

culture shows antifungal activity against planktonic and multi-biofilm *Candida*[J]. *Braz J Biol*, 2023, 83: e264875.

[15] 姜振元, 李 清, 赵龙山, 等. GC 法测定茺菟茎叶中 4 种挥发性成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(12): 938-941; 980.

[16] Zhan C J, Wang H, Wang Y. Quality evaluation of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* through fingerprint qualitative analysis and quantitative analysis of multicomponents by single marker [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 219: 114899.

[17] 刘世红, 张红杨, 冯书敏, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及多指标成分定量和化学计量学的白前质量评价[J]. 中草药, 2024, 55(22): 7837-7846.

[18] Matsuda R, Sakagami H, Amano S, *et al.* Inhibition of neurotoxicity/anticancer activity of bortezomib by caffeic acid and chlorogenic acid[J]. *Anticancer Res*, 2022, 42 (2): 781-790.

[19] Nguyen Q T, Vo T K H, Le V T, *et al.* Extraction of cynarin and chlorogenic acid from artichoke leaves (*Cynara scolymus* L.) and evaluation of antioxidant activity, antibacterial activity of extract[J]. *Vietnam J Chem*, 2022, 60(5): 571-577.

[20] De S A, Caporali S, Di D N, *et al.* Anti-inflammatory and proliferative properties of luteolin-7-*O*-glucoside[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1321.

[21] Li W F, Wang X, Chen Y Z, *et al.* Luteolin-7-*O*-glucoside promotes macrophage release of IFN- β by maintaining mitochondrial function and corrects the disorder of glucose metabolism during RSV infection[J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 963: 176271.

[22] Maatouk M, Abed B, Bouhlel I, *et al.* Heat treatment and protective potentials of luteolin-7-*O*-glucoside against cisplatin genotoxic and cytotoxic effects[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2020, 27(12): 13417-13427.

[23] Szekalska M, Sosnowska K, Tomczykowa M, *et al.* Tomczyk, *in vivo* anti-inflammatory and anti-allergic activities of cynaroside evaluated by using hydrogel formulations[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109681.

[24] Bouyahya A, Taha D, Benali T, *et al.* Natural sources, biological effects, and pharmacological properties of cynaroside [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114337.

[25] 廖楠汐, 石德志, 肖莲莲, 等. 基于指标成分测定及指纹图谱模式识别的紫苏叶产地差异性研究[J]. 中草药, 2024, 55(18): 6355-6362.

五加皮奎宁酸成分提取工艺优化及其质量标准建立

杨远贵, 段锦渊, 杨浩东, 许洪波*
[陕西中医药大学, 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 秦药特色资源研究开发国家重点实验室 (培育), 陕西 咸阳 712046]

摘要: **目的** 优化五加皮奎宁酸成分提取工艺, 并建立其质量标准。 **方法** 在单因素试验基础上, 以甲醇体积分数、料液比、超声时间为影响因素, 提取率为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。TLC 法定性鉴别五加皮及其混滑品。建立 HPLC 指纹图谱, 测定绿原酸、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸含量, 分析采用 ChromCore AQ C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相 0.1% 甲酸-甲醇; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 检测波长 254 nm。 **结果** 最佳条件为甲醇体积分数 70%、料液比 1 : 30、超声时间 35 min, 提取率为 2.636%。TLC 斑点分离度良好。26 批药材指纹图谱中有 28 个共有峰, 相似度 0.217~0.992。20 批饮片中绿原酸、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸平均含量分别为 0.43、0.31、0.36 mg/g, 总平均含量为 1.10 mg/g。 **结论** 该方法稳定可靠, 可用于鉴别五加皮及其混滑品, 从而评价该药材质量。

关键词: 五加皮; 奎宁酸; 提取工艺; 质量标准; Box-Behnken 响应面法; TLC; HPLC 指纹图谱

中图分类号: R282 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)07-2143-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.002

收稿日期: 2025-10-12
基金项目: 国家自然科学基金 (81603284)
作者简介: 杨远贵 (1992—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药活性成分及其质量标准。E-mail: ygyang2015@sntcm.edu.cn
* 通信作者: 许洪波 (1987—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: xhb2005@sntcm.edu.cn

Optimization of extraction process and establishment of quality standard for quinic acids from *Acanthopanax Cortex*

YANG Yuan-gui, DUAN Jin-yuan, YANG Hao-dong, XU Hong-bo*

[Shaanxi Provincial Collaborative Innovation Center for Industrialization of Traditional Chinese Medicine Resources, State Key Laboratory for Research and Development of Characteristic Qin Medicine Resources (Cultivation), Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China]

ABSTRACT: **AIM** To optimize the extraction process for quinic acids from *Acanthopanax Cortex*, and to establish its quality standard. **METHODS** With methanol concentration, solid-liquid ratio and ultrasonic time as influencing factors, extraction rate as an evaluation index, the ultrasonic extraction process was optimized by Box-Behnken response surface method on the basis of single factor test. TLC was adopted in the qualitative identification of *Acanthopanax Cortex* and its adulterants. The HPLC fingerprints were established, after which the contents of chlorogenic acid, 1, 3-dicaffeoylquinic acid and 1, 5-dicaffeoylquinic acid were determined, the analysis was performed on a 35 °C thermostatic ChromCore AQ C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of 0.1% formic acid-methanol flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 254 nm. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 70% for methanol concentration, 1 : 30 for solid-liquid ratio, 210 W for ultrasonic power, 40 min for ultrasonic time, and 30 min for extraction time, the extraction rate was 2.636%. The TLC spots demonstrated good resolution. There were 28 common peaks in the fingerprints for 26 batches of medicinal materials with the similarities of 0.217–0.992. The average contents of chlorogenic acid, 1, 3-dicaffeoylquinic acid, 1, 5-dicaffeoylquinic acid in 20 batches of decoction pieces were 0.43, 0.31, 0.36 mg/g, respectively, and the average total content was 1.10 mg/g. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the identification of *Acanthopanax cortex* and its adulterants, thus evaluate the quality of this medicinal material.

KEY WORDS: *Acanthopanax Cortex*; quinic acids; extraction process; quality standard; Box-Behnken response surface method; TLC; HPLC fingerprints

五加皮为五加科植物细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith 的干燥根皮，具有祛风、除湿等功效^[1]，以及抗炎、抗癌、抗衰老、抗疲劳、抗氧化、免疫调节等作用^[2-6]，其化学成分主要包括挥发油类、萜类、有机酸类等。目前，五加皮质量控制指标大多为二萜类、苯丙素类成分^[1,7]；2025 年版《中国药典》中无 HPLC 含量测定项，TLC 定性鉴别也仅以异贝壳杉烯酸为指标^[1]，但其含量较低，不能全面体现药材功效。前期研究表明，五加皮中酰基奎宁酸类含量较高，其抗炎活性强于二萜类^[8-9]，同时具有抗氧化、保肝、抗糖尿病、抗病毒、抗菌、抗寄生虫、抗癌、神经保护等作用^[10-17]。

因此，本实验采用 Box-Behnken 响应面法优化五加皮奎宁酸（绿原酸、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸）提取工艺，并建立该药材 TLC 定性鉴别方法及 HPLC 指纹图谱，测定奎宁酸

含量，以期为其质量标准提升提供依据。

1 材料

1.1 仪器 LC-2030C 3D Plus 型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；CPA225D 型电子天平（十万分之一，德国赛多利斯公司）；KQ-300DE 型数控超声清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；DZKW-S-4 型电热恒温水浴锅（上海科恒实业发展有限公司）；Milli-Q integral 型制水机（美国 Millipore 公司）；HSGF254 型硅胶薄层板（烟台华阳新材料科技有限公司）。

1.2 试剂与药材 五加皮对照药材（批号 121523-201703，编号 S1）购自中国食品药品检定研究院；绿原酸对照品（批号 WP24012303，纯度 ≥ 98%）购自四川省维克奇生物科技有限公司；1, 3-二咖啡酰奎宁酸（批号 MUST-24022817，纯度 ≥ 98.71%）、1, 5-二咖啡酰奎宁酸（批号 MUST-23060110，纯度 ≥ 99.46%）对照品均购自成都曼

思特生物科技有限公司。甲醇 [色谱纯，赛默飞世尔科技（中国）有限公司]；甲酸（色谱纯，天津市科密欧化学试剂有限公司）；其余试剂均为分析纯；水为超纯水。五加皮药材共 25 批(编号S2~S26)，购自全国各地，具体见表 1；饮片共 30 批（编号 S001~S030），均购自陕西兴盛德药业有限公司，作为验证样品，具体见表 2，经陕西中医药大学许洪波教授鉴定为正品。

表 1 五加皮药材信息

Tab. 1 Information of *Acanthopanaxis Cortex* medicinal materials

编号	购买地	收集时间	产地	批号	品种
S1	中国食品药品检定研究院	2024 年 8 月	—	121523-201703	五加皮
S2	亳州	2024 年 4 月	河南	240404	五加皮
S3	亳州	2024 年 4 月	湖北	240404	五加皮
S4	湖北	2017 年 2 月	湖北蕲春	20170201	五加皮
S5	湖北	2024 年 4 月	湖北宜昌	—	五加皮
S6	亳州	2024 年 4 月	湖南	20240406	五加皮
S7	安徽	2024 年 4 月	福建	20240101	五加皮
S8	安徽	2024 年 4 月	贵州	20240101	五加皮
S9	安徽	2024 年 4 月	江苏	20240101	五加皮
S10	安徽	2024 年 4 月	山东	20240101	五加皮
S11	亳州	2024 年 4 月	山西	20240215	五加皮
S12	亳州	2024 年 4 月	四川	240404	五加皮
S13	四川	2024 年 4 月	四川达州	—	五加皮
S14	安徽	2024 年 4 月	云南	20240101	五加皮
S15	亳州	2024 年 4 月	安徽	240404	五加皮
S16	安徽	2024 年 4 月	广东	20240101	五加皮
S17	安徽	2024 年 4 月	广西	20240101	五加皮
S18	安徽	2024 年 4 月	黑龙江	20240101	五加皮
S19	安徽	2024 年 4 月	陕西	20240101	五加皮
S20	亳州	2024 年 4 月	浙江	240404	五加皮
S21	亳州	2024 年 4 月	甘肃	20240406	五加皮
S22	亳州	2024 年 4 月	辽宁	240404	五加皮
S23	亳州	2024 年 4 月	山西	20240215	香加皮
S24	亳州	2024 年 6 月	黑龙江	20240604	刺五加
S25	安徽	2024 年 6 月	黑龙江	20240601	刺五加
S26	亳州	2024 年 6 月	河北	20240604	红毛五加

表 2 五加皮饮片信息

Tab. 2 Information of *Acanthopanaxis Cortex* decoction pieces

编号	产地	批号	编号	产地	批号
S001	湖北省宜昌市长阳县	20241201	S016	四川省阿坝州九寨沟县	20241201
S002	湖北省宜昌市长阳县	20241201	S017	四川省阿坝州松潘县	20241201
S003	湖北省恩施市红土乡	20241201	S018	四川省阿坝州松潘县	20241201
S004	湖北省恩施市红土乡	20241201	S019	四川省巴中市平昌县	20241201
S005	湖北省远安县鸣凤镇	20241201	S020	四川省巴中市平昌县	20241201
S006	湖北省远安县鸣凤镇	20241201	S021	安徽省六安市霍山县	20241201
S007	湖北省荆门市沙洋县	20241201	S022	安徽省六安市霍山县	20241201
S008	湖北省荆门市沙洋县	20241201	S023	安徽省宣城市郎溪县	20241201
S009	湖北省黄冈市	20241201	S024	安徽省宣城市郎溪县	20241201
S010	湖北省黄冈市	20241201	S025	安徽省宣城市泾县	20241201
S011	四川省南充市仪陇县	20241201	S026	安徽省宣城市泾县	20241201
S012	四川省南充市仪陇县	20241201	S027	安徽省宣城市绩溪县	20241201
S013	四川省广元市苍溪县	20241201	S028	安徽省宣城市绩溪县	20241201
S014	四川省广元市苍溪县	20241201	S029	安徽省宣城市旌德县	20241201
S015	四川省阿坝州九寨沟县	20241201	S030	安徽省宣城市旌德县	20241201

2 方法与结果

2.1 提取工艺优化

2.1.1 单因素试验 分别考察不同甲醇体积分数(0、10%、30%、50%、70%、90%)、料液比(1:10、1:20、1:30、1:40)、超声时间(20、30、40、50 min),结果见图 1。由此可知,甲醇体积分数为 70%、料液比为 1:30、超声时间为 40 min 时提取率最大。

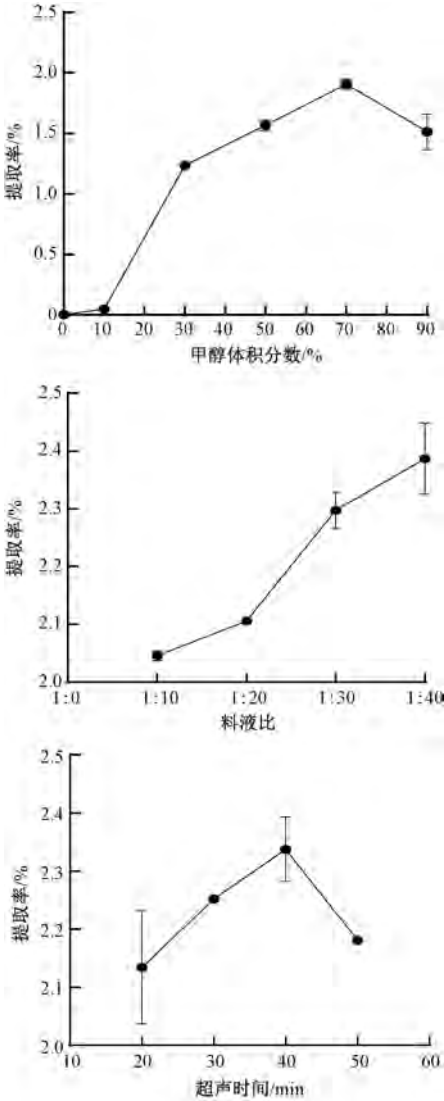


图 1 单因素试验结果
Fig. 1 Results for single factor tests

2.1.2 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上,以甲醇体积分数(A)、料液比(B)、超声时间(C)为影响因素,提取率(Y)为评价指标,设计三因素三水平试验,因素水平见表 3,结果见表 4,方差分析见表 5,响应面分析见图 2。

最终确定,最优工艺为甲醇体积分数 68.418%、料液比 1:31.487、超声时间 35 min,提取率为

表 3 Box-Behnken 响应面法因素水平

Tab. 3 Factors and levels for Box-Behnken response surface method

水平	A 甲醇体积分数/%	B 料液比	C 超声时间/min
-1	60	1:25	35
0	70	1:30	40
1	80	1:35	45

表 4 Box-Behnken 响应面法设计与结果

Tab. 4 Design and results for Box-Behnken response surface

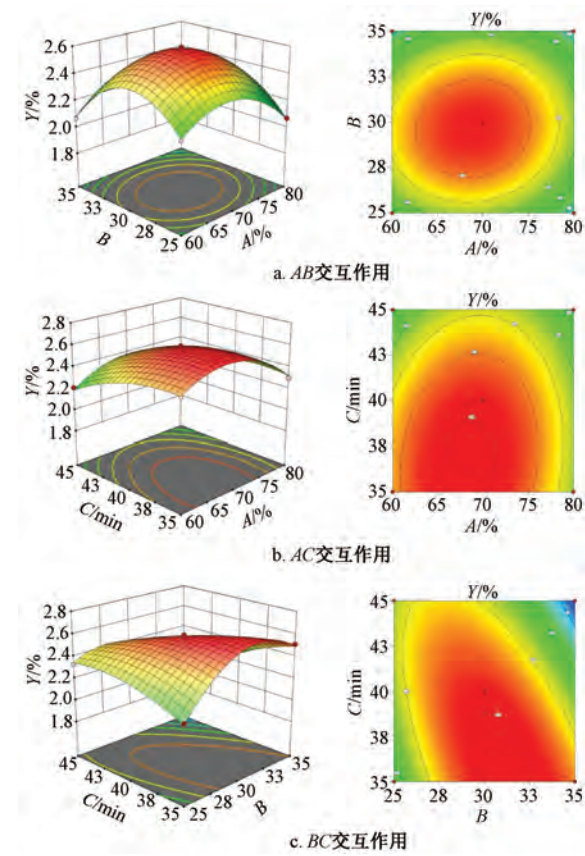
试验号	A 甲醇体积分数/%	B 料液比	C 超声时间/min	Y 提取率/%
1	60	1:25	40	2.196
2	80	1:25	40	2.069
3	60	1:35	40	2.067
4	80	1:35	40	2.062
5	60	1:30	35	2.464
6	80	1:30	35	2.300
7	60	1:30	45	2.210
8	80	1:30	45	2.175
9	70	1:25	35	2.173
10	70	1:35	35	2.511
11	70	1:25	45	2.329
12	70	1:35	45	1.857
13	70	1:30	40	2.574
14	70	1:30	40	2.561
15	70	1:30	40	2.593
16	70	1:30	40	2.577
17	70	1:30	40	2.587

表 5 方差分析结果

Tab. 5 Results for analysis of variance

来源	均方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.87	9	0.096	227.22	<0.000 1
A	0.014	1	0.014	32.49	0.000 7
B	0.009 067	1	0.009 067	21.40	0.002 4
C	0.096	1	0.096	226.54	<0.000 1
AB	0.003 711	1	0.003 711	8.76	0.021 1
AC	0.004 171	1	0.004 171	9.84	0.016 4
BC	0.16	1	0.16	386.30	<0.000 1
A ²	0.18	1	0.18	419.05	<0.000 1
B ²	0.32	1	0.32	750.82	<0.000 1
C ²	0.031	1	0.031	73.83	<0.000 1
残差	0.002 966	7	0.000 423 7	—	—
失拟项	0.002 366	3	0.000 778 8	4.95	0.078 2
纯误差	0.000 629 3	4	0.000 157 3	—	—
总差	0.87	16	—	—	—

为 2.633%,基于现实操作情况结合取量方便,同时考虑时间、能耗等因素,将其修正为甲醇体积分数 70%、料液比 1:30、超声时间 35 min。按上述优化工艺进行 3 批验证试验,结果见表 6,可知该工艺稳定可行。



注：A、B、C、Y 分别为甲醇体积分数、料液比、超声时间、提取率。

图 2 各因素响应面图
Fig. 2 Response surface plots for various factors

表 7 水分测定结果			
Tab. 7 Results for water determination			
编号	产地	水分/%	RSD/%
S1	对照药材	5.15	2.19
S2	河南	6.36	1.61
S3	湖北	6.10	2.17
S4	湖北蕲春	6.10	1.89
S5	湖北宜昌	7.66	3.79
S6	湖南	6.94	1.46
S7	福建	7.60	2.44
S8	贵州	7.35	1.65
S9	江苏	7.58	2.51
S10	山东	7.62	2.43
S11	山西	6.87	1.52
S12	四川	6.43	3.04
S13	四川达州	7.92	1.24

批次五加皮明显不同，而与香加皮在相应位置上显示相同颜色斑点，推测两者为混淆品香加皮。

2.4 HPLC 法

2.4.1 对照品溶液制备 精密称取绿原酸、1，3-二咖啡酰奎宁酸、1，5-二咖啡酰奎宁酸对照品各 5.00 mg，置于 5 mL 量瓶中，甲醇溶解并定容至刻

表 6 验证试验结果 (n=3)			
Tab. 6 Results for verification tests (n=3)			
试验号	提取率/%	平均提取率/%	相对误差/%
1	2.626	2.636	0.114
2	2.642		
3	2.641		

2.1.3 供试品溶液制备 精密称取药材粉末（过 4 号筛）1 g，置于具塞锥形瓶中，加入 30 mL 70% 甲醇，超声（功率 300 W，频率 40 kHz）处理 35 min，放冷，70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

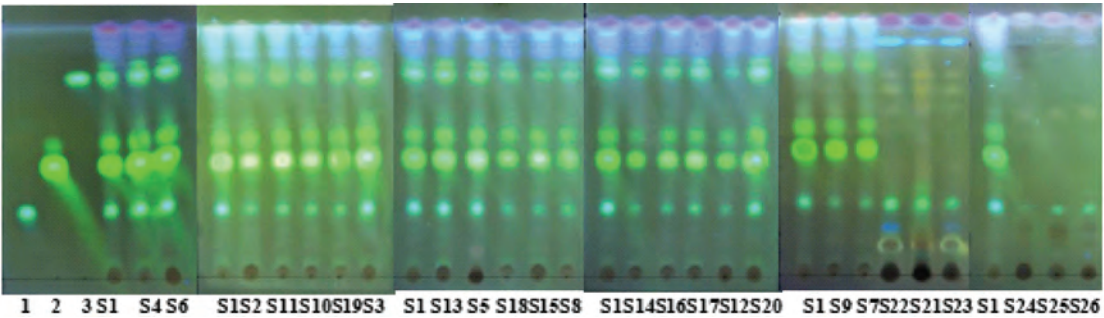
2.2 水分测定 采用水分测定仪，结果见表 7，可知均符合 2025 年版《中国药典》规定（不超过 12.0%）。

2.3 TLC 定性鉴别 将供试品溶液过滤后取 5 mL，蒸干，残渣加入 1 mL 甲醇溶解。按照 2025 年版《中国药典》薄层色谱法（通则 0502），吸取上述溶液及对照品溶液各 1 μL，点于同一硅胶薄层板上，以乙酸乙酯-甲酸-水（30：2：2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，105 ℃ 加热至斑点显色清晰，于紫外光灯（365 nm）下检视，结果见图 3。由此可知，药材、对照品相应位置显示相同颜色斑点，分离度良好，即以绿原酸、1，3-二咖啡酰奎宁酸、1，5-二咖啡酰奎宁酸为指标时专属性更强；S21、S22 与其他

表 7 水分测定结果			
Tab. 7 Results for water determination			
编号	产地	水分/%	RSD/%
S14	云南	7.61	0.27
S15	安徽	6.72	1.69
S16	广东	7.92	1.60
S17	广西	7.46	1.52
S18	黑龙江	7.16	2.73
S19	陕西	7.99	2.25
S20	浙江	6.43	0.41
S21	甘肃	7.61	2.18
S22	辽宁	6.98	0.00
S23	山西	6.87	1.63
S24	黑龙江	5.75	1.76
S25	黑龙江	6.37	2.22
S26	河北	6.15	1.65

度，即得。

2.4.2 色谱条件 ChromCore AQ C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 0.1% 甲酸（A）-甲醇（B），梯度洗脱（0~10 min，10%~20% B；10~35 min，20%~40% B；35~47 min，40%~48% B；47~50 min，48%~76% B）；体积流



注：1~3 分别为绿原酸、1，3-二咖啡酰奎宁酸、1，5-二咖啡酰奎宁酸。S1~S22 为五加皮，S23 为香加皮，S24~S25 为刺五加，S26 为红毛五加。

图 3 五加皮 TLC 色谱图
Fig. 3 TLC chromatogram of *Acanthopanax Cortex*

量 1.0 mL/min；柱温 35 ℃；检测波长 254 nm；进样量 10 μL。

2.4.3 精密度试验 取“2.4.1”项下对照品溶液适量，在“2.4.2”项色谱条件下进样测定 6 次，测得绿原酸、1，3-二咖啡酰奎宁酸、1，5-二咖啡酰奎宁酸峰面积 RSD 分别为 0.17%、0.51%、0.22%，表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批药材（批号 20170201）6 份，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.4.2”项色谱条件下进样测定，测得绿原酸、1，3-二咖啡酰奎宁酸、1，5-二咖啡酰奎宁酸峰面积 RSD 分别为 1.04%、0.71%、0.73%，表明该方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液（批号

20170201）10 μL，于 0、2、4、6、8、12、24、48、72 h 在“2.4.2”项色谱条件下进样测定，测得绿原酸、1，3-二咖啡酰奎宁酸、1，5-二咖啡酰奎宁酸峰面积 RSD 分别为 0.52%、1.23%、1.42%，表明溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.5 HPLC 指纹图谱建立 取 26 批药材粉末（过 4 号筛），按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.4.2”项色谱条件下进样测定，将相关数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012A 版），以 S1 为参照，采用多点校正法进行全谱峰匹配分析，建立指纹图谱，见图 4，可知有 28 个共有峰，与对照品比对后指认出 3 个，分别为绿原酸（峰 1）、1，3-二咖啡酰奎宁酸（峰 2）、1，5-二咖啡酰奎宁酸（峰 3）。

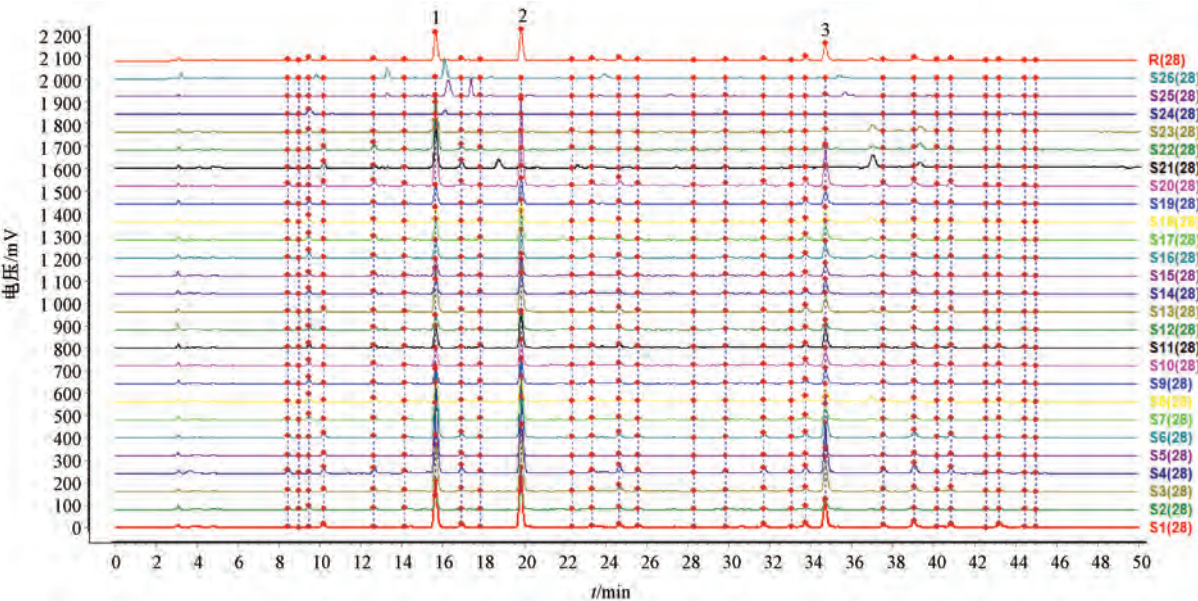


图 4 26 批五加皮及其混淆品 HPLC 指纹图谱
Fig. 4 HPLC fingerprints for 26 batches of *Acanthopanax Cortex* and its adulterants

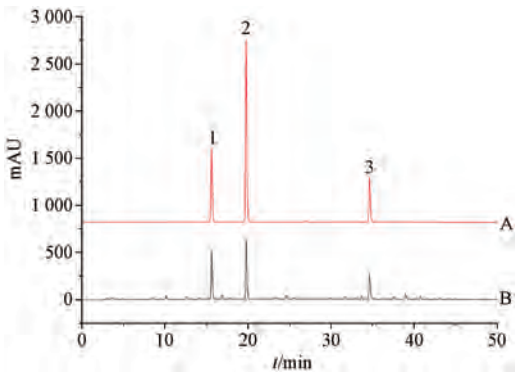
再进行相似度评价，结果见表 8。由此可知，26 批药材相似度在 0.217~0.992 范围内，除 S21 (0.689)、S22 (0.645) 外，均大于 0.9，表明其整体质量较稳定；混淆品（S21~S26）与正品（S1~S20）相似度差异较大，与“2.3”项下结果一致。

表 8 相似度测定结果
Tab.8 Results for similarity determination

编号	产地	相似度(参照)	相似度(对照)	编号	产地	相似度(参照)	相似度(对照)
S1	对照药材	1.000	0.991	S14	云南	0.943	0.974
S2	河南	0.963	0.987	S15	安徽	0.952	0.981
S3	湖北	0.988	0.988	S16	广东	0.956	0.970
S4	湖北蕲春	0.993	0.983	S17	广西	0.958	0.976
S5	湖北宜昌	0.986	0.969	S18	黑龙江	0.942	0.974
S6	湖南	0.995	0.992	S19	陕西	0.958	0.983
S7	福建	0.941	0.973	S20	浙江	0.991	0.990
S8	贵州	0.933	0.968	S21	甘肃	0.671	0.684
S9	江苏	0.955	0.977	S22	辽宁	0.637	0.654
S10	山东	0.954	0.979	S23	山西	0.663	0.687
S11	山西	0.954	0.977	S24	黑龙江	0.143	0.217
S12	四川	0.969	0.987	S25	黑龙江	0.400	0.468
S13	四川达州	0.993	0.988	S26	河北	0.508	0.569

2.6 含量测定

2.6.1 色谱图 见图 5。



注：A、B 分别为对照品、供试品。

1. 绿原酸 2. 1, 3-二咖啡酰奎宁酸 3. 1, 5-二咖啡酰奎宁酸
1. chlorogenic acid 2. 1, 3-dicaffeoylquinic acid 3. 1, 5-dicaffeoylquininic acid

图 5 各成分 HPLC 色谱图

Fig.5 HPLC chromatograms of various constituents

表 9 各成分线性关系

Tab.9 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	R ²	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
绿原酸	$Y=11\ 768X+79\ 339$	0.999 7	27.99~600.00
1,3-二咖啡酰奎宁酸	$Y=18\ 091X+70\ 945$	0.999 8	46.66~1 000.00
1,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=13\ 805X+81\ 270$	0.999 8	27.99~600.00

由此可知，S4 中各成分含量最高，S2 中绿原酸、1, 3-二咖啡酰奎宁酸含量最低，S5 中 1, 5-二咖啡酰奎宁酸含量最低；各成分平均含量分别为 0.43、0.31、0.36 mg/g，平均总含量为 1.10 mg/g。

取 30 批饮片，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.4.2”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表 10。由此可知，S004 中各成分含量最高，S027 中绿原酸含量最低，S009 中 1,

3-二咖啡酰奎宁酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸含量最低; 各成分平均含量分别为 0.54、0.40、0.44 mg/g, 平均总含量为 1.39 mg/g。以总含量不少于

0.88 mg/g 为标准, 发现 19 批饮片合格, 合格率为 63%。

表 10 各成分含量测定结果 (mg/g, n=2)

Tab. 10 Results for content determination of various constituents (mg/g, n=2)

编号	绿原酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	1,5-二咖啡酰奎宁酸	编号	绿原酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	1,5-二咖啡酰奎宁酸
S1	0.69	0.43	0.42	S11	0.31	0.25	0.40
S2	0.18	0.13	0.18	S12	0.21	0.15	0.18
S3	0.66	0.54	0.58	S13	0.63	0.38	0.29
S4	1.33	1.03	0.86	S14	0.20	0.16	0.25
S5	0.30	0.22	0.11	S15	0.23	0.17	0.24
S6	1.05	0.56	0.64	S16	0.24	0.26	0.29
S7	0.24	0.16	0.28	S17	0.29	0.25	0.35
S8	0.26	0.17	0.31	S18	0.20	0.14	0.23
S9	0.20	0.18	0.23	S19	0.27	0.18	0.30
S10	0.24	0.18	0.28	S20	0.94	0.73	0.75
S001	0.27	0.16	0.20	S016	0.35	0.33	0.32
S002	0.84	0.56	0.57	S017	0.32	0.27	0.29
S003	0.26	0.17	0.19	S018	0.86	0.71	0.64
S004	1.21	0.54	0.66	S019	0.31	0.26	0.29
S005	0.24	0.15	0.17	S020	0.92	0.66	0.72
S006	0.84	0.43	0.58	S021	0.82	0.55	0.72
S007	0.32	0.24	0.23	S022	0.17	0.18	0.20
S008	0.70	0.43	0.51	S023	0.23	0.22	0.24
S009	0.20	0.14	0.15	S024	0.61	0.55	0.63
S010	0.82	0.50	0.54	S025	0.69	0.54	0.54
S011	0.37	0.31	0.35	S026	0.27	0.25	0.29
S012	0.75	0.60	0.61	S027	0.15	0.14	0.19
S013	0.43	0.36	0.37	S028	0.69	0.63	0.62
S014	0.78	0.56	0.57	S029	0.72	0.66	0.68
S015	0.83	0.72	0.80	S030	0.30	0.27	0.32

3 讨论

本实验首先比较了流动相乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸、甲醇-0.1% 磷酸、甲醇-0.1% 乙酸, 发现以乙腈洗脱时各成分色谱峰存在基线不平稳的问题, 而以甲醇洗脱时基线较平, 并且加入甲酸后可降低色谱峰拖尾, 效果优于磷酸和乙酸, 以 0.1% 最佳。然后, 比较了检测波长 210、254、280 nm, 发现 254 nm 为各成分最大吸收波长, 无杂峰干扰。再比较了 Waters XBridge C₁₈、WondaSil C₁₈、ChromCore AQ C₁₈ 色谱柱, 发现在 ChromCore AQ C₁₈ 色谱柱上, 各成分色谱峰峰形及分离度更优。接着, 比较了体积流量 0.6、0.8、1.0、1.2 mL/min, 发现在 1.0、1.2 mL/min 下各成分峰形及分离度更优, 并且前者柱压更低。最后, 比较了柱温 25、30、35、40 ℃, 发现在 35 ℃ 下各成分色谱峰峰形及分离度更优。

奎宁酸类成分绿原酸、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸均具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗糖尿病、抗肿瘤、保肝、神经保护等作用^[18-22], 并且本实验发现混淆品中无 1, 3-二咖啡酰奎宁酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸, 故三者具有一定专属性。本实验对五加皮中各成分含量进行分析, 发现不同产地药材中三者差异较大, 可能与生长环境有关; 20 批药材中其平均总含量为 1.10 mg/g, 符合 2025 年版《中国药典》规定, 并且 30 批饮片大多数也符合, 故可对市场流通者进行质量分级。

4 结论

本实验所建立的 TLC 定性鉴别方法和 HPLC 指纹图谱可快速、简便地用于五加皮真伪鉴别, 而含量测定方法可对该药材质量优劣进行判定, 为其质量控制提供了参考。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 67-68.

[2] Lu M X, Yang Y, Zou Q P, *et al.* Anti-diabetic effects of acankoreagenin from the leaves of *Acanthopanax gracilistylus* herb in RIN-m5F cells *via* suppression of NF-κB activation[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 958.

[3] Li X J, Zou Q P, Wang X, *et al.* Lupane triterpenes from the leaves of *Acanthopanax gracilistylus*[J]. *Molecules*, 2018, 23(1): 87.

[4] 吴宝成, 韦 敏, 吕 晔, 等. 细柱五加研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(22): 7391-7394; 7544.

[5] 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.

[6] 鲁曼霞, 杨 阳, 李小军, 等. 细柱五加叶水提物降糖和抗氧化作用研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(11): 2597-2599.

[7] 王东哈, 梁宇飞, 张欣欣, 等. 不同产地五加皮药材 UPLC 指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 138-143.

[8] 杨玲霞, 马 潇, 马怡荣. 《中国药典》2020 年版收载五加皮和当归质量标准【鉴别】项的商榷[J]. 中国药品标准, 2021, 22(1): 43-46.

[9] Yang H D, Tang Z S, Xue T T, *et al.* Acyl-quinic acids from the root bark of *Acanthopanax gracilistylus* and their inhibitory effects on neutrophil elastase and cyclooxygenase-2 *in vitro*[J]. *Bioorg Chem*, 2023, 140: 106798.

[10] Maruta Y, Kawabata J, Niki R. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock (*Arctium lappa* L.) [J]. *J Agric Food Chem*, 1995, 43(10): 2592-2595.

[11] Xiang T, Xiong Q B, Ketut A I, *et al.* Studies on the hepatocyte protective activity and the structure-activity relationships of quinic acid and caffeic acid derivatives from the flower buds of *Lonicera bournei*[J]. *Planta Med*, 2001, 67(4): 322-325.

[12] Xu D L, Wang Q C, Zhang W Q, *et al.* Inhibitory activities of caffeoylquinic acid derivatives from *Ilex kudingcha* C. J. Tseng on α-glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(14): 3694-3703.

[13] Kurata R, Adachi M, Yamakawa O, *et al.* Growth suppression of human cancer cells by polyphenolics from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves[J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(1): 185-190.

[14] Ooi L S M, Wang H, He Z D, *et al.* Antiviral activities of purified compounds from *Youngia japonica* (L.) DC (Asteraceae, Compositae) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 106(2): 187-191.

[15] Zhu X F, Zhang H X, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(24): 7272-7278.

[16] Smith P, Ho C K, Takagi Y, *et al.* Nanomolar inhibitors of *Trypanosoma brucei* RNA triphosphatase[J]. *MBio*, 2016, 7(1): e00058-16.

[17] Tian X, An L, Gao L Y, *et al.* Compound MQA, a caffeoylquinic acid derivative, protects against NMDA-induced neurotoxicity and potential mechanisms *in vitro*[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(7): 575-584.

[18] Ela M A A, El-Lakany A M, Abdel-Kader M S, *et al.* New quinic acid derivatives from hepatoprotective *Inula crithmoides* root extract[J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(1): 61-66.

[19] Danino O, Gottlieb H E, Grossman S, *et al.* Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*[J]. *Food Res Inter*, 2009, 42(9): 1273-1280.

[20] Gu R L, Dou G F, Wang J, *et al.* Simultaneous determination of 1, 5-dicaffeoylquinic acid and its active metabolites in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for pharmacokinetic studies[J]. *J Chromato B*, 2007, 852(1/2): 85-91.

[21] Zhang J, Sasaki T, Li W, *et al.* Identification of caffeoylquinic acid derivatives as natural protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from *Artemisia princeps*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(7): 1194-1197.

[22] 曹 旭, 肖海兵, 李 慧, 等. 1, 5-二咖啡酰奎宁酸对 MPP⁺所致 PC12 细胞损伤的保护作用[J]. 华中科技大学学报 (医学版), 2010, 39(4): 435-438; 465.