

中图分类号: R932; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)07-0072-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.07.016



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*

黄志永¹, 周荣荣², 王璐瑶³, 窦志华^{1,2,3 Δ}

(1. 南通大学, 江苏 南通 226019; 2. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006; 3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023)

摘要:目的 确认我国大陆产茵陈蒿中存在芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷,并建立测定其含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法鉴定,色谱柱为 Symmetry C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m),流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 $^{\circ}$ C,检测波长为 200~400 nm;采用超快液相色谱-三重四极杆飞行时间串联质谱(UFLC-Triple-Q-TOF-MS/MS)法鉴别,电喷雾电离负离子模式下采集数据,PeakView 1.6 软件提取总离子流图;采用对照品比对,比较对照品溶液和供试品溶液色谱图中色谱峰的保留时间、紫外吸收光谱及总离子流图中相同保留时间分子离子峰的一级和二级质谱数据,鉴定茵陈蒿中的芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷;同时,采用 HPLC 法,于 270 nm 波长处测定 35 批茵陈蒿样品中芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的含量。结果 对照品溶液和供试品溶液色谱图中相同保留时间色谱峰的紫外吸收光谱基本相同,总离子流图中相同保留时间分子离子峰的一级和二级质谱数据基本一致。芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷质量浓度在 0.082 3~16.640 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$, $n=8$);定量限和检测限分别为 36.67 ng/mL 和 20 ng/mL;日内精密性、日间精密性、稳定性和重复性试验的 RSD 均小于 4.10%($n=6$);平均加样回收率为 96.37%,RSD 为 1.40%($n=6$)。35 批茵陈蒿样品中芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷含量在 0.037~0.339 mg/g 之间,其中产地为河南的平均含量最高(0.144 mg/g)。

*基金项目:江苏省重点研发计划(社会发展)项目[BE2018674];江苏省南通市科技计划项目[J CZ20168];江苏省药学会-天晴医院药学基金课题[Q202131];南通市药学会-常州四药医院药学基金项目[ntyx2012]。

第一作者:黄志永,硕士研究生在读,研究方向为生药学,(电子信箱)310364333@qq.com。

Δ 通信作者:窦志华,男,博士,主任中药师,副教授,研究方向为中药药效物质及质量评价,(电子信箱)zhihuadou@163.com。

参考文献

- [1] 魏国旭,朱 贺,韩 晟. 布洛芬注射液治疗急性发热患者的经济学评价[J]. 中国药物经济学,2019,14(12):10-14.
- [2] 何子骞. 药品包装材料对药品质量的影响[J]. 生物化工,2020,6(2):112-114.
- [3] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2015-07-28)[2022-05-20]. <https://www.cde.org.cn/zdlyz/domesticinfo?page=zdyzIdCODE=e821b8271ff9f2f205ed425c36f9bd0b>.
- [4] 中国食品药品检定研究院. 国家药包材标准[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:304-305.
- [5] 张 华,麦雅竹,熊学庆,等. 电感耦合等离子体质谱法测定不同产地小天冬中的重金属及有害元素[J]. 华西药学杂志,2021,36(3):322-324.
- [6] 潘叙恩,张译方,张春华,等. 丙泊酚注射液与中性硼硅玻璃安瓿包材相容性研究[J]. 中国测试,2017,43(5):45-48.
- [7] 杨 琴,周永妍,丁艳谱,等. 中性硼硅玻璃安瓿与清开灵注射液相容性试验研究[J]. 中国医院用药评价与分析,2018,18(12):1610-1617.
- [8] 杨小俊,张唐伟,吴雪莲,等. 微波消解-ICP-MS法测定芜根中5种重金属元素[J]. 西藏农业科技,2021,43(4):51-54.
- [9] 唐 健. 布洛芬注射液包材相容性研究中铅、镉、砷、锑的测定[J]. 化学分析计量,2018,27(2):76-79.
- [10] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Guideline for Elemental Impurities Q3D(R1) [EB/OL]. (2019-03-22)[2022-05-20]. [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q3D-R1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322%20\(4\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q3D-R1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322%20(4).pdf).
- [11] European Medicines Agency Pre-authorisation Evaluation of Medicines for Human Use. Guideline on the Specification Limits for Residues of Metal Catalysts [EB/OL]. (2007-01-22)[2022-05-20]. <http://triphasepharmasolutions.com/Resources/Metal%20Catalysts-%20Draft-%20Jan%202007.pdf>.
- [12] 赵兰涛. 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用技术的应用[J]. 化学工程与装备,2022(6):226-227.
- [13] 景 菲,汤 云,陈 决. ICP-MS 标准加入法测定药用玻璃容器中金属元素的浸出量[J]. 广州化工,2020,48(5):107-110.
- [14] 郭永辉,敦 康,王润彪,等. ICP-MS 方法同时测定苯巴比妥钠注射液中玻璃安瓿瓶6种元素的迁移含量[J]. 中国药师,2019,22(8):1549-1551.

(收稿日期:2022-07-27;修回日期:2022-10-10)

结论 确认了我国大陆产茵陈蒿中存在黄酮二糖碳苷类成分芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷。所建立方法操作简单、重复性好,可用于茵陈蒿中芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的含量测定。

关键词: 茵陈蒿;高效液相色谱-二极管阵列检测器法;超快液相色谱-三重四极杆飞行时间串联质谱法;黄酮碳苷;芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷;含量测定

Identification and Content Determination of Apigenin 6,8-di-C- β -D-Glucoside in *Artemisia Capillaris*

HUANG Zhiyong¹, ZHOU Rongrong², WANG Luyao³, DOU Zhihua^{1,2,3}

(1. Nantong University, Nantong, Jiangsu, China 226019; 2. Affiliated Nantong Hospital 3 of Nantong University, Nantong, Jiangsu, China 226006;

3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210023)

Abstract: Objective To identify the apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in *Artemisia capillaris* produced in Chinese mainland, and to establish the high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of its content. **Methods** High-performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD) method was used for identification. The chromatographic column was Symmetry C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 $^{\circ}$ C, and the detection wavelength was in the range of 200-400 nm. The ultra-fast liquid chromatography-triple quadrupole-time of flight-tandem mass spectrometry (UFLC-Triple-Q-TOF-MS/MS) method was used for identification, the data were collected in the negative ion mode of electrospray ionization, and the total ion chromatogram was recorded by the PeakView 1.6 software. The retention time and the UV absorption spectrum of the chromatographic peaks in the chromatogram of the reference solution and the test solution, and the primary and secondary mass spectrometry data of the molecular ion peak with the same retention time in the total ion chromatogram were compared and analyzed to identify apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in *Artemisia capillaris*. At the same time, the content of apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in 35 batches of *Artemisia capillaris* samples was determined by HPLC at the wavelength of 270 nm. **Results** The UV absorption spectrums of the chromatographic peaks with the same retention time in the chromatograms of the reference solution and the test solution were similar, and the primary and secondary mass spectrometry data of the molecular ion peaks with the same retention time in the total ion chromatogram were similar. The linear range of apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside was 0.082 3-16.640 μ g/mL ($r=0.999\ 9, n=6$). The limit of quantitation (LOQ) and the limit of detection (LOD) were 36.67 ng/mL and 20 ng/mL respectively. The RSDs of intra-day precision, inter-day precision, stability and repeatability tests were lower than 4.10% ($n=6$). The average recovery of apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside was 96.37% with the RSD of 1.40% ($n=6$). The content of apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in 35 batches of *Artemisia capillaris* samples was in the range of 0.037-0.339 mg/g, of which the average content of this ingredient in *Artemisia capillaris* produced in Henan was the highest (0.144 mg/g). **Conclusion** A flavone di-C-glycoside named apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in *Artemisia capillaris* produced in Chinese mainland was identified. The established method is simple and repeatable, which can be used for the content determination of apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in *Artemisia capillaris*.

Key words: *Artemisia capillaris*; high-performance liquid chromatography-diode array detector; ultra-fast liquid chromatography-triple quadrupole-time of flight-tandem mass spectrometry; flavone C-glycoside; apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside; content determination

茵陈为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分,具有清利湿热、利胆退黄功效^[1],主治湿热黄疸、胆囊炎等^[2]。茵陈是中国、韩国和日本用于治疗肝胆疾病最常用的草药^[3]。研究表明,茵陈具有抗肝癌作用^[4],但有效成分尚未阐明。茵陈的主要成分为有机酸、黄酮、香豆素等,其中黄酮类化合物主要为氧苷和苷元^[5-6]。2001年、2014年有学者分别从我国台湾地区和韩国产茵陈蒿 *Artemisia capillaris* 中分离得到了黄酮碳苷类成分 Vicenin 2^[7-8],即芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷^[9]。前期研究中采用三重四极杆飞行时间串联质谱(Triple-Q-TOF-MS/MS)法测定,根据质谱

数据可推测我国大陆产茵陈蒿中的1个成分为芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷,但未得到对照品比对确认^[10-12]。研究表明,芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷是人肝细胞癌信号转导及转录激活因子3(STAT3)信号通路的一种新型抑制剂^[13],对肝癌的治疗作用明显^[14-15]。本研究中采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法和超快液相色谱(UFLC)-Triple-Q-TOF-MS/MS法测定,与对照品图谱及数据进行比对,确认我国大陆产茵陈蒿中存在芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷,建立了测定该成分含量的 HPLC 法,为进一步评价茵陈蒿的质量及阐明该中药抗肝癌活性成分奠定基础。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters Alliance 型高效液相色谱系统(美国 Waters 公司),配有 e2695 型分离单元、2998 型 PAD 检测器和 Empower 3 色谱工作站;UFLC - Triple - Q - TOF / MS 系统,包括 Shimadzu Prominence 型 UFLC 液相色谱仪(日本岛津公司),配有 SIL - 20AC XR 型自动进样器、LC - 20AD XR 型泵、SPD - M20A 型二极管阵列检测器;AB SCIEX Triple TOF 4600 型质谱仪(美国 AB SCIEX 公司),配有电喷雾离子源、Q - TOF - MS / MS 检测器、PeakView 1.6 质谱分析软件;SK5200H 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司,功率为 200 W,频率为 53 kHz);BT 25S 型电子天平(德国 Sartorius 公司,精度为十万分之一)。

1.2 试药

芹菜素 6,8 - 二 - C - β - D - 葡萄糖苷对照品(南京金益柏生物科技有限公司,批号 19121201,含量 99.57%);甲醇(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 公司);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);34 批茵陈蒿样品(国内不同大中型中医院,编号 1 - 34),经南通市食品药品监督管理局龚旭东主任中药师鉴定,基原均为菊科植物茵陈蒿 *Artemisia capillaries* Thunb., 国家药品标准物质茵陈蒿(中国食品药品检定研究院,编号 35),样品及标准物质信

息见表 1。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

取芹菜素 6,8 - 二 - C - β - D - 葡萄糖苷 8.32 mg,精密称定,置 50 mL 棕色容量瓶中,加 50% 甲醇定容,摇匀,即得对照品贮备液。取上述对照品贮备液,分别加 50% 甲醇稀释,配制成芹菜素 6,8 - 二 - C - β - D - 葡萄糖苷质量浓度为 16.640,8.230,3.292,1.646,0.823,0.329 2,0.164 6,0.082 3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 的系列对照品溶液。

将样品粉碎成粉末,过 4 号筛,取粉末 0.2 g,精密称定,置 50 mL 棕色容量瓶中,加 50% 甲醇 49 mL,超声(功率为 200 W,频率为 53 kHz)处理 30 min,放冷,加 50% 甲醇定容,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液^[11-12],即得供试品溶液。

2.2 HPLC - DAD 鉴别

2.2.1 色谱条件^[10-12]

色谱柱:Symmetry C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A) - 0.1% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0 ~ 35 min 时 5%A ~ 10%A,35 ~ 65 min 时 10%A ~ 25%A,65 ~ 67 min 时 25%A ~ 90%A,60 ~ 80 min 时 90%A);流速:1.0 mL / min;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:200 ~ 400 nm。

2.2.2 样品及对照品测定与分析

取样品(编号 22)适量,依法制备供试品溶液,取

表 1 茵陈蒿样品及标准物质信息

Tab. 1 Information of *Artemisia capillaris* samples and reference material

编号	批号	产地	生产企业	编号	批号	产地	生产企业
1	160104005	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	19	180302	山西	安徽省万生中药饮片有限公司
2	160104010	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	20	151110	河南	南通三越中药饮片有限公司
3	160122010	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	21	17110102	河南	郑州瑞龙制药股份有限公司
4	2016030202	江苏	盐城市中药饮片有限公司	22	171208	河南	南通三越中药饮片有限公司
5	160309010	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	23	180109	河南	南通三越中药饮片有限公司
6	170902010	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	24	180306	河南	江西江中中药饮片有限公司
7	2017091402	江苏	盐城市中药饮片有限公司	25	180308	河南	南通三越中药饮片有限公司
8	180205	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	26	1601118	山东	杭州华东中药饮片有限公司
9	180205010	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	27	170501	山东	湖南省南国药都中药饮片有限公司
10	180205015	江苏	苏州市天灵中药饮片有限公司	28	180418 - 1	山东	上海万仕诚国药制品有限公司
11	15070901	山西	亳州市永刚饮片厂有限公司	29	170921	陕西	浙江桐君堂中药饮片有限公司生产
12	15113001	山西	亳州市永刚饮片厂有限公司	30	171125	陕西	上海康桥中药饮片有限公司
13	17051814	山西	安徽协和成药业饮片有限公司	31	20171201	河北	河北凯达药业有限公司
14	2017080421	山西	安徽盛海堂中药饮片有限公司	32	21118001	河北	河北仁心药业有限公司
15	170901	山西	亳州市万事祥中药饮片有限公司	33	170401	安徽	安徽孟氏中药饮片有限公司
16	171010	山西	芍花堂国药股份有限公司	34	YP20140601	湖北	云南白药中药饮片分公司
17	171201	山西	安徽省万生中药饮片有限公司	35	121555 - 201101	不详	中国食品药品检定研究院
18	1712176	山西	安徽亳药千草国药股份有限公司				

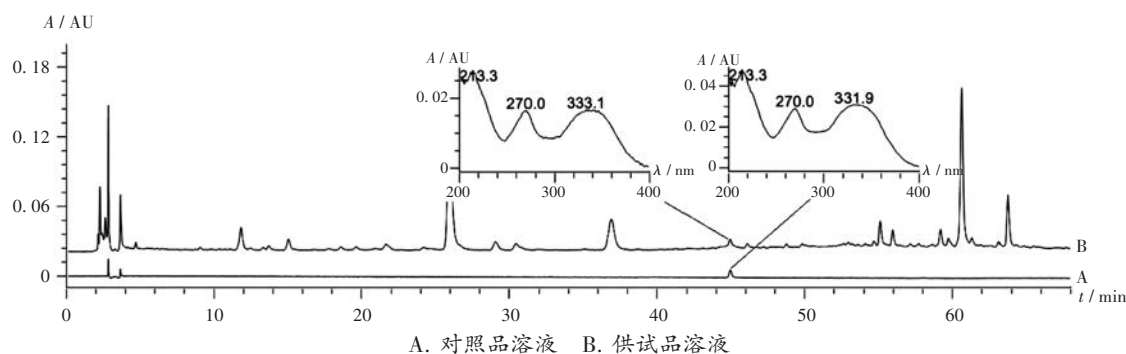


图1 高效液相色谱图及相同保留时间色谱峰的紫外吸收光谱图

A. Reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms and UV absorption spectrum of chromatographic peaks with the same retention time

10 μL , 并取 2.1 项下质量浓度为 0.823 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液 5 μL , 按 2.2.1 项下色谱条件, 在 Waters Alliance 型高效液相色谱系统中测定, 记录 270 nm 检测波长下供试品溶液和对照品溶液色谱图及相同保留时间色谱峰的紫外吸收光谱图, 并进行比较。结果表明, 供试品溶液和对照品溶液色谱图中相同保留时间色谱峰的紫外吸收光谱图基本一致。详见图 1。

2.3 UFLC - Triple - Q - TOF - MS / MS 鉴别

2.3.1 色谱条件^[10-12]

流动相: 乙腈 - 0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱程序及其余条件同 2.2.1 项下。

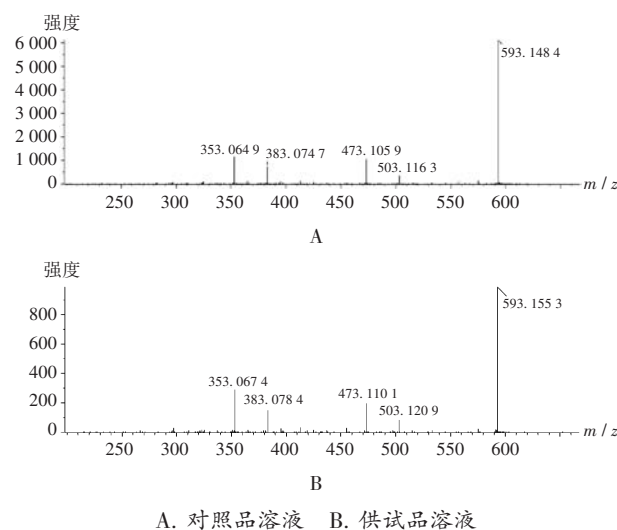
2.3.2 质谱条件^[10-12]

离子源: DuoSpray; 电离方式: 电喷雾电离 (ESI); 检测模式: 负离子; 离子源温度: 550 $^{\circ}\text{C}$; 离子源喷射电压: -4 500 V; 雾化气 (Gas 1): 60 psi; 加热气 (Gas 2): 60 psi; 气帘气 (CUR): 35 psi。采用 TOFMS - IDA - 10MS / MS 信息采集方式获取质谱信息, 一级质谱解簇电压 (DP): -80 V; 碰撞能量 (CE): -10 eV; TOF - MS 累计时间: 250 ms; 母离子扫描范围: 105 ~ 1 500; 二级质谱子离子质谱扫描范围: 50 ~ 1 500; 碰撞能量 (CE): -35 eV; 碰撞能量扩展 (CES): 15 eV。

2.3.3 样品及对照品测定与分析

取样品 (编号 22) 适量, 依法制备供试品溶液, 取 10 μL , 并取 2.1 项下质量浓度为 8.230 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液 5 μL , 按 2.3.1 项下色谱条件和 2.3.2 项下质谱条件进样测定, 采用 PeakView 1.6 质谱分析软件提取总离子流图, 根据样品和对照品总离子流图中相同保留时间的分子离子峰的准分子离子 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ 信息判断得到一级质谱精确相对分子质量和分子式, 并比较样品和对照品准分子离子产生的二级质谱碎片离子信息。结果显示, 样品和对照品总离子流图中相同保留时间的分子离子峰的一级质谱产生的准分子离子 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ 分别为质荷比 (m/z) 593.153 5 和 m/z 593.151 2, 软件

给出的分子式均为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$, $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ 理论值为 593.151 2, 两者与理论值的误差分别为 3.9×10^{-6} 和 0.0×10^{-6} , 软件给出的供试品溶液和对照品溶液准分子离子的主要二级质谱碎片离子的强度分别为 593.155 3, 503.120 9, 473.110 1, 383.078 4, 353.067 4 和 593.148 4, 503.116 3, 473.105 9, 383.074 7, 353.064 9 (图 2), 均为黄酮二糖碳苷类成分芹菜素 6, 8 - 二 - C - β - D - 葡萄糖苷的特征碎片离子, 其裂解途径参考文献^[10-12]。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图2 准分子离子 $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ 为 m/z 593 的二级质谱图

A. Reference solution B. Test solution

Fig. 2 Secondary mass spectrum of $[\text{M} - \text{H}]^{-}$ ion at the m/z of 593

2.4 HPLC 法测定含量

2.4.1 色谱条件

检测波长: 270 nm; 其余同 2.2.1 项下。在此色谱条件下的色谱图见图 1。

2.4.2 方法学考察

线性关系考察: 取 2.1 项下系列对照品溶液各 10 μL , 按 2.4.1 项下色谱条件自动进样测定, 以峰面积 (Y) 对质量浓度 (X , $\mu\text{g}/\text{mL}$) 进行回归处理, 得回归方程 $Y = 2\,025\,772 X - 1\,035$ ($r = 0.999\,9$, $n = 8$)。结果表明,

芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷质量浓度在 0.082 3~16.640 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

定量限和检测限确定:取 2.1 项下质量浓度为 0.082 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液,用 50% 甲醇逐步稀释,分别按 2.4.1 项下色谱条件自动进样 10 μL 测定,分别以信噪比(S/N)为 10:1 和 3:1 时的质量浓度作为定量限和检测限。结果分别为 36.67 ng/mL 和 20 ng/mL 。

日内精密度和日间精密度试验:精密量取 2.1 项下质量浓度为 1.646 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液适量,1 d 内按 2.4.1 项下色谱条件连续 6 次自动进样 10 μL 测定日内精密度,记录芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的峰面积积分值,结果的 RSD 为 1.30% ($n=6$);连续 3 d 内每天 2 次进样测定日间精密,结果的 RSD 为 1.71% ($n=6$)。结果表明,仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(编号 22)适量,依法制备供试品溶液,取 10 μL ,分别于制备后 0,6,12,18,24,36 h 时按 2.4.1 项下色谱条件进样测定,记录芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的峰面积积分值。结果的 RSD 为 3.46% ($n=6$),表明供试品溶液放置 36 h 内稳定性良好。

重复性试验:取样品(编号 22),依法平行制备 6 份供试品溶液,分别按 2.4.1 项下色谱条件进样测定,计算 6 次测定的芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷含量及 RSD 。结果含量分别为 0.067, 0.068, 0.063, 0.069, 0.063, 0.066 mg/g , RSD 为 4.09% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(编号 22)6 份,每份 0.1 g,精密称定,置 50 mL 棕色容量瓶中,分别精密加入质量浓度为 16.640 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液 380 μL ,依法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件进样测定,计算芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的加样回收率。结果见表 2。

表 2 加样回收试验结果($n=6$)
Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
6.634	6.255	12.659	96.32	96.37	1.40
6.646	6.255	12.615	95.43		
6.626	6.255	12.605	95.59		
6.658	6.255	12.853	99.04		
6.620	6.255	12.628	96.05		
6.755	6.255	12.748	95.81		

2.4.3 样品含量测定

取供试品溶液(编号 1-35),分别按 2.4.1 项下色谱条件自动进样 30 μL 测定,计算芹菜素 6,8-二-C-

β -D-葡萄糖苷含量。结果见表 3。其中,产地江苏(编号 1-10)、山西(编号 11-19)、河南(编号 20-25)、山东(编号 26-28)、陕西(编号 29-30)、河北(编号 31-32)的样品中芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的平均含量分别为 0.085, 0.109, 0.144, 0.084, 0.092, 0.074 mg/g , 产地安徽(编号 33)和湖北(编号 34)的样品中的含量分别为 0.082 mg/g 和 0.106 mg/g , 产地不详(编号 35)样品中的含量为 0.046 mg/g 。

表 3 茵陈蒿中芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷含量测定结果(mg/g)
Tab. 3 Results of content determination of apigenin 6,8-di-C- β -D-glucoside in *Artemisia capillaris* (mg/g)

编号	含量	编号	含量	编号	含量
1	0.056	13	0.056	25	0.193
2	0.068	14	0.106	26	0.037
3	0.065	15	0.070	27	0.066
4	0.106	16	0.104	28	0.148
5	0.075	17	0.096	29	0.115
6	0.081	18	0.092	30	0.069
7	0.156	19	0.210	31	0.041
8	0.083	20	0.083	32	0.108
9	0.078	21	0.117	33	0.082
10	0.085	22	0.066	34	0.106
11	0.107	23	0.063	35	0.046
12	0.136	24	0.339		

3 讨论

3.1 黄酮碳苷芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷的分离

黄酮类化合物是一类重要的中药成分,具有广泛的生物活性,天然黄酮常以糖苷形式存在,仅少部分以游离苷元形式存在。根据苷元与糖的连接形式,黄酮苷又可分为黄酮氧苷和黄酮碳苷^[16]。黄酮碳苷也称碳苷黄酮^[17],是指糖基以 C—C 键直接连接在黄酮母体上的一类化合物,主要分为单糖碳苷黄酮和双糖碳苷黄酮 2 种,也存在 O-糖基-C-糖基黄酮及 O-乙酰化-C-糖基黄酮^[18]。近年来,黄酮碳苷被认为是一种比黄酮氧苷更突出、更有前途的黄酮类成分^[17,19]。

2008 年, HAN 等^[20]采用 LC-DAD-ESI-MSⁿ 技术,从菊科蒿属植物青蒿 *Artemisia annua* L. 中首次检测到包括芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷在内共 8 个黄酮碳苷类成分。ABATE 等^[21]采用 UHPLC-Q-TOF-MS 技术从青蒿的乙醇提取物中检测到数个包括芹菜素 6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷在内的黄酮碳苷成分。2012 年, GU 等^[22]采用 LC/QTOF-MS/MS 法从菊科蒿属植物一支蒿 *Artemisia rupestris* L. 中检测到 4 个黄

酮碳苷类成分。尽管有学者分别从我国台湾地区和韩国产同科属植物中分离得到过黄酮碳苷类成分芹菜素6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷^[7-8],但尚未见我国大陆产茵陈蒿中存在该成分的文献报道。

3.2 含量测定波长选择

本研究中,200~400 nm波长紫外吸收扫描结果显示,芹菜素6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷分别于213,270,331 nm波长附近有特征吸收,与文献[23]报道基本一致,故选择270 nm作为含量测定波长。

3.3 芹菜素6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷含量

由表3可知,35批茵陈蒿中芹菜素6,8-二-C- β -D-葡萄糖苷含量差异较大,含量最高的几乎为最低的10倍。其中,河南产含量较高,6批样品的平均含量为0.144 mg/g,这与文献报道的产地为河南的茵陈蒿中绿原酸^[24]、金丝桃苷及4,5-二咖啡酰奎宁酸^[25]含量远高于其他产地一致。但由于本次收集的样品中有些产地的批次较少,不具代表性,故不同产地的茵陈蒿质量评价有待进一步研究。

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] 伍彬,江尚飞,邱妍川,等. 绵茵陈药材中绿原酸提取工艺优化[J]. 中国药业,2018,27(4):6-9.
- [3] CAI YJ, 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.
- [4] MO ZM, CAO ZR, YU L, et al. An Integrative analysis reveals the potential mechanism between herbal medicine Yinchen and immunoregulation in hepatocellular carcinoma [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020:8886914.
- [5] 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.
- [6] DING JW, WANG LL, HE CN, et al. *Artemisia scoparia*: Traditional uses, active constituents and pharmacological effects [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 273:113960.
- [7] WU TS, TSANG ZJ, WU PL, et al. New constituents and anti-platelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris* [J]. Bioorg Med Chem, 2001, 9(1):77-83.
- [8] ISLAM MN, ISHRAT IJ, JUNG HA, et al. Vicenin 2 isolated from *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties [J]. Food Chem Toxicol, 2014, 69:55-62.
- [9] 李雪,陈倩倩,陈潮,等. 高效液相色谱-三重四极杆/线性离子阱质谱法研究大鼠口服不同剂量广金钱草总黄酮后的药动学特征[J]. 中国药理学杂志,2021,56(22):1810-1817.
- [10] DAI Y, DOU ZH, ZHOU RR, 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 multi-components [J]. J Anal Methods Chem, 2021, 2021:5546446.
- [11] 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.
- [12] 倪丽丽. 基于标准汤剂的茵陈蒿汤组方药味配方颗粒质量评价研究[D]. 南京:南京中医药大学,2020.
- [13] HUANG GZ, LI SQ, ZHANG YD, et al. Vicenin-2 is a novel inhibitor of STAT3 signaling pathway in human hepatocellular carcinoma [J]. J Funct Foods, 2020, 69:103921.
- [14] ZHANG YF, SUN J, DONG Y, et al. Vicenin-2 inhibits the *Helicobacterium pylori* infection associated gastric carcinogenic events through modulation of PI3K/AKT and Nrf2 signaling in GES-1 cells [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(3):e22680.
- [15] ZHANG CY, CHEN YH, ZHANG M, et al. Vicenin-2 treatment attenuated the diethylnitrosamine induced liver carcinoma and oxidative stress in experimental rats [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2020, 39(2):113-123.
- [16] 孙欣光,张洁,庞旭,等. 天然黄酮苷的代谢途径研究进展[J]. 中草药,2020,51(11):3078-3089.
- [17] 龚金炎,吴晓琴,张英. 碳苷黄酮及其药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2010,22(3):525-530.
- [18] 谢彤,徐建亚,沈存思,等. 基于UPLC/LTQ-Orbitrap-MS的黄芩中黄酮碳苷的结构表征及同分异构体的区分[J]. 中草药,2015,46(22):3318-3325.
- [19] BESZTERDA M, FRAŃSKI R. Detection of flavone C-glycosides in the extracts from the bark of *Prunus avium* L. and *Prunus cerasus* L. [J]. Eur J Mass Spectrom, 2020, 26(5):369-375.
- [20] HAN J, YE M, QIAO X, et al. Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 47(3):516-525.
- [21] ABATE G, ZHANG LL, PUCCI M, et al. Phytochemical analysis and anti-inflammatory activity of different ethanolic phyto-extracts of *Artemisia annua* L. [J]. Biomolecules, 2021, 11(7):975.
- [22] GU DY, YANG Y, ABDULLA R, et al. Characterization and identification of chemical compositions in the extract of *Artemisia rupestris* L. by liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2012, 26(1):83-100.
- [23] 秦艳,尹建兵,杜冬生,等. 中药紫花地丁黄酮碳苷类化学成分的超高效液相色谱-电喷雾离子源-四极杆飞行时间串联质谱研究[J]. 分析测试学报,2017,36(1):9-17.
- [24] 王志伟,高钧,谭晓杰,等. 双波长RP-HPLC法同时测定茵陈蒿中绿原酸、咖啡酸和对羟基苯乙酮的含量[J]. 药物分析杂志,2009,29(6):919-922.
- [25] 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.

(收稿日期:2022-09-01;修回日期:2022-12-16)