

UFLC-Q-TOF-MS/MS 结合 HPLC-DAD 多成分定量对不同生长期滨蒿的质量评价

王璐瑶^{1,2}, 李余佳^{3,4}, 李传娟¹, 戴莹^{3,4*}, 窦志华^{1,3,4*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

2. 安徽万邦医药科技股份有限公司, 安徽 合肥 230000

3. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006

4. 南通市第三人民医院, 江苏 南通 226006

摘要: 目的 对不同生长期滨蒿 *Artemisia scoparia* 进行质量评价, 为确定滨蒿最佳采收期和临床用药选择提供参考。方法 采用超快速液相色谱-三重四级杆飞行时间质谱 (Ultra-fast liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UFLC-Q-TOF-MS/MS), 分别在负离子模式和正离子模式下测定, 对春季和秋季采集的滨蒿中所含成分进行鉴定并进行成分组成比较分析。采用 HPLC-DAD, 在 2 个波长下对 5~11 月每月采集的滨蒿中的有机酸类成分绿原酸、新绿原酸、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, 黄酮类成分金丝桃苷和芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷及香豆素类成分滨蒿内酯进行含量测定并对含量变化进行动态比较分析。**结果** 春季和秋季采集的滨蒿中共鉴定化学成分 122 个, 包括有机酸类成分 48 个, 黄酮类成分 31 个, 香豆素类成分 5 个, 木脂素类成分 3 个, 简单苯丙素类成分 13 个, 色原酮类成分 2 个, 氨基酸类成分 2 个, 对羟基苯乙酮类成分 3 个及其他类成分 15 个, 其中 15 个成分采用对照品比对确认; 检测到的 122 个成分中, 103 个为春季和秋季采集的滨蒿中的共有成分, 3 个成分仅在春季采集的滨蒿中检测到, 而另外 16 个成分仅在秋季采集的滨蒿中检测到。不同生长期滨蒿中香豆素类成分滨蒿内酯含量变化最大, 5~8 月低于定量限, 9~11 月含量先增后降, 10 月初含量最高; 有机酸类成分春季和夏季含量较高, 6 月初总含量达到峰值; 黄酮类成分含量 5~9 月逐渐增加, 10 月初达到峰值后又迅速降低。**结论** 春季和秋季采集的滨蒿中成分组成存在一定差异; 不同生长期滨蒿中所含成分含量差异较大, 春季和秋季最佳采收期分别为有机酸类成分含量最高的 6 月初及香豆素类成分和黄酮类成分含量最高的 10 月初。

关键词: 茵陈; 滨蒿; 不同生长期; 最佳采收期; Q-TOF-MS/MS; 绿原酸; 新绿原酸; 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; HPLC-DAD; 多成分定量分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)23-8185-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.23.024

Quality evaluation of *Artemisia scoparia* at different growth periods through compositional analysis by UFLC-Q-TOF-MS/MS and quantitative analysis of multicomponents by HPLC-DAD

WANG Luyao^{1,2}, LI Yujia^{3,4}, LI Chuanjuan¹, DAI Ying^{3,4}, DOU Zhihua^{1,3,4}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Anhui Wanbang Medical Technology Co., Ltd., Hefei 230000, China

3. Affiliated Nantong Hospital 3 of Nantong University, Nantong 226006, China

4. Nantong Third People's Hospital, Nantong 226006, China

Abstract: Objective To evaluate the quality of *Artemisia scoparia* at different growth periods, and to provide reference for determining the optimal harvesting period of *A. scoparia* and clinical medication selection. **Methods** Using ultra-fast liquid chromatography-quadrupole

收稿日期: 2024-05-06

基金项目: 江苏省重点研发计划 (社会发展) 项目 (BE2018674)

作者简介: 王璐瑶, 女, 硕士研究生, 主要从事生药学研究。Tel: 15705692659 E-mail: 528418030@qq.com

*通信作者: 戴莹, 硕士, 中药师, 主要从事中药质量评价研究。Tel: (0513)85116027 E-mail: 779010519@qq.com

窦志华, 博士, 副教授, 主任中药师, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质及质量评价研究。

Tel: (0513)85116027 E-mail: zhihuadou@163.com

time-of-flight mass spectrometry (UFLC-Q-TOF-MS/MS) in both negative and positive ion modes, the components in *A. scoparia* collected in spring and autumn were identified and compared for compositional analysis. Using HPLC-DAD, the contents of organic acids named as chlorogenic acid, neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, 3,4-dicaffeoyl quinic acid, 3,5-dicaffeoyl quinic acid, and 4,5-dicaffeoyl quinic acid, flavonoids named as hyperoside and apigenin 6,8-di-*C*- β -*D*-glucoside, and coumarins named as scoparone in *A. scoparia* collected monthly from May to November were determined at two wavelengths, and dynamic comparative analysis was conducted on the content changes. **Results** A total of 122 chemical components were identified in *A. scoparia* collected in spring and autumn, including 48 organic acids, 31 flavonoids, five coumarins, three lignans, 13 simple phenylpropanoids, two chromones, two amino acids, three *p*-hydroxyacetophenones and 15 others, with 15 components were confirmed through comparison with reference substances. Among the 122 detected components, 103 were common components in *A. scoparia* collected in spring and autumn, three components were only detected in *A. scoparia* collected in spring, while the other 16 components were only detected in *A. scoparia* collected in autumn. The content of a coumarins named scoparone in *A. scoparia* varied the most during different growth periods, with its content below the LOQ from May to August, increasing first and then decreasing from September to November, and reaching its highest level in early October. The content of organic acids is relatively high in spring and summer, and the total content reaches its peak in early June. The content of flavonoids gradually increases from May to September, and reaches its peak in early October before rapidly decreasing. **Conclusion** There are certain differences in the composition of components in *A. scoparia* collected in spring and autumn. There are significant differences in the content of components in *A. scoparia* during different growth periods. The best harvesting periods for *A. scoparia* in spring and autumn are early June, which has the highest content of organic acids, and early October, which has the highest content of coumarins and flavonoids, respectively.

Key words: *Artemisiae Scopariae Herba*; *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.; different growth periods; best harvesting periods; Q-TOF-MS/MS; chlorogenic acid; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; 3,4-dicaffeoyl quinic acid; 3,5-dicaffeoyl quinic acid; 4,5-dicaffeoyl quinic acid; HPLC-DAD; quantitative analysis of multicomponents

茵陈为最常用传统中药之一，在亚洲国家长期用来治疗胆汁淤积性肝病^[1]。《中国药典》2020 年版、《香港中药材标准》第 6 册、《台湾中药典》第 2 版规定，茵陈为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *A. capillaries* Thunb. 的干燥地上部分^[2]。1985 年版及之前各版《中国药典》仅收录了春季采收的滨蒿和茵陈蒿，1990 年版开始的各版《中国药典》增加了秋季花蕾长成至花初开时采割的滨蒿和茵陈蒿^[3]，可能受此影响，《台湾中药典》第 2 版也同时收录了春季采收的和秋季采割的滨蒿和茵陈蒿，《中国药典》将两者分别习称为“绵茵陈”和“花茵陈”，《台湾中药典》第 2 版则分别习称为“绵茵陈”和“茵陈蒿”。可能因为在中国古代就有“三月茵陈四月蒿，五月六月当材烧”之说^[4]，《香港中药材标准》第 6 册则仅收录了春季采收的滨蒿和茵陈蒿，目前临床实际也仅用“绵茵陈”，市场未见有花茵陈销售^[5]。但是，也有文献研究发现，清代以前多种本草典籍中记载的茵陈的采收期是“5 月、7 月”或“5 月、立秋”，约相当于公历 6、8 月，用春季幼苗可能是从清代开始演变的^[6]。茵陈中所含的成分包括有机酸类、黄酮类、香豆素类、木脂素类、简单苯丙素类、色原酮类、氨基酸类、对羟基苯乙酮类及其他类等^[7-9]。尽管已见有对不同生长期滨蒿^[3, 6]和茵陈蒿^[10]中多个成分含量变化的研究

报道，但是，不同生长期特别是春季和秋季采收的茵陈中所含成分有何差异，目前还未见全面分析的研究报道。鉴于此，本项目组近期采用超快速液相色谱-三重四级杆飞行时间质谱（ultra-fast liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UFLC-Q-TOF-MS/MS）技术，分别对春季和秋季采集的滨蒿中的化学成分进行了全面比较分析，并采用 HPLC-DAD 方法对 5~11 月每月采集的滨蒿进行了多成分定量比较分析，以期为临床用药选择提供参考。

1 材料

1.1 仪器

UFLC-Triple-Q-TOF-MS/MS 系统，包括岛津 Shimadzu Prominence UFLC 型液相色谱仪和 AB SCIEX Triple TOF 4600 质谱仪，前者主要配有 LC-20AD XR 泵、CTO-20AC 柱温箱、SIL-20AC XR 型自动进样器（日本岛津公司），后者主要配有电喷雾离子源、Q-TOF-MS/MS 检测器（美国 AB SCIEX 公司）；PeakView 质谱分析软件（美国 AB SCIEX 公司）；SK5200H 型超声波清洗器（上海科导超声仪器有限公司）；Sartorius BT 25S 型电子天平（德国赛多利斯公司）。

1.2 试剂

对照品绿原酸（批号 110753-201817，质量分

数 $\geq 96.8\%$)、1,3-二咖啡酰奎宁酸(批号 111717-201402, 质量分数 $\geq 98\%$)、对羟基苯乙酮(批号 11897-201602, 质量分数 $\geq 99.9\%$)购自中国食品药品检定研究院; 1-咖啡酰奎宁酸(批号 21022508, 质量分数 98.37%)、新绿原酸(批号 20123006, 质量分数 99.62%)、3,4-二咖啡酰奎宁酸(批号 21022308, 质量分数 98.55%)、咖啡酸(批号 20110501, 质量分数 99.72%)、芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷(批号 22060602, 质量分数 99.38%)、芦丁(批号 21010804, 质量分数 98.75%)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(批号 21112405, 质量分数 99.61%)、滨蒿内酯(批号 20071704, 质量分数 99.93%)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(批号 21031902, 质量分数 99.77%)购自南京金益柏生物科技有限公司; 异槲皮苷(批号 CHB160912, 质量分数 $\geq 98\%$)、隐绿原酸(批号 CHB170828, 质量分数 $\geq 98\%$)、金丝桃苷(批号 CHB160904, 质量分数 $\geq 98\%$)购自成都克洛玛生物科技有限公司。色谱纯级甲醇购自国药集团化学试剂有限公司, 色谱纯级乙腈美国 TEDIA 公司, 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

7 份(每份 4~5 株)野生滨蒿原植物样品(编号 AS5~AS11)分别于 2021 年 5~11 月每月 5 号采集于江苏省南通市通州湾示范区三余镇(北纬 32°09'02"东经 121°26'07"), 经江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)刘启新教授鉴定, 基原均为滨蒿 *A. scoparia* Waldest. et Kit.。所有样品均采用电热鼓风干燥箱 30 °C 干燥后保存, 临用前粉碎成粉末, 过四号筛。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 供试品溶液的制备^[5, 7, 11] 取样品粉末约 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇 49 mL 左右, 超声处理(功率 200 W、频率 53 kHz) 30 min, 放冷后加 50% 甲醇至量瓶刻度, 摇匀, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.2 成分鉴定用混合对照品溶液制备 精密称取 15 个对照品适量, 分别加 50% 甲醇溶解, 配制成 15 个对照品贮备液。分别精密量取适当体积的 15 个对照品贮备液, 混合, 加 50% 甲醇稀释, 配制成 1-咖啡酰奎宁酸、新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、隐绿原酸、对羟基苯乙酮、芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷、1,3-二咖啡酰奎宁酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁

酸、滨蒿内酯和 4,5-二咖啡酰奎宁酸质量浓度分别为 98.000、122.00、92.000、108.00、170.00、152.00、106.00、90.000、86.000、110.00、96.000、144.00、116.00、106.00、128.00 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 含量测定用混合对照品溶液制备 分别精密量取适当体积的“2.1.2”项下配制的 15 个对照品贮备液中的 9 个, 按“2.1.2”项下方法配制成新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷、金丝桃苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯和 4,5-二咖啡酰奎宁酸质量浓度分别为 8.5440、165.12、39.520、18.120、39.360、146.04、473.44、165.60 和 160.48 μ g/mL 的混合对照品溶液工作液 A, 分别将混合对照品溶液工作液 A 加 50% 甲醇稀释 2、5、10、25、50 和 100 倍, 配制成含量测定用混合对照品溶液工作液 B~G。

2.2 成分组成分析

2.2.1 色谱条件^[5, 11] 色谱柱为 Symmetry C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B), 梯度洗脱(0~35 min, 5%~10% A; 35~65 min, 10%~25% A; 65~67 min, 25%~90% A; 60~80 min, 90% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C。

2.2.2 质谱条件 DuoSpray 离子源, ESI 方式电离, 分别在负离子模式和正离子模式下检测, 离子源温度(TEM) 550 °C, 离子源喷射电压(ISVF) -4 500 V/5 500 V, 气帘气(CUR) 35 psi (1 psi=6.895 kPa), 雾化气(Gas 1) 60 psi, 加热气(Gas 2) 60 psi。采用 TOFMS-IDA-10 MS/MS 信息采集方式获取质谱信息, 相关参数设置如下: 一级质谱解簇电压(DP) 为 -80 V/80 V, 碰撞能量(CE) -10 eV/10 eV, TOF-MS 累计时间 250 ms, 母离子扫描范围 m/z 115~1 500; 二级质谱 DP 为 -80 V/80 V, CE -35 eV/35 eV, 碰撞能量扩展(CES) 15 eV, TOF-MS 累计时间 100 ms, 扫描范围 m/z 50~1 500^[5, 7, 11]。

2.2.3 样品测定及分析 分别自动吸取成分鉴定用混合对照品溶液、AS5 和 AS9 供试品溶液各 10 μ L, 注入 UFLC-Triple-Q-TOF/MS 系统, 采用“2.2.1”项下色谱条件和质谱条件测定。

采用 PeakView1.6 质谱分析软件提取混合对照品和样品的总离子流图(图 1~3)及对照品和样品的质谱数据。首先, 对 PeakView 软件给出的 15

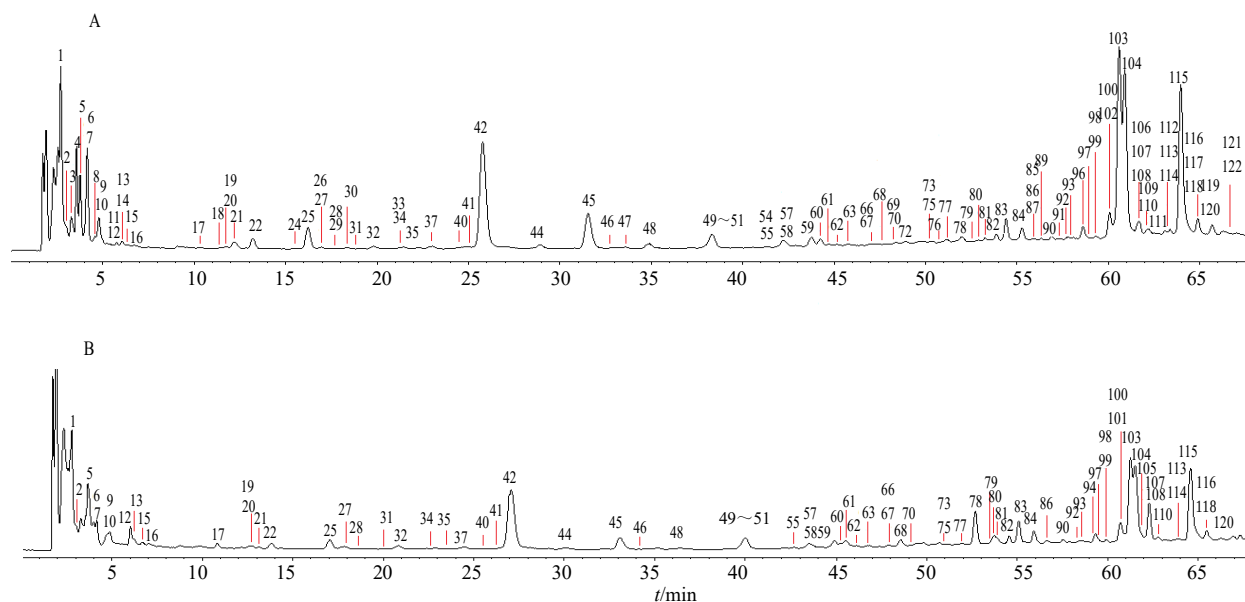


图 1 负离子模式 (A) 和正离子模式 (B) 模式下春季采集的滨蒿总离子流图

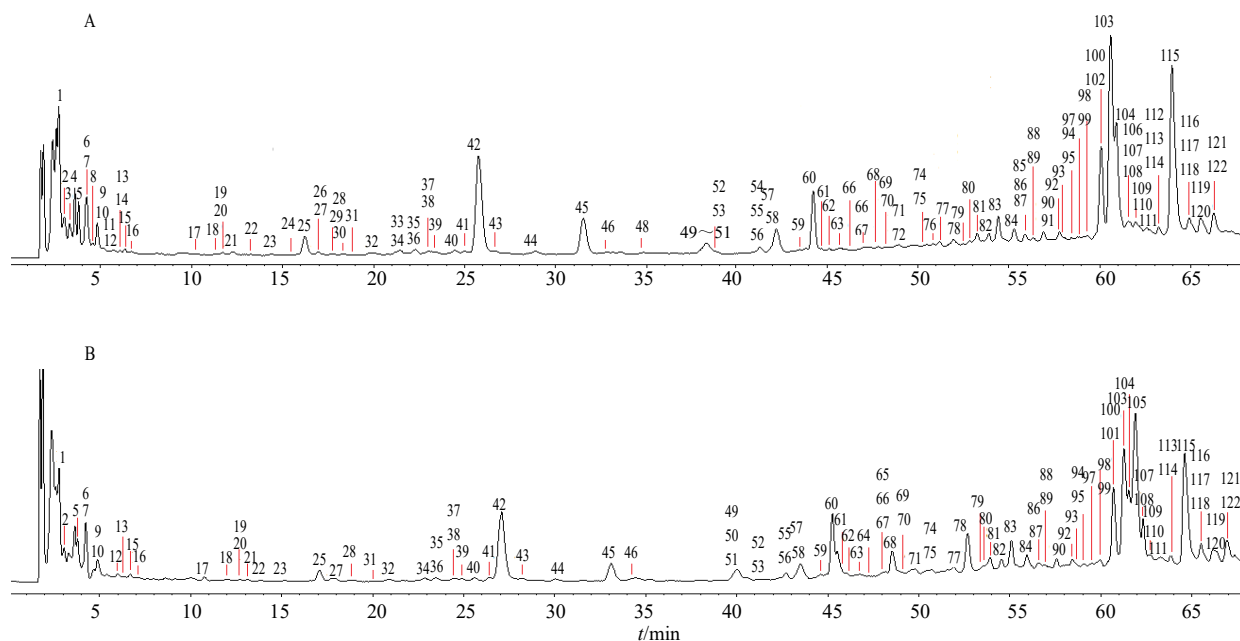
Fig 1 Total ion chromatograms of *A. scoparia* collected in spring in negative ion mode (A) and positive ion mode (B)

图 2 负离子模式 (A) 和正离子模式 (B) 模式下秋季采集的滨蒿总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatograms of *A. scoparia* collected in autumn in negative (A) and positive ion mode (B)

个对照品的一级质谱、二级质谱数据进行分析并总结规律,发现负离子模式下一级质谱给出的前体离子主要为准分子 $[M-H]^-$,正离子模式下一级质谱给出的前体离子主要为准分子 $[M+H]^+$ 或 $[M+NH_4]^+$,同时发现仅在正离子模式下才能检测到滨蒿内酯。其次,根据一级质谱数据得到的样品中各成分的精确相对分子质量和分子式,与本项目组前期建立的茵陈化学成分数据库比对,结合在

线检索化合物数据库 PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>),将二级质谱碎片离子信息与对照品裂解规律及文献数据进行比较分析,对春季和秋季采集的滨蒿中所含成分进行成分鉴定及比较分析。结果显示,春季和秋季采集的滨蒿中共鉴定了化学成分 122 个,包括有机酸类成分 48 个,黄酮类成分 31 个,香豆素类成分 5 个,木脂素类成分 3 个,简单苯丙素类成分 13,色原酮类成分

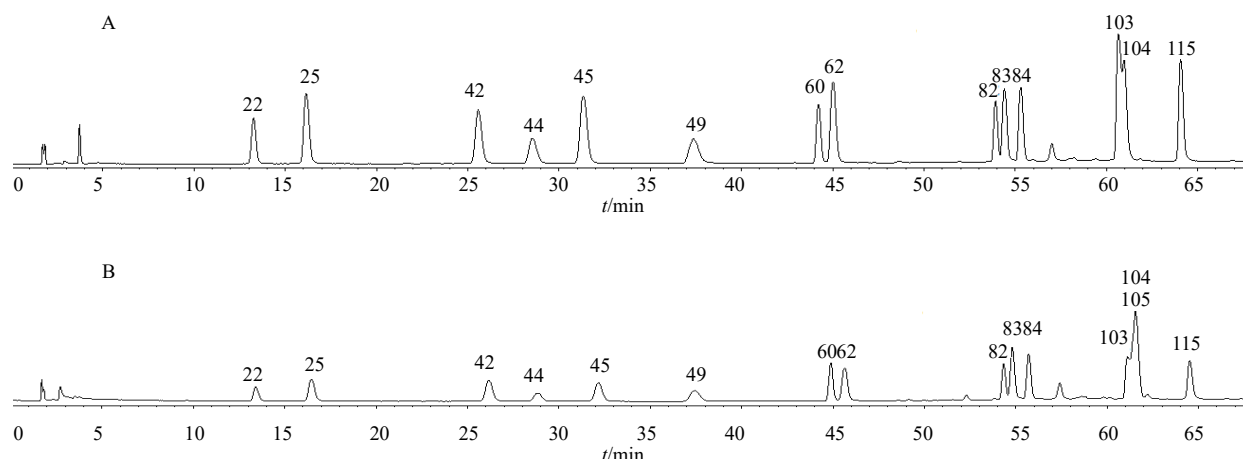


图 3 负离子模式 (A) 和正离子模式 (B) 模式下混合对照品总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatograms of mixed reference in negative (A) and positive ion mode (B)

2 个, 氨基酸类成分 2 个, 对羟基苯乙酮类成分 3 个及其他类成分 15 个, 其中有机酸类成分 1-咖啡酰奎宁酸 (22)、新绿原酸 (28)、绿原酸 (42)、咖啡酸 (44)、隐绿原酸 (45)、1,3-二咖啡酰奎宁酸 (62)、3,4-二咖啡酰奎宁酸 (103)、3,5-二咖啡酰奎宁酸 (104)、4,5-二咖啡酰奎宁酸 (115), 黄酮类成分芦丁 (82)、金丝桃苷 (83)、异槲皮苷 (84)、芹菜素 6,8-二-C-β-D-葡萄糖苷 (60), 香豆素类成分滨蒿内酯 (105) 及对羟基苯乙酮类成分

对羟基苯乙酮 (49) 共计 15 个成分采用对照品比对确认。见表 1。

结果同时显示, 检测到的 122 个成分中的 103 个同时存在于春季和秋季采集的滨蒿中。但是, 有机酸类成分 tuberonic acid glucoside (47), 黄酮类成分 quercetin 3-O-robinobioside (73) 和木犀草素 7-葡萄糖醛酸 (96), 共计 3 个成分仅存在于春季采集的滨蒿中; 有机酸类成分对羟基苯甲酸葡萄糖苷 (23)、异绿原酸 (36) 和咖啡酸 4-O-葡萄糖苷 (38), 黄酮类

表 1 绵茵陈、花茵陈中化学成分 Q-TOF-MS/MS 鉴定结果

Table 1 Constituents in *A. scoparia* collected in spring and autumn identified by Q-TOF-MS/MS

峰号	t _R /min	分子式	化合物名称	MS			MS/MS ^d	化合物种类	文献
				实际值	理论值	误差/(×10 ⁻⁶)			
1	2.77	C ₇ H ₁₂ O ₆	奎宁酸	191.056 1 ^b	191.056 1	-0.1	191.055 9, 85.030 6	有机酸	12-15
2	3.00	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	肌苷	267.072 9 ^b	267.073 5	-2.2	267.077 7, 113.025 7, 71.014 5, 59.014 4	其他	12
3	3.23	C ₄ H ₆ O ₅	苹果酸	133.015 3 ^b	133.014 2	7.9	71.015 3, 115.004 0, 133.013 9	有机酸	12-13
4	3.50	C ₆ H ₈ O ₇	柠檬酸	191.020 0 ^b	191.019 7	1.4	73.030 1, 85.029 9, 173.008 76	有机酸	16
5	3.77	C ₈ H ₁₂ O ₇	dimethyl citrate	219.051 6 ^b	219.051 0	2.6	87.009 7, 219.051 0, 85.030 6, 59.015 7	有机酸	7
6	3.99	C ₅ H ₇ NO ₃	L-pyroglutamic acid	128.036 2 ^b	128.035 3	6.9	128.036 3, 84.046 7, 82.030 0	有机酸	14
7	4.08	C ₆ H ₈ O ₇	异柠檬酸	191.020 2 ^b	191.019 7	2.5	87.009 7, 85.030 3, 57.036 4, 191.020 4	有机酸	7
8	4.56	C ₄ H ₆ O ₄	琥珀酸	117.019 8 ^b	117.019 3	4.0	73.030 4, 117.021 8	有机酸	12
9	4.73	C ₇ H ₈ O ₇	oxaloglutarate	203.020 0 ^b	203.199 7	1.3	71.015 1, 203.019 5, 97.030 3, 69.035 7	有机酸	7
10	4.75	C ₅ H ₆ O ₅	citramalic acid	147.030 3 ^b	147.029 9	2.7	87.009 5, 85.030 1, 147.029 2, 57.036 1	有机酸	12
11	5.65	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	3-甲氧基咖啡酸-4-O-β-D-葡萄糖苷	329.088 9 ^b	329.087 8	3.3	329.100 7, 123.048 2, 101.027 4	有机酸	17
12	5.68	C ₉ H ₁₁ NO ₂	苯丙氨酸	164.071 6 ^b	164.071 7	-0.6	147.055 3, 76.948 1	氨基酸	15,18
13	6.03	C ₆ H ₉ NO ₃	methyl L-pyroglutamate	142.051 9 ^b	142.051 0	0.9	142.052 0	其他	19-20
14	6.04	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	原儿茶酸-3-O-葡萄糖苷	315.072 0 ^b	315.072 2	-0.5	153.019 4, 109.032 5	有机酸	10, 14, 16
15	6.31	C ₁₁ H ₂₀ O ₉	methyl β-xylobioside	295.103 9 ^b	295.103 5	1.5	295.104 3	其他	19-20
16	6.71	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	syringoylquinic acid	371.097 6 ^b	371.098 4	-2.1	191.054 9, 371.095 2	有机酸	20
17	10.25	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	色氨酸	203.082 6 ^b	203.082 6	0.0	116.049 5, 159.093 8, 142.071 0	氨基酸	7
18	11.30	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	3,4-dihydroxyphenethyl glucoside	315.109 7 ^b	315.108 5	3.7	153.056 9	其他	20
19	11.66	C ₇ H ₆ O ₄	原儿茶酸	153.019 7 ^b	153.019 3	2.4	109.129 5, 153.018 7	有机酸	7, 11, 15
20	11.90	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	protocatechuic acid 4-O-glucoside	315.071 8 ^b	315.072 2	-1.1	315.074 3, 153.017 8, 109.031 1	有机酸	21
21	12.28	C ₁₅ H ₂₀ O ₁₀	4-O-glucosyl syringic acid	359.098 6 ^b	359.098 4	0.6	197.046 2, 153.054 8	有机酸	20
22	13.12	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1-咖啡酰奎宁酸 ^a	353.087 7 ^b	353.087 8	-0.3	191.055 2	有机酸	

表 1 (续)

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	化合物名称	MS			MS/MS ^d	化合物种类	文献
				实际值	理论值	误差/(×10 ⁻⁶)			
23	14.33	C ₁₃ H ₁₆ O ₈	对羟基苯甲酸葡萄糖苷	299.077 3 ^b	299.077 2	0.2	137.024 1	有机酸	20
24	15.41	C ₁₄ H ₁₈ O ₇	对羟基苯乙酮-4- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	297.098 4 ^b	297.098 0	1.4	—	对羟基苯乙酮	7
25	16.19	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	新绿原酸 ^a	353.088 5 ^b	353.087 8	2.0	191.056 2, 179.035 1, 135.045 5, 353.087 6	有机酸	
26	16.95	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀	3,5-dihydroxyphenylpropanoic acid 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucuronide	357.082 7 ^b	357.082 7	-0.1	135.046 1, 179.034 8, 195.047 9, 105.017 5	有机酸	20
27	16.93	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	salidroside	299.113 3 ^b	299.113 6	-1.1	101.029 3	其他	12
28	17.57	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	esculin	339.073 0 ^b	339.072 2	2.5	177.021 3, 339.076 0, 133.031 2	香豆素	7
29	17.73	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₃	3-hydroxy-4-[3,4,5-trihydroxy-6-[(3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl)oxymethyl]oxan-2-yl]oxybenzoic acid	447.115 6 ^b	447.114 4	2.7	447.1166, 411.1098	有机酸	7
30	18.23	C ₇ H ₆ O ₃	对羟基苯甲酸	137.025 1 ^b	137.024 4	5.0	137.023 9	有机酸	12-13
31	18.92	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₁	bungeiside C	429.138 1 ^b	429.140 2	-5.0	—	对羟基苯乙酮	11-12
32	19.83	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	6- <i>O</i> -(<i>E</i>)-caffeoylglucose	341.086 8 ^b	341.087 8	-2.9	179.031 7, 341.095 5	简单苯丙素	19-20
33	21.25	C ₁₂ H ₁₄ O ₈	2,3-dihydroxybenzoic acid 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -xyloside	285.061 2 ^b	285.061 6	-1.4	285.069 4, 153.017 7	有机酸	21
34	21.38	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	5- <i>O</i> -(4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucosyl caffeoyl) quinic acid	515.141 0 ^b	515.140 6	0.7	515.141 2, 323.076 7, 191.055 7, 161.024 2	有机酸	11
35	22.16	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀	3,5-dihydroxyphenylpropanoic acid 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucuronide	357.082 9 ^b	357.082 7	0.5	135.0435, 195.0503, 177.0393	有机酸	20
36	22.16	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	异绿原酸	353.087 8 ^b	353.087 8	0.0	—	有机酸	14, 15
37	22.98	C ₃₂ H ₃₄ O ₁₈	5'-5'绿原酸二聚体	705.167 8 ^b	705.167 2	0.8	705.170 0, 513.105 3, 339.049 8, 191.055 0	有机酸	7
38	23.20	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	咖啡酸 4- <i>O</i> -葡萄糖苷	341.088 1 ^b	341.087 8	0.9	179.033 8, 135.044 9, 341.087 8	有机酸	19-20
39	23.41	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	6'- <i>O</i> -feruloylsucrose	517.157 5 ^b	517.156 3	2.4	517.158 2, 161.024 6	简单苯丙素	20
40	24.45	C ₁₂ H ₁₆ O ₆	phenyl β- <i>D</i> -glucoside	255.087 6 ^b	255.087 4	0.7	211.097 2, 255.086 4, 75.012 6	其他	19-20
41	24.90	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₃	vanillin lactoside	475.146 9 ^b	475.145 7	2.5	475.144 3, 281.068 7, 135.045 7	其他	20
42	25.67	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸 ^a	353.088 5 ^b	353.087 8	2.0	191.056 2	有机酸	
43	26.58	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	arillatose B	517.156 5 ^b	517.156 3	0.4	517.158 0, 161.023 0, 179.031 5	简单苯丙素	20
44	28.79	C ₉ H ₈ O ₄	咖啡酸 ^a	179.035 5 ^b	179.035 0	2.9	135.044 6, 179.035 0	有机酸	
45	31.28	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	隐绿原酸 ^a	353.087 7 ^b	353.087 8	-0.3	173.044 7, 179.034 7, 191.055 2, 135.044 5	有机酸	
46	32.76	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₀	benzyl β-primeveroside	401.145 7 ^b	401.145 3	0.9	401.059 4	其他	19-20
47	33.56	C ₁₈ H ₂₈ O ₉	tuberonic acid glucoside	387.165 4 ^b	387.166 1	-1.7	387.165 8, 163.109 6, 59.015 5	有机酸	19-20
48	34.73	C ₁₂ H ₁₄ O ₆	diethyl 2,5-dihydroxyterephthalate	253.072 1 ^b	253.071 8	1.3	253.071 4	其他	7
49	37.84	C ₈ H ₈ O ₂	对羟基苯乙酮 ^a	135.045 3 ^b	135.045 2	1.1	135.045 4, 93.034 9	对羟基苯乙酮	
50	38.07	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	coumaroyl quinic acid	337.092 8 ^b	337.092 9	-0.3	191.054 4, 119.052 0, 93.038 3, 173.040 8	有机酸	12-13
51	38.22	C ₁₈ H ₂₈ O ₉	isotuberonic acid glucoside	387.166 4 ^b	387.166 1	0.9	387.164 5, 207.100 6, 59.014 3	有机酸	20
52	38.69	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₀	1-sinapoyl-β- <i>D</i> -glucoside	385.114 8 ^b	385.114 0	2.0	161.023 1, 385.114 2, 133.029 1, 135.042 8	简单苯丙素	13-14, 16
53	38.70	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	木犀草素 6,8-二- <i>C</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	609.147 8 ^b	609.146 1	2.8	609.153 0, 489.102 2, 471.100 8, 429.085 2	黄酮	20
54	41.22	C ₁₆ H ₂₂ O ₈	3 <i>S</i> , 8 <i>S</i> -dihydroxydec-9-en-4, 6-yne 1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	341.124 4 ^b	341.124 2	0.6	236.997 2, 119.052 2	其他	7, 17
55	41.35	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	alangionoside A	389.219 7 ^b	389.218 1	4.1	—	其他	20
56	41.41	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₃	<i>trans</i> -caffeic acid [apiosyl-(1-6)-glucosyl] ester	473.132 5 ^b	473.130 1	5.1	473.148 6, 311.105 3, 281.075 4, 179.038 0	简单苯丙素	20
57	42.00	C ₁₄ H ₁₆ O ₈	2-tolcic acid glucuronide	311.087 8 ^b	311.077 2	4.7	149.047 1, 135.046 1, 89.023 5, 179.038 2	有机酸	7
58	42.04	C ₁₇ H ₁₈ O ₁₀	7-β-galactopyranosyloxycoumarin-4-acetic acid	381.082 8 ^b	381.082 7	0.2	161.023 8, 381.085 5, 179.034 2	香豆素	7
59	43.63	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	tuberonic acid	225.113 8 ^b	225.113 2	2.5	59.015 8, 225.110 2, 147.079 1, 97.067 5	有机酸	22
60	44.26	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	芹菜素 6,8-二- <i>C</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷 ^a	593.152 2 ^b	593.151 2	1.7	593.152 9, 473.107 0	黄酮	
61	44.61	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	绿原酸甲酯	367.104 3 ^b	367.103 5	2.3	191.055 8, 93.034 7, 367.111 9, 193.047 4	有机酸	21
62	45.12	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1,3-二咖啡酰奎宁酸 ^a	515.117 9 ^b	515.119 5	-3.7	191.056 1, 179.034 5, 353.084 6, 515.120 7	有机酸	
63	45.61	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	myricetin-3- <i>O</i> -rutinoside	625.141 5 ^b	625.141 0	0.8	625.139 3, 317.026 2	黄酮	20
64	46.27	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	quercetagenin-7- <i>O</i> -glucoside	479.085 1 ^b	479.083 1	4.1	479.100 4, 317.039 4, 443.156 2	黄酮	20
65	47.89	C ₉ H ₈ O ₃	7-羟基香豆素	163.039 0 ^c	163.039 0	0.2	145.030 1, 163.040 1, 135.041 8, 73.028 5	香豆素	9, 22
66	47.00	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	regaloside A	399.129 7 ^b	399.129 7	0.1	161.025 6, 399.144 3, 363.174 2, 133.031 5	简单苯丙素	20
67	47.14	C ₃₂ H ₃₄ O ₁₈	2'-2'绿原酸二聚体	705.171 0 ^b	705.167 2	5.3	513.125 3, 705.199 0, 339.060 3, 321.050 0	有机酸	7
68	47.64	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	<i>N</i> -(3-phenoxybenzyl)acetohydroxamic acid	282.113 5 ^b	282.113 6	-0.2	240.101 0, 169.065 8, 238.126 9, 195.070 3	其他	20
69	48.13	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	quinic acid 4- <i>O</i> -coumarate	337.094 5 ^b	337.092 9	4.8	191.058 7	有机酸	19-20
70	48.22	C ₃₂ H ₃₄ O ₁₈	6'-6'绿原酸二聚体	705.167 8 ^b	705.167 2	0.8	513.100 0, 705.194 2	有机酸	7
71	48.60	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	isoregaloside A	399.128 1 ^b	399.129 7	-3.9	399.144 3, 161.025 7, 133.028 9, 233.048 3	简单苯丙素	20
72	48.78	C ₂₁ H ₃₈ O ₈	pumilaside A	417.249 6 ^b	417.249 4	0.5	—	其他	20

表 1 (续)

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	化合物名称	MS			MS/MS ^d	化合物种类	文献
				实际值	理论值	误差/(×10 ⁻⁶)			
73	50.17	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	quercetin 3- <i>O</i> -robinobioside	609.146 8 ^b	609.146 1	1.1	609.175 6, 301.043 5	黄酮	7
74	50.18	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	isoapigenin 6,8-di- <i>C</i> -β- <i>D</i> -glucoside	593.153 2 ^b	593.151 2	3.4	593.153 5, 473.108 4, 503.121 4	黄酮	20
75	50.35	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	quercetin-5-glucoside	463.087 1 ^b	463.088 2	-2.4	463.086 4, 301.033 3	黄酮	7
76	50.75	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1,5-二咖啡酰奎宁酸	515.120 6 ^b	515.119 5	2.1	515.116 7, 191.057 7, 323.059 0, 281.052 6	有机酸	12, 16
77	51.22	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₀	ptelatosid A	413.146 4 ^b	413.145 3	2.6	413.150 5, 161.026 6	其他	19
78	52.00	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	quercetin 4'- <i>O</i> -glucoside	463.088 8 ^b	463.088 2	1.3	463.085 2, 301.032 3, 151.002 4	黄酮	20
79	52.46	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	1- <i>O</i> -feruloyl-β- <i>D</i> -glucose	355.104 5 ^b	355.103 5	2.9	161.045 5, 59.012 7	简单苯丙素	21
80	52.73	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	tricin 7-glucoside	491.122 0 ^b	491.119 5	5.1	161.026 4, 491.139 4, 447.146 1, 473.129 6	黄酮	16
81	53.24	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	kaempferol 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucosylgalactoside	609.147 7 ^b	609.146 1	2.6	609.151 2	黄酮	7
82	53.82	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁 ^a	609.146 3 ^b	609.146 1	0.3	609.147 3, 301.033 7	黄酮	
83	54.31	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	金丝桃苷 ^a	463.088 7 ^b	463.088 2	1.1	463.088 0, 301.035 6	黄酮	
84	55.22	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	异槲皮苷 ^a	463.088 5 ^b	463.088 2	0.6	463.089 6, 301.034 7	黄酮	
85	55.86	C ₁₅ H ₂₀ O ₅	青蒿烯	279.123 5 ^b	279.123 8	-1.1	—	其他	19-20
86	55.92	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	luteolin 5-glucoside	447.093 7 ^b	477.093 3	0.9	447.092 8, 285.041 1	黄酮	16
87	55.94	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₃	methoxy-myricetin-3- <i>O</i> -hexoside	493.099 8 ^b	493.098 8	2.1	493.117 7, 331.053 4, 315.028 2, 447.109 4	黄酮	23
88	56.27	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₅	leucopelargonidin 3- <i>O</i> -α- <i>L</i> -rhamno-β- <i>D</i> -glucoside	597.183 6 ^b	579.182 5	1.9	597.184 0, 477.145 7, 417.119 1	黄酮	20
89	56.34	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	scoparin	461.109 6 ^b	461.108 9	1.4	323.076 8, 461.112 5, 161.025 0, 417.108 9	黄酮	7
90	56.86	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	quercetin-3- <i>O</i> -arabinoside	433.078 3 ^b	433.077 6	1.5	301.033 9, 433.078 7	黄酮	9
91	57.29	C ₂₀ H ₂₆ O ₉	绿原酸正丁酯	409.148 3 ^b	409.150 4	-5.1	—	有机酸	7
92	57.73	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	quercetin-3- <i>O</i> -xyloside	433.078 3 ^b	433.077 6	1.5	433.078 7, 301.035 6	黄酮	7
93	57.97	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	447.093 3 ^b	477.093 3	0.0	447.094 2, 285.038 6, 327.044 1	黄酮	11, 13, 16
94	58.38	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	isorhamnetin 3- <i>O</i> -robinobioside	623.162 0 ^b	623.161 8	0.4	623.161 0, 315.050 3	黄酮	13-14, 21
95	58.41	C ₁₅ H ₁₆ O ₆	8-hydroxy-7-(4'-hydroxy-3'-methyl-but-2'-enyl-oxy)-6-methoxycoumarin	291.086 7 ^b	291.087 4	-2.4	173.095 9, 247.092 8	香豆素	20
96	58.54	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	木犀草素 7-葡萄糖醛酸	461.073 8 ^b	461.072 5	2.7	285.040 6, 461.073 7	黄酮	7
97	58.89	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	naringin	579.168 0 ^b	579.171 9	-6.8	271.063 4, 579.154 7	黄酮	7
98	59.24	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	lariciresinol 4'- <i>O</i> -glucoside	521.203 0 ^b	521.202 8	0.3	503.207 5, 521.238 7, 485.212 7, 341.169 3	木脂素	19-20
99	59.28	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	tortoside A	579.208 1 ^b	579.208 3	-0.4	417.157 1, 579.205 4	木脂素	7
100	59.71	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	槲皮素-3- <i>O</i> -鼠李糖苷	447.094 0 ^b	447.093 3	1.6	447.109 4, 285.048 1	黄酮	11, 13
101	59.80	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	isorhamnetin-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	477.105 6 ^b	477.103 9	3.7	477.119 8, 285.047 3, 315.060 8	黄酮	19-20
102	59.91	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	quercetin-malonyl-hexoside	549.088 2 ^b	549.088 6	-0.7	505.120 7, 301.043 6, 219.108 4	黄酮	12-13
103	60.52	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	3,4-二咖啡酰奎宁酸 ^a	515.121 8 ^b	515.119 5	4.5	173.045 2, 179.034 6, 353.088 5, 191.055 7	有机酸	
104	60.90	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	3,5-二咖啡酰奎宁酸 ^a	515.121 3 ^b	515.119 5	3.5	191.056 6, 353.088 2, 179.035 3, 135.045 3	有机酸	
105	61.78	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	滨蒿内酯 ^a	207.065 6 ^c	207.065 2	2.0	207.064 8, 191.034 3, 151.074 6, 135.043 8	香豆素	
106	61.50	C ₉ H ₁₆ O ₄	壬二酸	187.098 4 ^b	187.097 6	1.7	125.096 1, 187.097 1, 169.082 1, 123.080 1	有机酸	14-16
107	61.57	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	6- <i>O</i> -(<i>E</i>)-caffeoyl-hydroxyphenethylalcohol-4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	461.146 5 ^b	461.145 3	2.6	461.146 5, 161.024 9	简单苯丙素	8
108	61.64	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	rhamnetin-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	477.105 6 ^b	477.103 9	3.7	477.111 5, 315.051 2, 299.031 4, 161.025 8	黄酮	20
109	61.96	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	eriodictyol	287.057 2 ^b	287.056 1	3.8	125.024 0, 259.061 1, 287.056 1	黄酮	13
110	62.13	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1,4-二咖啡酰奎宁酸	515.120 9 ^b	515.119 5	2.7	353.088 0, 191.055 6, 179.034 4, 515.120 3	有机酸	12, 14
111	62.74	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₀	6'- <i>O</i> -caffeoyl- <i>p</i> -hydroxyacetophenone-4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	459.128 8 ^b	459.129 7	-1.9	323.078 7, 459.123 4, 135.043 2, 161.031 4	其他	13
112	63.04	C ₁₄ H ₁₂ O ₅	capillarisinol A	259.062 6 ^b	259.061 2	5.4	215.073 1	有机酸	7
113	63.10	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	isorhamnetin 4'- <i>O</i> -glucoside	477.104 8 ^b	477.103 9	2.0	477.104 5, 315.071 5, 161.023 8	黄酮	7
114	63.21	C ₁₄ H ₁₆ O ₄	diethyl benzylidenemalonate	247.098 4 ^b	247.097 6	3.3	185.099 4, 173.098 9, 169.068 3, 247.106 3	简单苯丙素	20
115	63.78	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	4,5-二咖啡酰奎宁酸 ^a	515.121 2 ^b	515.119 5	3.3	353.089 3, 173.045 3, 179.034 7, 515.122 6	有机酸	
116	64.70	C ₂₁ H ₃₈ O ₈	ophiopogonaside A	417.249 2 ^b	417.249 4	-0.5	—	其他	19-20
117	64.81	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₂	tracheloside	549.198 8 ^b	549.497 8	1.9	387.167 0, 549.199 8, 161.023 7	木脂素	14
118	65.03	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	vitexin	431.099 0 ^b	431.098 4	1.5	285.038 5, 431.102 2, 227.031 9	黄酮	7
119	65.62	C ₁₅ H ₁₈ O ₅	scopariachromane	277.107 9 ^b	277.108 1	-0.9	259.096 3, 277.105 6, 199.074 5, 247.094 2	简单苯丙素	7
120	65.79	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	chrysoeriol-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	461.110 1 ^b	461.108 9	2.5	323.077 6, 161.023 9, 461.109 3	黄酮	7
121	66.31	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	6-demethoxycapillarisin	285.040 7 ^b	285.040 5	0.8	285.050 3	色原酮	3, 14
122	66.40	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	capillarisin	315.050 6 ^b	315.051 0	-1.4	315.054 2, 299.022 4, 201.013 6, 167.001 4	色原酮	13-14

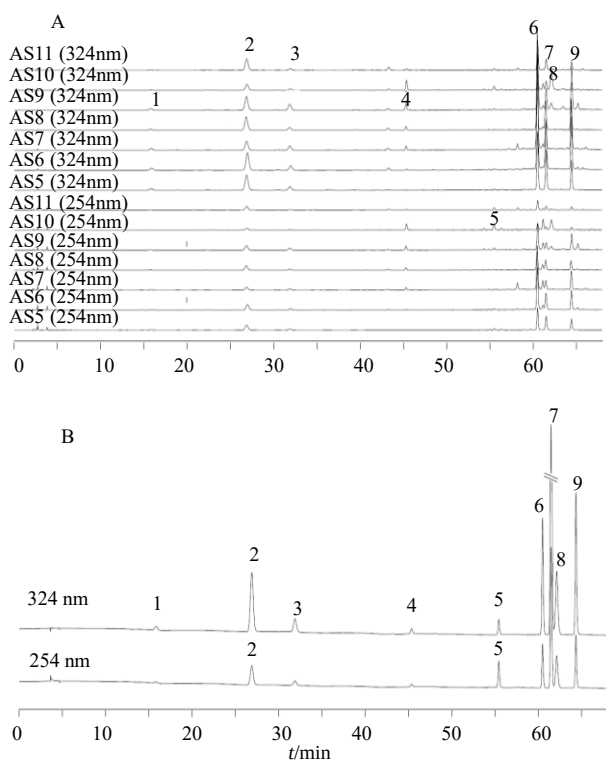
a-通过对照品比对确认; b-准分子离子为[M-H]⁻; c-准分子离子为[M+H]⁺; d-根据相对丰度排列前 4 个。

a-confirmed by comparison with reference substances; b-the quasi-molecular ion is [M-H]⁻; c-the quasi-molecular ion is [M+H]⁺; d-arrange the top 4 based on relative abundance.

成分木犀草素 6,8-二-*C*- β -*D*-葡萄糖苷 (53)、quercetagetin-7-*O*-glucoside (64)、异芹菜素 6,8-二-*C*- β -*D*-葡萄糖苷 (74)、leucopelargonidin 3-*O*- α -*L*-rhamno- β -*D*-glucoside (88)、isorhamnetin 3-*O*-robinobioside (94) 和 isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-galactoside (101), 香豆素类成分 7-羟基香豆素 (65) 和 8-hydroxy-7-(4'-hydroxy-3'-methyl-but-2'-enyl-oxy)-6-methoxycoumarin (95), 简单苯丙素类成分 6'-*O*-feruloylsucrose (39)、arillatose B (43)、1-sinapoyl- β -*D*-glucoside (52)、*trans*-caffeic acid [apiosyl-(1-6)-glucosyl] ester (56) 和 isoregaloside A (71), 共计 16 个成分仅存在于秋季采集的滨蒿中。见图 1 和图 2。

2.3 不同生长期滨蒿中 9 个成分含量测定

2.3.1 色谱条件 金丝桃苷测定波长 254 nm, 其他 8 个成分 324 nm, 其余条件同“2.2.1”项。该条件下的滨蒿样品重叠图和混合对照品色谱图见图 4。



1-新绿原酸; 2-绿原酸; 3-隐绿原酸; 4-芹菜素-6,8-*C*-二葡萄糖苷; 5-金丝桃苷; 6-3,4-二咖啡酰奎宁酸; 7-3,5-二咖啡酰奎宁酸; 8-滨蒿内酯; 9-4,5-二咖啡酰奎宁酸。
1-neochlorogenic acid; 2-chlorogenic acid; 3-cryptochlorogenic acid; 4-apigenin; 6,8-di-*C*- β -*D*-glucoside; 5-hyperoside; 6-3,4-dicaffeoylquinic acid; 7-3,5-dicaffeoylquinic acid; 8-scoparone; 9-4,5-dicaffeoylquinic acid.

图 4 滨蒿样品 (A) 和混合对照品 (B) 色谱图

Fig. 4 Chromatograms of *A. scoparia* (A) and mixed reference substances (B)

2.3.2 线性关系、定量限和检测限的考察 分别自动吸取混合对照品溶液工作液 A~G 各 30 μ L 进样测定, 以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X) 进行回归处理, 得 9 个成分的回归方程及线性范围。将混合对照品溶液工作液 G 逐步稀释后进样测定, 以信噪比 3:1、10:1 分别进行检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 测定, 见表 2。

2.3.3 精密度试验 分别自动吸取混合对照品溶液工作液 D 30 μ L, 1 d 内连续进样 6 次测定日内精密度, 3 d 内每日 2 次连续 3 d 进样测定日间精密度, 记录峰面积, 分别计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芹菜素-6,8-*C*-二葡萄糖苷、金丝桃苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯和 4,5-二咖啡酰奎宁酸 9 个成分的日内精密度和日间精密度测定的 RSD。结果日内精密度的 RSD 依次为 2.49%、0.45%、0.59%、0.71%、0.30%、0.42%、0.31%、2.82% 和 0.48%, 日间密度测定的 RSD 依次为 1.67%、0.45%、0.53%、0.78%、0.34%、0.45%、0.32%、2.82% 和 0.50%。

2.3.4 稳定性试验 取 AS9 供试品溶液, 分别于制备后 0、6、9、12、18、36 h 进样测定, 记录峰面积, 计算“2.3.3”项下新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芹菜素-6,8-*C*-二葡萄糖苷、金丝桃苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯和 4,5-二咖啡酰奎宁酸 9 个成分的 RSD 值, 结果分别为 4.47%、4.12%、3.44%、4.80%、1.40%、3.96%、3.94%、0.83%、4.27%。

2.3.5 重复性试验 取 AS9 粉末按“2.1.1”项下面积, 代入回归方程计算 6 份供试品溶液“2.3.3”项下 9 个成分的含量及各成分质量分数的 RSD, 结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芹菜素-6,8-*C*-二葡萄糖苷、金丝桃苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯和 4,5-二咖啡酰奎宁酸的平均质量分数分别为 0.60、5.77、1.73、2.47、0.68、11.31、7.05、0.47 和 7.08 mg/g, RSD 依次为 3.74%、4.35%、3.73%、4.60%、1.53%、4.55%、4.15%、0.94% 和 4.71%。

2.3.6 加样回收率试验 取 AS9 粉末 6 份, 每份约 0.1 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 分别精密添加“2.1.2”项下制备的“2.3.3”项下 9 个成分对照品储备液适量 (各成分的添加量约等于样品中根据回归方程的计算量), 加甲醇 24 mL 左右, 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 根据样品含量测定方法测定, 计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芹菜素-

表 2 9 个成分回归方程、线性范围及定量限和检测限

Table 2 Regression equations and linear ranges of nine components

对照品	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ng	LOD/ng	LOQ/ng
新绿原酸	$Y=3\,248\,875\,X-8\,823$	0.999 8	2.5632~256.32	4.029 0	7.092
绿原酸	$Y=2\,853\,308\,X-29\,877$	0.999 9	49.536~4953.6	12.49 2	17.208
隐绿原酸	$Y=2\,636\,537\,X-14\,484$	0.999 9	11.856~1185.6	7.385 0	11.798
芹菜素-6,8- <i>C</i> -二葡萄糖苷	$Y=2\,088\,576\,X-4\,333$	0.999 9	5.4360~543.60	3.303 0	6.170
金丝桃苷	$Y=2\,556\,845\,X-5\,221$	0.999 9	11.808~1180.8	4.671 0	10.807
3,4-二咖啡酰奎宁酸	$Y=3\,130\,550\,X-139\,942$	0.999 8	43.812~4381.2	45.993 0	49.005
3,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=3\,713\,120\,X-548\,416$	0.999 9	142.03~14203	149.210 0	152.750
滨蒿内酯	$Y=254\,133\,X-51\,736$	0.999 6	49.680~4968.0	22.956 0	29.017
4,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=3\,347\,783\,X-141\,261$	0.999 8	48.144~4814.4	44.515 0	49.929

6,8-*C*-二葡萄糖苷、金丝桃苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯和 4,5-二咖啡酰奎宁酸的加样回收率及其 RSD, 结果平均回收率分别为 96.68%、104.63%、96.76%、103.03%、97.43%、105.92%、103.94、102.05%和 99.45%, RSD 分别为 3.08%、3.17%、2.85%、1.95%、3.63%、1.13%、3.25%、4.53%和 4.64%。

2.3.7 样品测定 分别自动吸取 AS5~AS11 供试品溶液各 30 μL 进样测定, 记录 9 个成分的峰面积, 代入回归方程计算样品中各成分的含量。结果

显示, 不同生长期滨蒿中香豆素类成分滨蒿内酯含量变化最大, 5~8 月低于定量限, 9~11 月含量先增后降, 10 月初含量达到峰值, 与文献报道^[6]基本一致; 总体来讲, 有机酸类成分绿原酸、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, 新绿原酸和隐绿原酸春季和夏季 (5~7 月) 含量较高, 该类成分总含量 6 月初最高, 黄酮类成分金丝桃苷和芹菜素-6,8-*C*-二葡萄糖苷 5~9 月含量逐渐增加, 10 月初含量达到峰值后又迅速降低。见表 3 和图 5~7。

表 3 不同生长期滨蒿中 9 个成分含量测定结果

Table 3 Determination results of nine components in *A. scoparia* at different growth periods

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)										
	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	有机酸类成分总和	芹菜素-6,8- <i>C</i> -二葡萄糖苷	金丝桃苷	黄酮类成分总和	滨蒿内酯
AS5	0.921 00	10.023 0	2.502 00	15.984 0	11.268 0	7.808 0	48.506	0.050 00	0.471 00	0.521 00	—
AS6	1.1080 0	11.161 0	2.962 00	31.750 0	14.380 0	13.850 0	75.211	0.423 00	0.473 00	0.896 00	—
AS7	0.868 00	5.705 0	2.929 00	32.544 0	8.401 0	13.336 0	63.783	1.767 00	0.161 00	1.928 00	—
AS8	0.590 00	8.317 0	1.863 00	13.699 0	8.615 0	6.723 0	39.807	1.488 00	0.201 00	1.689 00	—
AS9	0.582 00	5.661 0	1.702 00	11.173 0	6.965 0	6.979 0	33.062	2.418 00	0.677 00	3.095 00	0.465 00
AS10	0.254 00	3.691 0	0.980 00	5.467 0	3.450 0	2.201 0	16.043	4.083 00	2.279 00	6.362 00	10.700 00
AS11	0.306 00	7.416 0	0.979 00	7.361 0	3.934 0	2.508 0	22.504	0.609 00	0.785 00	1.394 00	1.256 00

—表示低于定量限
—indicates below the LOQ

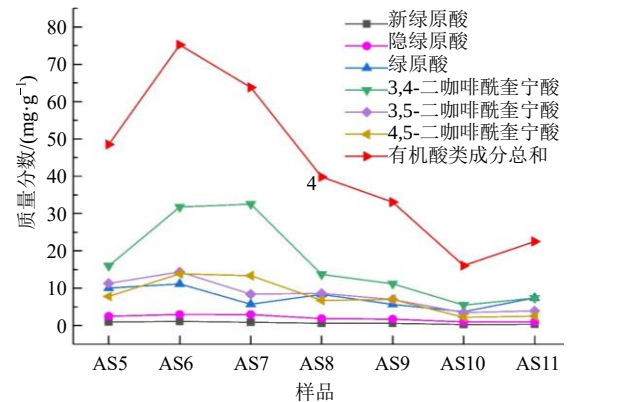


图 5 有机酸类成分含量折线图

Fig. 5 Line chart of content of organic acids

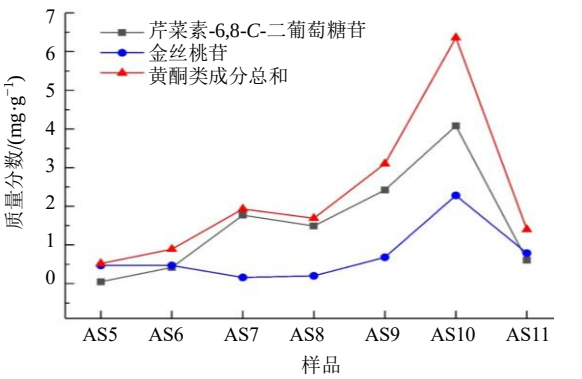


图 6 黄酮类成分含量折线图

Fig. 6 Line chart of content of flavonoids

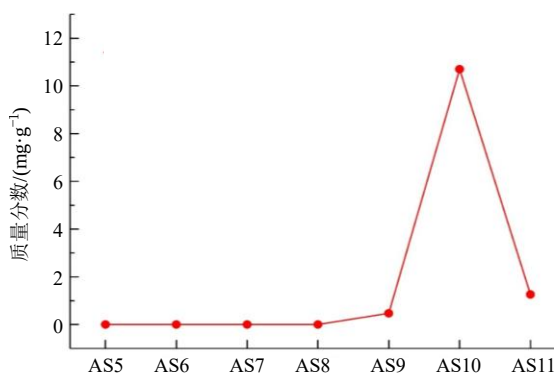


图 7 滨蒿内酯含量折线图

Fig. 7 Line chart of content of scoparone

3 讨论

3.1 关于滨蒿内酯的检测

本项目组前期研究已经发现, 香豆素类成分滨蒿内酯只有在正离子模式下才能检测到, 负离子模式下检测不到该成分^[7], 与毕玥琳等^[15]的研究结果一致。本研究发现, 另 1 个该类成分 7-羟基香豆素 (65) 也只有在正离子模式下才能检测到。由图 1~3 可见, 负离子模式下检测到的成分多于正离子模式, 但为了不遗漏滨蒿内酯等香豆素类成分, 本研究同时进行了负离子模式和正离子模式下检测。从本研究结果看, 春季采收的滨蒿中含有滨蒿内酯, 但是含量很低, 低于 HPLC 法的定量限甚至是检测限, 与文献报道^[24]的滨蒿幼苗中该成分“含量极微”一致。

3.2 关于春季和秋季采集的滨蒿中的差异性成分

植物中的化学成分分初生代谢产物和次生代谢产物 2 种, 次生代谢产物是指植物为了适应生长环境, 具有相同母核的初生代谢产物中的某些基团在某段生长期被取代, 常见的取代反应主要包括糖基化 (或称苷化)、甲基化、羟基化、酰基化等^[12]。仅在春季采集的滨蒿中检测到的 1 个糖苷类有机酸 tuberonic acid glucoside (47) 可能在生长过程中逐渐脱去葡萄糖, 到了秋季全部代谢成了与其在春季采集的滨蒿中同时存在的该有机酸的苷元 tuberonic acid (59); 仅在春季采集的滨蒿中检测到的 2 个黄酮类成分 quercetin 3-*O*-robinobioside (73) 和木犀草素 7-葡萄糖醛酸 (96) 可能分别在生长过程中逐渐代谢转化成了仅在秋季采集的滨蒿中检测到的 2 个具有相同母核的 leucopelargonidin 3-*O*- α -*L*-rhamno- β -*D*-glucoside (88) 和 quercetagenin-7-*O*-glucoside (64), 其中 quercetin 3-*O*-robinobioside (73) 发生 3'

位去羟基化, 木犀草素 7-葡萄糖醛酸 (96) 结构中的葡萄糖醛酸发生糖基化 (代谢成葡萄糖), 同时 3 位和 6 位发生羟基化。

仅在秋季采集的滨蒿中检测到的另外 14 个成分可能是春季和秋季采集的滨蒿中的部分共有成分在生长过程中逐渐代谢转化而形成。其中有机酸类成分对羟基苯甲酸葡萄糖苷 (23) 和咖啡酸 4-*O*-葡萄糖苷 (38) 可能分别是来自对羟基苯甲酸 (30) 和咖啡酸 (44) 的葡萄糖苷化产物, 异绿原酸 (36) 可能是绿原酸 (42) 形成的异构体; 黄酮类成分木犀草素 6,8-*di*-*2-C*- β -*D*-葡萄糖苷 (53) 可能是部分芹菜素 6,8-*2-C*- β -*D*-葡萄糖苷 (60) 的 3'位羟基化产物, 异芹菜素 6,8-*2-C*- β -*D*-葡萄糖苷 (74) 可能是芹菜素 6,8-*2-C*- β -*D*-葡萄糖苷 (60) 的异构化产物, isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-galactoside (101) 可能是成分 quercetin-malonyl-hexoside (102) 脱去丙二酰且酚羟基甲氧基化的产物, isorhamnetin 3-*O*-robinobioside (94) 可能是成分 isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-galactoside (101) 去鼠李糖产物; 香豆素类成分 7-羟基香豆素 (65) 和 8-hydroxy-7-(4'-hydroxy-3'-methyl-but-2'-enyl-oxy)-6-methoxy-coumarin (95) 可能均为滨蒿内酯 (105) 的代谢产物, 前者可能由于滨蒿内酯 (105) 发生 6 位酚羟基甲氧基化和 7 位甲氧基化, 后者可能是滨蒿内酯 (105) 7 位甲氧基被 4'-hydroxy-3'-methyl-but-2'-enyl-oxy 取代; 简单苯丙素类成分 6'-*O*-feruloylsucrose (39) 和 arillatose B (43) 是同分异构体, 可能是 6-*O*-(*E*)-caffeoylglucose (32) 3 位羟基甲氧基化且葡萄糖部分 1 位醇羟基的 H 被 1 个四氢呋喃类结构取代, 1-sinapoyl- β -*D*-glucoside (52) 可能是 1-*O*-feruloyl- β -*D*-glucose (79) 3 位羟基发生甲氧基化, *trans*-caffeic acid [apiosyl-(1-6)-glucosyl] ester (56) 可能是由于 1-*O*-feruloyl- β -*D*-glucose (79) 5 位甲氧基去甲基且葡萄糖部分 6 位醇羟基的 H 被 1 个四氢呋喃类结构取代, isoregaloside A (71) 可能是 regaloside A (66) 的异构体。

以上分析表明, 虽然春季和秋季采集的滨蒿中成分组成大部分相同, 但也有少数存在于春季采集的滨蒿中的成分全部或部分代谢转化成了母核相同的新成分存在于秋季采集的滨蒿中, 仅在春季采集的滨蒿中检测到的 3 个成分和仅在秋季采集的滨蒿中检测到的 16 个成分分别可作为区分春季和秋季采集的滨蒿的特征性成分。

3.3 关于含量测定成分及结果分析

采用对照品比对确认的成分共 15 个,但是含量测定只选择了其中 9 个(有机酸类成分 6 个,黄酮类成分 2 个,香豆素类成分 1 个)。由图 1 和图 2 可见,与对羟基苯乙酮保留时间基本相同的成分有 3 个,即该成分在色谱中未得到有效分离;另外 5 个成分 1-咖啡酰奎宁酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、芦丁和异槲皮苷在不同采收期滨蒿中均低于定量限。

迄今为止已从茵陈中分离并鉴定了各类化学成分 300 多个^[7],其中有机酸类和黄酮类数量最多^[7,9],有机酸中的单咖啡酰奎宁酸(绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸)和二咖啡酰奎宁酸如(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)是茵陈的重要质量标志物^[25],其中绿原酸是《中国药典》控制“绵茵陈”质量的指标性成分,本项目组^[5,11]前期研究发现,茵陈中 3,5-二咖啡酰奎宁酸等二咖啡酰奎宁酸的含量高于绿原酸;本次测定的金丝桃苷和芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷 2 个黄酮分别为黄酮氧苷和黄酮碳苷,本项目组^[5,11]和文献研究^[26-27]均发现,茵陈中的黄酮类成分金丝桃苷含量最高,芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷是本项目首次在中国大陆产茵陈中检测到并采用对照品比对确认的黄酮碳苷^[5,11,28];香豆素类成分滨蒿内酯是茵陈特有成分,也是茵陈的主要活性成分之一^[29],《中国药典》以该成分作为控制“花茵陈”质量的指标性成分。由此可见,本研究进行定量研究的 9 个成分均为滨蒿中的代表性成分。

茵陈的主要药理作用主要有利胆作用、保肝作用和其他作用如抗肝癌等^[1,29-32],绿原酸等咖啡酰奎宁酸类成分、金丝桃苷、滨蒿内酯等均具有利胆作用、保肝作用,但也各有侧重,如绿原酸等咖啡酰奎宁酸类成分、滨蒿内酯分别侧重于利胆作用、保肝作用^[1,29],黄酮类成分侧重于保肝作用^[29],也具有一定抗肝癌活性^[1,29-30],如绿原酸等咖啡酰奎宁酸类成分侧重于利胆,滨蒿内酯、金丝桃苷侧重于保肝^[1,29];芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷具有一定抗肝癌作用^[29]。不同采收时间对茵陈中的成分及成分含量均有影响,因而也会影响疗效^[30-31]。本实验结果显示,不同生长期滨蒿中绿原酸等咖啡酰奎宁酸类成分 6 月初含量最高,黄酮类成分金丝桃苷和芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷以及香豆素类成分滨蒿内酯均为 10 月初含量最高。因此,应将治疗目的与成分含量相关联,确定茵陈的

最佳采收期和临床用药选择,如果主要用于利胆退黄,其最佳采收期为 6 月初,如果主要用于保肝和抗肝癌,其最佳采收期为 10 月初。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wei C L, Qiu J, Wu Y Y, *et al.* Promising traditional Chinese medicine for the treatment of cholestatic liver disease process (cholestasis, hepatitis, liver fibrosis, liver cirrhosis) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 297: 115550.
- [2] Kim Y D, Uh Y R, Jang C S. Development of real-time PCR based molecular markers for two medicinal herb *Artemisia* species *A. capillaris* and *A. iwayomogi* [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2022, 32(1): 59-69.
- [3] 王满元, 林生, 张启伟, 等. 滨蒿不同采收期样品中黄酮类有效成分的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2547-2548.
- [4] Hung H Y, Kuo S C. Recent studies and progression of Yin Chen Hao (Yīn chén Hāo), a long-term used traditional Chinese medicine [J]. *J Tradit Complement Med*, 2013, 3(1): 2-6.
- [5] 倪丽丽, 戴莹, 窦志华, 等. 茵陈标准汤剂量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2954-2966.
- [6] 徐起初, 杨连菊, 杨春澍. 茵陈的质量研究—不同生长季节滨蒿中三种主要利胆有效成分的检测和比较[J]. 中草药, 1983, 14(1): 35-40.
- [7] 黄志永. 基于 UFLC-Triple-Q-TOF-MS/MS 的茵陈蒿化学成分分析 [D]. 南通: 南通大学, 2023.
- [8] Zhang C, Zhao S Q, Kang W, *et al.* Targeted chemical profiling for *p*-HAP glycosides by using molecular networking and comparative analysis of their contents between *Artemisia japonica* and *Artemisia capillaris* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2024, 26(1): 59-68.
- [9] Ding J W, Wang L L, He C N, *et al.* *Artemisia scoparia*: Traditional uses, active constituents and pharmacological effects [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 273: 113960.
- [10] Park K M, Li Y, Kim B, *et al.* High-performance liquid chromatographic analysis for quantitation of marker compounds of *Artemisia capillaris* Thunb [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(12): 2153-2162.
- [11] Dai Y, Dou Z H, Zhou R R, *et al.* Quality evaluation of *Artemisia capillaris* thunb. based on qualitative analysis of the HPLC fingerprint and UFLC-Q-TOF-MS/MS combined with quantitative analysis of multicomponents [J]. *J Anal Meth Chem*, 2021, 2021(1): 5546446.
- [12] 曹妍, 李婷, 许霞, 等. 利用反相色谱-亲水作用色谱-预测多反应监测方法快速鉴定中药茵陈的化学成分组成 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(13): 2667-2674.

- [13] 欧阳文竹, 尚展鹏, 王文建, 等. 茵陈提取物中化学成分的 UHPLC-LTQ-Orbitrap 快速鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 523-530.
- [14] Ge L L, Xie Q J, Wei X F, *et al.* Five undescribed plant-derived bisphenols from *Artemisia capillaris* aerial parts: Structure elucidation, anti-hepatoma activities and plausible biogenetic pathway [J]. *Arab J Chem*, 2023, 16(4): 104580.
- [15] 毕玥琳, 张诗芸, 冯欣, 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术的 3 种蒿属植物化学成分比较研究 [J]. 中南药学, 2022, 20(7): 1527-1533.
- [16] Lu J, Liang K, Chen Y, *et al.* Identification and determination of chemical constituents from Yinchen Qingjin Granules by ultra high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap-Orbitrap mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(7): 1324-1344.
- [17] 马宏宇. 茵陈蒿和桑叶的成分以及固相色谱法对茵陈蒿汤效应物质的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.
- [18] Chen T, Hu J B, Wang H, *et al.* Combination of bioaffinity ultrafiltration-UFLC-ESI-Q/TOF-MS/MS, in silico docking and multiple complex networks to explore antitumor mechanism of topoisomerase I inhibitors from *Artemisiae Scopariae Herba* [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 317.
- [19] 王璐瑶, 李余佳, 耿佳乐, 等. 茵陈标准汤剂与其饮片中的化学成分比较 [J]. 中国药房, 2024, 35(12): 1451-1456.
- [20] 王璐瑶. 茵陈基原鉴定及质量评价研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2024.
- [21] Lee Y S, Woo S, Kim J K, *et al.* Genetic and chemical markers for authentication of three *Artemisia* species: *A. capillaris*, *A. gmelinii*, and *A. fukudo* [J]. *PLoS One*, 2022, 17(3): e0264576.
- [22] Zhao Y, Geng C A, Ma Y B, *et al.* UFLC/MS-IT-TOF guided isolation of anti-HBV active chlorogenic acid analogues from *Artemisia capillaris* as a traditional Chinese herb for the treatment of hepatitis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 156: 147-154.
- [23] 于红红, 高晓燕. 基于 UPLC-Q-TOF/MSE 快速分析茵陈中化学成分 [J]. 中南药学, 2019, 17(5): 656-661.
- [24] 张启伟, 章育中. 滨蒿中利胆成分的含量测定 [J]. 药学报, 1986, 21(12): 922-927.
- [25] Tian F, Ruan Q J, Zhang Y, *et al.* Quantitative analysis of six phenolic acids in *Artemisia capillaris* (Yinchen) by HPLC-DAD and their transformation pathways in decoction preparation process [J]. *J Anal Methods Chem*, 2020, 2020: 8950324.
- [26] Tan X J, Li Q, Chen X H, *et al.* Simultaneous determination of 13 bioactive compounds in *Herba Artemisiae Scopariae* (Yin Chen) from different harvest seasons by HPLC-DAD [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 47(4/5): 847-853.
- [27] 王志伟, 高钧, 谭晓杰, 等. RP-HPLC 法同时测定茵陈中 5 种化学成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(5): 379-383.
- [28] 黄志永, 周荣荣, 王璐瑶, 等. 茵陈蒿中芹菜素 6, 8-二-C- β -D-葡萄糖苷的确认及含量测定 [J]. 中国药业, 2023, 32(7): 72-77.
- [29] Cai Y J, Zheng Q, Sun R, *et al.* Recent progress in the study of *Artemisiae Scopariae Herba* (Yin Chen), a promising medicinal herb for liver diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110513.
- [30] Hsueh T P, Lin W L, Dalley J W, *et al.* The pharmacological effects and pharmacokinetics of active compounds of *Artemisia capillaris* [J]. *Biomedicine*, 2021, 9(10): 1412.
- [31] 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): 2235-2241.
- [32] 肖复耀, 桂郎, 曾红玉, 等. 经典名方茵陈蒿汤基准样品 HPLC 指纹图谱及多指标量值传递研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 446-459.

[责任编辑 时圣明]