

基于 UPLC 多指标测定和指纹图谱对不同来源茵陈药材质量评价

李敏^{1,2}, 乔旭^{3,4}, 魏建和^{3,4}, 李文伟⁵, 林少辉⁵, 栗孟飞^{1,2*}, 王秋玲^{3,4*}

1. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃 兰州 730070
2. 干旱生境作物学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730070
3. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193
4. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所海南分所, 海南 海口 570311
5. 漳州片仔癀药业股份有限公司, 福建 漳州 363000

摘要: **目的** 建立不同来源茵陈 *Artemisiae Scopariae Herba* 药材的 UPLC 多成分含量测定和指纹图谱方法, 对 28 个产地绵茵陈和 22 个产地花茵陈药材进行含量测定、指纹图谱分析和化学模式分析。**方法** 以 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱为固定相, 0.1%甲酸水 (A)-乙腈 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 0.25 mL/min, 检测波长 310 nm, 结合对照品比对进行色谱峰确认, 对共 50 份不同来源茵陈药材进行 14 个化合物的含量测定, 指纹图谱分析共有峰和进行相似度评价, 采用聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA) 筛选茵陈药材的特征成分。**结果** 建立了茵陈药材 UPLC 多成分含量测定和指纹图谱方法; 结果表明, 不同产地来源茵陈化学成分含量存在差异; 指纹图谱法标定了绵茵陈、花茵陈各 18、32 个共有峰, 化学模式分析表明化合物 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可作为药材质量评价的标志性成分。**结论** 建立的 UPLC 多成分含量测定方法和指纹图谱法适用于不同来源茵陈的质量评价; 不同产地的含量测定结果、指纹图谱和化学模式分析结果可为茵陈药材产地选择、质量控制提供有益参考。

关键词: 茵陈; UPLC; 指纹图谱; 相似度; 化学模式识别; 新绿原酸; 绿原酸; 隐绿原酸; 咖啡酸; 1,3-二咖啡酰奎宁酸; 对羟基苯乙酮; 芦丁; 金丝桃苷; 异槲皮苷; 3,4-二咖啡酰奎宁酸; 1,5-二咖啡酰奎宁酸; 3,5-二咖啡酰奎宁酸; 4,5-二咖啡酰奎宁酸; 滨蒿内酯

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)01-0282-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.01.027

Quality evaluation of *Artemisiae Scopariae Herba* from different sources based on UPLC multi-indicator content determination and fingerprint

LI Min^{1,2}, QIAO Xu^{3,4}, WEI Jianhe^{3,4}, LI Wenwei⁵, LIN Shaohui⁵, LI Mengfei^{1,2*}, WANG Qiuling^{3,4}

1. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China
2. State Key Laboratory of Arid and Crop Science, Lanzhou 730070, China
3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China
4. Institute of Medicinal Plant Development, Hainan Branch, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Haikou 570311, China
5. Zhangzhou Pientzehuang Pharmaceutical Co., Ltd., Zhangzhou 363000, China

Abstract: Objective Establishing UPLC multi-component content determination and fingerprint analysis methods for Yinchen (*Artemisiae Scopariae Herba*) from different sources. Determination the content, fingerprint analysis and chemical pattern analysis of

收稿日期: 2024-08-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC3501500); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-I2M-1-032); 国家中医药管理局委托项目 (GZY-KJS-2023-008); 漳州市名老药工黄进明工作室专项资金项目

作者简介: 李敏 (1999—), 女, 甘肃庆阳人, 在读硕士研究生, 主要从事药用植物生物学方面研究。E-mail: lm1527431535@163.com

*通信作者: 栗孟飞 (1980—), 男, 河南驻马店人, 博士, 教授, 主要从事药用植物资源与利用方面研究。E-mail: lmf@gsau.edu.cn

王秋玲 (1981—), 女, 四川自贡人, 博士, 副研究员, 主要从事药用植物资源可持续利用研究。E-mail: qlwang@implad.ac.cn

Artemisiae Scopariae Herba (Mian Yinchen) and *Artemisiae Scopariae Herba* (Hua Yinchen) were conducted from 28 origins and 22 origins, respectively. **Methods** Using Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) column as the stationary phase, 0.1% formic acid water (A)-acetonitrile (B) was used as the mobile phase for gradient elution, with a flow rate of 0.25 mL/min and a detection wavelength of 310 nm. The chromatographic peaks were confirmed by comparing with reference materials. A total of 50 different sources of *Artemisiae Scopariae Herba* were quantitatively determined for 14 compounds, and fingerprint analysis was performed to evaluate common peaks and similarity evaluation. Hierarchical cluster analysis and orthogonal partial least squares discrimination analysis (HCA and OPLS-DA) were used to screen the characteristic components of *Artemisiae Scopariae Herba*. **Results** Establishing a UPLC multi-component content determination and fingerprint method for *Artemisiae Scopariae Herba*; The quantitative analysis results indicated that there are differences in the chemical composition content of *Artemisiae Scopariae Herba* from different regions; The fingerprint method calibrated 18 and 32 common peaks for two harvesting periods, and chemical pattern analysis showed that 3,4-dicaffeoyl quinic acid, 3,5-dicaffeoyl quinic acid and 4,5-dicaffeoyl quinic acid can be used as landmark components for quality evaluation of medicinal materials. **Conclusion** The established UPLC multi-component content determination method and fingerprint method are suitable for quality evaluation of *Artemisiae Scopariae Herba* from different sources; The content determination results, fingerprint spectra, and chemical pattern analysis results from different origins can provide useful references for the selection of origin and quality control of *Artemisiae Scopariae Herba*.

Key words: *Artemisiae Scopariae Herba*; UPLC; fingerprint; similarity; chemical pattern recognition; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; caffeic acid; 1,3-dicaffeoylquinic acid; *p*-hydroxyacetophenone; rutin; hyperin; isoquercitrin; 3,4-dicaffeoylquinic acid; 1,5-dicaffeoylquinic acid; 3,5-dicaffeoylquinic acid; 4,5-dicaffeoylquinic acid; scoparone

茵陈为菊科蒿属植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst-et Kit.或茵陈蒿 *A. capillaries* Thunb.的干燥地上部分,具有2个采收期,分别为春季幼苗高6~10 cm时采收的绵茵陈和秋季花蕾长成至花初开时采割的花茵陈^[1]。其药用历史悠久,具有治疗黄疸、降血压和抗骨质疏松^[2]、抗炎^[3]、抗肿瘤^[4-5]、促进脂肪细胞分化^[6-7]、儿童湿热哮喘^[8]等多种功效,化学成分主要包括酚酸类化合物、香豆素类化合物、黄酮类化合物和挥发油类化合物^[8-10]。

中药材组成成分复杂,往往通过多靶点、多途径和多种有效成分协同作用起效,单一或少数化学成分难以全面评价其质量^[11],对茵陈多种化合物进行含量测定,并结合已广泛应用于中药质量控制方面的中药指纹图谱^[12-13],更能准确反映该草药的质量。茵陈分布广泛^[14],已有大量研究表明不同来源茵陈化学成分存在差异^[7, 9, 15-16]。因此,本研究基于UPLC建立了一种可同时测定茵陈14种主要化合物和指纹图谱方法,对共50批不同产地的绵茵陈和花茵陈进行含量测定、指纹分析和化学模式识别分析,从化学成分角度整体探究了茵陈不同产地的成分差异,为茵陈药材的质量控制方法和药材产地选择提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC H-Class PLUS液相色谱系统(Waters公司); Waters Xevo G2 QTOF UPLC-

Q-TOF-MS(米尔福德公司,美国); TB-215D型准微量天平(sartorius公司); KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料

对照品新绿原酸(批号906-33-2)、隐绿原酸(批号905-99-7)、咖啡酸(批号331-39-5)、1,3-二咖啡酰奎宁酸(批号30964-13-7)、芦丁(批号153-18-4)、金丝桃苷(批号482-36-0)、异槲皮苷(批号482-35-9)、3,4-二咖啡酰奎宁酸(批号89919-62-0)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(批号14534-61-3)和4,5-二咖啡酰奎宁酸(批号57378-72-0)购于四川省维克奇生物科技有限公司;对照品绿原酸(批号327-97-9)、对羟基苯乙酮(批号99-93-4)和滨蒿内酯(批号120-08-1)购于北京中冉旭升科技发展有限公司;对照品1,5-二咖啡酰奎宁酸(批号19870-46-3)购于赛谱锐思(北京)科技有限公司。所有质量分数均大于98%。甲醇、乙腈(Fisher公司,美国);甲酸(武汉泰晟生物科技有限公司)。试剂均为色谱级纯度。

本课题组分别采集了共50批,28个产地的绵茵陈药材和22个产地的花茵陈药材。全部样品皆采用阴干干燥方式。所有材料经中国医学科学院药用植物研究所王秋玲副研究员鉴定为茵陈蒿 *A. scoparia* Thunb., 样品存放于中国医学科学院药用植物研究所栽培中心处。材料信息如表1所示。

表1 茵陈样品信息

Table 1 Sample information for *Artemisiae Scopariae Herba*

编号	产地来源	经纬度	药材类别	采收时间
S1	北京市海淀区	N 39°57'33.59", E 116°17'54.42"	绵茵陈	2022-03-22
S2	河北省邯郸市	N 36°37'6.71", E 114°29'36.20"	绵茵陈	2022-03-10
S3	陕西省咸阳市	N 34°19'44.69", E 108°42'23.08"	绵茵陈	2022-03-10
S4	陕西省永寿县	N 34°41'30.91", E 108°08'31.78"	绵茵陈	2022-03-20
S5	陕西省宝鸡市	N 34°21'16.34", E 107°23'14.82"	绵茵陈	2022-03-10
S6	陕西省渭南市	N 34°30'45.32", E 109°46'18.84"	绵茵陈	2022-03-10
S7	山东省泰安市	N 36°11'31.13", E 117°08'6.94"	绵茵陈	2022-03-15
S8	山东省青岛市	N 36°18'26.78", E 120°23'46.64"	绵茵陈	2022-03-18
S9	山东省潍坊市	N 36°39'16.49", E 119°09'57.85"	绵茵陈	2022-03-18
S10	山东省临沂市	N 35°05'14.24", E 118°24'6.62"	绵茵陈	2022-03-19
S11	山东省日照市	N 35°25'31.62", E 119°27'44.71"	绵茵陈	2022-03-14
S12	甘肃省白银市	N 36°32'4.34", E 104°10'20.64"	绵茵陈	2022-03-15
S13	甘肃省庆阳市	N 35°43'50.23", E 107°39'4.10"	绵茵陈	2022-04-07
S14	河南省南阳市	N 33°0'12.96", E 112°32'22.56"	绵茵陈	2022-03-17
S15	河南省驻马店市	N 32°58'23.48", E 113°59'37.75"	绵茵陈	2022-03-12
S16	河南省荥阳市	N 34°47'15.43", E 113°23'0.56"	绵茵陈	2022-03-18
S17	河南省郑州市	N 34°43'28.85", E 113°38'24.36"	绵茵陈	2022-03-12
S18	河南省焦作市	N 35°14'25.87", E 113°13'50.30"	绵茵陈	2022-03-17
S19	河南省商丘市	N 34°26'37.64", E 115°36'50.26"	绵茵陈	2022-03-14
S20	河南省新乡市	N 35°22'18.48", E 113°54'21.53"	绵茵陈	2022-03-20
S21	贵州省铜仁市	N 27°48'58.36", E 109°15'51.59"	绵茵陈	2022-03-17
S22	湖南省岳阳市	N 29°27'40.86", E 113°0'23.44"	绵茵陈	2022-03-11
S23	湖南省株洲市	N 27°51'22.86", E 113°10'27.19"	绵茵陈	2022-03-15
S24	黑龙江省伊春市	N 47°01'42.02", E 129°01'14.05"	绵茵陈	2022-05-19
S25	河北省张家口市	N 40°58'29.13", E 115°16'56.46"	绵茵陈	2022-05-05
S26	山西省运城市	N 35°0'54.18", E 110°59'53.41"	绵茵陈	2022-03-18
S27	甘肃省陇南市	N 33°23'30.80", E 104°55'36.01"	绵茵陈	2022-03-15
S28	河南省洛阳市	N 34°42'15.52", E 112°30'38.81"	绵茵陈	2022-03-17
S29	北京市海淀区	N 39°57'33.59", E 116°17'54.42"	花茵陈	2022-09-15
S30	河北省邯郸市	N 36°37'6.71", E 114°29'36.20"	花茵陈	2022-09-12
S31	陕西省咸阳市	N 34°19'44.69", E 108°42'23.08"	花茵陈	2022-09-14
S32	陕西省永寿县	N 34°41'30.91", E 108°08'31.78"	花茵陈	2022-09-06
S33	陕西省宝鸡市	N 34°21'16.34", E 107°23'14.82"	花茵陈	2022-09-14
S34	陕西省渭南市	N 34°30'45.32", E 109°46'18.84"	花茵陈	2022-09-30
S35	陕西省商洛市	N 33°51'45.83", E 109°56'27.85"	花茵陈	2022-09-30
S36	山东省泰安市	N 36°11'31.13", E 117°08'6.94"	花茵陈	2022-08-31
S37	山东省青岛市	N 36°18'26.78", E 120°23'46.64"	花茵陈	2022-09-30
S38	山东省潍坊市	N 36°39'16.49", E 119°09'57.85"	花茵陈	2022-09-30
S39	山东省临沂市	N 35°05'14.24", E 118°24'6.62"	花茵陈	2022-09-28
S40	山东省日照市	N 35°25'31.62", E 119°27'44.71"	花茵陈	2022-09-22
S41	甘肃省白银市	N 36°32'4.34", E 104°10'20.64"	花茵陈	2022-09-24
S42	甘肃省庆阳市	N 35°43'50.23", E 107°39'4.10"	花茵陈	2022-08-28
S43	河南省南阳市	N 33°0'12.96", E 112°32'22.56"	花茵陈	2022-09-22
S44	河南省荥阳市	N 34°47'15.43", E 113°23'0.56"	花茵陈	2022-09-21
S45	河南省郑州市	N 34°43'28.85", E 113°38'24.36"	花茵陈	2022-09-01
S46	河南省焦作市	N 35°14'25.87", E 113°13'50.30"	花茵陈	2022-09-07
S47	河南省新乡市	N 35°22'18.48", E 113°54'21.53"	花茵陈	2022-09-16
S48	湖南省岳阳市	N 29°27'40.86", E 113°0'23.44"	花茵陈	2022-10-03
S49	湖南省株洲市	N 27°51'22.86", E 113°10'27.19"	花茵陈	2022-10-04
S50	河南省平顶山市	N 33°53'56.00", E 112°53'55.97"	花茵陈	2022-10-08

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱 (北京泰合通生物科

技有限公司) 进行分离, 流动相为 0.1% 甲酸水 (A) - 乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~4 min, 2%~15% B; 4~9 min, 15%~23% B; 9~14 min, 23%~32% B; 14~20 min, 32%~55% B; 20~25 min, 55%~90%

B; 体积流量 0.25 mL/min; 检测波长 310 nm; 柱温 35 °C; 进样体积 2 μL。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯乙酮、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯对照品适量, 加入 50%甲醇 1 mL 制成质量浓度分别为 113.24、5 730.00、350.00、281.43、75.00、505.00、1.20、535.56、146.67、123.75、2 240.00、3 120.00、720.00、230.00 μg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

绵茵陈样品取地上部分, 花茵陈样品地上茎直径 < 2 mm 部分, 阴干后分别取 3~5 株使用中药粉碎机混合打粉。粉样后过 24 目筛 (2 号筛)。取茵陈粉末 0.5 g, 精密称定后用 50%甲醇 40 mL 超声处理 30 min, 放置室温, 12 000 r/min 超速离心机离心 3 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜滤过备用。

2.4 方法学考察

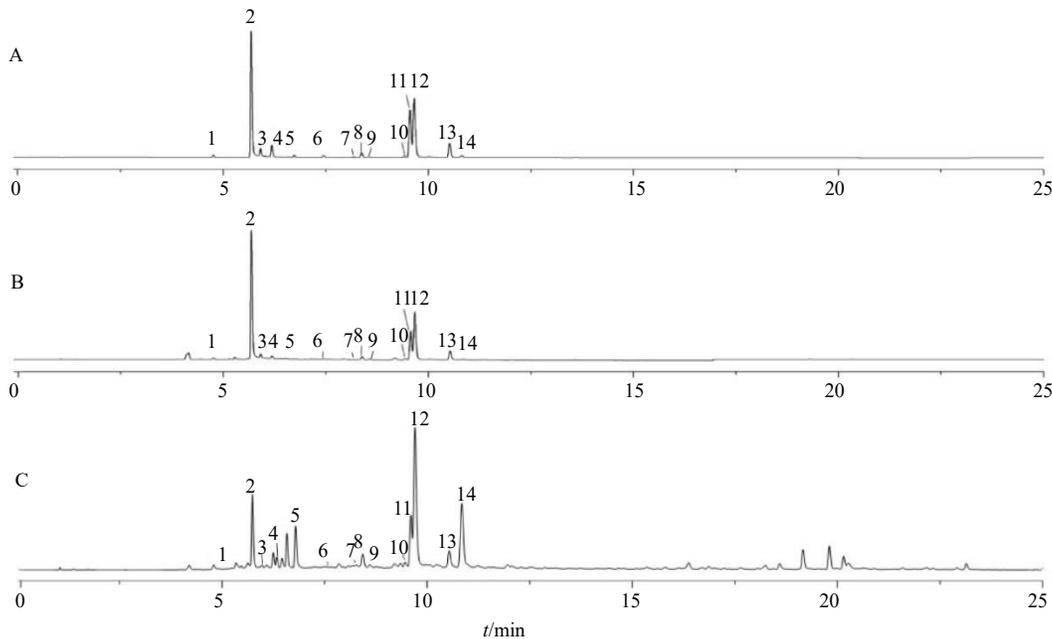
2.4.1 专属性考察 取“2.2”“2.3”项下对照品和

供试品溶液, 按照“2.1”项下色谱条件进样分析, 供试品与对照品色谱峰保留时间基本一致, 说明该方法专属性良好, 色谱图见图 1。

2.4.2 线性关系考察 精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯乙酮、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯对照品适量, 制备含有 14 种化合物的标准储备溶液, 用 50%甲醇稀释溶液配制成 5 个质量浓度系列的对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 14 种成分的回归方程与线性范围, 见表 2。

2.4.3 精密度试验 取混合对照品溶液, 按照“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录 14 个化学成分的峰面积。各成分峰面积的 RSD 为 0.72%~1.46%, 表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取茵陈药材粉末 6 份, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录 14 个化学成分的峰



1-新绿原酸; 2-绿原酸; 3-隐绿原酸; 4-咖啡酸; 5-1,3-二咖啡酰奎宁酸; 6-对羟基苯乙酮; 7-芦丁; 8-金丝桃苷; 9-异槲皮苷; 10-3,4-二咖啡酰奎宁酸; 11-1,5-二咖啡酰奎宁酸; 12-3,5-二咖啡酰奎宁酸; 13-4,5-二咖啡酰奎宁酸; 14-滨蒿内酯。
1-neochlorogenic acid; 2-chlorogenic acid; 3-cryptochlorogenic acid; 4-caffeic acid; 5-1,3-dicaffeoylquinic acid; 6-p-hydroxyacetophenone; 7-rutin; 8-hyperin; 9-isoquercitrin; 10-3,4-dicaffeoylquinic acid; 11-1,5-dicaffeoylquinic acid; 12-3,5-dicaffeoylquinic acid; 13-4,5-dicaffeoylquinic acid; 14-scoparone.

图 1 混合对照品 (A)、绵茵陈 (B) 和花茵陈 (C) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC of mixed control products (A), *Artemisiae Scopariae Herba* (Mian Yinchen) (B) and *Artemisiae Scopariae Herba* (Hua Yinchen) (C)

表2 14种化学成分的线性关系

Table 2 Linearity of 14 chemical components

化合物名称	线性回归方程	R^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
新绿原酸	$Y=2\times 10^7 X-2\ 761.2$	1.000 0	4.30~275.00
绿原酸	$Y=2\times 10^7 X-11\ 877.0$	0.999 6	3.72~951.43
隐绿原酸	$Y=3\times 10^7 X+8\ 641.5$	0.999 3	0.25~64.29
咖啡酸	$Y=4\times 10^7 X+4\ 946.5$	0.999 9	1.10~281.43
1,3-二咖啡酰奎宁酸	$Y=3\times 10^7 X-1\ 716.8$	0.999 4	0.67~21.43
对羟基苯乙酮	$Y=5\times 10^6 X-343.12$	0.999 7	2.25~72.14
芦丁	$Y=5\times 10^6 X-343.12$	0.999 7	2.25~72.14
金丝桃苷	$Y=7\times 10^6 X+1\ 740.6$	0.999 8	2.14~68.57
异槲皮苷	$Y=1\times 10^7 X+17.249$	0.999 9	9.11~145.71
3,4-二咖啡酰奎宁酸	$Y=2\times 10^7 X+7\ 432.4$	0.999 9	1.10~282.86
1,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=2\times 10^7 X+3\ 047.3$	0.999 3	0.93~237.14
3,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=3\times 10^7 X+91\ 857$	0.999 5	3.48~891.43
4,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=2\times 10^7 X+5\ 289.1$	0.999 5	0.44~112.86
滨蒿内酯	$Y=1\times 10^7 X+2\ 639.4$	0.999 8	1.03~262.86

面积, 计算各成分质量分数的 RSD 值为 0.52%~1.26%。

2.4.5 稳定性试验 精密称取茵陈药材粉末, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在制备后 0、2、4、8、12、24 h 按照“2.1”项下色谱条件分别进行测定。14 种化合物峰面积的 RSD 值为 0.46%~1.26%。

2.4.6 加样回收率试验 精密称取已知 14 种化合物成分含量的茵陈样品 6 份, 每份约 0.25 g, 按样品含量加入相同含量的对照品新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯乙酮、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯溶液, 按“2.4”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算加样回收率, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯乙酮、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、滨蒿内酯的加样回收率分别为 103.34%、95.97%、103.99%、103.63%、99.79%、101.62%、102.78%、97.49%、96.71%、101.92%、103.47%、96.51%、98.87%、109.57%。RSD 值分别为 3.47%、0.94%、0.40%、0.44%、0.90%、0.64%、1.04%、0.54%、0.73%、1.56%、0.97%、0.57%、0.33%、0.88%。

2.5 样品测定

2.5.1 不同产地绵茵陈的 14 个化合物含量 如图 2 所示, 28 个产地绵茵陈 14 种化学成分含量存在

一定差异。绿原酸作为《中国药典》2020 年版绵茵陈指标成分, 质量分数在不同产地中为 3.45~24.81 mg/g, 其中 S5、S27 和 S25 中质量分数最高, 分别为 24.81、23.24、22.45 mg/g, S24、S12 和 S23 质量分数最低, 分别为 3.45、4.40、4.93 mg/g, 未达到药典 (5 mg/g) 含量标准。

14 个化合物中, 酚酸类化学成分 (新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、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、1,5-二咖啡酰奎宁酸) 总量为 8.03~51.76 mg/g, S25、S27 和 S22 中质量分数最高, 分别为 51.76、46.09 和 45.30 mg/g; 黄酮类化学成分 (以芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷计) 总量为 0.32~4.47 mg/g, 其中 S5、S27 和 S21 中质量分数最高, 分别为 4.47、4.46 和 4.37 mg/g; 香豆素类化合物 (滨蒿内酯) 总量为 0.11~0.99 mg/g, 其中 S23、S15 和 S22 中质量分数最高, 分别为 0.99、0.77 和 0.58 mg/g; 对羟基苯乙酮质量分数为 0.18~3.87 mg/g, 其中 S13、S6、S19 中质量分数最高, 分别为 3.87、2.77 和 1.38 mg/g; 14 个化合物总量为 9.57~57.49 mg/g, 其中 S25、S27、S22 中质量分数最高, 分别为 57.49、52.20、50.54 mg/g。因此, 28 个产地中, S5 陕西省宝鸡市绿原酸含量最高, S25 河北省张家口市 14 个化学成分总量最高, S27 甘肃省陇南市和 S22 湖南省岳阳市的绿原酸、酚酸类化合物和 14 个化合物总量均较高。

2.5.2 不同产地花茵陈的 14 个化合物含量 如图 3 所示, 22 个产地花茵陈的 14 个化学成分含量差

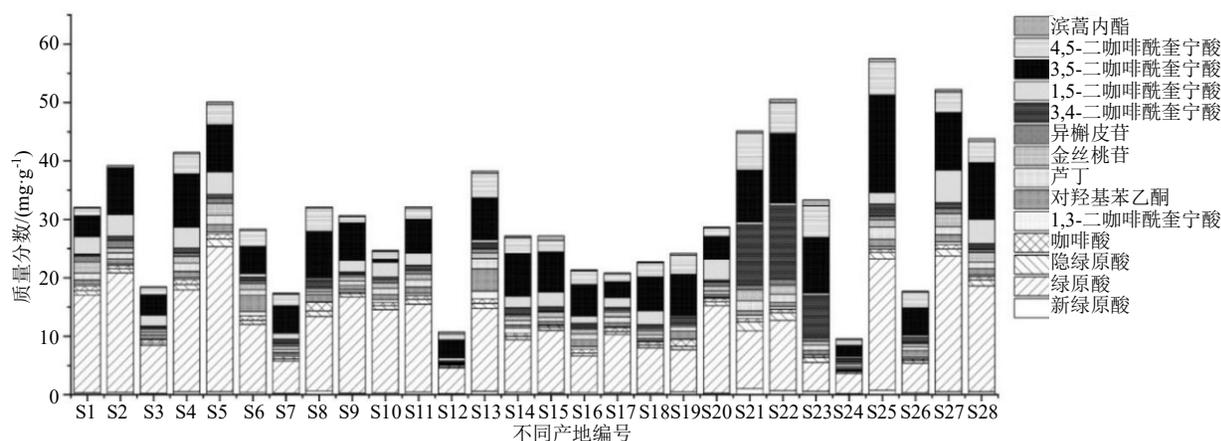


图2 不同产地绵茵陈的14个化合物含量

Fig. 2 Content of 14 compounds in *Artemisiae Scopariae Herba* (Mian Yinchen) of different origins

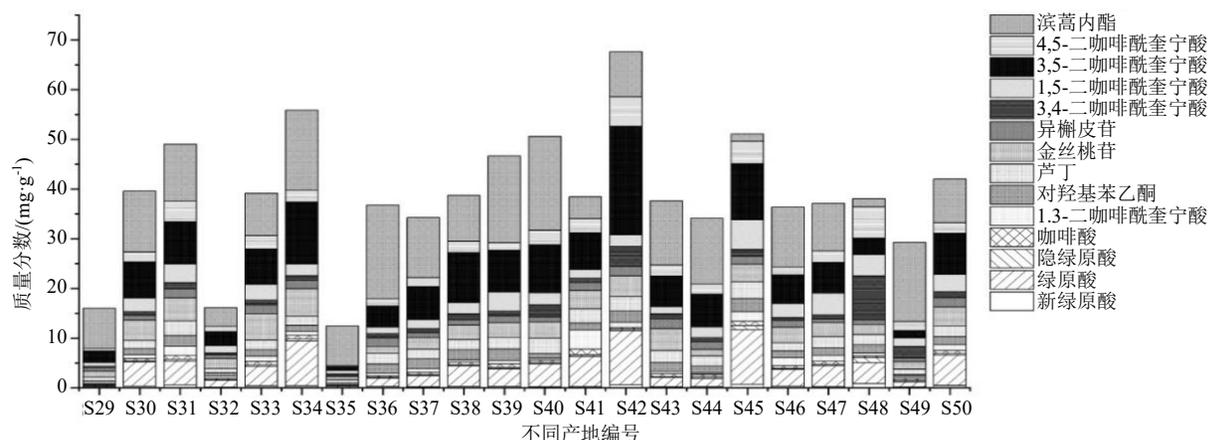


图3 不同产地花茵陈的14个化合物含量

Fig. 3 Content of 14 compounds in *Artemisiae Scopariae Herba* (Hua Yinchen) of different origins

异也均较大。滨蒿内酯作为《中国药典》2020年版花茵陈的指标成分，其在不同产地中为1.50~18.88 mg/g，其中S40、S36和S39中质量分数较高，分别为18.88、18.82和17.41 mg/g，S45、S48和S32中质量分数较低，分别为1.50、1.58和3.74 mg/g，其中S45和S48产地未达到药典（2 mg/g）的标准。

22个产地中，酚酸类化学成分（新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、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）总量为2.45~47.24 mg/g，S42、S45和S48中质量分数最高，分别为47.24、38.43和29.75 mg/g；黄酮类化学成分（芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷）总量为1.54~9.39 mg/g，其中S31、S33和S42中质量分数最高，分别为9.39、9.02和9.01 mg/g；香豆素类化合物（滨蒿内酯）为1.50~18.88 mg/g，其中S40、S36和S39中质量分数最高，分别为18.88、18.82和17.41 mg/g；对

羟基苯乙酮量为0.31~2.72 mg/g，其中S45、S39和S42中质量分数最高，分别为2.72、2.33和2.29 mg/g；14个化合物总量为12.46~67.64 mg/g，其中S42、S34和S45中质量分数较高，分别为67.64、55.87和51.09 mg/g。因此，22个产地中，S40山东省日照市滨蒿内酯含量最高，S36山东省泰安市和S39山东省临沂市滨蒿内酯含量均较高，S34陕西省渭南市的滨蒿内酯和14个化合物总含量均较高。

2.6 茵陈指纹图谱的构建及相似度分析

2.6.1 色谱条件 同“2.1”项下色谱条件。

2.6.2 对照品溶液的制备 同“2.2”项方法。

2.6.3 供试品溶液的制备 同“2.3”项方法。

2.6.4 精密度试验 精密吸取“2.3”项方法制备的供试品溶液，以“2.1”项下色谱条件连续进样6次，计算各共有峰峰面积的RSD为0.72%~1.46%。

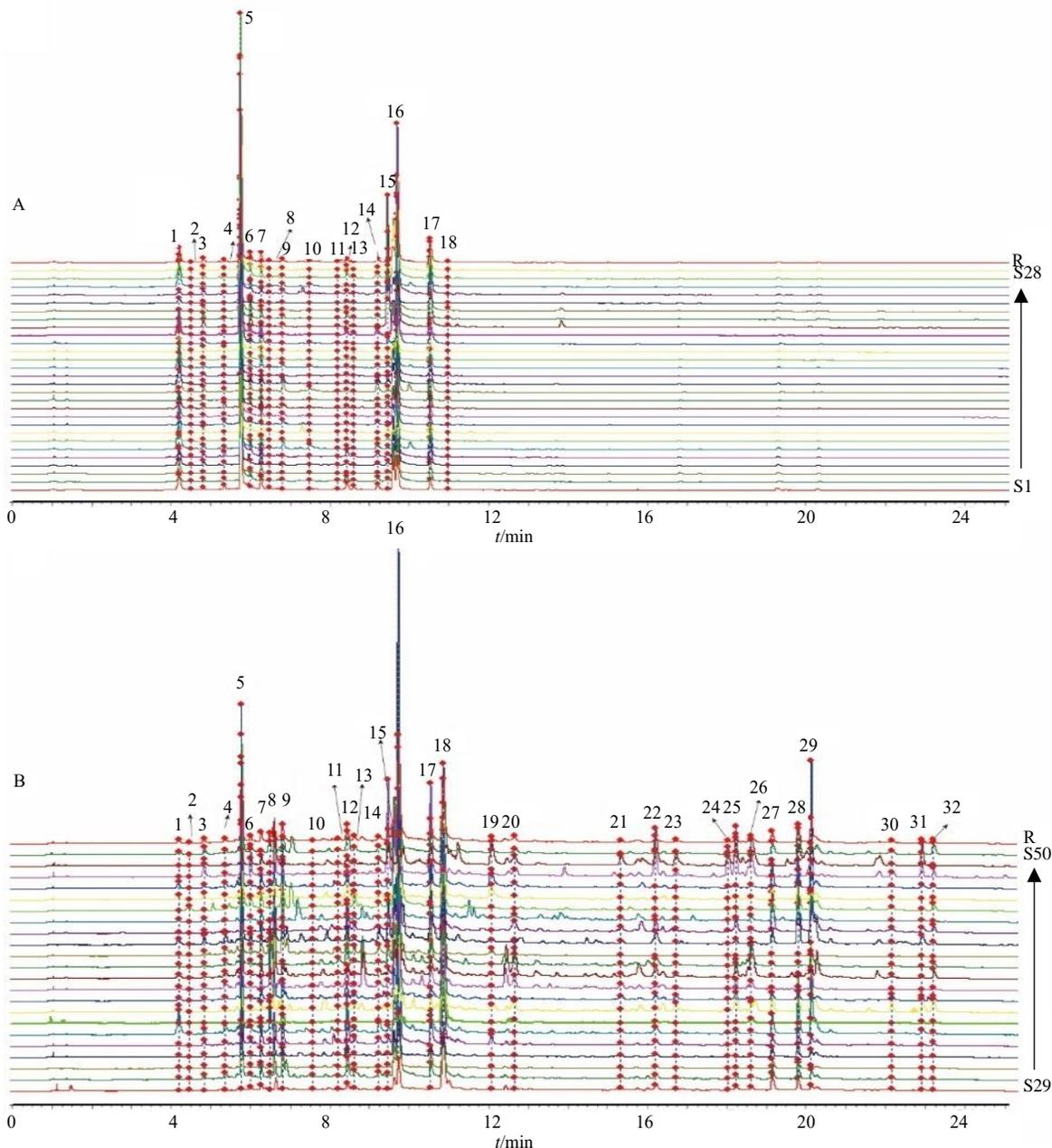
2.6.5 重复性试验 精密称取绵茵陈和花茵陈药

材粉末各 6 份，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.1”项下色谱条件进行测定，计算绵茵陈各共有峰峰面积的 RSD 值为 0.52%~1.32%，花茵陈各共有峰峰面积的 RSD 值为 0.36%~2.03%。

2.6.6 稳定性试验 精密称取绵茵陈和花茵陈药材粉末各一份，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，在制备后 0、2、4、8、12、24 h 按照“2.1”项下色谱条件分别进行测定。计算绵茵陈各共有

峰峰面积的 RSD 值为 0.46%~1.25%，花茵陈各共有峰峰面积的 RSD 值为 0.48%~1.36%。

2.6.7 指纹图谱的建立 将 28 个产地的绵茵陈和 22 个产地的花茵陈药材的 UPLC 色谱数据分别导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)，以 S1、S29 分别作为参照图谱进行多点校正，平均数法(时间窗 0.5 min)生成对照图谱 R，绵茵陈和花茵陈指纹图谱共有模式如图 4 所示。



3-新绿原酸; 5-绿原酸; 6-隐绿原酸; 7-咖啡酸; 9-1,3-二咖啡酰奎宁酸; 10-对羟基苯乙酮; 11-芦丁; 12-金丝桃苷; 13-异槲皮苷; 14-1,5-二咖啡酰奎宁酸; 15-3,4-二咖啡酰奎宁酸; 16-3,5-二咖啡酰奎宁酸; 17-4,5-二咖啡酰奎宁酸; 18-滨蒿内酯。

3-neochlorogenic acid; 5-chlorogenic acid; 6-cryptochlorogenic acid; 7-caffeic acid; 9-1,3-dicaffeoylquinic acid; 10-*p*-hydroxyacetophenone; 11-rutin; 12-hyperin; 13-isoquercitrin; 14-1,5-dicaffeoylquinic acid; 15-3,4-dicaffeoylquinic acid; 16-3,5-dicaffeoylquinic acid; 17-4,5-dicaffeoylquinic acid; 18-scoparone.

图 4 28 个产地绵茵陈 (A) 和 22 个产地花茵陈 (B) 的 UPLC 叠加图谱

Fig. 4 UPLC stacked profiles of Mian Yinchen (A) and Hua Yinchen (B) from 28 origins and 22 origins, respectively

绵茵陈和花茵陈指纹图谱中, 绵茵陈(图4-A)和花茵陈(图4-B)分别共标定出18和32个共有色谱峰, 其中已指认化学成分14个, 分别为新绿原酸(3号峰)、绿原酸(5号峰)、隐绿原酸(6号峰)、咖啡酸(7号峰)、1,3-二咖啡酰奎宁酸(9号峰)、对羟基苯乙酮(10号峰)、芦丁(11号峰)、金丝桃苷(12号峰)、异斛皮苷(13号峰)、1,5-二咖啡酰奎宁酸(14号峰)、3,4-二咖啡酰奎宁酸(15号峰)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(16号峰)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(17号峰)和滨蒿内酯(18号峰)。

2.6.8 相似度分析 使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)计算相似度。结果表明, 28批不同产地绵茵陈中S21、S23和S22相似度较低, 分别为0.762、0.793和0.892, 其余样品相似度为0.900~0.996(表3); 22批不同产地花茵陈中S48、S49、S35、S29、S36和S41的相似度较低, 分别为0.630、0.686、0.732、0.829、0.851和0.862, 其余样品相似度为0.906~0.981(表4)。2个采收期的结果说明不同产地来源茵陈存在化学成分差异, 特别是贵州省铜仁市(S21)、湖南省岳阳市(S22、S48)和湖南省株洲市(S23、S49)3个产地与其他产地存在较大差异。

2.7 化学模式分析

2.7.1 绵茵陈和花茵陈的聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 28个产地绵茵陈和22个产地花茵陈聚类结果如图5所示。将指纹图谱中指认的共有峰峰面积分别导入IBM SPSS Statistics 27进行系统聚类分析。结果表明, 28个产地绵茵陈中(图5-

表3 28个产地绵茵陈指纹图谱相似度分析结果

Table 3 Similarity analysis of fingerprints of *Artemisiae Scopariae Herba* (Mian Yinchen) from 28 origins

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.935	S15	0.991
S2	0.987	S16	0.936
S3	0.985	S17	0.967
S4	0.995	S18	0.942
S5	0.973	S19	0.939
S6	0.900	S20	0.934
S7	0.976	S21	0.762
S8	0.984	S22	0.892
S9	0.975	S23	0.793
S10	0.967	S24	0.996
S11	0.985	S25	0.964
S12	0.983	S26	0.922
S13	0.968	S27	0.991
S14	0.973	S28	0.995

表4 22个产地花茵陈指纹图谱相似度分析结果

Table 4 Similarity analysis of fingerprints of *Artemisiae Scopariae Herba* (Hua Yinchen) from 22 origins

编号	相似度	编号	相似度
S29	0.829	S40	0.967
S30	0.973	S41	0.862
S31	0.974	S42	0.906
S32	0.979	S43	0.924
S33	0.981	S44	0.954
S34	0.976	S45	0.919
S35	0.732	S46	0.960
S36	0.851	S47	0.966
S37	0.965	S48	0.630
S38	0.964	S49	0.686
S39	0.963	S50	0.971

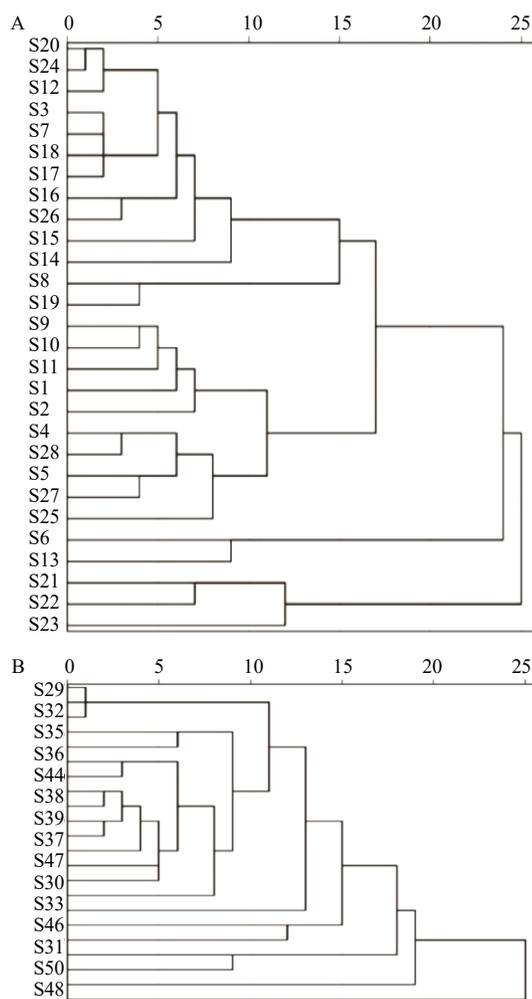


图5 28个产地绵茵陈(A)和22个产地花茵陈(B)样品聚类分析树状图

Fig. 5 Cluster analysis dendrogram of Mian Yinchen (A) samples from 28 origins and Hua Yinchen (B) samples from 22 origins

A), 当取距离为 25 时, 可分为 2 个类群: 产地 S23 湖南省株洲市、S21 贵州省铜仁市和 S22 湖南省岳阳市聚为一类, 其余 25 个产地聚为一类; 22 个产地花茵陈中 (图 5-B), 当取距离为 18 时, 可分为 3 个类群: 产地 S48 湖南省岳阳市和 S49 湖南省株洲市分别各聚为一类, 其余 20 个产地聚为一类。绵茵陈和花茵陈的聚类结果具有相似性, 湖南省株洲市和湖南省岳阳市样品与其他产地样品均各自聚为一束, 结合产地地理位置分析, 表明偏南方和偏北方的茵陈存在化学成分差异。

2.7.2 绵茵陈正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)
为进一步明确各产地间组间差异, 对 28 个产地绵茵陈聚类分析结果采用 OPLS-DA 分析, 并对组间差异贡献

率较大的成分进行筛选。将指纹图谱中指认的 18 个共有峰面积导入 SIMCA 13.0 软件, 以 Par 作为标度化方式进行无监督主成分分析, 模型质量参数结果为 $R^2_X=0.825$, $Q^2=0.735$, 稳定性及预测性良好。OPLS-DA 得分图如图 6-A 所示, 表明 S23 湖南省株洲市、S21 贵州省铜仁市和 S22 湖南省岳阳市与其他产地具有一定差异; 变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值是筛选质量差异标志物的重要指标, 可直观反映共有峰引起的组间差异的权重大小^[17]。VIP 分析结果如图 6-B 所示, 共筛选出 4 个化合物 (以 VIP 大于 1.0 为筛选标准), 依次为指纹图谱中 15 (3,4-二咖啡酰奎宁酸)、16 (3,5-二咖啡酰奎宁酸)、5 (绿原酸) 和 17 号峰 (4,5-二咖啡酰奎宁酸), VIP 值分别为 2.329 71、1.939 14、1.921 56 和 1.651 06。

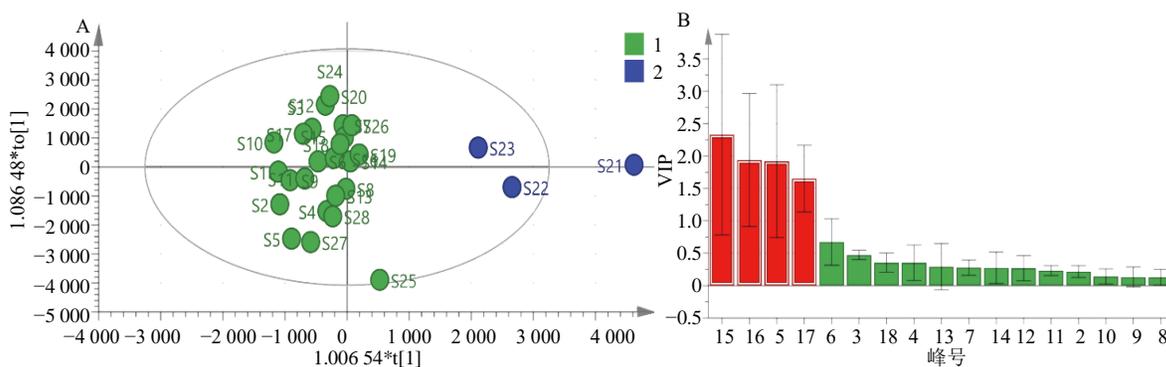


图 6 28 个产地绵茵陈 OPLS-DA 得分图 (A) 和 VIP 图 (B)

Fig. 6 OPLS-DA score chart (A) and VIP map (B) of *Artemisiae Scopariae Herba* (Mian Yinchen) from 28 origins

2.7.3 花茵陈 OPLS-DA 同样对花茵陈聚类分析结果进一步采用 OPLS-DA 进行分析, 模型质量参数结果为 $R^2_X=0.905$, $Q^2=0.489$, 稳定性及预测性较良好。结果 OPLS-DA 得分图如图 7-A 所示, 表明 S48 湖南省岳阳市和 S49 湖南省株洲市与其他产

地具有一定差异。VIP 得分图如图 7-B 所示, 以 VIP 大于 1.0 为筛选标准, 结果共筛选出 10 个化合物, 分别为指纹图谱中 16 (3,5-二咖啡酰奎宁酸)、15 (3,4-二咖啡酰奎宁酸)、18 (滨蒿内酯)、5 (绿原酸)、17 (4,5-二咖啡酰奎宁酸)、29、25、26、24 和 31 号

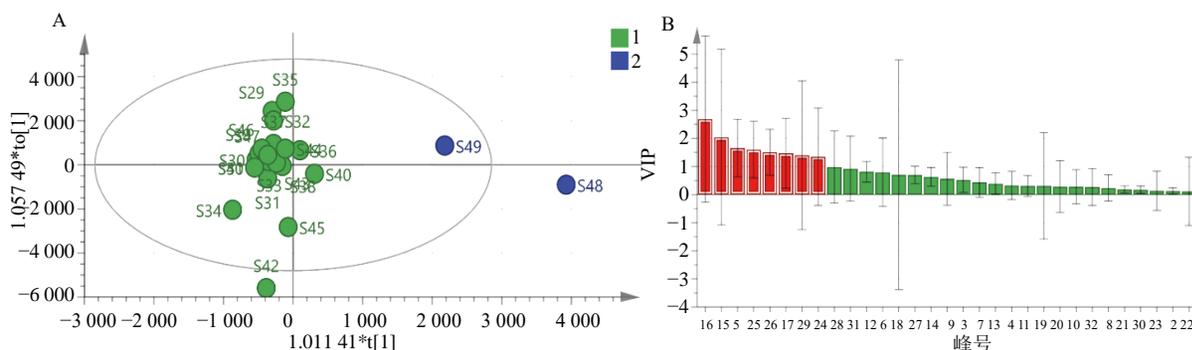


图 7 22 个产地花茵陈 OPLS-DA 得分图 (A) 和 VIP 图 (B)

Fig. 7 OPLS-DA score chart (A) and VIP map (B) of *Artemisiae Scopariae Herba* (Hua Yinchen) from 22 origins

峰, VIP 值分别为 2.294 38、1.853 55、1.819 79、1.472 85、1.459 45、1.361 12、1.337 7、1.315 86、1.154 78 和 1.040 47。

3 讨论

本研究建立了茵陈的多指标成分定量和 UPLC 指纹图谱方法,对 2 个采收期的不同产地共 50 批材料进行了含量测定、指纹图谱分析和化学模式分析,结果表明,不同产地茵陈蒿药材中化学成分含量存在一定差异(2 个采收期的 14 个化合物总量分别为 9.57~57.49 mg/g 和 12.46~67.64 mg/g),已有质量标准中陕西省宝鸡市的绵茵陈绿原酸质量分数最高(24.81 mg/g),山东省日照市产的花茵陈滨蒿内酯含量最高(18.88 mg/g);化合物 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可作为不同产地药材质量评价的标志性成分。

传统中药的治疗效果往往是多成分共同贡献的结果^[13],为探究不同产地药材质量差异,本研究通过超高效液相色谱仪全波长扫描,选择了对 14 种化学成分均有较大吸收的 310 nm 波长进行检测,基于 UPLC-Q-TOF-MS 和前人研究^[16-18]对方法进行了优化。含量测定结果表明,绵茵陈 28 个产地中,来自 S5 陕西省宝鸡市、S25 河北省张家口市、S27 甘肃省陇南市和 S22 湖南省岳阳市的绿原酸含量和 14 个化合物含量均较高;22 个产地花茵陈中,S40 山东省日照市、S36 山东省泰安市、S39 山东省临沂市和 S34 陕西省渭南市的滨蒿内酯和 14 个化合物总含量均较高,为茵陈药材产地选择和品种选育提供参考。

指纹图谱在中药分析方面具有整体、灵敏反映样品特征的优点,结合化学模式识别对指纹图谱进行数据降维、识别和分类,可用于筛选质量差异标志物^[20-21]。指纹图谱相似度分析表明不同产地茵陈的化学成分含量存在一定差异,与以往文献报道基本一致^[7,9,15-16]。进一步 VIP 值分析表明,除《中国药典》已有质量标准:滨蒿内酯和绿原酸外,化合物 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作为 2 个采收期共有的差异标志物,也可作为茵陈药材质量评价的标志性成分。

本研究建立的多含量测定和指纹图谱方法适用于不同来源茵陈药材,但不足的是,本实验绵茵陈图谱中 3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和花茵陈图谱中咖啡酸、芦丁、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸的分离度未达到药典标准

的 1.5,只能作为相对定量。另外,指纹图谱相似度和化学模式分析(HCA 和 OPLS-DA)结果均表明偏南方产地茵陈(湖南省、贵州省)与偏北方产地茵陈(黑龙江省、河北省、山东省、甘肃省、陕西省、山西省和河南省)的化学成分具有较大差异,这可能与不同基原或产地有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 250.
- [2] 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.
- [3] Jang E, Kim B J, Lee K T, et al. A survey of therapeutic effects of *Artemisia capillaris* in liver diseases [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 728137.
- [4] Chen N J, Hao F Y, Liu H, et al. Capillarisin exhibits anticancer effects by inducing apoptosis, cell cycle arrest and mitochondrial membrane potential loss in osteosarcoma cancer cells (HOS) [J]. *Drug Res*, 2015, 65(8): 422-427.
- [5] 叶娉. 茵陈质量标准及其提取物提取纯化工艺研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [6] Boudreau A, Poulev A, Ribnicky D M, et al. Distinct fractions of an *Artemisia scoparia* extract contain compounds with novel adipogenic bioactivity [J]. *Front Nutr*, 2019, 6: 18.
- [7] Boudreau A, Richard A J, Harvey I, et al. *Artemisia scoparia* and metabolic health: Untapped potential of an ancient remedy for modern use [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 727061.
- [8] 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(4): 676-690.
- [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] 谢韬,梁敬钰,刘净. 茵陈化学成分和药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2004, 16(1): 8-13.
- [11] 刁嘉茵,徐灿,王淑美,等. 中药指纹图谱与药效相关性研究进展 [J]. 药学研究, 2018, 37(3): 165-168.
- [12] 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.
- [13] Tan X J, Li Q, Chen X H, et al. Simultaneous determination of 13 bioactive compounds in *Herba Artemisiae Scopariae* (Yinchen) from different harvest seasons by HPLC-DAD [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 47(4/5): 847-853.
- [14] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第四

- 十二卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1993: 56.
- [15] Cai Y J, Zheng Q, Sun R, *et al.* Recent progress in the study of *Artemisia Scopariae Herba* (Yinchen), a promising medicinal herb for liver diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110513.
- [16] 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 Methods Chem*, 2021, 2021: 5546446.
- [17] 赵威, 马永璠, 刘忠义, 等. 基于 UHPLC-MS/MS 法分析补肾利咽汤物质基准的特征图谱暨多指标成分的筛选与含量测定研究 [J/OL]. 世界科学技术—中医药现代化: (2024-03-21) <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5699.R.20240321.1000.002>.
- [18] 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.
- [19] 廖彦, 谌攀, 白杨, 等. 绵茵陈高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中南药学, 2019, 17(8): 1224-1228.
- [20] 贾天宁, 刘芳, 陈鹏, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别对狗脊药材的质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8214-8221.
- [21] 李霞, 何志鹏, 王仕宝, 等. 基于 HPLC 的秦艽药材特征指纹图谱构建及主成分分析 [J]. 甘肃农业大学学报, 2023, 58(3): 115-124.

[责任编辑 时圣明]