

## · 基础研究 ·

基于UPLC特征图谱和多成分定量的  
不同产地绵茵陈药材质量评价<sup>△</sup>

位翠杰, 刘晓霞, 冯涌微, 段志文, 叶瑞平, 邓淙友, 陈向东, 孙冬梅, 李振雨\*  
广东一方制药有限公司/广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244

**[摘要]** 目的: 建立绵茵陈药材超高效液相色谱法(UPLC)特征图谱和6个酚酸类成分含量测定方法, 为全面评价其质量提供依据。方法: 采用UPLC建立绵茵陈药材特征图谱, 对不同产地药材进行相似度评价和聚类分析; 同时对6个酚酸类成分含量进行测定。结果: 建立了绵茵陈UPLC特征图谱, 确定7个共有特征峰, 指认了其中6个特征峰, 19批绵茵陈药材相似度均大于0.95; 聚类分析可将不同产地的药材分为两类, 表明不同产地药材存在一定差异; 所建立的特征图谱方法可有效地区分不同采收期的花茵陈和绵茵陈药材; 含量测定结果显示, 河南和甘肃产地药材绿原酸含量和6个酚酸类成分总含量较高且稳定。结论: 该方法可以有效评价不同产区绵茵陈药材的质量差异性, 为其质量控制和药材选购提供参考。

**[关键词]** 绵茵陈; 超高效液相色谱法; 特征图谱; 多成分测定; 质量评价

**[中图分类号]** R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)05-1026-08

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20221025001

**Quality Evaluation of *Artemisia scoparia* from Different Producing Areas Based on UPLC Characteristic Chromatogram and Multi-component Determination**

WEI Cui-jie, LIU Xiao-xia, FENG Yong-wei, DUAN Zhi-wen, YE Rui-ping, DENG Cong-you, CHEN Xiang-dong,  
SUN Dong-mei, LI Zhen-yu\*

Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd. /Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine  
Formula Granule, Foshan 528244, China

**[Abstract]** **Objective:** To establish the ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) characteristic chromatogram and the determination method of six phenolic acid components of *Artemisia scoparia* to provide a basis for the comprehensive quality evaluation. **Methods:** UPLC method was used to establish the specific chromatogram of *A. scoparia*. *A. scoparia* samples from different producing areas were subjected to similarity evaluation and cluster analysis. At the same time, the content of six phenolic acids was determined. **Results:** The UPLC characteristic chromatogram of *A. scoparia* was established. Seven common characteristic peaks were determined and six characteristic peaks were identified. The similarity of 19 batches of *A. scoparia* was higher than 0.95. *A. scoparia* samples from different producing areas were classified into three categories by cluster analysis, indicating that there were certain differences in medicinal materials from different producing areas. The established characteristic chromatogram could effectively distinguish *A. scoparia* medicinal materials from different harvest periods. The results of content determination showed that the content of chlorogenic acid and the total content of six phenolic acids in the medicinal materials from Henan and Gansu was relatively high and stable. **Conclusion:** The method can effectively analyze the differences in *A. scoparia* from different producing areas and provide references for the quality control and selection of *A. scoparia*.

**[Keywords]** *Artemisia scoparia* Waldst.; UPLC; characteristic chromatogram; multi-component determination; quality evaluation

<sup>△</sup> [基金项目] 工业和信息化部2019年产业技术基础公共服务平台项目(2019-00902-1-2)

\* [通信作者] 李振雨, 主管中药师, 研究方向: 中药饮片及中药配方颗粒; E-mail: 1083656123@qq.com

茵陈为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *A. capillaris* Thunb. 的干燥地上部分, 春季幼苗高 6~10 cm 时采收或秋季花蕾长成至花初开时采割, 除去杂质和老茎, 晒干。春季采收的习称绵茵陈, 秋季采割的习称花茵陈。茵陈具有清利湿热、利胆退黄等功效, 用于治疗黄疸尿少、湿温暑热、湿疮瘙痒等症<sup>[1]</sup>。茵陈一般来源于野生, 且资源丰富、适应性强, 广泛分布于全国各地, 主产于甘肃、河南、陕西、河北等地<sup>[2]</sup>。现代研究表明, 茵陈主要化学成分包括有机酸类、香豆素类、黄酮类等, 具有保肝利胆、镇痛消炎、抗氧化、解热和降血压等多种药理活性<sup>[3-9]</sup>, 其中以绿原酸类为主的酚酸类成分为绵茵陈的主要有效成分。药理研究表明, 绿原酸类及其分解产物咖啡酸均是绵茵陈发挥保肝利胆作用的重要成分之一<sup>[10]</sup>, 此外, 该类成分还具有抗氧化、抗心血管疾病、抗菌抗炎、抗病毒及解痉等多种药理作用<sup>[11]</sup>。因此, 《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》) 2020年版茵陈药材项下仅以绿原酸作为其含量测定指标, 难以体现茵陈有效成分的复杂性和药理活性的多样性, 进而难以有效且全面地控制其质量。故本研究采用超高效液相色谱法 (UPLC) 对 19 批绵茵陈 (滨蒿) 药材的特征图谱进行研究, 并同时测定 6 个酚酸类成分的含量, 进一步采用相似度评价和聚类分析对 19 批不同产地药材进行对比, 进而全面评价和分析不同产地药材的质量; 此外, 对不同采收季节的绵茵陈和花茵陈药材进行特征图谱对比研究, 为绵茵陈质量控制和资源合理开发利用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 试药

共收集 21 批绵茵陈和花茵陈药材, 来源信息见表 1。21 批药材经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定均为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部分, 其中 19 批为绵茵陈 (Y1~Y19)、2 批为花茵陈 (HYC1、HYC2)。21 批药材经广东一方制药有限公司质量中心检定均符合《中国药典》2020年版茵陈项下各项规定。

绿原酸 (批号: 110753-202119, 纯度: 96.1%)、3,5-二咖啡酰奎宁酸 (批号: 111782-201807, 纯度: 94.3%)、4,5-二咖啡酰奎宁酸 (批号: 111894-202104, 纯度: 95.1%) 均购于中国食品药品检定

表 1 绵茵陈和花茵陈药材来源

编号	批号	产地
Y1	G1703202	陕西省咸阳市
Y2	G1705063	陕西省咸阳市
Y3	G1705067	陕西省榆林市
Y4	G1706068	陕西省榆林市
Y5	G1707047	陕西省榆林市
Y6	G1703203	河北省保定市
Y7	G1703246	河北省保定市
Y8	G1706128	河北省保定市
Y9	G1703247	山东省临沂市
Y10	G1707039	山东省临沂市
Y11	G1704012	河南省南阳市
Y12	G1704013	河南省南阳市
Y13	G1704014	河南省南阳市
Y14	G1703204	甘肃省天水市
Y15	G1705065	甘肃省天水市
Y16	G1706151	甘肃省天水市
Y17	G1706152	甘肃省天水市
Y18	G1706153	甘肃省天水市
Y19	G1707009	甘肃省定西市
HYC1	G1708031	甘肃省
HYC2	G1708032	甘肃省

研究院; 异绿原酸 B (批号: wkq21022206, 纯度≥98%, 四川维克奇生物科技有限公司); 新绿原酸 (批号: 19081403, 纯度: 98.82%, 成都格利普生物科技有限公司); 隐绿原酸 (批号: DST210427-035, 纯度≥98%, 成都乐美天医药科技有限公司); 甲醇、乙醇均为分析纯, 购于西陇科学股份有限公司; 磷酸 (天津市科密欧化学试剂有限公司)、乙腈 (默克股份有限公司) 均为色谱纯; 水为超纯水 (实验室自制)。

### 1.2 仪器

Vanquish 型超高效液相色谱仪 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]; ME204E 型万分之一分析天平、XP26 型百万分之一分析天平 (梅特勒-托利多公司); KQ500D 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); HWS28 型恒温水浴锅 (上海一恒科技有限公司); Milli-Q Direct 型超纯水系统 (默克股份有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 茵陈药材 UPLC 特征图谱的建立

**2.1.1 色谱条件** 采用 Acclaim™ RSLC 120 C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.2 μm); 以乙腈 (A) -0.05% 磷酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~1 min, 5%~

10%A; 1~10 min, 10%~15%A; 10~16 min, 15%~20%A; 16~21 min, 20%~24%A); 流速为  $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温为  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 检测波长为  $327 \text{ nm}$ ; 进样体积为  $1 \mu\text{L}$ 。

**2.1.2 对照品溶液制备** 取对照品隐绿原酸、绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、新绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-咖啡酰奎宁酸适量,精密称定,置  $25 \text{ mL}$  量瓶中,加甲醇制成含隐绿原酸、绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、新绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸分别为  $79.341$ 、 $83.069$ 、 $82.869$ 、 $79.096$ 、 $75.629$ 、 $76.156 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液,即得。

**2.1.3 供试品溶液制备** 取绵茵陈药材粉末(过二号筛)约  $1 \text{ g}$ ,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入  $50\%$  乙醇  $50 \text{ mL}$ ,称定质量,加热回流  $45 \text{ min}$ ,放冷,再称定质量,用  $50\%$  乙醇补足减失质量,摇匀,  $3300 \times g$  离心  $10 \text{ min}$ ,精密量取上清液  $5 \text{ mL}$  置  $25 \text{ mL}$  棕色量瓶中,加  $50\%$  乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

#### 2.1.4 特征图谱方法学考察

**2.1.4.1 精密度试验** 取同一份绵茵陈药材(编号:Y9)供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,以绿原酸(峰 3)为参照峰 S,计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积,并计算 RSD。相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别为  $0.02\% \sim 0.31\%$ 、 $0.75\% \sim 0.81\%$ ,均小于  $3.0\%$ ,表明仪器精密度较好。

**2.1.4.2 重复性试验** 取同一份绵茵陈药材(编号:Y9)粉末(过二号筛),按 2.1.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以绿原酸(峰 3)为参照峰 S,计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积,并计算 RSD。相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别为  $0.03\% \sim 0.17\%$ 、 $0.93\% \sim 2.61\%$ ,均小于  $3.00\%$ ,表明重复性较好。

**2.1.4.3 稳定性试验** 取绵茵陈药材(编号:Y9)供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件,分别在  $0$ 、 $2$ 、 $6$ 、 $12$ 、 $18$ 、 $24 \text{ h}$  进样测定,以绿原酸(峰 3)为参照峰 S,计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积,并计算 RSD。相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别为  $0.02\% \sim 0.28\%$ 、 $1.02\% \sim 2.53\%$ ,均小于  $3.0\%$ ,表明供试品溶液在  $24 \text{ h}$  内稳定性良好。

**2.1.5 特征图谱的建立及相似度评价** 按已建立的方法对 19 批绵茵陈药材进行特征图谱测定,并导出

每批样品特征图谱的 .cdf 格式文件,采用相似度评价软件对其进行处理,选择编号为 Y1 样品的特征图谱作为参照,进行多点校正和全峰匹配,结果共标识出 7 个共有特征峰(图 1),采用中位数法生成绵茵陈药材对照特征图谱,19 批绵茵陈药材特征图谱叠加图和对照特征图谱见图 1。经与对照品保留时间对比和紫外-可见光 3D 光谱分析,指认其中 6 个特征峰:峰 2 为新绿原酸、峰 3 为绿原酸、峰 4 为隐绿原酸、峰 5 为 3,4 二咖啡酰奎宁酸、峰 6 为 3,5-二咖啡酰奎宁酸、峰 7 为 4,5-二咖啡酰奎宁酸(图 2)。19 批绵茵陈药材特征图谱中绿原酸色谱峰响应高,与其他特征峰的分离度及峰型均较好,故选取绿原酸(峰 3)为参照峰 S,各特征峰相对保留时间的 RSD 均小于  $1.38\%$ ,而相对峰面积 RSD 为  $26.17\% \sim 43.95\%$ ,说明不同产地绵茵陈各特征峰所代表的化合物比例存在一定的差异,这种差异可能与产地等多种因素有关。此外,分别计算 19 批绵茵陈药材特征图谱与对照特征图谱的相似度,结果均大于  $0.95$ ,见表 2。表明不同产地的绵茵陈药材特征图谱的整体相似度较高,特征图谱可作为共性质量特征,用于绵茵陈药材的鉴别和质量控制。

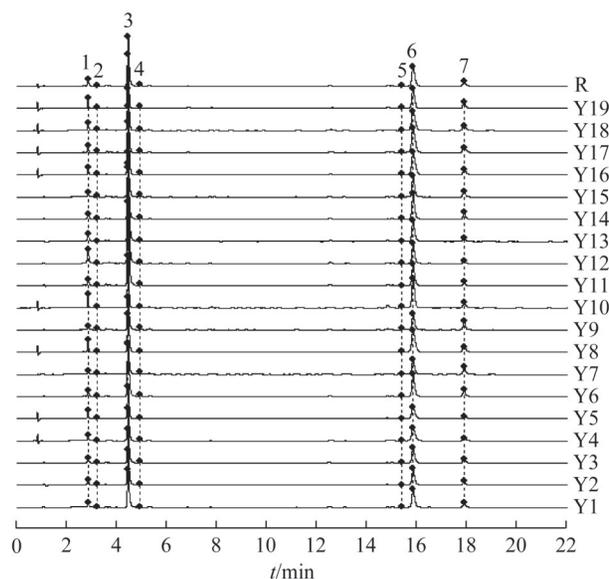
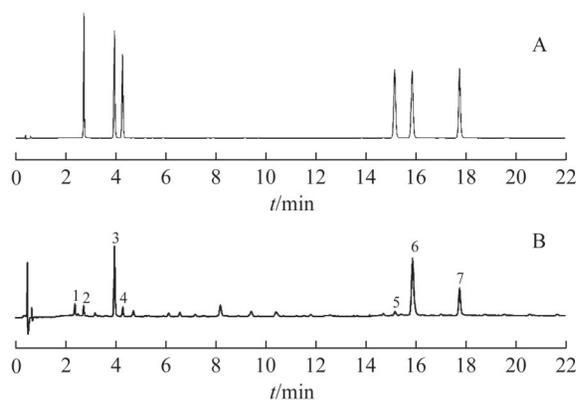


图 1 19 批绵茵陈药材的 UPLC 叠加特征图谱及对照图谱(R)

**2.1.6 聚类分析** 采用 IBM SPSS 20.0 软件,以 7 个特征峰为变量对 19 批绵茵陈药材进行聚类分析,聚类结果见图 3。当组间联接距离为  $5 \sim 25$  时,19 批药材整体被分为两类,其中编号为 Y1~Y10、Y14~Y19 的样品聚为 I 类,分别包括陕西、河北、



注: A. 混合对照品; B. 供试品; 2. 新绿原酸; 3. 绿原酸; 4. 隐绿原酸; 5. 3,4-二咖啡酰奎宁酸; 6. 3,5-二咖啡酰奎宁酸; 7. 4,5-二咖啡酰奎宁酸。

图2 19批绵茵陈药材特征图谱共有峰的指认

表2 19批绵茵陈药材特征图谱相似度评价

编号	相似度
Y1	0.999
Y2	0.999
Y3	1.000
Y4	0.998
Y5	0.999
Y6	1.000
Y7	0.989
Y8	0.976
Y9	0.987
Y10	0.977
Y11	0.977
Y12	0.958
Y13	0.969
Y14	0.999
Y15	0.998
Y16	0.994
Y17	0.981
Y18	0.994
Y19	0.999

山东和甘肃产地的药材; 编号为Y11~Y13的样品聚为Ⅱ类, 主要为河南产地的药材。综上说明绵茵陈药材存在一定的产地差异性。

**2.1.7 绵茵陈与花茵陈特征图谱差异分析** 在《中国药典》2020年版茵陈药材项下, 根据采收季节的不同将其可分为绵茵陈(春季采收)与花茵陈(秋季采收)。采用绵茵陈药材特征图谱方法对2批花茵陈进行测定, 指认峰8为滨蒿内酯, 见图4。对不同采收季节的绵茵陈与花茵陈特征图谱进行对比分析,

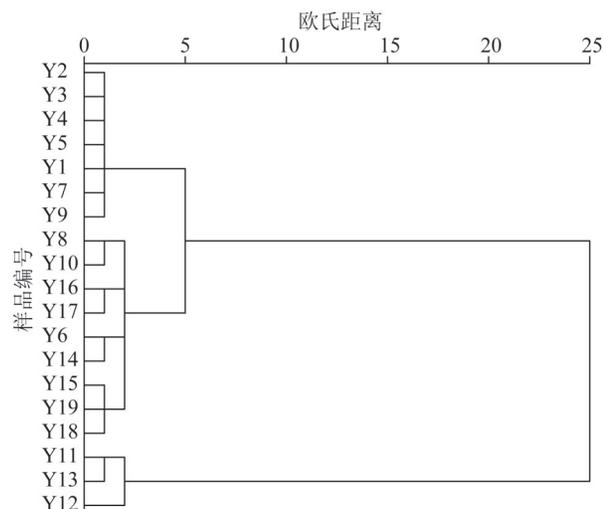
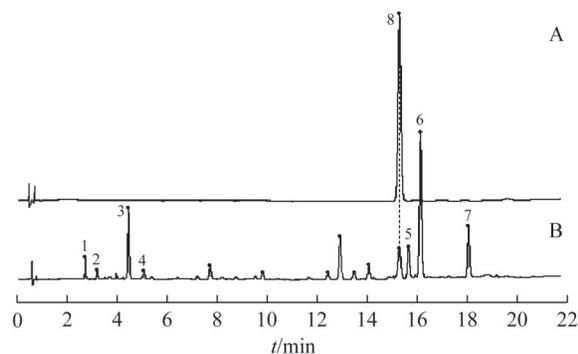


图3 19批绵茵陈药材聚类分析

见图5。结果显示, 绵茵陈药材与花茵陈药材特征图谱存在明显的差异: 花茵陈药材特征图谱保留时间在6~16 min所含的色谱峰明显多于绵茵陈; 峰1~峰7为两者的共有特征峰, 其中绵茵陈绿原酸的含量明显高于花茵陈, 峰8(滨蒿内酯)为花茵陈特有色谱峰, 能够用于区分绵茵陈与花茵陈。

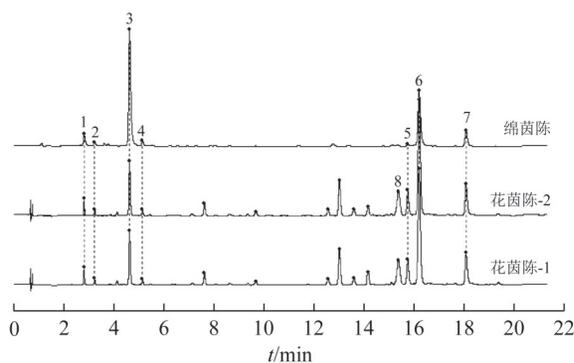


注: A. 滨蒿内酯对照品; B. 花茵陈供试品; 2. 新绿原酸; 3. 绿原酸; 4. 隐绿原酸; 5. 3,4-二咖啡酰奎宁酸; 6. 3,5-二咖啡酰奎宁酸; 7. 4,5-二咖啡酰奎宁酸; 8. 滨蒿内酯。

图4 滨蒿内酯对照品和花茵陈供试品溶液特征图谱

## 2.2 指标成分含量测定

**2.2.1 线性关系考察** 取隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、新绿原酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸对照品适量, 精密称定, 置25 mL量瓶中, 加甲醇制成含隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、新绿原酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸分别为67.130、58.090、75.068、60.074  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液①。精密移取上述混合对照品溶液①各1 mL, 分别置200、100、50、20、10、5 mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得不同质量浓度对照品溶液。分别精密吸取上述



注：2. 新绿原酸；3. 绿原酸；4. 隐绿原酸；5. 3,4-二咖啡酰奎宁酸；6. 3,5-二咖啡酰奎宁酸；7. 4,5-二咖啡酰奎宁酸；8. 滨蒿内酯。

图5 绵茵陈与花茵陈特征图谱对比

混合对照品溶液①和不同质量浓度对照品溶液，分别按照2.1.1项下色谱条件进样测定，并记录色谱峰面积。以峰面积为纵坐标(Y)、对照品质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线。结果见表3。

取绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸对照品适量，精密称定，加甲醇制成含绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸分别为129.735、88.102  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液②。精密移取上述混合对照品溶液②1.0、1.0、1.0、1.5、2.0 mL分别置50、10、5、2、2 mL量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得不同质量浓度对照品溶液；分别精密吸取上述对混合对照品溶液②和不同质量浓度对照品溶液，分别按2.1.1项下色谱条件进样分析，以峰面积为纵坐标(Y)、对照品质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线。结果见表3。

**2.2.2 精密度试验** 取2.1.2项下混合对照品溶液，按2.1.1项下色谱条件连续进样6次，分别记录新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸的峰面积，并分别计算RSD。RSD分别为0.31%、0.21%、0.48%、0.29%，均小于3%，表明仪器精密度良好。

**2.2.3 重复性考察** 取同一份绵茵陈药材(编号：Y9)粉末(过二号筛)，按2.1.3项下供试品制备方

法平行制备6份供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样分析，测定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸的含量，并计算RSD。RSD分别为1.38%、2.35%、0.32%、1.93%、0.89%、2.01%，均小于3%，表明该分析方法重复性良好。

**2.2.4 稳定性试验** 取绵茵陈药材(编号：Y9)供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件，分别在0、2、4、8、12、24 h进样测定，分别记录新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸的峰面积，并计算RSD。RSD分别为0.63%、1.02%、0.24%、1.12%、0.32%、0.83%，均小于3%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

**2.2.5 加样回收率试验** 取绵茵陈药材(编号：Y9)粉末(过二号筛)约0.5 g，精密称定，按新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸对照品与绵茵陈药材中待测成分的含量比为0.5:1、1:1及1.5:1设计3组实验，每组平行3份，按2.1.3项下供试品溶液制备方法制备9份供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样测定，分别计算各成分的平均回收率及其RSD，结果见表4。新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸的平均加样回收率分别为95.34%、99.14%、94.25%、96.67%、98.76%和95.68%，RSD分别为2.41%、1.35%、2.64%、1.98%、1.87%和2.37%，均小于3.0%，表明该分析方法准确度符合规定。

**2.2.6 样品测定** 取19批绵茵陈药材，按2.1.3项下供试品溶液制备方法制备供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样测定，采用外标法，对19批绵茵陈药材中6个酚酸类成分含量进行计算，结果见表5。《中国药典》2020年版茵陈药材项下规定绿原酸

表3 绵茵陈中6个成分的线性回归方程及线性范围

化合物	标准曲线	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	r
新绿原酸	$Y=7.8687X+0.0978$	0.752~75.068	1.0000
绿原酸	$Y=7.6488X+0.1970$	2.595~129.735	0.9999
隐绿原酸	$Y=8.0494X+0.0870$	0.671~67.130	1.0000
3,4-二咖啡酰奎宁酸	$Y=7.6481X+0.1158$	0.583~58.090	1.0000
3,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=5.9534X+0.1837$	1.762~88.102	0.9999
4,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=6.7542X+0.3112$	0.671~60.074	1.0000

表4 绵茵陈中6个成分的加样回收率结果

化合物	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
新绿原酸	0.500 4	0.164 6	0.082 3	0.242 9	95.16	95.34	2.41
	0.501 4	0.165 0	0.082 3	0.243 3	95.24		
	0.501 6	0.165 0	0.082 3	0.243 4	95.22		
	0.502 1	0.165 2	0.164 6	0.315 8	91.51		
	0.501 7	0.165 1	0.164 6	0.318 1	92.98		
	0.502 0	0.165 2	0.164 6	0.320 1	94.15		
	0.501 6	0.165 0	0.246 9	0.407 3	98.14		
	0.500 9	0.164 8	0.246 9	0.407 5	98.31		
	0.501 2	0.164 9	0.246 9	0.405 2	97.34		
绿原酸	0.500 4	3.100 0	1.548 8	4.628 3	98.68	99.14	1.35
	0.501 4	3.106 2	1.548 8	4.615 4	97.45		
	0.501 6	3.107 4	1.548 8	4.644 2	99.23		
	0.502 1	3.110 5	3.097 5	6.239 3	101.01		
	0.501 7	3.108 0	3.097 5	6.180 4	99.19		
	0.502 0	3.109 9	3.097 5	6.254 5	101.52		
	0.501 6	3.107 4	4.646 3	7.700 7	98.86		
	0.500 9	3.103 1	4.646 3	7.651 3	97.89		
	0.501 2	3.104 9	4.646 3	7.679 2	98.45		
隐绿原酸	0.500 4	0.249 7	0.124 8	0.368 2	94.96	94.25	2.64
	0.501 4	0.250 2	0.124 8	0.366 9	93.54		
	0.501 6	0.250 3	0.124 8	0.367 0	93.58		
	0.502 1	0.250 5	0.249 5	0.480 9	92.32		
	0.501 7	0.250 3	0.249 5	0.473 0	89.24		
	0.502 0	0.250 5	0.249 5	0.486 2	94.45		
	0.501 6	0.250 3	0.374 3	0.614 9	97.41		
	0.500 9	0.249 9	0.374 3	0.610 9	96.44		
	0.501 2	0.250 1	0.374 3	0.610 7	96.34		
3,4-二咖啡酰奎宁酸	0.500 4	0.118 1	0.059 0	0.174 6	95.86	96.67	1.98
	0.501 4	0.118 3	0.059 0	0.173 7	93.94		
	0.501 6	0.118 4	0.059 0	0.175 4	96.68		
	0.502 1	0.118 5	0.117 9	0.235 4	99.12		
	0.501 7	0.118 4	0.117 9	0.232 9	97.15		
	0.502 0	0.118 5	0.117 9	0.236 1	99.78		
	0.501 6	0.118 4	0.176 9	0.290 5	97.31		
	0.500 9	0.118 2	0.176 9	0.286 5	95.14		
	0.501 2	0.118 3	0.176 9	0.286 4	95.04		
3,5-二咖啡酰奎宁酸	0.500 4	1.699 4	0.848 9	2.530 1	97.86	98.76	1.87
	0.501 4	1.702 8	0.848 9	2.547 7	99.54		
	0.501 6	1.703 4	0.848 9	2.555 1	100.32		
	0.502 1	1.705 1	1.697 8	3.402 4	99.97		
	0.501 7	1.703 8	1.697 8	3.419 4	101.05		
	0.502 0	1.704 8	1.697 8	3.407 9	100.31		
	0.501 6	1.703 4	2.546 7	4.174 0	97.01		
	0.500 9	1.701 1	2.546 7	4.158 4	96.49		
	0.501 2	1.702 1	2.546 7	4.154 0	96.28		
4,5-二咖啡酰奎宁酸	0.500 4	1.012 8	0.506 1	1.485 8	93.46	95.68	2.37
	0.501 4	1.014 8	0.506 1	1.500 6	95.99		
	0.501 6	1.015 2	0.506 1	1.486 5	93.12		
	0.502 1	1.016 3	1.012 1	2.011 3	98.32		
	0.501 7	1.015 4	1.012 1	1.987 2	96.01		
	0.502 0	1.016 0	1.012 1	2.021 6	99.35		
	0.501 6	1.015 2	1.518 2	2.486 5	96.91		
	0.500 9	1.013 8	1.518 2	2.427 4	93.11		
	0.501 2	1.014 4	1.518 2	2.453 8	94.81		

质量分数不得少于0.50%，19批药材均符合规定；经结果分析发现，不同产区绵茵陈药材绿原酸和6个酚酸类成分总含量均值为河南>甘肃>河北≈山东>陕西，其中河南和甘肃产地药材绿原酸含量和6个酚酸类成分总含量较稳定，而河北产区的药材绿原酸含量差异较大，说明河南和甘肃的绵茵陈药材质量整体优于其他产区。此外，山东、河北和甘肃产区新绿原酸、隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸含量较高，而河南产区含量较低。

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的选择及供试品制备考察

茵陈的主要成分为酚酸类，在pH为中性条件下保留性不理想，而水相中加入适当质量浓度的有机酸可以有效地改善该类化合物的保留和分离效果，故本研究分别考察以0.1%磷酸水溶液、0.05%磷酸水溶液、0.05%冰醋酸水溶液和0.05%甲酸水溶液为流动相，结果表明，以4种不同有机酸为流动相，各色谱峰的峰型均较好、特征图谱基线平稳，其中以乙腈和0.05%磷酸水溶液作为梯度洗脱的流动相时，各色谱峰分离效果更佳，故选择乙腈-0.05%磷酸水溶液为梯度洗脱的流动相；经全波长扫描分析

发现，有机酸类化合物在327 nm下响应值较大、色谱信息较多、基线平稳，因此选择327 nm作为特征图谱的最佳吸收波长。此外，分别考察了提取溶媒（水、乙醇、50%乙醇、甲醇、50%甲醇）、提取方式（超声和回流）、提取时间（30、45、60 min），最终确定绵茵陈药材特征图谱最佳样品制备方法为以50%乙醇为溶媒，加热回流45 min。

#### 3.2 特征图谱的构建及分析

本研究建立的绵茵陈UPLC特征图谱共标识出7个共有峰，确定其中6个特征峰分别为新绿原酸（峰2）、绿原酸（峰3）、隐绿原酸（峰4）、3,4-二咖啡酰奎宁酸（峰5）、3,5-二咖啡酰奎宁酸（峰6）和4,5-二咖啡酰奎宁酸（峰7）；通过层次聚类分析（HCA）将19批绵茵陈药材分成2类；可能与其生长地理环境等因素相关。采收季节的不同造成绵茵陈和花茵陈所含化学成分存在一定的差异，在特征图谱研究中发现，绵茵陈主要成分为绿原酸类等有机酸类，而花茵陈除了含有酚酸类成分外，主要还有内酯类为主的香豆素类成分，如滨蒿内酯。因此，本研究采用建立的特征图谱方法对绵茵陈和花茵陈药材进行区分，结果表明，两者特征图谱存在明显的差异，其中滨蒿内酯可作为主要的区别点。

表5 19批绵茵陈药材样品中6个成分质量分数

编号	mg·g <sup>-1</sup>						总质量分数
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	3,4-二咖啡酰奎宁酸	3,5-二咖啡酰奎宁酸	4,5-二咖啡酰奎宁酸	
Y1	0.08	7.31	0.23	0.16	4.14	1.12	13.04
Y2	0.19	6.73	0.30	0.17	3.54	1.22	12.15
Y3	0.18	6.65	0.28	0.17	3.40	1.13	11.81
Y4	0.15	6.41	0.27	0.15	3.74	1.00	11.72
Y5	0.13	6.06	0.26	0.12	3.32	0.96	10.85
Y6	0.22	10.01	0.37	0.18	4.98	1.66	17.42
Y7	0.24	5.80	0.38	0.19	3.28	1.89	11.78
Y8	0.20	7.65	0.36	0.24	6.26	1.69	16.40
Y9	0.33	6.20	0.50	0.24	3.40	2.02	12.69
Y10	0.21	8.24	0.33	0.41	6.47	1.57	17.23
Y11	0.14	15.68	0.33	0.12	4.93	1.01	22.21
Y12	0.13	18.35	0.31	0.13	4.53	0.69	24.14
Y13	0.13	16.69	0.30	0.13	4.77	0.84	22.86
Y14	0.20	10.38	0.34	0.20	5.53	1.68	18.33
Y15	0.22	8.28	0.38	0.16	4.63	1.55	15.22
Y16	0.21	9.68	0.45	0.28	6.15	1.71	18.48
Y17	0.24	8.96	0.41	0.19	6.98	1.66	18.44
Y18	0.21	8.44	0.34	0.16	5.57	1.47	16.19
Y19	0.21	8.58	0.36	0.23	4.41	1.66	15.45

### 3.3 含量测定分析

在特征图谱研究中发现,以绿原酸类为主的酚酸类成分为绵茵陈的主要化学成分。研究表明,该类成分是绵茵陈具有保肝利胆、抗炎抗菌等多种药理活性的物质基础<sup>[11]</sup>。《中国药典》2020年版茵陈药材项下仅以绿原酸作为其含量测定指标,难以有效、全面地控制其质量。绿原酸类成分结构中均存在不稳定的官能团(酯键、不饱和双键等),易受温度、pH等因素的影响而发生异构化,进而相互转变<sup>[12-13]</sup>。故本研究采用绵茵陈药材特征图谱方法同时测定6个酚酸类成分的含量,全面控制绵茵陈药材的质量。含量测定结果表明,河南和甘肃产地绵茵陈药材绿原酸和6个酚酸类成分总含量较高且稳定。

综上所述,本研究所建立绵茵陈特征图谱并同时测定6个酚酸类成分含量的方法简单、高效;结合相似度和聚类分析,评价不同产地绵茵陈药材的差异性,为全面评价和控制其质量提供参考,促进绵茵陈药材的合理开发利用。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:250-251.
- [2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志:第76卷[M]. 北京:科学出版社,1991:216-218.
- [3] 黄丽平,许远航,邓敏贞,等. 茵陈的化学成分,药理作用机制与临床应用研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2021,33:676-690.
- [4] 刘玉萍,邱小玉,刘焯,等. 茵陈的药理作用研究进展[J]. 中草药,2019,50(9):228-234.
- [5] SUN Y N, NA R H, SO Y R, et al. Anti-inflammatory effects of *Artemisia scoparia* and its active constituent, 3,5-dicaffeoyl-epi-quinic acid against activated mast cells [J]. Immunopharm Immunot,2018:40(1):52-58.
- [6] 胡润生,李宝珍,陈玫. 滨蒿利胆有效成分的研究[J]. 药学学报,1965,12(5):289-294.
- [7] 童珊珊,徐亚萍,余江南. 绵茵陈提取液中绿原酸的测定及其抗氧化活性研究[J]. 江苏中医药,2009,41(4):57-59.
- [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]. 药学学报,2020,55(10):45-52.
- [9] 张鞍灵,马琼,高锦明,等. 绿原酸及其类似物与生物活性[J]. 中草药,2001,32(2):79-82.
- [10] 阿如汗,斯日古冷,辛颖. 滨蒿的化学成分,药理作用及质量标准研究概况[J]. 中国民族医药杂志,2020,26(8):48-52.
- [11] 那袭雪,张文涛,谈远锋,等. 绿原酸及其异构体药理作用及不良反应研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(3):140-144.
- [12] 顾利红,朱品业. 日光和温度对绿原酸供试液稳定性的影响[J]. 中成药,1999,21(11):568-569.
- [13] 李云聪,王艳芳,李佳,等. 甜叶菊绿原酸类成分稳定性研究[J]. 中国食品添加剂,2021(9):73-78.

(收稿日期:2022-10-25 编辑:田苗)