

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0064-11

UPLC-MS 法同时测定青蒿 7 种有效成分的研究

丁 刚^{1,2,3},宋旭红^{1,2,3},崔广林^{1,2,3},谭 均^{1,2,3},李隆云^{1,2,3*}¹重庆市中药研究院,²重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心;³中国中医科学院中药资源中心重庆分中心,重庆 400065

摘要:建立一种同时快速测定青蒿中青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素含量的 UPLC-MS 方法。样品经超声萃取,经质谱仪(AB SCIEX TRIPLE QUAD 5500)检出,用峰面积外标法定量。青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素线性关系良好,平均回收率分别为 99.14% (RSD = 1.84%), 97.22% (RSD = 2.67%), 98.22% (RSD = 2.04%), 101.47% (RSD = 2.53%), 97.34% (RSD = 3.02%), 101.51% (RSD = 2.56%) 和 100.51% (RSD = 3.03%)。对采集自重庆地区 50 个地点的样本进行测定表明,本方法简便、准确,可用于青蒿的质量评价。

关键词:青蒿;青蒿素;青蒿酸;青蒿乙素;双氢青蒿素;UPLC-MS

中图分类号:R917

文献标识码:A

DOI:10.1633/j.1001-6880.2018.S.009

Simultaneous Determination of 7 Effective Components Content in Herbal *Artemisia annua* by UPLC-MS

DING Gang^{1,2,3}, SONG Xu-hong^{1,2,3}, CUI Guang-lin^{1,2,3}, TAN Jun^{1,2,3}, LI Long-yun^{1,2,3*}¹Chongqing Academy of Chinese Materia Medica;²Chongqing Engineering Research Center forFine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica;³Chongqing Sub-center of National

Resource, Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Chongqing 400065, China

Abstract: Establishing a UPLC-MS method for rapid determination of artemisinin, artemisinic acid, artemisinin, dihydroartemisinin, kaempferol, luteolin and quercetin in *Artemisia annua* L. Samples extracted by ultrasound. Chemical composition was detected by mass spectrometer (AB SCIEX TRIPLE QUAD 5500), and quantified by peak area external standard method. The calibration curves of artemisinin, artemisinic acid, annuaHB, dihydroartemisinin, kaempferol, luteolin and quercetin were in good linearity respectively, and the average recoveries were 99.14% (RSD = 1.84%), 97.22% (RSD = 2.67%), 98.22% (RSD = 2.04%), 101.47% (RSD = 2.53%), 97.34% (RSD = 3.02%), 101.51% (RSD = 2.56%), 100.51% (RSD = 3.03%), respectively. The measurement from 50 locations in Chongqing showed that the method is simple and accurate. It can be used for quality evaluation of *Artemisia annua*.

Key words: *Artemisia annua*; artemisinin; artemisinic acid; annuaHB; dihydroartemisinin; UPLC-MS

青蒿为菊科一年生草本植物黄花蒿(*Artemisia annua* L.)的干燥地上部分。其性寒,味辛苦,具有清透虚热,凉血除蒸,解暑,截疟效用^[1]。青蒿资源丰富,重庆、四川、贵州、广西、广东、江西、湖北、湖南、江苏、河北、河南、山东和陕西等地区均有分布^[2]。其中重庆市拥有优质的青蒿种质资源^[3],为全国最大的青蒿种植基地。

收稿日期:2018-06-21 接受日期:2018-11-30

基金项目:国家中药材产业技术体系(CARS-21);重庆市现代山地特色高效农业技术体系(2018-5);重庆市集成示范项目(CSTC2013cscf1009);国家科技惠民计划项目(2013GS500102);国家中药资源中心重庆分中心能力提升建设(CSTCZ014ptyj10001)

*通信作者 Tel:86-23-89029118;E-mail:llongyun8@163.com

青蒿药材中除青蒿素外,还含有青蒿酸、青蒿乙素和以山奈酚、木犀草素、槲皮素为代表的黄酮类化合物,这些成分协同青蒿素对疟疾具有治疗作用^[4]。研究表明双氢青蒿素对人肺腺癌 A549 细胞在体内外均有生长抑制作用^[5]。当前青蒿药材质量研究,主要以青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素为含测指标,双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素、槲皮素等化合物研究较少。分析方法包括柱前衍生-HPLC^[6]、HPLC-UV^[7]、HPLC-ELSD^[8]、HPLC-UV-ELSD^[9]。其中柱前衍生-HPLC 和 HPLC-UV 不能满足同时测定青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素含量;HPLC-ELSD 和 HPLC-UV-

ELSD 检测时间长, 灵敏度低, 含量在十万分之一以下的成分检测不出。本研究采用 UPLC-MS 方法, 建立了一套快速、简便和准确的测定青蒿多种化学成分的方法, 对指导青蒿栽培种植, 选育优良青蒿品种、青蒿资源开发利用及评价药材质量均具有重要意义。

1 实验材料

ACQUITY UPLC I-Class(沃特世超高效液相); AB SCIEX TRIPLE QUAD 5500(AB SCIEX 公司质谱仪); KQ-250B 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); AW-220 型电子天平(日本岛津); AEG-45SM 型电子天平(日本岛津)。

青蒿素、青蒿酸、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素对照品(成都曼斯特生物科技有限公司, 批号: MUST-13060203、13011614、13101302、13121112、13121011、13072505), 青蒿乙素对照品(四川省维克奇生物科技有限公司, 批号: 120915)。水为去离子水、丙酮、石油醚(60~90 °C)(均为分析纯), 甲醇、乙腈(均为色谱纯)。

青蒿样品采集于重庆市青蒿规范化种植基地。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

称取青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山

奈酚、木犀草素和槲皮素对照品适量, 甲醇溶解, 使用 0.22 μm 的滤头, 过滤, 取续滤液, 作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

准确称取青蒿药材粉末约 0.5 g, 滤纸包裹, 置于 50 mL 的容量瓶中, 加 25 mL 50% 石油醚(60~90 °C)-50% 丙酮, 超声 45 min(300 w), 提取 2 次, 用 50% 石油醚(60~90 °C)-50% 丙酮溶液, 适量, 洗脱滤纸包, 收集溶液, 置于 100 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摆匀, 取 0.1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 挥干, 甲醇溶解, 并定容至刻度, 摆匀, 用 0.22 μm 的滤头, 过滤, 取续滤液, 作为样品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm ID); 梯度流动相: 乙腈 A-0.1% 乙酸 B(0~1 min, A10%→10%; 1~6 min, A10%→85%; 6~13 min, A85%→85%; 13~14 min, A85%→10%; 14~15 min, A10%→10%); 流速: 0.4 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 进样量: 2 μL。

2.4 质谱条件

采用电喷雾电离源(ESI)正离子和负离子模式, 多重反应监测模式(MRM)。离子源温度: 550 °C; 7 种目标组分的其他质谱分析参数见表 1。

表 1 质谱色谱条件

Table 1 Condition of mass spectrometer and chromatograph

ID	Q1 Mass	Q3 Mass	DP Volts	EP Volts	CE Volts	CXP Volts
槲皮素 Quercetin	301.1	151.1	-140	11	-30	-10
青蒿酸 Artemisinic acid	233.3	233.3	-65	-10	-12	-13
山奈酚 Kaempferol	285.2	285.2	-150	-8	-12	-15
青蒿素 Artemisia annua	283.3	209.3	66	6	11	4
双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	307.3	261.3	61	12.5	17	8
青蒿乙素 Annua HB	271.3	271.3	66	6.5	15	6
木犀草素 Luteolin	287.2	153.2	196	10	37	4

2.5 提取条件的考察

2.5.1 提取溶解的筛选

准确称取 0.50 g 样品(过 3 号筛)21 份, 分别置于 25 mL 量瓶中, 将 21 份样品, 以 3 份为一组, 分为 7 组, 分别加入 1 号 100% 石油醚(60~90 °C)-0% 丙酮、2 号 80% 石油醚(60~90 °C)-20% 丙酮、3 号 60% 石油醚(60~90 °C)-40% 丙酮、4 号 50% 石油醚(60~90 °C)-50% 丙酮、5 号 40% 石油醚(60~90 °C)-60% 丙酮、6 号 20% 石油醚(60~90 °C)-

80% 丙酮和 7 号 0% 石油醚(60~90 °C)-100% 丙酮 7 种不同的提取溶剂 20 mL, 超声提取 60 min(功率 200 W), 取出, 放置室温, 每组用对应提取溶剂定容至刻度, 摆匀, 取 0.1 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 挥干, 甲醇溶解, 并定容至刻度, 摆匀, 用 0.22 μm 的滤头, 过滤, 取续滤液, 作为样品溶液。按 2.3 与 2.4 项下操作, 根据峰面积, 运用外标法计算, 并用 SPSS 软件进行单因素分析, 结果不同溶剂对青蒿素($P = 0.000$)、青蒿酸($P = 0.000$)、青蒿乙素($P =$

0.000)、山奈酚($P = 0.000$)、木犀草素($P = 0.000$)和槲皮素($P = 0.000$)有极显著影响,对双氢青蒿素($P = 0.873$)没有显著影响;运用 Duncan 法比较得同类子(表 2),4 号溶剂提取各成分的含量均位于各子集最高水平。最佳提取溶剂为 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液。

2.5.2 样品粒度的筛选

准确称取不同粉碎度(过药典 2 号筛、3 号筛、4 号筛、5 号筛、6 号筛和 7 号筛)的样品各 3 份,每份 0.50 g,分别置于 25 mL 量瓶中,每份样品中加入 20 mL 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,超声提取 60 min(功率 200 W),取出,放置室温,用 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液定容至刻度,摇匀,取 0.1 mL,置于 50 mL 量瓶中,挥干,甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,用 0.22 μm 的滤头,过滤,取续滤液,作为样品溶液。按 2.3 与 2.4 项下操作,根据峰面积,运用外标法计算,并用 SPSS 软件进行单因素分析。结果粒度对青蒿素($P = 0.002$)、木犀草素($P = 0.003$)和山奈酚($P = 0.004$)有极显著影响,青蒿酸($P = 0.039$)有显著影响,青蒿乙素($P = 0.061$)、槲皮素($P = 0.753$)、双氢青蒿素($P = 0.839$)没有显著影响;运用 Duncan 法比较得同类子集(表 3)。经 5 号筛筛选粒度的样品,各成分的含量均位于各子集最高水平。最佳筛选粒度是 5 号筛。

2.5.3 料液比的筛选

准确称取 0.50 g 样品(过药典 5 号筛)15 份,分别置于 50 mL 量瓶中,以 3 份为一组,分为 5 组,然后在每组的不同样品中分别加入 25 mL、20 mL、15 mL、10 mL 和 5 mL 的 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,超声提取 60 min(功率 200 W),放置到室温,用 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,定容至刻度,摇匀,取 0.1 mL,置于 25 mL 量瓶中,挥干,甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,用 0.22 μm 的滤头,过滤,取续滤液,作为样品溶液。按 2.3 与 2.4 项下操作,根据峰面积,运用外标法计算,并用 SPSS 软件进行单因素分析。结果料液比对青蒿素($P = 0.000$)、木犀草素($P = 0.000$)、青蒿酸($P = 0.006$)、槲皮素($P = 0.000$)和青蒿乙素($P = 0.000$)有极显著影响,山奈酚($P = 0.320$)、双氢青蒿素($P = 0.422$)没有显著影响;运用 Duncan 法比较得同类子集(表 4),料液比为 25:0.5 时,各成分的含量均位于各子集最高水平。最佳料液比为 25:0.5。

2.5.4 提取功率的筛选

准确称取 0.50 g 样品(过 5 号筛)15 份,分别置于 50 mL 量瓶中,以 3 份为一组,分为 5 组,加入 25 mL 的 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,超声提取 60 min(功率分别为 150、200、250、300、350 W),放置到室温,用 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,定容至刻度,摇匀,取 0.1 mL,置于 25 mL 量瓶中,挥干,甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,用 0.22 μm 的滤头,过滤,取续滤液,作为样品溶液。按 2.3 与 2.4 项下操作,根据峰面积,运用外标法计算,并用 SPSS 软件进行单因素分析。结果提取功率对青蒿素($P = 0.002$)、青蒿酸($P = 0.002$)、青蒿乙素($P = 0.000$)、山奈酚($P = 0.000$)、木犀草素($P = 0.001$)和槲皮素($P = 0.000$)有极显著影响,对双氢青蒿素($P = 0.060$)没有显著影响;运用 Duncan 法比较得同类子集(表 5),提取功率为 300 W 时,各成分的含量均位于各子集最高水平。最佳提取功率为 300 W。

2.5.5 提取时间的筛选

准确称取 0.50 g 样品(过 5 号筛)15 份,分别置于 50 mL 量瓶中,以 3 份为一组,分为 5 组,加入 25 mL 的 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,分别超声提取 30、45、60、75、90 min(功率为 300 W),放置到室温,用 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,定容至刻度,摇匀,取 0.1 mL,置于 25 mL 量瓶中,挥干,甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,用 0.22 μm 的滤头,过滤,取续滤液,作为样品溶液。按 2.3 与 2.4 项下操作,根据峰面积,运用外标法计算,并用 SPSS 软件进行单因素分析。结果提取功率对青蒿素($P = 0.001$)、青蒿酸($P = 0.000$)、青蒿乙素($P = 0.000$)和山奈酚($P = 0.000$)有极显著影响,对槲皮素($P = 0.178$)、木犀草素($P = 0.481$)、双氢青蒿素($P = 0.431$)没有显著影响;运用 Duncan 法比较得同类子集(表 6)。提取时间为 45 min 时,各成分的含量均位于各子集最高水平。最佳提取时间为 45 min。

2.5.6 提取次数的筛选

准确称取 0.50 g 样品(过 5 号筛)9 份,滤纸包裹,分别置于 50 mL 量瓶中,将 9 份样品,以 3 份为一组,分为 3 组,加入 25 mL 的 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,超声提取 45 min(功率 300 W),分别提取 1、2 和 3 次,放置到室温,用 50% 石油醚($60 \sim 90^\circ\text{C}$)-50% 丙酮溶液,适量,洗脱滤纸包,收

集溶液,置于 100 mL 量瓶中,定容至刻度,摇匀,取 0.1 mL,置于 10 mL 量瓶中,挥干,甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,用 0.22 μm 的滤头,过滤,取续滤液,作为样品溶液。按 2.3 与 2.4 项下操作,根据峰面积,运用外标法计算,并用 SPSS 软件进行单因素分析。结果提取次数对青蒿素($P = 0.000$)、木犀草素($P = 0.000$)、青蒿酸($P = 0.000$)、槲皮素($P =$

0.000)和山奈酚($P = 0.000$)有极显著影响,青蒿乙素($P = 0.065$)、双氢青蒿素($P = 0.456$)没有显著影响;运用 Duncan 法比较得同类子集(表 7)。提取次数为 3 次时,各成分的含量均位于各子集最高水平。主要成分青蒿素、青蒿酸、木犀草素和槲皮素提取 2 次与 3 次,含测结果没有显著区别,最佳提取次数是 2 次。

表 2 不同溶剂-各成分的同类子集

Table 2 The different solvents-subset of each component

青蒿素 Artemisia annua					青蒿酸 Artemisinic acid			青蒿乙素 Annua HB			山奈酚 Kaempferol				木犀草素 Luteolin			槲皮素 Quercetin							
No.	N	1	2	3	4	No.	1	2	3	No.	1	2	3	4	No.	1	2	3	No.	1	2	3			
1	3	14.77				1	0.47			1	0.052			1	0.002			1	0.003		1	0.005			
2	3		16.89			2		0.48		2		0.067	2		0.007			2		0.008	7	0.008			
3	3		17.06	17.06		3			0.49	5		0.067	3			0.011			3		0.011	2	0.009		
7	3		17.10	17.10	6			0.49	0.49	3		0.069	5			0.013	0.013		5		0.014	6	0.010		
4	3		17.13	17.13	4			0.49	0.49	6		0.071	6			0.015	0.015	7			0.014	5	0.011		
5	3		17.20	17.20	5			0.50	0.50	7		0.071	4			0.016	0.016	6			0.014	3	0.014		
6	3			17.34	7			0.50	4		0.072	7			0.018	4				0.015	4		0.016		
显著性 Significance		1.00	0.06	0.20	0.05		0.07	0.12	0.24		1.00	0.07		1.00	1.00	0.28	0.06	0.09		1.00	1.00	0.10	1.00	0.06	0.27

表 3 不同粒度-各成分同类子集

Table 3 The different granularity-subset of each component

山奈酚 Kaempferol				青蒿素 Artemisia annua				青蒿酸 Artemisinic acid				木犀草素 Luteolin				
No.	N	1	2	No.	1	2	No.	1	2	3	4	No.	1	2	3	
3	3	6.88	-	3	0.19	-	7	0.009	-	-	-	3	0.010	-	-	
4	3	-	17.28	2	0.36	0.36	3	0.010	0.010	-	-	2	0.010	0.010	-	
5	3	-	17.39	7	-	0.55	6	0.011	0.011	0.011	-	4	0.012	0.012	-	
7	3	-	17.58	4	-	0.55	2	-	0.011	0.011	-	7	0.012	0.012	-	
6	3	-	17.70	5	-	0.55	4	-	-	0.012	0.012	6	-	0.013	-	
2	3	-	18.96	6	-	0.55	5	-	-	-	0.013	5	-	-	0.016	
显著性 Significance		-	1.00	0.51	-	0.16	0.17	-	0.06	0.10	0.24	0.15	-	0.24	0.06	1.00

表 4 不同液料比-各成分同类子集

Table 4 The different liquid to material ratio-subset of each component

青蒿素 Artemisia annua					青蒿酸 Artemisinic acid			青蒿乙素 Annua HB			木犀草素 Luteolin				槲皮素 Quercetin							
No.	N	1	2	3	4	5	No.	1	2	No.	1	2	3	No.	1	2	3	No.	1	2	4	5
5	3	7.97	-	-	-	-	5	0.21	-	3	0.066	-	-	5	0.012	-	-	5	0.007	-	-	-
4	3	-	10.15	-	-	-	4	-	0.33	2	-	0.075	-	4	0.012	-	-	4	-	0.007	-	-

续表4(Continued Tab. 4)

青蒿素 Artemisia annua				青蒿酸 Artemisinic acid				青蒿乙素 Annua HB				木犀草素 Luteolin				槲皮素 Quercetin							
3	3	-	-	11.30	-	-	3	-	0.35	5	-	0.076	-	3	0.012	-	-	3	-	-	0.009	-	-
2	3	-	-	-	13.90	-	2	-	0.43	4	-	-	0.090	2	-	0.016	-	2	-	-	-	0.011	-
1	3	-	-	-	-	17.50	1	-	0.43	1	-	-	0.090	1	-	-	0.020	1	-	-	-	-	0.011
显著性 Significance	-	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	-	1.00	0.07	.069	1.00	0.83	0.88	-	0.51	0.09	0.39	-	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

表5 不同功率-各成分同类子集

Table 5 The different power-subset of each component

青蒿素 Artemisia annua				青蒿酸 Artemisinic acid				青蒿乙素 Annua HB				木犀草素 Luteolin				槲皮素 Quercetin								
No.	N	1	2	3	No.	1	2	3	No.	1	2	3	No.	1	2	3	No.	1	2	3				
1	3	12.6	-	-	1	0.32	-	-	1	0.048	-	-	1	0.010	-	-	1	0.016	-	-	1	0.0081	-	-
2	3	13.3	13.3	-	3	0.35	0.35	-	3	-	0.064	-	4	0.012	0.012	-	2	-	0.019	-	2	-	0.0088	-
3	3	-	15.0	15.0	2	-	0.38	0.38	5	-	0.074	0.074	3	0.012	0.012	-	3	-	0.020	-	5	-	0.0092	-
4	3	-	-	16.1	4	-	0.38	0.38	4	-	-	0.076	2	-	0.013	-	5	-	0.021	0.021	3	-	0.0092	-
5	3	-	-	16.4	5	-	-	0.42	2	-	-	0.079	5	-	-	0.017	4	-	-	0.022	4	-	-	0.011
显著性 Significance	-	0.41	0.05	0.12	-	0.11	0.09	0.06	-	1.00	0.06	0.39	-	0.14	0.11	1.00	-	1.00	0.07	0.11	-	1.00	0.12	

表6 不同时间-各成分同类子集

Table 6 The different time-subset of each component

青蒿素 Artemisia annua				青蒿酸 Artemisinic acid				青蒿乙素 Annua HB				山奈酚 Kaempferol					
No.	N	1	2	3	No.	1	2	3	No.	1	2	3	4	No.	1	2	3
4	3	17.36	-	-	4	0.38	-	-	1	0.071	-	-	-	1	0.010	-	-
1	3	-	18.48	-	1	0.39	-	-	4	-	0.081	-	-	3	-	0.014	-
5	3	-	18.77	18.77	3	-	0.40	-	3	-	-	0.091	-	4	-	0.015	0.015
3	3	-	18.96	18.96	5	-	-	0.42	2	-	-	0.097	0.097	2	-	-	0.016
2	3	-	-	19.29	2	-	-	0.43	5	-	-	-	0.099	5	-	-	0.016
显著性 Significance	-	1.00	0.18	0.15	-	0.14	1.00	0.09	.069	1.00	1.00	0.09	0.54	-	1.00	0.08	0.11

表7 不同次数-各成分同类子集

Table 7 The different times-subset of each component

青蒿素 Artemisia annua				青蒿酸 Artemisinic acid				青蒿乙素 Annua HB				木犀草素 Luteolin				槲皮素 Quercetin			
No.	N	1	2	No.	1	2	No.	1	2	3	No.	1	2	No.	1	2	No.	1	2
1	3	13.23	-	1	0.35	-	3	0.007	-	-	1	0.008	-	1	0.006	-	-	-	-
2	3	-	18.39	2	-	0.46	2	-	0.009	-	2	-	0.012	2	-	0.014	-	-	-
3	3	-	18.72	3	-	0.51	1	-	-	0.013	3	-	0.013	3	-	0.016	-	-	-
显著性 Significance	-	1.00	0.64	-	1.00	0.12	-	1.00	1.00	1.00	-	1.00	0.10	-	1.00	0.52	-	-	-

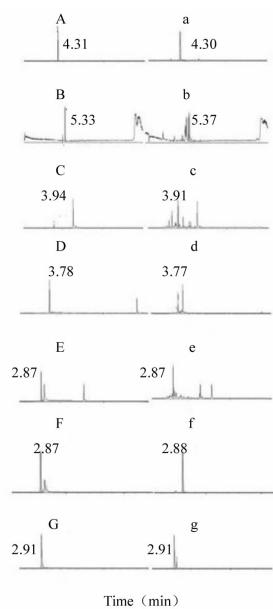


图1 色谱

Fig. 1 Chromatogram

注:A. 青蒿素对照溶液色谱图;B. 青蒿酸对照溶液色谱图;C. 青蒿乙素对照溶液色谱图;D. 双氢青蒿素对照溶液色谱图;E. 山奈酚对照溶液色谱图;F. 木犀草素对照溶液色谱图;G. 槲皮素对照溶液色谱图;a. 青蒿素样品溶液色谱图;b. 青蒿酸样品溶液色谱图;c. 青蒿乙素样品溶液色谱图;d. 双氢青蒿素样品溶液色谱图;e. 山奈酚样品溶液色谱图;f. 木犀草素样品溶液色谱图;g. 槲皮素样品溶液色谱图。

Note: A Artemisinin control solution chromatogram; B. Artemisinic acid control solution chromatogram; C. Annua HB control solution chromatogram; D, Dihydroartemisinin control solution chromatogram; E, Kaempferol and Quercetin control solution chromatogram; F, Luteolin control solution chromatogram; G, Quercetin control solution chromatogram; a, Artemisinin samPle chromatogram; b, Artemisinic acid samPle chromatogram; c, Annua HB samPle chromatogram; d, Dihydroartemisinin samPle chromatogram; e, Kaempferol samPle chromatogram; f, Luteolin samPle chromatogram; g, Quercetin samPle chromatogram.

2.6 方法学考察

2.6.1 专属性考察

运用高分辨率质谱系统能够准确区分不同分子量的化合物,相同分子量的化合物经过色谱柱分离,保留时间不同,从而保证检测指标的专属性。

2.6.2 线性关系考察

精密量取青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素对照品适量,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇制成每毫升含0.964 mg、1.023 mg、0.990 mg、1.017 mg、0.990 mg、1.000 mg和1.040 mg的溶液,作为青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素对照品母液,用甲醇稀释母液得到系列质量浓度为青蒿素964.00、867.60、771.20、674.80、578.40、482.00、385.60 ng · mL⁻¹;青蒿酸51.15、40.92、30.69、20.46、10.23、8.18、5.12 ng · mL⁻¹;青蒿乙素1.98、1.58、1.39、1.19、0.99、0.50、0.099 ng · mL⁻¹;双氢青蒿素2.03、1.63、1.42、1.22、1.02、0.51、0.10 ng · mL⁻¹;山奈酚1.98、1.78、1.58、1.38、0.99、0.50、0.099 ng · mL⁻¹;木犀草素3.50、3.00、2.50、2.00、1.00、0.50、0.10 ng · mL⁻¹;槲皮素2.60、2.08、1.56、1.04、0.52、0.10、0.042 ng · mL⁻¹的溶液。分别吸取2 μL,注入液相色谱仪,以进样量的浓度X为横坐标,MS测定信号强度峰面积Y为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程(表8)。从表8可以看出,青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素分别在浓度范围内线性关系良好。

2.6.3 精密度试验

吸取青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素对照品溶液2 μL,连续进

表8 回归方程

Table 8 Regression equation

成分ID	回归方程Regression equation	R _R	范围Range (ng · mL ⁻¹)
青蒿素 Artemisia annua	$Y = 4.17E + 3X - 426$	0.9999	964.00 ~ 385.60
青蒿酸 Artemisinic acid	$Y = 1.83E + 5X + 5.31E + 5$	0.9978	51.15 ~ 5.12
青蒿乙素 Annua HB	$Y = 2.23E + 4X + 5.83E + 4$	0.9986	1.98 ~ 0.099
双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	$Y = 2.41E + 3X - 2.75E + 3$	0.9996	2.03 ~ 0.10
山奈酚 Kaempferol	$Y = 1.5E + 5X - 9.1E + 4$	0.9993	1.98 ~ 0.099
木犀草素 Luteolin	$Y = 5.95E + 3X - 2.38E + 4$	0.9996	3.50 ~ 0.10
槲皮素 Quercetin	$Y = 1.77E + 4X - 5.5E + 4$	0.9996	2.60 ~ 0.042

样6次,得各对照品的峰面积,计算,结果见表9,精密度良好。

2.6.4 稳定性试验

吸取青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚和槲皮素对照品溶液2 μL,在0、4、8、12、24 h进样。得各对照品的峰面积,计算,结果见表9,在

24 h内溶液稳定性良好。

2.6.5 重复性试验

按2.2项下方法,制备青蒿平行供试品6份,依法测定青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素的含量,结果(表9),结果表明重复性良好。

表9 7种成分的精密度、稳定性、重复性的RSD(%)

Table 9 RSD(%) of the precision, stability, repeatability on 7 components(%)

标准偏差 RSD(%)	青蒿素 Artemisia annua	青蒿酸 Artemisinic acid	青蒿乙素 Annua HB	双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	山奈酚 Kaempferol	木犀草素 Luteolin	槲皮素 Quercetin
精密度 Precision	1.21	1.45	0.99	2.37	1.12	2.23	1.89
稳定性 Stability	1.81	1.98	1.53	2.47	1.39	2.02	1.72
重复性 Repeatability	1.77	1.92	1.90	2.50	1.47	1.77	2.14

2.6.6 加样回收率试验

分别精密量取已知这7种成分含量的同一批次青蒿药材粉末0.25 g,9份,分3组,每组3份,加入高、中、低3个质量浓度的混合标准品。按2.2项下

制备供试品溶液,按2.3项下色谱条件检测,测定,计算青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素的回收率,结果(表10)。

表10 加样回收实验结果(n=3)

Table 10 Results of recovery tests(n=3)

成分 ID	水平 Level	回收率 Percent recovery(%)	平均 Average(%)	标准偏差 RSD(%)
青蒿素 Artemisia annua	低浓度 Low concentration	98.2	98.5	97.7
	中浓度 Medium concentration	99.8	100.8	98.5
	高浓度 High concentration	100.2	101.3	97.3
青蒿酸 Artemisini	低浓度 Low concentration	95.2	97.2	97.3
	中浓度 Medium concentration	98.1	95.3	96.7
	高浓度 High concentration	99.5	98.6	97.1
青蒿乙素 Annua HB	低浓度 Low concentration	98.3	97.6	98.4
	中浓度 Medium concentration	100.3	98.2	99.2
	高浓度 High concentration	94.6	99.1	98.3
双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	低浓度 Low concentration	101.2	99.7	102.8
	中浓度 Medium concentration	100.6	101.4	101.4
	高浓度 High concentration	102.4	101.0	102.7
山奈酚 Kaempfer	低浓度 Low concentration	99.8	96.4	97.5
	中浓度 Medium concentration	97.1	96.3	95.9
	高浓度 High concentration	98.5	97.2	97.4
木犀草素 Luteolin	低浓度 Low concentration	100.1	102.2	102.8
	中浓度 Medium concentration	102.1	100.6	101.4
	高浓度 High concentration	103.2	101.4	99.8
槲皮素 Quercetin	低浓度 Low concentration	101.9	102.2	99.6
	中浓度 Medium concentration	102.1	100.3	97.3
	高浓度 High concentration	100.2	101.6	99.4

2.7 样品测定与相关性分析

2.7.1 样品测定

精密称取重庆各区县不同产地的青蒿药材样品

(表11),按2.2和2.3项下方法操作,依法测定青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素含量,平行测定三份,结果见表12。

表11 青蒿样品来源

Table 11 Origins of the Artemisinin medicinessamples

编号 No.	样品 Sample	编号 No.	样品 Sample
1	忠县新立	26	万州白羊真
2	云阳平安镇	27	黔江石会镇青山村3组52号
3	云阳南溪	28	黔江黑溪镇苏维4组老品种
4	酉阳酉酬镇溪口村14社	29	黔江黑溪镇苏维4组新品种
5	酉阳偏柏乡石卡村鸭溪	30	黔江黑溪镇苏维2组84号
6	酉阳偏柏乡石卡村3组电子山	31	黔江黑溪镇百合3组
7	酉阳李溪镇官坝村	32	黔江黑溪苏维4组石板滩1
8	酉阳后溪	33	黔江黑溪苏维4组石板滩2
9	酉阳后坪乡王家村	34	黔江黑溪胜地居委5组
10	酉阳后坪乡前丰村1组	35	黔江黑溪胜地居委
11	酉阳后坪乡椒梓村1组	36	黔江黑溪改革村6组土地垭
12	酉阳丁市镇下坝村2组	37	黔江黑溪改革村3组
13	酉阳丁市镇下坝村1组	38	黔江鹅池南溪
14	酉阳大溪镇金线村白家	39	黔江鹅池方家村
15	酉阳大溪镇金线村5组易屎坝	40	黔江俄池学堂
16	酉阳大溪镇金线村5社	41	梁平云龙镇保化村1组
17	酉阳板溪镇摇铃村2组	42	梁平荫坪镇荫坪村
18	酉阳板溪镇摇铃村1组	43	梁平荫坪镇
19	酉阳酉水河镇后溪村高坎子	44	梁平石安镇合村1组
20	酉阳酉酬镇巴堰村1社	45	梁平回龙镇天池村7组
21	万州余家镇	46	梁平福禄镇拱桥街
22	万州熊家镇	47	梁平福禄镇
23	万州石家湾坎	48	涪陵石龙
24	万州石家马龙顶	49	涪陵载龙
25	万州区甘宁镇牌楼8组	50	垫江三溪镇

表12 含量检测结果($n=3$)

Table 12 Results of content detection ($n=3$)

编号 No.	槲皮素 Quercetin (%)	青蒿酸 Artemisic acid(%)	山奈酚 Kaempferol (%)	青蒿素 Artemisia annua(%)	双氢青蒿素 Dihydroartemisinin (%)	青蒿乙素 Annua HB (%)	木犀草素 Luteolin (%)
1	0.0203 ± 0.0009	0.511 ± 0.001	0.0331 ± 0.0003	14.78 ± 0.07	0.0214 ± 0.0002	0.0083 ± 0.0000	0.0391 ± 0.0003
2	0.0050 ± 0.0003	0.308 ± 0.001	0.0266 ± 0.0002	15.48 ± 0.23	0.0373 ± 0.0003	0.0057 ± 0.0000	0.0254 ± 0.0003
3	0.0171 ± 0.0004	0.577 ± 0.001	0.0305 ± 0.0002	15.51 ± 0.16	0.0074 ± 0.0000	0.0090 ± 0.0000	0.0384 ± 0.0001
4	0.0021 ± 0.0002	0.317 ± 0.001	0.0166 ± 0.0002	12.63 ± 0.15	0.0235 ± 0.0001	0.0116 ± 0.0001	0.0181 ± 0.0002
5	0.0029 ± 0.0002	0.291 ± 0.001	0.0090 ± 0.0000	12.03 ± 0.08	0.0182 ± 0.0003	0.0135 ± 0.0002	0.0125 ± 0.0001

续表 12 (Continued Tab. 12)

编号 No.	槲皮素 Quercetin (%)	青蒿酸 Artemisic acid (%)	山柰酚 Kaempferol (%)	青蒿素 Artemisia annua (%)	双氢青蒿素 Dihydroartemisinin (%)	青蒿乙素 Annua HB (%)	木犀草素 Luteolin (%)
6	0.0029 ± 0.0002	0.234 ± 0.001	0.0088 ± 0.0000	12.66 ± 0.18	0.0215 ± 0.0002	0.0107 ± 0.0002	0.0124 ± 0.0004
7	0.0409 ± 0.0004	0.475 ± 0.001	0.0334 ± 0.0002	17.49 ± 0.22	0.0154 ± 0.0004	0.0072 ± 0.0000	0.0514 ± 0.0003
8	0.0060 ± 0.0001	0.566 ± 0.001	0.0235 ± 0.0002	14.71 ± 0.27	0.0237 ± 0.0002	0.0167 ± 0.0004	0.0254 ± 0.0003
9	0.0088 ± 0.0001	0.428 ± 0.001	0.0185 ± 0.0002	17.42 ± 0.14	0.0142 ± 0.0003	0.0116 ± 0.0001	0.0224 ± 0.0004
10	0.0020 ± 0.0000	0.355 ± 0.001	0.0086 ± 0.0003	11.63 ± 0.10	0.0172 ± 0.0001	0.0145 ± 0.0000	0.0092 ± 0.0000
11	0.0011 ± 0.0000	0.324 ± 0.001	0.0079 ± 0.0002	12.68 ± 0.12	0.0216 ± 0.0002	0.0157 ± 0.0000	0.0079 ± 0.0001
12	0.0105 ± 0.0005	0.417 ± 0.001	0.0287 ± 0.0003	16.62 ± 0.14	0.0191 ± 0.0002	0.0173 ± 0.0001	0.0370 ± 0.0002
13	0.0061 ± 0.0000	0.280 ± 0.001	0.0198 ± 0.0001	12.49 ± 0.18	0.0146 ± 0.0002	0.0147 ± 0.0002	0.0347 ± 0.0002
14	0.0091 ± 0.0000	0.336 ± 0.002	0.0174 ± 0.0002	18.59 ± 0.26	0.0255 ± 0.0002	0.0125 ± 0.0001	0.0165 ± 0.0002
15	0.0051 ± 0.0001	0.366 ± 0.002	0.0138 ± 0.0001	18.41 ± 0.21	0.0081 ± 0.0001	0.0148 ± 0.0001	0.0155 ± 0.0003
16	0.0051 ± 0.0001	0.355 ± 0.002	0.0134 ± 0.0002	14.67 ± 0.12	0.0259 ± 0.0006	0.0176 ± 0.0000	0.0134 ± 0.0004
17	0.0011 ± 0.0001	0.277 ± 0.002	0.0038 ± 0.0000	11.57 ± 0.27	0.0105 ± 0.0001	0.0069 ± 0.0000	0.0033 ± 0.0000
18	0.0069 ± 0.0000	0.316 ± 0.003	0.0185 ± 0.0002	11.75 ± 0.06	0.0192 ± 0.0002	0.0054 ± 0.0000	0.0263 ± 0.0001
19	0.0018 ± 0.0001	0.276 ± 0.002	0.0075 ± 0.0000	10.77 ± 0.11	0.0165 ± 0.0003	0.0068 ± 0.0000	0.0075 ± 0.0000
20	0.0069 ± 0.0001	0.385 ± 0.001	0.0286 ± 0.0002	17.35 ± 0.17	0.0214 ± 0.0002	0.0105 ± 0.0002	0.0315 ± 0.0004
21	0.0090 ± 0.0001	0.299 ± 0.002	0.0257 ± 0.0003	17.34 ± 0.17	0.0302 ± 0.0003	0.0164 ± 0.0003	0.0305 ± 0.0004
22	0.0390 ± 0.0001	0.447 ± 0.003	0.0285 ± 0.0002	17.41 ± 0.14	0.0203 ± 0.0001	0.0182 ± 0.0001	0.0334 ± 0.0003
23	0.0121 ± 0.0002	0.411 ± 0.003	0.0266 ± 0.0001	17.58 ± 0.14	0.0274 ± 0.0002	0.0162 ± 0.0003	0.0273 ± 0.0001
24	0.0114 ± 0.0001	0.411 ± 0.003	0.0274 ± 0.0001	16.64 ± 0.05	0.0232 ± 0.0004	0.0172 ± 0.0001	0.0273 ± 0.0001
25	0.0152 ± 0.0002	0.316 ± 0.002	0.0288 ± 0.0001	15.71 ± 0.18	0.0162 ± 0.0002	0.0157 ± 0.0001	0.0392 ± 0.0003
26	0.0142 ± 0.0002	0.417 ± 0.003	0.0294 ± 0.0003	17.44 ± 0.23	0.0191 ± 0.0003	0.0084 ± 0.0000	0.0343 ± 0.0003
27	0.0050 ± 0.0001	0.425 ± 0.003	0.0167 ± 0.0001	12.81 ± 0.09	0.0203 ± 0.0002	0.0182 ± 0.0001	0.0183 ± 0.0002
28	0.0070 ± 0.0003	0.401 ± 0.001	0.0195 ± 0.0001	13.55 ± 0.29	0.0183 ± 0.0001	0.0193 ± 0.0001	0.0275 ± 0.0002
29	0.0089 ± 0.0003	0.473 ± 0.002	0.0224 ± 0.0002	18.62 ± 0.19	0.0113 ± 0.0002	0.0207 ± 0.0001	0.0236 ± 0.0002
30	0.0012 ± 0.0001	0.428 ± 0.004	0.0044 ± 0.0000	11.91 ± 0.05	0.0251 ± 0.0003	0.0174 ± 0.0001	0.0042 ± 0.0000
31	0.0129 ± 0.0003	0.363 ± 0.002	0.0185 ± 0.0002	11.58 ± 0.11	0.0194 ± 0.0003	0.0057 ± 0.0000	0.0273 ± 0.0002
32	0.0100 ± 0.0003	0.492 ± 0.002	0.0266 ± 0.0002	16.57 ± 0.24	0.0322 ± 0.0003	0.0195 ± 0.0001	0.0295 ± 0.0002
33	0.0110 ± 0.0003	0.474 ± 0.003	0.0305 ± 0.0001	18.55 ± 0.17	0.0291 ± 0.0002	0.0166 ± 0.0002	0.0313 ± 0.0001
34	0.0051 ± 0.0002	0.456 ± 0.003	0.0195 ± 0.0003	13.53 ± 0.26	0.0235 ± 0.0000	0.0194 ± 0.0000	0.0254 ± 0.0004
35	0.0098 ± 0.0002	0.423 ± 0.003	0.0176 ± 0.0002	12.78 ± 0.10	0.0273 ± 0.0002	0.0227 ± 0.0003	0.0254 ± 0.0001
36	0.0020 ± 0.0000	0.358 ± 0.004	0.0135 ± 0.0000	11.79 ± 0.06	0.0154 ± 0.0004	0.0201 ± 0.0003	0.0132 ± 0.0003
37	0.0021 ± 0.0001	0.406 ± 0.003	0.0100 ± 0.0000	13.35 ± 0.23	0.0183 ± 0.0002	0.0137 ± 0.0002	0.0125 ± 0.0002
38	0.0101 ± 0.0003	0.346 ± 0.003	0.0203 ± 0.0000	17.40 ± 0.08	0.0193 ± 0.0002	0.0156 ± 0.0002	0.0242 ± 0.0001
39	0.0131 ± 0.0003	0.394 ± 0.004	0.0275 ± 0.0000	16.85 ± 0.10	0.0301 ± 0.0003	0.0173 ± 0.0001	0.0292 ± 0.0001
40	0.0080 ± 0.0003	0.327 ± 0.004	0.0158 ± 0.0001	17.53 ± 0.15	0.0222 ± 0.0002	0.0148 ± 0.0001	0.0145 ± 0.0002
41	0.0260 ± 0.0003	0.746 ± 0.003	0.0294 ± 0.0000	12.85 ± 0.03	0.0324 ± 0.0003	0.0197 ± 0.0002	0.0445 ± 0.0002
42	0.0259 ± 0.0001	0.344 ± 0.002	0.0315 ± 0.0002	16.32 ± 0.18	0.0035 ± 0.0003	0.0135 ± 0.0002	0.0323 ± 0.0004
43	0.0060 ± 0.0001	0.344 ± 0.002	0.0285 ± 0.0001	17.71 ± 0.09	0.0273 ± 0.0002	0.0191 ± 0.0001	0.0343 ± 0.0003
44	0.0081 ± 0.0001	0.402 ± 0.002	0.0328 ± 0.0002	18.44 ± 0.11	0.0251 ± 0.0002	0.0205 ± 0.0002	0.0483 ± 0.0000
45	0.0170 ± 0.0001	0.536 ± 0.002	0.0357 ± 0.0002	15.58 ± 0.09	0.0035 ± 0.0001	0.0159 ± 0.0001	0.0425 ± 0.0003
46	0.0131 ± 0.0003	0.449 ± 0.003	0.0265 ± 0.0002	12.82 ± 0.09	0.0074 ± 0.0000	0.0126 ± 0.0003	0.0362 ± 0.0003
47	0.0244 ± 0.0004	0.512 ± 0.003	0.0315 ± 0.0001	16.46 ± 0.26	0.0166 ± 0.0001	0.0083 ± 0.0000	0.0383 ± 0.0003
48	0.0190 ± 0.0002	0.345 ± 0.002	0.0362 ± 0.0002	16.00 ± 0.07	0.0192 ± 0.0003	0.0144 ± 0.0000	0.0633 ± 0.0004
49	0.0205 ± 0.0002	0.514 ± 0.003	0.0326 ± 0.0001	16.72 ± 0.08	0.0252 ± 0.0003	0.0193 ± 0.0000	0.0536 ± 0.0002
50	0.0200 ± 0.0002	0.501 ± 0.005	0.0358 ± 0.0001	17.61 ± 0.25	0.0284 ± 0.0002	0.0217 ± 0.0002	0.0603 ± 0.0001

2.7.2 相关性分析

以青蒿素、青蒿酸、青蒿乙素、双氢青蒿素、山奈酚、木犀草素和槲皮素 7 种活性成分的含量测定结

果为指标,采用 SPSS 统计软件对 50 批青蒿药材进行相关分析。相关分析结果见表 14。

表 13 青蒿药材相关分析结果

Table 13 Results of correlation analysis on *Artemisininannua* samples

成分 Ingredients	相关性 Relevance						
	ID	槲皮素 Quercetin	青蒿酸 Artemisinic acid	山奈酚 Kaempferol	青蒿素 <i>Artemisia annua</i>	双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	青蒿乙素 Annua HB
槲皮素 Quercetin	1						
青蒿酸 Artemisinic acid	0.543 **	1					
山奈酚 Kaempferol	0.751 **	0.523 **	1				
青蒿素 <i>Artemisia annua</i>	0.394 **	0.214	0.630 **	1			
双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	-0.116	0.066	0.081	0.133	1		
青蒿乙素 Annua HB	-0.095	0.290 *	0.119	0.218	0.279 *	1	
木犀草素 Luteolin	0.766 **	0.488 **	0.919 **	0.465 **	0.056	0.145	1

注: ** 在 0.01 水平(双侧)上显著相关, * 在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

Note: ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$.

7 种成分的相关系数矩阵表明:青蒿素的含量与山奈酚、木犀草素、槲皮素呈极显著的正相关($P < 0.01$),即在青蒿药材中,山奈酚、木犀草素、槲皮素的含量随着青蒿素的含量增减而同时增减;青蒿素的含量与青蒿酸、双氢青蒿素、青蒿乙素呈不显著正相关,即在青蒿药材中,青蒿酸、双氢青蒿素、青蒿乙素的含量随着青蒿素的含量增减而同时增减;双氢青蒿素、青蒿乙素的含量呈显著正相关($P < 0.05$);山奈酚、木犀草素、槲皮素的含量呈极显著的正相关($P < 0.01$);青蒿酸的含量与山奈酚、木犀草素、槲皮素的含量呈极显著的正相关($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 提取方法选择

各个因素对青蒿素和青蒿酸的含量测定,有显著影响;各个因素对双氢青蒿素的含量测定,没有显著影响;提取溶剂筛选考察了无水乙醇、乙醚、石油醚(60~90 °C)和丙酮^[10~12],经过筛选石油醚(60~90 °C)和丙酮的混合溶液效果最佳;提取方式考察了回流、索氏和超声提取^[12~14],超声时提取率高、时间短,并可以同时大批量处理样品,最后选择对超声提取条件进行优化;提取次数考察中,样品超声后溶液滤纸过滤与样品滤纸包裹后超声,进行比较,没有显著区别($P = 0.42$),且后者减少转移次数便于操作;提取次数考察中,山奈酚的含量随着次数增加而

减少,原因需要进一步考察。

3.2 色谱条件选择

流动相分别比较乙腈-水,甲醇-水,乙腈-0.1% 甲酸,乙腈-0.1% 乙酸对目标成分的分离效果,各成分都能很好的分开,但以乙腈-0.1% 乙酸为流动相时,柱压低,洗脱能力强,且易配制。离子模式选择,青蒿酸、槲皮素和山奈酚具有羟基更易失去氢质子,在正离子模式下色谱峰,明显不如负离子模式下响应大,分别采用正离子模式检测青蒿素、双氢青蒿素、青蒿乙素和木犀草素,负离子模式检测青蒿酸、槲皮素和山奈酚。

3.3 UPLC-MS 是同时检测多种成分的有效手段

青蒿药材的治疗作用,是青蒿素、青蒿酸和槲皮素等协同的结果^[4,5],青蒿酸和青蒿乙素又是青蒿素形成中重要的中间体^[15]。青蒿栽培技术的优化和青蒿药材的质量研究,需要考虑上述各成分在生长周期各个阶段的变化情况。

随着药材质量研究的深入,一味药材的质量品质是有多个因素构成,有效成分是最重要的一个指标。现阶段一味药材中发现多种有效成分,传统的方式已不能满足快速、准确的测定,本文采用 UPLC-MS 法,与柱前衍生-HPLC、HPLC-UV、HPLC-ELSD 和 HPLC-UV-ELSD 法比较,可以在更短时间内,测定更多成分,灵敏度更高,使用更少有机试剂,提高效率,节约时间和成本。本实验方法的特点在于于

品的处理简单,适用于快速、准确地处理大批量的样品,分析过程中受干扰因素较少,减少多步操作从而降低分析过程中人为因素带来的误差。本文分析测定重庆市不同产地青蒿样品,可见本法适用于青蒿药材质量评定,对青蒿优质品种选育、种植技术开发和资源利用具有重要意义。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015:198.
- 2 Liu JM(刘峻明), Wei SQ(魏淑秋). Discussion on analyzing and evaluation methods for lands suitable for *Artemisia annua* L. growth [J]. *Chin J Agri Res Reg Plan*(中国农业资源与区划), 2006, 27(4):14-17.
- 3 Zhang X(张雪), Li LY(李隆云), Yang X(杨宪), et al. Content of medicinal components in *Artemisia annua* from different habitats [J]. *China Pharmacy*(中国药房), 2009, 20:1188-1191.
- 4 Ji XG(纪晓光), Sun YJ(孙雅洁), Wang JY(王京燕), et al. Studies on the antimalarial activities of different ingredients of *Artemisia annua* and the combinations with QHS on plasmodium berghei [J]. *Acta Parasitol Med Entomol Sin*(寄生虫与医学昆虫学报), 2008, 15:198-201.
- 5 Chen WQ(陈卫强), Qi HW(戚好文), Wu CG(吴昌归), et al. Effect of dihydroartemisinin on proliferation of human lung adenocarcinoma cell line A549 [J]. *Chin J Lung Cancer*(中国肺病杂志), 2005, 8(2):85-88.
- 6 Liu LF(刘丽芳), Wang Q(王茜), Li HY(李海燕), et al. Application of precolumn reaction to RP-HPLC of Qinghaosu in *Artemisia annua* [J]. *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源), 2004, 23(6):60-62.
- 7 Ding XL(丁小莉), Wu Q(吴强), Chen XB(陈小波), et al. Content determination of artemisinin in *Artemisia annua* by HPLC vs UV method [J]. *China Pharmacy*(中国药房), 2011, 22:246-248.
- 8 Hu XR(胡向荣), She FH(余风华). Determination of artemisinin in *Artemisia apiacea* Hance from different regions by HPLC evaporative light scattering detection method [J]. *J Mod Food Pharma*(现代食品与药品杂志), 2006, 16(3):34-36.
- 9 Zhang D(张东), Yang L(杨岚), Yang LX(杨立新), et al. Determination of artemisinin, arteannuin B and artemisinic acid in Herba *Artemisiae annuae* by HPLC-UV-ELSD [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*(药学学报), 2007, 42:978-981.
- 10 Xie Y(谢莹), Hou H(侯华). Extraction and isolation of artemannuin from Herba *Artemisiae annuae* and preparation of artemisinin [J]. *Chin Pharm*(中国药业), 2008, 17(11):18.
- 11 Li ZY(李自勇), Qin HM(秦海敏), You QL(喻宗沅), et al. Extraction of artemisinin by industrial alcohol infusion method [J]. *Adv in Fine Petrochem*(精细石油化工进展), 2008, 9(1):35-37.
- 12 Wei GF(韦国锋), Qin TY(覃特营), Mo SZ(莫少泽). Study experiment condition of extracting arteannuin from *Artemisia annua* [J]. *J Youjiang Med Coll For Nation*(右江民族医学院学报), 1995, 17(2):36-39.
- 13 Wei GF(韦国锋), Liang F(梁峰), Qin TY(覃特营). Study on different extraction process of *Artemisia annua* [J]. *J Youjiang Med Coll For Nation*(右江民族医学院学报), 2002, 15:170-171.
- 14 Zhao B(赵兵), Wang YC(王玉春), Wu J(吴江), et al. Extraction of artemisinin enhanced with ultrasonic wave [J]. *Eng Chem & Metal*(化工冶金), 2000, 21:310-313.
- 15 Liu CM(刘春朝), Wang YC(王玉春), Oyang F(欧阳藩), et al. Advance in artemisinin biosynthesis research [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2000, 12(1):83-86.