

培育年限对刺五加主要药用活性成分的影响

徐明远¹ 王谦博² 郭盛磊^{1,4} 王莹威¹ 李凤霞¹ 刘佳³ 唐中华³ 王振月^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学 哈尔滨 150040 ;2. 广东药科大学附属第一医院药学部, 广州 510000 ;3. 东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室 哈尔滨 150040 ;4. 黑龙江珍宝岛药业股份有限公司博士后科研工作站 哈尔滨 150040)

摘要 为评价不同培育年限对刺五加根、茎部多种活性成分积累的共同影响,对提高刺五加培育和高值利用具有重要作用,可为规范化种植和合理开发利用刺五加提供理论依据。采集同一产地三年生、五年生、九年生刺五加为实验样本,运用超高效液相色谱系统(Ultra-Performance LC, Waters, Japan)分析不同培育年限对刺五加根、茎中槲皮苷、金丝桃苷、芦丁、紫丁香苷、刺五加苷 E、异嗪皮啶 6 种活性成分含量的同时影响。结果表明,五年生刺五加根、茎中 6 种主要活性成分的综合得分最高。其中,黄酮类成分槲皮苷在三年生根中含量最高,在五年生茎中含量最高;芦丁在五年生根及茎中含量均最高,在根中三年生含量最低,九年生茎中含量最低;金丝桃苷在五年生根及三年生茎中含量最高。苯丙素类成分异嗪皮啶在三年生根及茎中含量最高,在五年生根和茎中含量最低;紫丁香苷在九年生根中含量最高,在五年生茎中含量最高;刺五加 E 在五年生根中含量最高,在三年生茎中含量最高。不同药用成分在不同生长阶段的刺五加根和茎中积累不同,定向培育可根据目的活性成分选择适合的采收年限。

关键词 刺五加 生长阶段 次生代谢产物 液质联用 采收期

中图分类号: Q949.763.2 文献标志码: A doi: 10.7525/j.issn.1673-5102.2019.02.017

Effects of Different Growth Stages on Secondary Metabolites of *Acanthopanax senticosus*

XU Ming-Yuan¹ WANG Qian-Bo² GUO Sheng-Lei^{1,4} WANG Ying-Wei¹ LI Feng-Xia¹
LIU Jia³ TANG Zhong-Hua³ WANG Zhen-Yue^{1*}

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040 ;2. The First Affiliated Hospital of Clinical Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000 ;3. Key Laboratory of Plant Ecology, Northeast Forestry University, Harbin 150040 ;4. Postdoctoral research station, Heilongjiang zhenbaodao pharmaceutical co., LTD, Harbin 150040)

Abstract The common influence of different cultivation years on the accumulation of various active components in the root and stem of *Acanthopanax senticosus* was evaluated. It was important for raising the cultivation and high value utilization of *A. senticosus*. It provide a theoretical basis for standardized planting and rational exploitation and utilization of *A. senticosus*. The *A. senticosus* of different growth stage was collected from the same origin, and the Ultra-Performance LC(Waters, Japan) was used to analyze different growth stages of six secondary metabolites in the *A. senticosus* roots and stems. The total score of six main active components in root

基金项目: 十三五·五国家重点研发计划(2016YFC0500303) — 东北森林区道地林药资源生态开发利用技术与示范; 黑龙江省国家科技重大专项和重点研发项目省级资助(GX17C006); 黑龙江省中医药科研项目(ZHY18-009); 黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z17208)

第一作者简介: 徐明远(1980—), 男, 博士研究生, 主要从事中药资源与开发利用。

* 通信作者

收稿日期 2018-08-27

Foundation item: The National Key Research and Development Program of China(2016YFC0500303); Heilongjiang Province Foundation for The National Key Research and Development Program of China(GX17C006); Heilongjiang traditional Chinese medicine research project(ZHY18-009); Post-Doctoral Foundation of Heilongjiang Province of China(LBH-Z17208)

First author introduction: XU Ming-Yuan(1980—), male doctor, Mainly engaged in the development and utilization of traditional Chinese medicine resources.

* Corresponding author

Received date 2018-08-27

and stem of *A. senticosus* was the highest in five years. Among them , quercetin has the highest content in three-year rooting and the highest content in five-year stem ; rutin has the highest content in five year roots and stems , the lowest in three-years in root and lowest in nine-year stem ; Hyperoside is the highest in five-year root and three-year stem. The content of isofraxidin in three year root and stem is the highest , and the content of root and stem is the lowest in five years. The content of syringin is the highest in nine-year root and in five-year stem. The highest content of eleutheroside e in the five-year rooting is the highest in the three-year stem. Different medicinal ingredients accumulated differently in roots and stems of *A. senticosus* in different cultivation years and targeted cultivation could select suitable harvest years according to the active components.

Key words *Acanthopanax senticosus* ; growth stage ; secondary metabolite ; UPLC-MS ; picking time

刺五加(*Acanthopanax senticosus*(Rupr. Maxim.) Harms)为五加科(Araliaceae)五加属(*Acanthopanax*)多年生落叶无性系灌木 ,主要分布于中国东北部、朝鲜、日本、俄罗斯及西伯利亚一带 ,又名西伯利亚参、五加参、刺拐棒、一百针、老虎潦等。《中华人民共和国药典》(2015 版)规定其干燥根及根茎或茎可入药 ,具有健脾、安神、补肾、祛风湿等功效^[1]。现代药理学实验证明刺五加具有保护神经元和心脑血管、抗衰老、抗氧化、抗肿瘤、降血糖及免疫调节作用等多种功效^[2]。刺五加自然更新周期约十年以上 ,随着刺五加片、刺五加饮料等以刺五加为原料的产品远销国内外 ,其天然资源面临濒危、枯竭 ,1992 年《中国植物红皮书》中将其列为渐危物种 ,需大力发展人工栽培。

近年来 ,药用植物生长年限对其次生代谢产物的影响备受学者重视。李心怡、殷少文等对不同培育年限对川桔梗、青钱柳等药用植物活性成分影响研究表明 ,药用植物在不同生长年限次生代谢产物含量变化差异较大^[3-4]。为此 ,可根据临床用药和中药制剂需求有选择性地确定采收年限 ,对中药材合理开发利用具有重要的意义。

刺五加中含有丰富的化学成分 ,主要包括黄酮类、简单苯丙素类、有机酸类、香豆素类、三萜皂苷类、氨基酸类以及其他类化合物^[2]。目前 ,对于刺五加活性成分的研究主要集中在苯丙素类成分 ,包括紫丁香苷、异嗪皮啶以及刺五加苷 E^[5-7] ,它们是刺五加抗疲劳、调节免疫的药效物质基础^[8]。其中 ,紫丁香苷是中国药典中规定的质控指标成分^[1]。刺五加中也具有调节免疫、抗病毒、清除自由基等多方面的药理作用的黄酮类化合物 ,包括槲皮苷、芦丁、金丝桃苷^[9-10]。目前 ,对于不同培育年限对刺五加次生代谢产物影响的报道不多 ,王振月、张萍等对不同生长年限刺五加中异嗪皮啶含量 ,王振月等对不同生长年限刺五加中

总黄酮含量进行了研究 ,研究表明 ,不同生长年限刺五加中异嗪皮啶、总黄酮含量显示出显著的差异^[11-12]。由于还没有关于对苯丙素、黄酮类次生代谢产物的综合研究 ,故单一成分不能全面反映年限对于刺五加次生代谢产物积累的影响。

因此 ,本研究收集同一产地不同生长阶段刺五加 ,观察根部及茎部主要药用次生代谢物含量变化 ,以期揭示不同培育年限对刺五加苷 E、槲皮苷、芦丁、异嗪皮啶、紫丁香苷、金丝桃苷 6 种主要药用活性成分的影响 ,对确定人工栽培刺五加采收年限及实际生产具有指导意义。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与amp;材料

API3000 高效液相—质谱联用仪(配有电喷雾电离源(ESI)及 Analyst1.4 数据处理系统)美国 AB 公司 ;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。

三年生、五年生、九年生种植刺五加根、茎采于黑龙江省七台河市 ,实验前用粉碎机粉碎 ,粉末过 20 目筛备用 ;刺五加苷 E、槲皮苷、芦丁、异嗪皮啶、紫丁香苷、金丝桃苷(纯度均≥98%)标准品购于中国药品生物制品检定所 ;色谱甲醇、乙腈购于北京百灵威公司 ;色谱甲酸购于美国 Sigma 公司 ;去离子水用超纯水仪自制。

1.2 实验方法

1.2.1 供试样品溶液的制备

取刺五加粉末 0.5 g ,加入甲醇 20 mL 超声提取(100 kHz 40℃)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。

1.2.2 标准样品溶液的制备

分别称取适量标准品用色谱甲醇溶解、定容 ,

配制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 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。

1.2.3 色谱条件

采用超高效液相色谱系统(Ultra-Performance LC, Waters, Japan); Agilent Eclipse XDB-C18 柱 ($150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm} \ 5 \ \mu\text{m}$); 柱温 25°C ; 进样量为 $10 \ \mu\text{L}$; 流动相为水和甲醇,流速保持在 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。梯度洗脱程序为:最初 $0 \sim 1.5 \text{ min}$ 25% 甲醇, $1.5 \sim 2 \text{ min}$ 25% ~ 50% 甲醇, $2 \sim 4 \text{ min}$ 50% 甲醇, $4 \sim 4.5 \text{ min}$ 50% ~ 90% 甲醇, $4.5 \sim 5.5 \text{ min}$ 90% 甲醇, $5.5 \sim 6 \text{ min}$ 90% ~ 25% 甲醇, $6 \sim 7 \text{ min}$ 25% 甲醇。

1.2.4 质谱条件

采用电喷雾离子源(Electrospray ionization, ESI),负离子扫描、多离子反应监测(Multiple reaction monitoring, MRM)扫描方式。优化后最终的质谱条件:电喷雾离子源喷雾电压为 5500 V ,离子源雾化温度为 500°C ,雾化气压为 25 psi ,气帘气压为 20 psi 。紫丁香苷 m/z $394.8 \rightarrow 231.8$,去簇电压 70 V ,碰撞电压 40 V ,碰撞室射出电压 17 V ;刺五加苷 E m/z $765.3 \rightarrow 603.1$,去簇电压 70 V ,碰撞电压 62 V ,碰撞室射出电压 23 V ;异嗪皮啶 m/z $223.1 \rightarrow 206.3$,去簇电压 60 V ,碰撞电压 40 V ,碰撞室射出电压 9 V ;芦丁 m/z $611.1 \rightarrow 464.8$,去簇电压 80 V ,碰撞电压 20 V ,碰撞室射出电压 13 V ;槲皮苷 m/z $449.2 \rightarrow 303$,去簇电压 50 V ,碰撞电压 16 V ,碰撞室射出电压 17 V ;金丝桃苷 m/z $487 \rightarrow 324$,去簇电压 70 V ,碰撞电压 43 V ,碰撞室射出电压 17 V 。

1.3 数据处理与分析

实验设置 3 个平行,数据测定均重复 3 次,利用 SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 软件进行主成分分析,计算主成分的综合得分 Q 值,用 Q 值反映培育年限对刺五加主要 6 种活性成分的综合影响。培育年限影响的差异采用 SPSS 单因素方差分析,并进行 t 检验,当 $P < 0.05$ 时认为具有统计学意义。

Q 值的计算公式如下:

$$F_1 = \alpha_{11}X_1 + \alpha_{12}X_2 + \alpha_{13}X_3 \quad (1)$$

$$F_2 = \alpha_{22}X_1 + \alpha_{22}X_2 + \alpha_{23}X_3 \quad (2)$$

$$F_p = \alpha_{p1}X_1 + \alpha_{p2}X_2 + \alpha_{p3}X_3 \quad (3)$$

$$Q = (\lambda_1 F_1 + \lambda_2 F_2 + \dots + \lambda_p F_p) / (\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_p) \quad (4)$$

式中, F_p ($p = 1, 2, \dots, 3$) 为主成分得分; $\alpha_{p1}, \alpha_{p2}, \dots, \alpha_{p3}$ 为主成分表达矩阵系数(Component score coefficient),其被计算为主成分加载向量(在分量矩阵中)除以对应特征值的平方根(在所解释的总方差中); X 是通过标准化的原始变量的值; λ 是初始特征值方差的比例。

2 结果与分析

2.1 不同培育年限对刺五加 6 种活性成分的综合影响

通过 SPSS 软件进行主成分分析,用主成分综合得分(Q 值)说明不同培育年限刺五加根及茎中 6 种主要药用次生代谢物含量变化(图 1)。6 种次生代谢产物的累积在根和茎中均显示出五年生最高,在根中,九年生的积累大于三年生,在茎中则显示出三年生大于九年生。

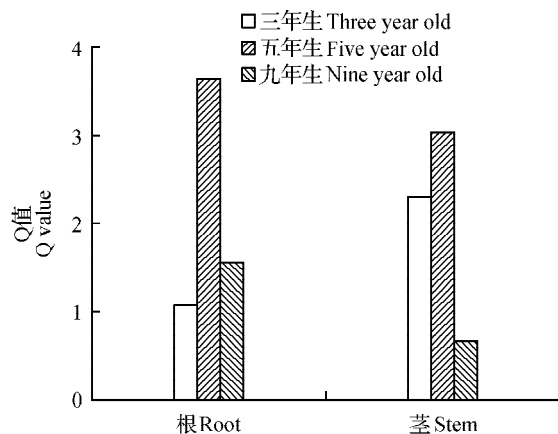


图 1 不同培育年限对刺五加根、茎中次生代谢物累积的影响

Fig.1 Effects of different growth years on the accumulation of secondary metabolites in roots and stems of *A. senticosus*

2.2 3 种苯丙素类活性成分在不同培育年限的积累

由图 2,紫丁香苷的含量在刺五加根中随年限增加而上升,九年生根的含量显著大于其他年限 ($P < 0.05$)。紫丁香苷的含量在刺五加茎中随年限增加显示出先上升后下降,其含量在五年生茎中显著大于其他年限 ($P < 0.05$),三年生显著大于九年生 ($P < 0.05$)。紫丁香苷在三年生刺五加根、茎中含量无显著性差异,五年生茎中含量显著高于五年生根,九年生根中含量显著高于九年生茎。

刺五加苷 E 的含量在刺五加根中随年限的增加,显示出先上升后下降,五年生大于三年生和九

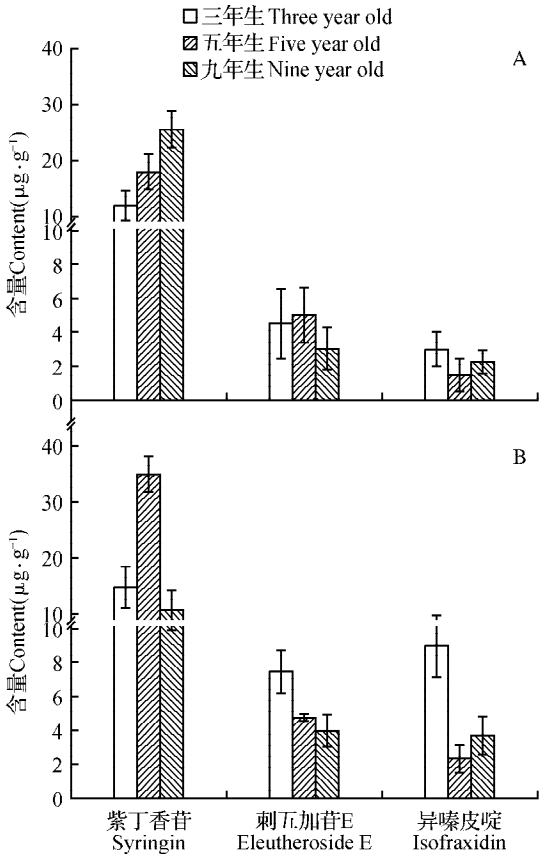


图2 不同生长阶段苯丙素类成分在刺五加根及茎中的累积情况 A. 根 B. 茎

Fig. 2 Accumulation of phenylalanine in roots and stems of *A. senticosus* at different growth stages A. Root B. Stem

年生 ($P < 0.05$)。刺五加苷 E 的含量在刺五加茎中随年限增加而下降, 三年生大于五年生和九年生 ($P < 0.05$)。不同年限根和茎的含量比较可以看出, 三年生茎含量显著高于三年生根, 五年生和九年生根和茎中刺五加苷 E 含量无显著性差异。

刺五加根和茎中异嗪皮啶含量的变化存在相同的趋势, 二者都在三年生含量最高, 五年生含量最低。其中, 在根中三年生和九年生含量无显著性差异, 均高于五年生。异嗪皮啶在三年生刺五加茎中含量显著高于五年生和九年生 ($P < 0.05$), 九年生大于五年生, 二者无显著性差异。异嗪皮啶在不同部位中的累积结果显示, 三年生和九年生茎的含量显著大于根, 五年生根和茎含量无显著性差异。

2.3 3 种黄酮类活性成分在不同培育年限的积累

由图3可知, 刺五加根和茎中芦丁的含量随着年限的增加而显示出先上升后下降的趋势, 其

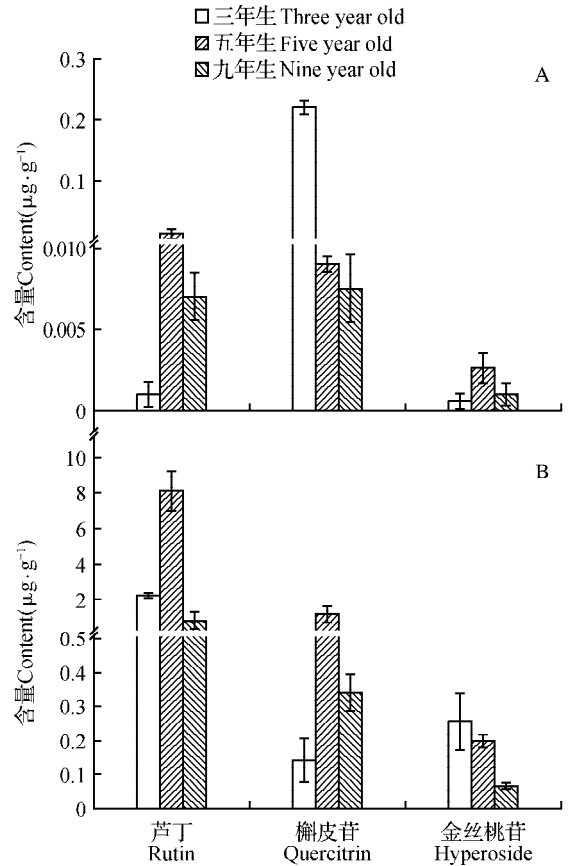


图3 不同生长阶段黄酮类成分在刺五加根及茎中的累积情况 A. 根 B. 茎

Fig. 3 Accumulation of flavonoids in roots and stems of *A. senticosus* at different growth stages A. Root B. Stem

中五年生芦丁含量显著高于三年生和九年生 ($P < 0.05$)。五年生刺五加根中芦丁含量大于三年生, 五年生刺五加茎中芦丁的含量大于九年生。在不同部位中的积累, 三年生根和茎无显著性差异, 五年生茎显著大于根, 九年生根显著大于九年生茎。各培育年限茎中芦丁的含量均显著高于根。

槲皮苷在刺五加根的含量随着培育年限的增加而降低, 三年生含量显著高于五年生和九年生 ($P < 0.05$)。在刺五加茎中, 槲皮苷含量随着培育年限的增加表现出先上升后下降的趋势, 其含量在五年生茎中显著高于三年生和九年生 ($P < 0.05$), 且九年生含量大于三年生。槲皮苷在三年生根和茎中含量无显著性差异, 五年生及九年生的茎中含量显著高于根。

金丝桃苷的含量在刺五加根中随培育年限增加显示出先上升后下降, 其含量在五年生根中显著高于其他年限 ($P < 0.05$), 且九年生含量大于三

年生。在刺五加茎中,金丝桃苷的含量随培育年限升高而降低,三年生茎中含量显著高于其他年限($P < 0.05$)。各培育年限茎中金丝桃苷的含量均显著高于根。

3 讨论

3.1 苯丙素类成分在不同培育年限的积累及其最佳采收年限

苯丙素类成分是刺五加中的主要活性成分,该类成分是刺五加的主要药效物质基础^[13]。紫丁香苷是刺五加中的主要药用成分之一,有保护心血管^[2]、抗肿瘤^[14]及保护肾脏^[15]等功效。本研究结果显示,紫丁香苷在五年生茎中累积含量最高,其次为九年生根,考虑到种植成本,获得紫丁香苷的最佳采收年限为五年。刺五加苷 E 具有治疗糖尿病^[16]、镇静催眠^[17]、促进学习和记忆^[18]、抗炎性反应^[19]等药理活性,是刺五加的重要药用活性成分。本研究结果显示,刺五加苷 E 在三年生茎中含量最高,其次为五年生根,考虑到三年生根和五年生根刺五加苷 E 含量并无显著性差异,收获刺五加苷 E 可考虑在三年采收。异嗪皮啶具有抗肿瘤^[20~21]、抗炎及抗感染^[22~23]等药理活性。本研究结果显示,异嗪皮啶在三年生根和茎中累积含量最高,故可考虑在三年采收根和茎,以获得最高含量的异嗪皮啶。

3.2 黄酮类成分在不同培育年限的积累及其最佳采收年限

黄酮类成分也是刺五加中具有药理活性的一类成分,同样可发挥许多药效。芦丁是一种常见的黄酮类成分,它存在于多种药用植物当中^[24~26],具有抗菌消炎^[26]、抗氧化^[27]等药理活性。本研究结果显示,芦丁在五年生刺五加根和茎中的含量最高,故其最佳采收期为五年。槲皮苷具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗肿瘤及抗癌等广泛的药理活性^[28]。本研究结果显示槲皮苷在五年生茎中含量最高,其次为三年生根,但考虑茎中槲皮苷含量远高于根,故以槲皮素含量为依据,刺五加最佳采收年限为五年。金丝桃苷是药用植物中常见的一种黄酮类次生代谢物,金丝桃苷具有抗急性肝损伤、抗抑郁、抗炎症、抗血栓、抗癌、抗菌、抗氧化应激和抗细胞凋亡等药理作用^[29]。研究结果表明,金丝桃苷在三年生刺五加茎中含量最高与五年生无显著性差异,在五年生根中含量显著高于其他年限。由于茎中金丝桃苷含量远大于根,

故根据不同生长阶段茎中含量确定培育年限为三年。根据刺五加中黄酮类成分累积规律,获得黄酮类成分的最佳采收年限为五年。

4 结论

本研究发现刺五加根和茎中 6 种主要药用次生代谢产物含量在不同生长阶段具有明显差异(SPSS 软件差异性分析 3 个生长阶段对刺五加根和茎中主要药用次生代谢产物含量差异较显著 $P < 0.05$) 通过主成分分析(Q 值) 综合分析 6 种药用次生代谢产物在不同培育年限及不同部位的累积情况,结果显示五年生刺五加根和茎中 6 种药用成分的综合得分最高。紫丁香苷、金丝桃苷、槲皮苷的最佳采收年限为五年,刺五加苷 E、异嗪皮啶、金丝桃苷的最佳采收年限为三年。研究对不同培育年限刺五加根和茎中 6 种药用次生代谢产物在不同年限的积累做了初步的研究,可为建立更高效且节约资源的人工培植刺五加模式提供理论依据。由于实验样本仅采集七台河单一产地刺五加,不能反映不同产地间及种质间的差异,有一定的局限性。进一步研究将探索不同产地及培育年限主要次生代谢物含量变化情况,为中药材生产实施种植刺五加确定最佳采收年限及采收期提供理论依据。

参 考 文 献

1. 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
National Committee of Chinese Pharmacopoeia. The Pharmacopoeia of the People's Republic of China[M]. Chemical Industry Press Beijing 2015.
2. 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.
Bai X, Hu W Z, Jiang A L, et al. Research advance on main active substance and pharmacological action of *Acanthopanax* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(6) 396 - 399.
3. 李心怡, 陈玲, 马逾英等. 不同栽培年限川桔梗中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 的含量比较[J]. 中国药房, 2018, 29(9): 1249 - 1252.
Li X Y, Chen L, Ma Y Y, et al. Comparison of the content of total saponins and platycodin D in *Platycodon grandiflorum* from Sichuan of different cultivated years[J]. China Pharmacy 2018, 29(9): 1249 - 1252.
4. 殷少文, 叶世芸, 赵琳璐等. 干燥温度及生长年限对黔

- 产青钱柳中多糖含量的影响[J]. 贵州农业科学 2018, 46(1): 82-85.
- Yin S W, Ye S Y, Zhao L J et al. Effect of drying temperature and different growth years on polysaccharide content of *Cyclocarya paliurus* in Guizhou[J]. Guizhou Agricultural Sciences 2018 46(1): 82-85.
5. 谭五丰, 袁艳秋, 于笛笛, 等. 刺五加与短梗五加中紫丁香苷、刺五加苷 E 及异嗪皮啶含量比较[J]. 现代食品科技 2017 33(10): 302-307.

Tan W F, Yuan Y Q, Yu D D et al. Comparison of eleutheroside B, eleutheroside E, and Isofraxidin between *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms and *Acanthopanax sessiliflorus* [J]. Modern Food Science and Technology 2017 33(10): 302-307.

 6. 张琳, 刘洋, 盖庆辉, 等. HPLC-MS/MS 法测定超声提取刺五加果实中刺五加苷 B、E 和异嗪皮啶的含量[J]. 上海中医药大学学报 2014 28(4): 90-95.

Zhang L, Liu Y, Gai Q H et al. Determination of eleutheroside B, E and Isofraxidin in fruit of Radix et Caulis *Acanthopanax senticosus* by HPLC-MS/MS with ultrasonic-assisted extraction[J]. Acta Universitatis Traditionis Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai 2014 28(4): 90-95.

 7. 龚婧如, 王书芳. HPLC 多波长法测定刺五加颗粒中 5 个化合物的含量[J]. 药物分析杂志 2013 33(4): 595-598, 606.

Gong J R, Wang S F. Determination of five components in Ciwujia granules by HPLC with multi-wavelengths[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis 2013 33(4): 595-598, 606.

 8. 范惠霞. 刺五加中主要活性成分的药动学研究[D]. 济南: 济南大学 2014.

Fan H X. Pharmacokinetic study of the major active components of *Acanthopanax senticosus* in rats[D]. Jinan: Jinan University 2014.

 9. 吴高松, 匡海学, 王知斌, 等. RP-HPLC 法同时测定刺五加叶中芦丁、金丝桃苷和槲皮素的含量[J]. 化学工程师 2017 31(2): 32-34.

Wu G S, Kuang H X, Wang Z B et al. Simultaneous determination of rutin, hyperin and quercetin in *Acanthopanax senticosus* leaves by RP-HPLC[J]. Chemical Engineer, 2017 31(2): 32-34.

 10. 翟春梅, 史连宏, 陈忠新, 等. UPLC-DAD 法同时测定刺五加叶中 Chlorogenic acid, Rutin, Hyperoside 及 Isoquercitrin 四种成分的含量[J]. 中医药信息 2016, 33(5): 52-55.

Zhai C M, Shi L H, Chen Z X et al. UPLC-DAD method for quantification on Chlorogenic Acid, Rutin, Hyperoside and isoquercitrin in extract of *E. senticosus* leaf[J]. Information on Traditional Chinese Medicine 2016, 33(5): 52-55.

 11. 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.

Zhang P. HPLC determination of Isofraxidin in *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms of different sources and growth time limits[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis 2010 30(12): 2433-2435.

 12. 王宗权, 王振月, 陈立超, 等. 刺五加不同采收年限、不同产地及不同加工方法的研究[J]. 中药研究与信息, 2005 7(9): 13-15.

Wang Z Q, Wang Z, Chen L et al. Studies on different harvest periods and different processing methods of *Acanthopanax senticosus* from different producing Areas[J]. Research & Information of Traditional Chinese Medicine, 2005 7(9): 13-15.

 13. 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.

Bai X, Hu W Z, Jiang A L et al. Research advance on *Acanthopanax* structure and the content of active ingredient[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(4): 378-381.

 14. 秦淑红, 朱爱华. 紫丁香苷抗肿瘤活性筛选及作用机制研究[J]. 安徽农业科学 2018 46(14): 107-108, 112.

Qin Q H, Zhu A H. Study on the screening and mechanism of syringin anticancer activity[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences 2018 46(14): 107-108, 112.

 15. 徐颀. 蒸制轮叶党参的化学成分分析及药理活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学 2016.

Xu Q. Study on the chemical composition and biological activity of steamed *Codonopsis lanceolata*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University 2016.

 16. Ahn J, Um M Y, Lee H, et al. eleutheroside E, an active component of *Eleutherococcus senticosus*, ameliorates insulin resistance in type 2 diabetic db/db mice[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 934183.
 17. Huang L Z, Wei L, Zhao H F et al. The effect of eleutheroside E on behavioral alterations in murine sleep deprivation stress mode[J]. European Journal of Pharmacology 2011, 658(2-3): 150-155.
 18. 汪洋, 翟欣, 韩利亚, 等. 刺五加苷 E 对小鼠学习及记忆能力的影响[J]. 药学实践杂志, 2016, 34(4): 318-319, 371.

Wang Y, Zhai X, Han L Y et al. Effects of eleutheroside E on learning and memory ability in mice[J]. Journal of

- Pharmaceutical Practice 2016 34(4) 318-319, 371.
19. 陈晓辉. 类风湿性关节炎小鼠模型的制备及刺五加皂苷 E 对其治疗作用的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2015.
Chen X H. eleutheroside E ameliorates arthritis severity in collagen-induced arthritis mice model by suppressing inflammatory cytokine release[D]. Suzhou: Soochow University, 2015.
 20. 陈耿标, 陈锦丽, 刘映芬. 异嗪皮啶对肝癌患者 MMP-7 表达水平和癌细胞侵袭能力的影响[J]. 白求恩医学杂志, 2016, 14(2): 148-151.
Chen G B, Chen J L, Liu Y F. Effect of Isofraxidin on expression of MMP-7 levels and cancer cell invasion ability of patients with liver cancer[J]. Journal of Bethune Medical Science, 2016, 14(2): 148-151.
 21. 汪琢, 姜守刚, 郭晓帆, 等. 刺五加中异嗪皮啶提取工艺优化及其抗肿瘤、抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(6): 1092-1098.
Wang Z, Jiang S G, Guo X F, et al. Optimization of extraction conditions for Isofraxidin from *Eleutherococcus senticosus* and its antioxidant, antitumor activities[J]. Natural Product Research and Development, 2015, 27(6): 1092-1098.
 22. Niu X F, Xing W, Li W F, et al. Isofraxidin exhibited anti-inflammatory effects *in vivo* and inhibited TNF- α production in LPS-induced mouse peritoneal macrophages *in vitro* via the MAPK pathway[J]. International Immunopharmacology, 2012, 14(2): 164-171.
 23. Yamazaki T, Shimosaka S, Sakurai M, et al. Anti-inflammatory effects of a major component of *Acanthopanax senticosus* Harms, isofraxidin[J]. Seibutsu Butsuri Kagaku, 2009, 48(2): 55-58.
 24. 孙建瑞, 王大红, 邱智军, 等. 连翘叶中连翘酯苷 A、芦丁和连翘苷提取纯化工艺优化[J]. 食品科学, 2017, 38(14): 200-205.
Sun J R, Wang D H, Qiu Z J, et al. Simultaneous extraction and purification of Forsythoside A, Rutin and Phillyrin from *Forsythia suspensa* leaves[J]. Food Science, 2017, 38(14): 200-205.
 25. 陈菊. 中药槐米中芦丁提取工艺研究[J]. 中国医药科学, 2017, 7(15): 51-53.
Chen J. Study on the extraction technology of rutin in flos sophorae Immaturus[J]. China Medicine and Pharmacy, 2017, 7(15): 51-53.
 26. 赵强, 赵海福. 紫花苜蓿中芦丁的提取及抗菌活性研究[J]. 中国奶牛, 2013(20): 25-27.
Zhao Q, Zhao H F. Study on extraction and antibacterial of rutin from Alfalfa[J]. China Dairy Cattle, 2013(20): 25-27.
 27. 贾贵东, 杨建雄, 王莉, 等. 芦丁与绿原酸协同抗氧化活性研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2010, 38(5): 61-64.
Jia G D, Yang J X, Wang L, et al. Synergistic antioxidative activities of rutin and chlorogenic acid(CGA)[J]. Journal of Shaanxi Normal University: Natural Science Edition, 2010, 38(5): 61-64.
 28. 郭长征, 冯洋飞, 毛胜勇. 槲皮素的药理作用机制及其在奶牛生产中的应用[J]. 动物营养学报, 2017, 29(1): 42-49.
Guo C Z, Feng P F, Mao S Y. Quercetin: Pharmacological action mechanism and application in dairy cows production[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2017, 29(1): 42-49.
 29. 李锦松, 陈剑鸿, 孟民杰. 金丝桃苷药理作用及其作用机制的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2015, 31(2): 269-272.
Li J S, Chen J H, Meng M J. Progress on the pharmacological effects and mechanism of *Hyperoside*[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2015, 31(2): 269-272.