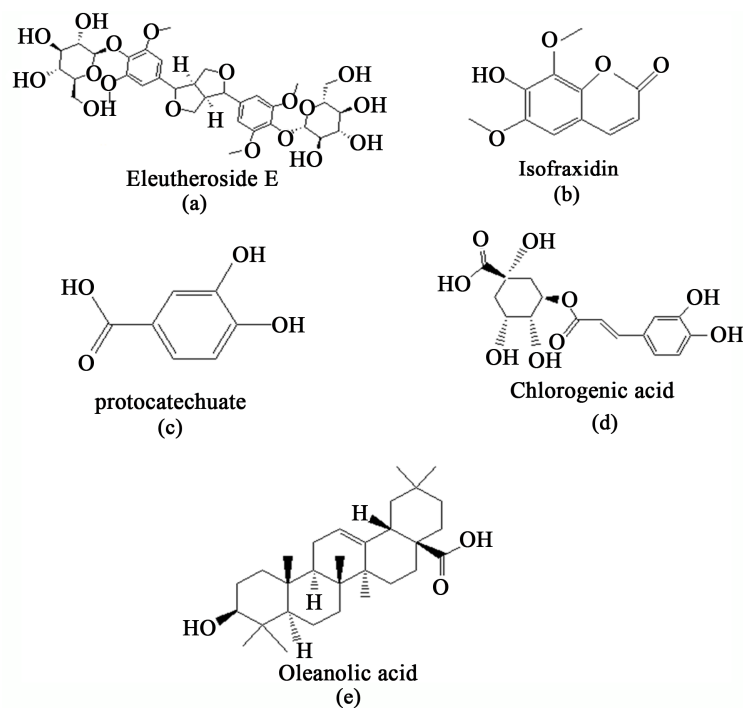


Figure 1. Chemical constituents of the target compounds. Eleutheroside E (a); Isofraxidin (b); Protocatechuic acid (c); Chlorogenic acid (d); Oleanolic acid (e)

图 1. 目标化合物的化学结构式。(a)刺五加苷 E；(b)异嗪皮啶；(c)绿原酸；(d)原儿茶酸；(e)齐墩果酸

2.2. 仪器与设备

Qtrap5500 质谱仪, 配有电喷雾电离源(美国 AB 公司), 串联超高效液相色谱仪(日本沃特斯公司), 使用 LC-20AD 泵, 温度控制器, 柱温箱, SIL-20A 自动进样器; FZ-06 中药粉碎机浙江温岭市百乐粉碎设备厂; 250DC 型数控超声波清洗器 江苏昆山超声仪器有限公司; BS124S 电子天平 德国 Sartorius 公司; Millipore 超纯水仪 法国 Millipore 公司。

2.3. 方法

2.3.1. 供试品溶液的制备

取野生刺五加和人工种植刺五加茎、叶粉末各 0.5 g, 加入甲醇 20 mL 超声提取(100 kHz, 40°C) 30 min, 过滤后将残渣再加入 20 mL 溶剂超声提取 30 min, 过滤后合并两次滤液, 测定前用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤。

2.3.2. 标准品溶液的制备

精密称取刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸标准品各适量, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。配制成 1 mg/mL 的标准品溶液, 于 4°C 冰箱中保存备用, 使用前根据需要用流动相配成标准工作液。

2.3.3. LC-MS/MS 方法

1) 色谱条件

流动相: A% - 甲醇, B% - 水; 25% B (0~1.5 min), 25%~50% B (1.5~2 min), 50% B (2~4 min), 50%~90% B (4~4.5 min), 90% B (4.5~5.5 min), 90%~25% B (5.5~6 min), 25% B (6~7 min); 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C18 Column(1.7 μm, 2.1 mm × 50 mm); 流速: 0.25 mL/min; 柱温: 25°C; 进样量: 10 μL。

2) 质谱条件

采用电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 正离子扫描模式, 多离子反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描方式; 锥孔电压是 3 KV; 离子源雾化温度 5000°C; 雾化气 25 psi, 气帘气 15 psi。

2.4. 方法学考察

2.4.1. 精密度试验

准确吸取刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸标准品溶液连续进样 6 次, 计算峰面积 RSD。考察仪器的精密度。

2.4.2. 稳定性试验

取野生和人工刺五加茎、叶实样品溶液, 室温放置 24 h 内不同时间进样, 分别计算 5 种目标化合物的 RSD, 考察样品在稳定性。

2.4.3. 重复性实验

取 6 份野生刺五加和短梗五加茎、叶, 分别按 1.3.1 项方法进行样品制备后得到 6 组平行样品, 分别进样后计算峰面积 RSD 值, 考察此方法的重现性。

2.5. 标准曲线的绘制

将五种标准品溶液用流动相稀释成不同浓度的工作液, 按上述 LC-MS/MS 方法分别进行检测, 将标准品工作液浓度(x)与峰面积(y)进行线性回归, 得到回归方程和相关系数(R^2), 确定线性范围。

2.6. 样品中各化合物含量测定

分析前将滤液经 0.45 μm 滤膜过滤后进行 LC-MS/MS 测定, 按下列公式计算各物质含量:

$$t = (c \times v) / m \quad (1)$$

式(1)中: t 为提取量(mg/mL); c 为提取液测得的质量浓度/(mg/mL); v 为提取液体积/mL; m 为刺五加叶片质量/g。

2.7. 数据统计分析

相同提取条件下, 每个样品重复 3 次, 实验结果取平均值, 采用 SPSS 18.0 对其做方差, 差异性和主成分 Q 值分析, SigmaPlot 10.0 用于绘制数据图像。

3. 结果与讨论

3.1. LC-MS/MS 条件的优化

分别在电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)正、负离子扫描模式下对刺五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶、原儿茶酸标准品进行扫描, 结果 5 种物质在正离子扫描模式下电离信号明显高于负离子扫描模式, 因此采用正离子扫描模式, 对野生刺五加和人工刺五加茎、叶的 5 种化合物进行质谱分析, 多离子反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描方式。通过对质谱条件的优化得出最优的质谱条件为: 锥孔电压是 3 KV; 离子源雾化温度 5000 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气 25 psi, 气帘气 15 psi; 5 种主要药用次生代谢物碎片离子、去簇电压、碰撞电压、碰撞室射出电压见表 1。

在此条件下, 5 种物质的质谱信号最强。对高效液相的流动相的组成和比例进行了考察, 结果表明使用水 - 甲醇溶液为流动相的组成梯度洗脱时, 分离效果好, 灵敏度高, 梯度洗脱(表 2)。

Table 1. MS analysis of parameters of 5 objective compounds

表 1. 5 种目标化合物的质谱分析条件参数

名称	m/z	DP	CE	CXP
刺五加苷 E	765.3 \rightarrow 603.1	70	62	23
异嗪皮啶	223.1 \rightarrow 206.3	60	40	9
绿原酸	355 \rightarrow 162.7	50	18	5
齐墩果酸	479.3 \rightarrow 435.5	70	28	17
原儿茶酸	155 \rightarrow 92.9	70	21	17

Table 2. Gradient elution program

表 2. 梯度洗脱程序

Time	A1	B1
	A%水	B%甲醇
0	75	25
1.5	75	25
2	50	50
4	50	50
4.5	10	90
5.5	10	90
6	75	25
7	75	25

对流动相组成进行考察, 结果表明流动相中使用水-甲醇溶液为流动相的组成梯度洗脱时, 分离效果好, 灵敏度高, 同时色谱峰的峰形更加尖锐, 并能有效地减少拖尾现象的产生。由图 2 可知, 采用上述 LC-MS/MS 方法对样品进行检测, 获得色谱图 2, 绿原酸的色谱保留时间 0.60 min; 原儿茶酸的保留时间为 0.86 min; 刺五加苷 E 的保留时间为 2.69 min; 异嗪皮啶的保留时间为 2.76 min; 齐墩果酸的保留时间为 5.66 min。

3.2. 分析方法的考察

将五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶和原儿茶酸标准品连续进样 6 次, 计算峰面积 RSD, 分别为 0.65%、0.44%、1.26%、2.11% 和 2.25% (表 3), 表明仪器的精密度良好; 取刺五加茎、叶实样品溶液, 室温放置 24h 内不同时间进样, 测定峰面积计算 RSD, 五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶和原儿茶酸在室温条件下 24 h 内的峰面积 RSD 分别为 0.66%、0.05%、0.79%、0.58% 和 0.79% (表 3), 表明样品在室温 24 h 内稳定; 取 6 份野生刺五加和短梗五加茎、叶, 分别按 1.3.1 项方法进行样品制备后得到 6 组平行样品, 分别进样后计算峰面积 RSD 值, 五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶、原儿茶酸峰面积 RSD 分别为 0.85%、0.36%、2.30%、2.30% 和 0.23% (表 3), 说明此方法重现性好; 取 6 份刺五加果实样品溶液, 加入适量已知浓度的标准品溶液后, 分别按 1.3.1 项方法制备样品, 分别进样后计算两种物质的平均回收率和 RSD, 结果表明五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶、原儿茶酸的平均加标回收率为 96.21%、97.02%、96.66%、95.74%、97.03%, RSD 为 0.85%、0.81%、1.17%、1.04%、0.95% (表 4)。

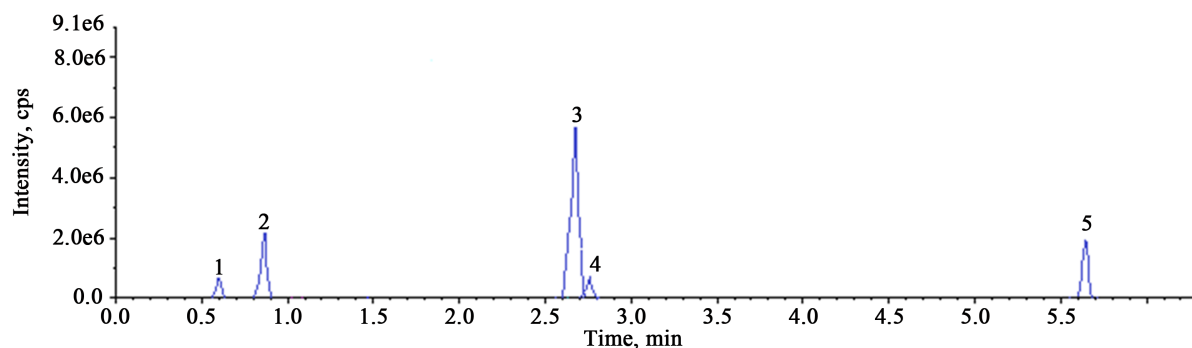


Figure 2. MRM chromatogram of the target compound. 1. Protocatechuic acid; 2. Chlorogenic acid; 3. Eleutheroside E; 4. Isofraxidin; 5. Oleanolic acid

图 2. 目标化合物的 MRM 色谱图。1. 绿原酸; 2. 原儿茶酸; 3. 刺五加苷 E; 4. 异嗪皮啶; 5. 齐墩果酸

Table 3. Wild acanthopanax and artificial acanthopanax leaf precision, repeatability, stability results

表 3. 精密度、重复性、稳定性结果

化合物名称	RSD(%)		
	精密度	重复性	稳定性
刺五加苷 E	0.65%	0.85%	0.66%
异嗪皮啶	0.44%	0.36%	0.05%
绿原酸	1.26%	2.30%	0.79%
齐墩果酸	2.11%	2.30%	0.58%
原儿茶酸	2.25%	0.23%	0.79%

Table 4. Acanthopanax five plus glycoside E, isothiazine, chlorogenic acid, oleanolic acid, protocatechuic acid extraction recovery**表 4.** 提取回收率

化合物名称	样品原含量 (ng/mL)	标准品加入量 (ng/mL)	测定量 (ng/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
刺五加苷 E	5190	500	5489	96.47%	96.21%	0.85%
		1000	5996	96.87%		
		1500	6375	95.29%		
异嗪皮啶	1240	500	1679	96.49%	97.02%	0.81%
		1000	2165	96.65%		
		1500	2683	97.92%		
绿原酸	3461	500	3876	97.85%	96.66%	1.17%
		1000	4351	95.61%		
		1500	4789	96.53%		
原儿茶酸	119	50	160	94.67%	95.74%	1.04%
		100	210	95.89%		
		150	260	96.65%		
齐墩果酸	8240	500	8464	96.84%	97.03%	0.95%
		1000	9058	98.03%		
		1500	9371	96.21%		

3.3. 标准曲线的绘制

在上述分析方法条件下取五加苷 E、绿原酸、齐墩果酸、异嗪皮啶和原儿茶酸标准品溶液进行 LC-MS/MS 分析, 将浓度和峰面积(3 次平均值)进行线性回归, 得到回归方程和相关系数, 结果见表 5。结果表明, 刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸、齐墩果酸线性范围: 10~10,000 mg/mL、0.1~5000 mg/mL、1~10,000 mg/mL、0.1~10,000 mg/mL 和 100~30,000 mg/mL 范围内线性关系良好, R^2 均 > 0.9993。

3.4. 刺五加茎、叶样品的测定

3.4.1. 野生刺五加和人工刺五加叶中的 5 种目标化合物的含量

经过优化提取条件, 野生刺五加叶中特异性物质刺五加苷 E 含量大于人工种植刺五加, 具有显著性差异($p < 0.05$), 分别为 $0.068 \pm 0.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.029 \pm 0.006 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 异嗪皮啶野生中含量高于人工种植, 具有显著性差异($p < 0.05$), 分别为 $0.025 \pm 0.007 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.007 \pm 0.001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 绿原酸野生中含量高于人工种植, 无显著性差异, 分别为 $0.031 \pm 0.008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.025 \pm 0.008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 原儿茶酸野生种植小于人工种植含量, 具有显著性差异($p < 0.05$), 分别为 $2.252 \pm 0.94 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $3.952 \pm 0.73 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 齐墩果酸野生种植小于人工种植含量, 具有显著性差异($p < 0.05$), 分别为 $3.087 \pm 0.04 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $2.507 \pm 0.93 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 结果见图 3。

3.4.2. 野生刺五加和人工刺五加茎中的 5 种目标化合物的含量

从图 4 可以看出野生刺五加茎中五种物质含量均大于人工种植刺五加, 具有显著性差异($p < 0.05$), 从图由左到右野生刺五加五种含量分别是 $3.650 \pm 0.83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $2.140 \pm 0.85 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $2.546 \pm 3.72 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.380 \pm 0.12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $4.574 \pm 1.53 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 人工刺五加的含量分别为 $1.540 \pm 0.52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.020 \pm 0.007 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.359 \pm 0.15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.872 \pm 0.14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $2.574 \pm 0.62 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

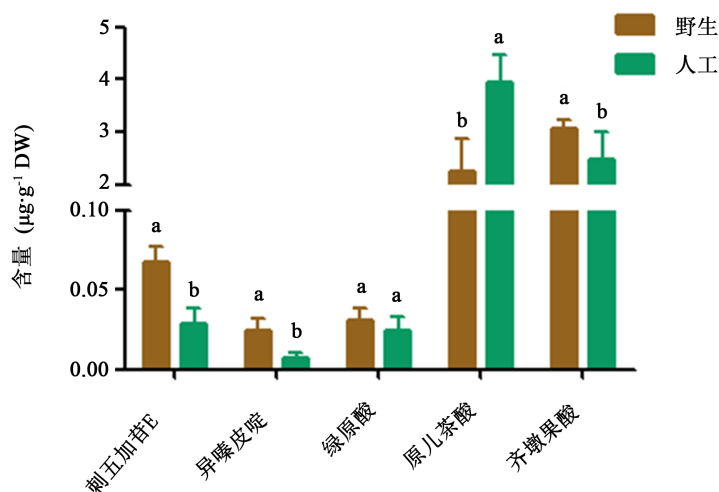


Figure 3. Contents of the five major phenolic compounds in wild and artificial acanthopanax
图 3. 野生刺五加和人工刺五加叶中的 5 种主要物质的含量

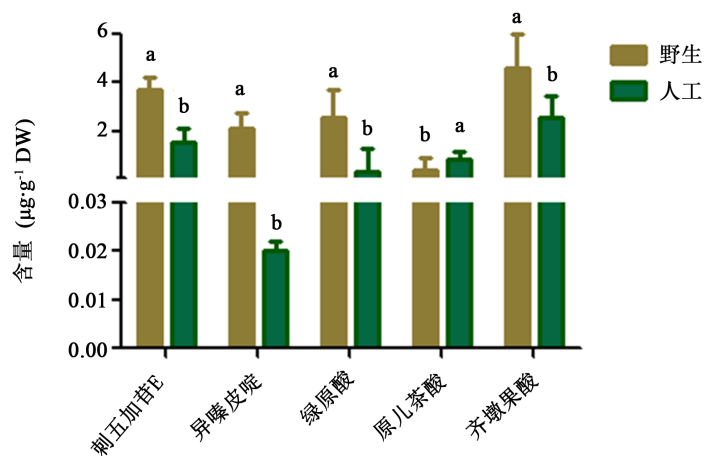


Figure 4. Wild and artificial acanthopanax stem 5 kinds of major phenolic compounds content
图 4. 野生刺五加和人工刺五加茎中的 5 种主要酚酸类化合物的含量

Table 5. Regression equation, correlation coefficient and linear range result (n = 3)

表 5. 回归方程、相关系数及线性范围结果(n = 3)

化合物	回归方程(y = ax + b)	相关系数(R ²)	线性范围(ng/mL)
刺五加苷 E	y = 4E + 10x + 183557	R ² = 0.9999	10~10,000
绿原酸	y = 2E + 08x + 64305	R ² = 0.9998	1~10,000
齐墩果酸	y = 3E + 07x + 37388	R ² = 0.9993	100~30,000
异嗪皮啶	y = 7E + 07x + 5358.3	R ² = 1	0.1~5000
原儿茶酸	y = 2E + 08x + 33494	R ² = 1	0.1~10,000

3.4.3. 野生刺五加和人工刺五加叶和茎中 5 种目标化合物综合分析

由图 5 可以看出五种目标化合物总体上在野生刺五加茎和叶中较大量的积累, 相比于人工种植刺五加, 野生刺五加在这五种化合物的积累上更有优势。

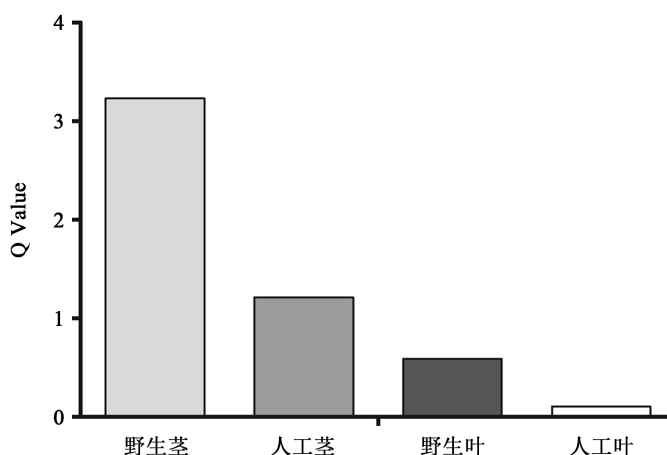


Figure 5. PCA analysis of 5 major target compounds in wild and artificial acanthopanax stem and leaf
图 5. 野生刺五加和人工刺五加茎中 5 种目标化合物综合分析

4. 结论

LC-MS/MS 检测方法可以实现同时检测提取液中的多种成分, 由于 MRM 检测方法是跟踪化合物分子离子及主要碎片峰, 可以排除杂质的干扰, 使检测更加灵敏更快速, 可以在较短时间内实现对化合物的定量分析。本实验建立了 LC-MS/MS 法测定刺五加茎和叶中刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸含量的方法, 经过方法学考察, 此方法可快速、灵敏地实现刺五加中五种目标化合物的准确定量分析。测定结果表明, 刺五加苷 E、异嗪皮啶、绿原酸、原儿茶酸和齐墩果酸在野生刺五加茎中的含量分别为 $3.650 \pm 0.83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $2.140 \pm 0.85 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $2.546 \pm 3.72 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.380 \pm 0.12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $4.574 \pm 1.53 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 在人工种植刺五加茎中分别为 $1.540 \pm 0.52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.020 \pm 0.007 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.359 \pm 0.15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.872 \pm 0.14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $2.574 \pm 0.62 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在野生刺五加叶中含量分别为 $0.0680.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.025 \pm 0.007 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.031 \pm 0.008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $2.252 \pm 0.94 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $3.087 \pm 0.04 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 在人工刺五加叶片中分别为 $0.029 \pm 0.006 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.007 \pm 0.001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.025 \pm 0.008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $3.952 \pm 0.73 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $2.507 \pm 0.93 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。此外, 发现刺五加特异性活性物质刺五加苷 E 和异嗪皮啶均在野生刺五加中更好地积累, 而其他酚酸类成分在人工种植刺五加中含量较高。已有报道在刺五加研究中多使用 HPLC 方法对目标化合物进行检测[21] [22], 检测时间长, 灵敏度低且同时检测多种化合物的准确性有限。本研究使用 LC-MS/MS 方法, 通过超高效液相系统缩短检测时间, 通过质谱检测器提高检测的灵敏度和多种化合物同时检测的准确性, 可以更好地完成同时对样品中的多种成分进行的测定, 很大程度上提高了对目标化合物定性定量分析的灵敏度和准确性。与以往多对刺五加中一或两种成分进行测定的研究相比[21] [22], 此方法首次同时检测了刺五加五种目标化合物的含量, 节省测定的时间, 可以为刺五加的质量控制提供更有力的支持, 并为人工种植刺五加满足市场需要提供理论参考。

致 谢

中央财政林业科技推广示范资金项目([2015]TQ007)资助。

参考文献 (References)

- [1] 张艳华, 孙立夫, 施维林, 王奇超. HPLC 法测定黑龙江省不同地区刺五加紫丁香苷的含量[J]. 植物研究, 2006, 26(1): 124-127.
- [2] 樊如强, 傅宏征, 金学英, 王建斌, 高纯, 盖春燕, 胡荣. 刺五加有效成分提取工艺考察及不同产地刺五加中有

- 效成分量的比较[J]. 中草药, 2014(2): 260-264.
- [3] 樊如强, 金学英, 胡荣, 陈鹏, 王建斌, 傅宏征. 大孔树脂分离纯化刺五加中紫丁香苷、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(3): 302-307.
- [4] 黄婧, 邵青, 项彦华, 葛志伟, 范晓辉. 高效液相质谱联用技术鉴定刺五加注射液中苯丙素类化学成分[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2513-2520.
- [5] 张海丰, 滕坤, 朱俊义. HPLC 法测定刺五加果实中异嗪皮啶的含量[J]. 中国药物警戒, 2010, 7(9): 534-537.
- [6] 曹珊, 祖元刚, 张琳. LC-MS/MS 方法同时检测超声提取迷迭香(*Rosmarinus officinalis* L.) 叶片中的 4 种主要成分. 食品科学, 2012, 33(20): 196-200.
- [7] 朱蕾. 刺五加改善学习记忆障碍大鼠海马胆碱能神经系统机制的研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2012.
- [8] 樊如强. 刺五加总苷片的制备及其质量研究[D]: [硕士学位论文]. 扬州: 扬州大学, 2014.
- [9] 顾晓苏, 顾永健, 姜正林. 刺五加皂甙对自由基作用和无血清培养条件下两种神经元衰老模型细胞的保护作用[J]. 中国临床康复, 2005(25): 123-125+261.
- [10] 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.
- [11] 张晶, 刘芳芳, 薛起, 李凤伟. HPLC 法测定刺五加不同部位刺五加苷 B、E 含量[J]. 药物分析杂志, 2008(12): 2018-2020.
- [12] 孙晖, 韩莹, 张爱华, 孟祥才, 王振月, 孙文军, 孙海峰, 王喜军. 基于 UPLC-MS 的代谢谱区分生长在中国东北地区植物刺五加多样性的研究(英文)[J]. 中国天然药物, 2012(3): 196-206.
- [13] 曹建国, 赵则海, 李庆勇, 祖元刚. 刺五加丁香苷和总黄酮含量及其季节动态[J]. 植物学通报, 2006, 23(3): 269-274.
- [14] 彭新生, 赵英日, 崔红花. HPLC 法测定刺五加中刺五加苷 B 的含量[J]. 实用中西医结合临床, 2006, 6(3): 79-80.
- [15] 张敬一, 许顺江, 杨慧敏, 张乃哲. 刺五加抗癌作用的实验研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2004, 18(6): 422-427.
- [16] 胡广东, 胡新海, 宋铁兵. 刺五加中刺五加苷 E 的含量测定[J]. 黑龙江医药科学, 2009, 32(5): 19-20.
- [17] 张萍. HPLC 测定不同产地、不同生长年限刺五加药材中异嗪皮啶[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(12): 2433-2435.
- [18] 张海丰, 孙健, 滕坤, 朱俊义. HPLC 法同时测定刺五加果实中齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 中国药物警戒, 2010, 7(12): 708-710.
- [19] 于风平, 连传宝. 超快速液相色谱法测定刺五加注射液中紫丁香苷和绿原酸的含量[J]. 中国药师, 2010, 13(12): 1769-1770.
- [20] 赵陶钧, 于风平, 代秀梅. RP-HPLC 法测定刺五加片中绿原酸的含量[J]. 齐鲁药事, 2012, 31(11): 652-653.
- [21] 张崇禧, 徐春玲, 鲍建才, 蔡恩博, 高笑一, 胡全德, 郑友兰. HPLC 分析刺五加叶中金丝桃苷与绿原酸含量[J]. 资源开发与市场, 2010, 26(11): 961-962+965.
- [22] 邵璟, 狄留庆, 谢新, 董宇, 赵晓莉, 吴灏沂, 刘产明. HPLC 法测定不同产地刺五加叶中绿原酸和金丝桃苷含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(10): 41-43.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org