

HPLC 法分析刺五加茎中原儿茶酸及 苯丙素类成分动态累积规律研究

张爽¹,付士朋¹,刘悦¹,沈宏伟¹,王振月^{1*},郭盛磊^{1,2*}

¹黑龙江中医药大学药学院;²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:本研究采用高效液相色谱建立了一种简便、灵敏可同时测定刺五加茎中原儿茶酸、L-苯丙氨酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶含量的方法。采用 Welchrom C₁₈ 色谱柱(250×4.6 mm,5 μm),以乙腈-0.1% 磷酸水为流动相,流速为 1 mL·min⁻¹,检测波长为 210 nm,柱温为 30 °C。在 55 min 内,刺五加茎中 7 种成分完全分离,样品含量与其对应峰面积 Y 呈现良好的线性关系($r=0.9993\sim0.9999$);平均加样回收率为 99.2%~100.7%,RSD 为 0.72%~1.14%。应用该方法,我们对采收于不同日期的刺五加茎中的七种成分进行了测定,测定结果表明,7 种功效成分含量的综合评价指标在 11 月份较高。本研究建立的多成分 HPLC 测定方法简便、灵敏、稳定,适合用于刺五加多成分的定量分析和刺五加药材质量控制。

关键词:刺五加;高效液相色谱;多成分含量测定;动态累积规律

中图分类号:R284

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.8.021

Dynamic Accumulation of Protocatechuic Acid and Phenylpropanoids in *Acanthopanax Senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms Stems by RP-HPLC

ZHANG Shuang¹,FU Shi-peng¹,LIU Yue¹,SHEN Hong-wei¹,WANG Zhen-yue^{1*},GUO Sheng-lei^{1,2*}

¹College of pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine;

²Postdoctoral programme of Heilongjiang Zbd Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin 150040, China

Abstract: A simple and sensitive HPLC method was established for simultaneous determination of seven compounds (protocatechuic acid, L-phenylalanine, syringin, chlorogenic acid, caffeic acid, eleutheroside E and isopyrazidine) in the stems of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms. The seven compounds were analyzed simultaneously with a Welchrom C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column by gradient elution using 0.1% (v/v) phosphoric acid-acetonitrile as the mobile phase at the flow rate of 1.0 mL/min; The detection wavelength was set at 210 nm, and the column temperature was maintained at 30 °C. The highest average contents of seven contents were found in *A. senticosus* stems collected in November. This method was easy to operate and could provide a reference for the quality control of the stem of *A. senticosus*.

Key words: *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms; HPLC; multi-compound determination; dynamic accumulation.

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms 的干燥根和根茎或茎,具有益气健脾、补肾安神、抗肿瘤、抗氧化等作用^[1]。随着刺五加产品增加,其需求量已远远超出野生资源的供应范围,被列为濒危物种。为实现刺五加可持续利用,其茎部已成为生产主要原料,且不

同采收期对中药材质量有显著影响^[2],但刺五加茎药材质量控制方法和最佳采收期研究仍不完善。

刺五加茎药材中多种重要的天然活性物质通过莽草酸途径合成^[3],如原儿茶酸和苯丙素类成分^[4-6]。原儿茶酸具有神经保护、抗血小板凝集、降低心肌耗氧量、抑菌、镇痛等多种药理活性^[7]。刺五加茎中含有的苯丙素类成分如:L-苯丙氨酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶等,具有抗炎、抗骨质疏松、抗肿瘤、抗氧化、抗病毒抗菌、降血糖、心血管保护、雌激素样等作用^[8]。但目前,对刺五加茎中次生代谢产物 HPLC 含量测定研

收稿日期:2017-12-13 接受日期:2018-04-12

基金项目:十三·五国家重点研发计划(2016YFC0500303);黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z17208);黑龙江省国家科技重大专项和重点研发项目省级资助(GX17C006)

*通信作者 Tel:86-451-87266873;E-mail:wangzhen_yue@163.com, guoshenglei@163.com

究,指标性成分主要集中于刺五加苷 B、刺五加苷 E 和异嗪皮啶^[9-13],单一方法指标性成分少,难以综合评价刺五加质量,如原儿茶酸与刺五加药效具有同向性,但尚未见对刺五加茎中该类次生代谢产物进行含量测定的研究。本研究综合刺五加药理作用及化合物活性,采用 HPLC-UV 法同时测定原儿茶酸和 6 种苯丙素类成分:L-苯丙氨酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶含量,建立多指标刺五加茎药材质量评价方法,并采用该方法对栽培于黑龙江中南部地区的刺五加茎中 7 种成分动态累积情况进行分析研究,为刺五加茎质量评价和该地区人工栽培最佳采收期确定提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪(Waters e2695 Separations Module, Waters 2998 PDA Detector);KM-822C 超声波清洗器(广州市科洁盟实验仪器有限公司);METTLER TOLEDO 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 材料

月份刺五加茎样品采自黑龙江中医药大学药用植物园(北纬 N 45°43'23.42",东经 E 126°38'34.42")7 年生栽培植株,每月 5 号进行样品采集。经黑龙江中医药大学中药资源学王振月教授鉴定为五加科植物刺五加 *A. senticosus* 的茎,40 °C 烘干,备用。

1.3 试药与试剂

HPLC 流动相乙腈为色谱纯(J&K Scientific LTD. 公司);水为哇哈哈纯净水(杭州哇哈哈集团有限公司);其余试剂均为分析纯;对照品 L-苯丙氨酸(HPLC ≥ 98%,批号 J04J7R8481)、原儿茶酸(HPLC ≥ 98%,批号 Z30M6L1)、刺五加苷 B(HPLC ≥ 98%,批号 P14J7F8937)、绿原酸(HPLC ≥ 98%,批号 Y24J7K16726)、咖啡酸(HPLC ≥ 98%,批号 Y17D6C7672)、刺五加苷 E(HPLC ≥ 98%,批号 W11J7K8869)、异嗪皮啶(HPLC ≥ 99%,批号 Y12J7S17732)均购自上海源叶生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 混合对照品母液

精密称取各对照品适量,加 70% 甲醇定容,配

成每 1 mL 含 0.743 mg L-苯丙氨酸、0.658 mg 原儿茶酸、5.270 mg 刺五加苷 B、11.857 mg 绿原酸、0.658 mg 咖啡酸、6.521 mg 刺五加苷 E 和 1.317 mg 异嗪皮啶混合溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液

精确称取 2.0 g 刺五加茎,粉碎,置于 100 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 70% 甲醇超声(功率 250 W,频率 50 kHz)提取,共提取 4 次,每次 30 min,过滤,滤液合并,减压回收溶剂,以 70% 甲醇溶解并定容至 3 mL,即得。

2.2 色谱条件

采用 Welchrom C₁₈ 色谱柱(250 × 4.6 mm, 5 μm),以乙腈为流动相 A,以 0.1% 的磷酸水为流动相 B,梯度洗脱,洗脱条件见表 1,检测波长 210 nm,柱温 35 °C,进样量 5 μL。在上述条件下,L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的色谱峰达到较为理想的分离效果,理论塔板数按被测成分色谱峰计算均高于 3 000,对照品及样品色谱图见图 1。

2.3 线性关系考察

精密吸取“2.1”项下配制的混合对照品母液 0.5、2、4、6、8、10 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,用 70% 甲醇定容至刻度,摇匀,制成不同浓度对照品溶液。按“2.2”项下色谱条件进样测定,以对照品溶液的质量浓度 X(mg/mL)对峰面积 Y 进行线性回归,回归方程分别为:

L-苯丙氨酸: $Y = 5 \times 10^6 X - 46\ 097$ ($r = 0.999\ 3$),线性范围:37.15 ~ 658.76 ug/mL;

原儿茶酸: $Y = 1 \times 10^7 X - 10\ 411$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围:32.93 ~ 743.08 ug/mL;

刺五加苷 B: $Y = 5 \times 10^6 X - 31\ 243$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围:263.51 ~ 5 270.09 ug/mL;

绿原酸: $Y = 3 \times 10^6 X - 61\ 215$ ($r = 0.999\ 8$),线性范围:592.88 ~ 11 857.71 ug/mL;

咖啡酸: $Y = 6 \times 10^6 X - 54\ 813$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围:32.93 ~ 658.76 ug/mL;

刺五加苷 E: $Y = 5 \times 10^6 X - 44\ 605$ ($r = 0.999\ 8$),线性范围:326.08 ~ 6 521.73 ug/mL;

异嗪皮啶: $Y = 1 \times 10^7 X - 20\ 998$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围:65.87 ~ 1 317.52 ug/mL。

表1 刺五加茎含量测定流动相梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution and mobile phase conditions of *A. senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms stem

时间 Time (min)	乙腈 Acetonitrile	0.1% 磷酸水溶液 0.1% Phosphoric acid solution
0	8	92
8	8	92
15	10	90
25	10	90
30	15	85
45	15	85
55	40	60

2.4 仪器精密度考察

取“2.1”项下的混合对照品母液,按照“2.2”

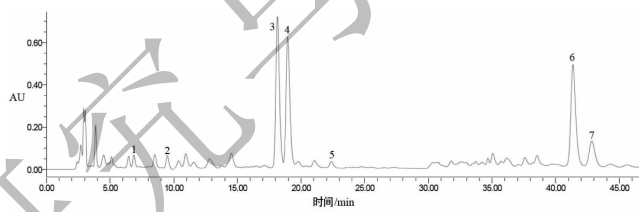
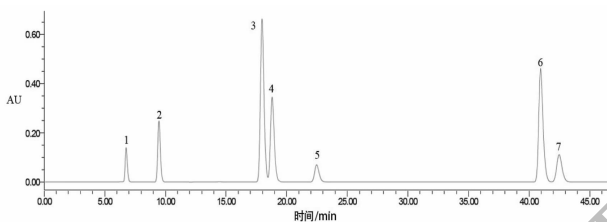


图1 混合对照品(A)与样品(B)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed standards (A) and sample (B)

注: 1. L-苯丙氨酸, 2. 原儿茶酸, 3. 刺五加苷 B, 4. 绿原酸, 5. 咖啡酸, 6. 刺五加苷 E, 7. 异嗪皮啶。

Note: 1. L-Phenylalanine; 2. Protocatechuic acid; 3. Syringin; 4. Chlorogenic acid; 5. Caffeic acid; 6. Eleutheroside E; 7. Isofraxidin.

2.6 稳定性考察

取同一供试品溶液于室温下放置,分别于0、2、4、8、12 h按照上述色谱条件进样测定,L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的峰面积 RSD 分别为 0.87%、0.74%、1.01%、1.23%、0.89%、0.97%、1.08%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的刺五加茎 6 份,1 g/份,分别精密加入 7 种成分的对照品母液 1 mL,按“2.2”项下色谱条件,每份溶液进样测定 3 次,计算回收率。L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的平均加样回收率($n=6$)分别为 100.3% (RSD = 0.83%)、100.2% (RSD = 0.72%)、99.6% (RSD = 1.03%)、99.2% (RSD = 1.14%)、99.8% (RSD = 0.85%)、100.2% (RSD = 0.96%)、100.7% (RSD = 1.01%),结果表明该提取方法准确度较好,符合试验要求。

项下色谱条件连续进样 6 次,L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的峰面积 RSD 分别为 0.6%、0.4%、0.7%、0.9%、0.6%、0.8%、1.1%,各 RSD < 3%,表明仪器精密度良好。

2.5 重复性考察

取刺五加茎药材粉末 2.0 g/份,6 份,分别按“2.1”项下方法制备成供试品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进行含量测定,测得样品中 L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的含量 RSD 分别为 1.4%、1.1%、1.6%、2.1%、1.3%、1.5%、1.8%。各 RSD < 3%,表明该方法重复性好。

2.8 样品含量测定

取不同月份的刺五加茎样品 2.0 g,各 3 份,精密称定,按上述方法进行测定,按照干燥品计算含量,由回归方程计算样品中 L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的含量,结果见表 2。

3 讨论

本实验参考 L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶的紫外吸收波长,比较了 190、210、250、300、350 nm 的检测波长,由于刺五加苷 B、绿原酸和咖啡酸结构具有较多的-OH 和 C=O,电子跃迁规律主要为 $n \rightarrow \pi^*$ R 带和 $n \rightarrow \sigma^*$ 端吸收,导致 190 nm 以下其紫外吸收响应较低,且基线不平;L-苯丙氨酸结构中具有 3 个-NH₂,吸收带主要位于 $n \rightarrow \sigma^*$ 端吸收^[14],在 250 ~ 350 nm 波长范围内紫外吸收响应较低;而在 210 nm 波长下基线稳定,各成分的定量限均可满足含量测

表 2 不同月份刺五加茎中 L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E、异嗪皮啶的含量 (mg/g, $n = 3, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Contents of L-Phenylalanine, Protocatechuic Acid, Syringin, Chlorogenic Acid, Caffeic Acid, Eleutheroside E and Isofraxidin in *A. senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms stem from different harvesting time (mg/g, $n = 3, \bar{x} \pm s$)

采集时间 Harvesting Time	L-苯丙氨酸 L-phenylalanine	原儿茶酸 Protocatechuic acid	刺五加苷 B Syringin	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid	刺五加苷 E Eleutheroside E	异嗪皮啶 Isofraxidin
2017.06.05	0.039 1 ± 0.001	20.010 2 ± 0.001	0.392 ± 0.036	0.230 ± 0.081	0.002 74 ± 0.001 4	0.463 ± 0.10	0.017 2 ± 0.006 4
2017.07.05	0.040 3 ± 0.001	60.022 1 ± 0.001	0.332 ± 0.040	1.45 ± 0.15	0.029 9 ± 0.006 2	0.834 ± 0.049	0.050 3 ± 0.015
2017.08.05	0.057 5 ± 0.004	10.023 1 ± 0.003	0.646 ± 0.022	1.31 ± 0.31	0.064 ± 0.010	0.805 ± 0.17	0.104 ± 0.012
2017.09.05	0.060 4 ± 0.000	10.017 3 ± 0.000	0.566 ± 0.010	1.29 ± 0.26	0.037 2 ± 0.008 6	0.801 ± 0.11	0.111 ± 0.006 1
2017.10.05	0.094 8 ± 0.003	40.023 8 ± 0.001	0.532 ± 0.038	0.333 ± 0.041	0.011 1 ± 0.005 5	0.626 ± 0.11	0.167 ± 0.021
2017.11.05	0.084 2 ± 0.002	20.042 9 ± 0.003	0.445 ± 0.039	1.14 ± 0.25	0.045 ± 0.006 9	0.718 ± 0.10	0.189 ± 0.024
2017.12.05	0.059 1 ± 0.003	30.033 8 ± 0.001	0.819 ± 0.027	0.401 ± 0.21	0.046 5 ± 0.001 7	0.713 ± 0.035	0.119 ± 0.005 4

定的要求,理论塔板数较高,且峰形好。考察了甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸水、乙腈-水和乙腈-0.1%磷酸水流动相系统,结果发现前三种条件下,原儿茶酸和紫丁香苷 2 种成分的色谱峰分离度小于 2,采用乙腈-0.1%磷酸水为流动相,基线平缓,所得峰形对称,且相邻色谱峰分离度均大于 2,7 种化合物均达到较好的分离效果。

同一地点 6~12 月不同时期采集的刺五加茎药材,7 种指标性成分含量累积变化规律有所差异,其中 L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶含量波动较小,刺五加苷 B、绿原酸和咖啡酸含量波动较大。结合图 2 和图 3 进行详细分析,6 月初,7 种指标性成分含量均处于较低水平;7 月初,7 种指标成分含量均处于累积升高状态,其中绿原酸达到监测全程最高水平;8 月初,L-苯丙氨酸、原儿茶酸和异嗪皮啶含量处于缓慢增长阶段,刺五加苷 B、咖啡酸含量大幅增长,并达到监测全程最高水平,绿原酸、刺五加苷 E 含量维持稳定状态;9 月初,L-苯丙氨酸、异嗪皮啶含量处于缓慢增长阶段,其它成分均有缓慢下降趋势;10 月初,L-苯丙氨酸、原儿茶酸、异嗪皮啶含量缓慢增加,其他成分含量均降低,其中绿原酸、咖啡酸含量急剧下降;11 月初,L-苯丙氨酸、刺五加苷 B、刺五加苷 E 仍维持稳定状态,原儿茶酸和异嗪皮啶含量呈升高趋势,且达到监测全程最高水平,绿原酸和咖啡酸含量大幅升高;12 月初出较 11 月初比较,除刺五加苷 B 外,其余 6 种指标成分含量均有下降趋势。本次研究化合物含量规律变化整体规律分为两个趋势:(1)L-苯丙氨酸、原儿

茶酸和异嗪皮啶在 6~10 月份时含量一直上升,在 10 月达到最大值后下降(图 2);(2)刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸和刺五加苷 E 在 8 月份左右达到含量最大值,在 10 月份含量显著降低,后又有上升趋势(图 3),在 10 月份出现两类化合物含量反差大的现象。其原因可能是由于本研究所选的次生代谢产物,生源途径主要是莽草酸途径进一步进行苯丙酸类代谢产生,L-苯丙氨酸经 PAL(苯丙氨酸解氨酶)作用生成肉桂酸,肉桂酸经 C4H(肉桂酸-4-羟化酶)作用生成对-香豆素,进一步反应生成咖啡酸、阿魏酸和芥子酸,这三种物质分别通过三条途径生成木质素类化合物,而绿原酸是咖啡酸生成木质素的中间产物^[15],在刺五加体内次生代谢产物积累过程中,原儿茶酸、异嗪皮啶可能受阿魏酸和芥子酸途径影响较大,刺五加苷 B 和刺五加苷 E 受咖啡酸合成途径影响较大,因此导致两种变化趋势产生。

本实验首次对刺五加茎中的 L-苯丙氨酸、原儿茶酸、刺五加苷 B、绿原酸、咖啡酸、刺五加苷 E 和异嗪皮啶 7 种成分的含量进行同时测定,实验表明,该方重复性及分离度好,结果准确可靠。并使用该方法进行确定刺五加茎最佳采收期研究,根据 7 种指标性成分含量累积变化规律分析,可拟定 11 月初为该地区刺五加茎药材最佳采收期。本实验得出的七种成分含量变化规律与孟祥才^[9]和张宝香等^[16]人研究结果趋势一致,且首次将样品采集日期定为每月 5 号,增加了 11、12 月份样品采集,精准细化了最佳采收期。结合前人研究内容,拟扩大刺五加茎最佳采收期为 10 月中旬至 11 月。

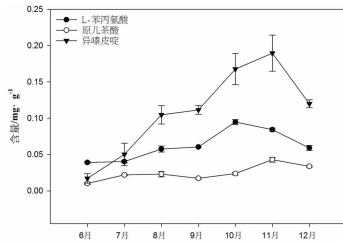


图2 刺五加茎中L-苯丙氨酸、原儿茶酸和异嗪皮啶含量随时间变化规律

Fig. 2 L-Phenylalanine, Protocatechuic acid and isofraxidin in *A. senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms stem content variation with time

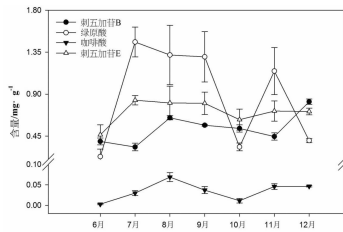


图3 刺五加茎中刺五加苷B、绿原酸、咖啡酸和刺五加苷E含量随时间变化规律

Fig. 3 Syringin, Chlorogenic acid, Caffeic acid and eleutheroside E in *A. senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms stem content variation with time

参考文献

- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015, 206-207.
- Liu HP (刘和平), Xu Y (许彦), Min JH (闵建华), et al. Content variations of crocin I, crocin II and gardenoside in *Gardenia jasminoides* var. *grandiflora* with different harvesting times [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1333-1338.
- Yan ZW (闫兆威), Liu JP (刘金平), Lu D (卢丹), et al. A new 3,4-seco-lupane-type triterpenoid from the pulp of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim) Harms [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2010, 24: 1523-1527.
- Li Q, Jia Y, Xu L, et al. Simultaneous determination of protocatechuic acid, syringin, chlorogenic acid, caffeic acid, liriiodendrin and isofraxidin in *Acanthopanax senticosus* Harms by HPLC-DAD [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29: 532-534.
- Huang LZ, Zhao HF, Huang BK, et al. *Acanthopanax senticosus*: review of botany, chemistry and pharmacology [J]. *Pharmazie*, 2011, 66: 83-97.
- Zhou X, Zheng C, Huang J, et al. Identification of herb *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Et Maxim.) Harms by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. *Anal Sci*, 2007, 23: 705-711.
- Khan AK, Rashid R, Fatima N, et al. Pharmacological activities of protocatechuic acid [J]. *Acta Pol Pharm*, 2015, 72: 643-650.
- Sun H, Liu J, Zhang A, et al. Characterization of the multiple components of *Acanthopanax senticosus* stem by ultra HPLC with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39: 496-502.
- Meng XC (孟祥才), Yan BP (颜丙鹏), Sun H (孙晖), et al. The seasonal accumulating study on effective constituent contents in different sexual types of rhizome and stem of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2012, 23: 601-603.
- Zhang Y (张颖), Yue SQ (岳姝岐), Li RF (李瑞芳), et al. Determination of content of total lignans in the stem of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Chem Engineer* (化学工程师), 2016, 30: 28-30.
- Zhang CX (张崇禧), Zhang Q (张倩), Cai EB (蔡恩博), et al. HPLC comparison *Acanthopanax* stems and *Acanthopanax sessiliiflorus* syringin and isoxapide content [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2010, 32: 254-256.
- Zhang CX (张崇禧), Wang TY (王桐玉), Tian X (田芯), et al. The content of syringin and total flavonoids in *Acanthopanax senticosus* and determined in different harvesting times [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2009, 31: 82-85.
- Sun H (孙晖), Sui JT (隋金婷), Meng XC (孟祥才), et al. Study on optimum harvesting period of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Chin Journal of Trad Med Sci and Tech* (中国中医药科技), 2007: 225.
- Huang SD (黄世德). Analysis chemistry: Vol. 2 (分析化学: 下册) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2005: 10-12.
- Pan RC (潘瑞炽). Plant physiology (植物生理学) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2008: 136-139.
- ZHANG BX (张宝香), YANG YM (杨义明), JIANG Y (姜英), et al. Study on the drying rate and saponin content in different tree age and different harvest time of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Spec Eco Anim and Pln Res* (特产研究), 2010, 2: 17.