

黄花蒿植株不同组织中挥发油及青蒿素的含量比较

吴蜀瑶¹, 李敏^{2*}, 王佳黎³

(1. 江西中医药大学 姚荷生研究室, 南昌 330004;

2. 成都中医药大学, 成都 611137; 3. 四川大学, 成都 610065)

[摘要] **目的:**比较黄花蒿不同组织中挥发油及青蒿素的含量差异,为该药材资源的充分利用提供实验依据。**方法:**采用2010年版《中国药典》挥发油测定法甲法提取挥发油。利用HPLC测定黄花蒿叶、花、根、子及茎中青蒿素的含量,流动相磷酸盐缓冲液-甲醇(40:60),检测波长260 nm,流速0.8 mL·min⁻¹。**结果:**黄花蒿植株各组织挥发油含量排序为花>叶>子>根>茎,青蒿素含量排序为花>子>叶>根>茎。青蒿素在1.025×10⁻³~1.025 μg与峰面积呈良好线性关系($r=1.0$),平均回收率100.34%,RSD 2.3%。**结论:**挥发油和青蒿素在黄花蒿不同组织中分布差异较大,两者均以花中含量为最高。青蒿素HPLC测定方法的准确度和稳定性较好,方法可靠,适用于黄花蒿的质量控制。

[关键词] 黄花蒿;挥发油;青蒿素;柱前衍生化法

[中图分类号] R283.6;R284.2;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0042-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010042

Contents Comparison of Volatile Oil and Artemisinin in Different Tissues of *Artemisia annua* WU Shu-yao¹, LI Min^{2*}, WANG Jia-li³ (1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China; 2. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 3. Sichuan University, Chengdu 610065, China)

[Abstract] **Objective:** To compare contents of volatile oil and artemisinin in different plant tissues of *Artemisia annua*, in order to provide experimental basis for full utilization of this herbs resources. **Method:** Volatile oil was extracted according to 2010 edition of 'Chinese Pharmacopoeia'. The content of artemisinin in leaves, flowers, roots, stems and fruits of *A. annua* was determined by HPLC, mobile phase was methanol-phosphate buffer solution (60:40), flow rate was 0.8 mL·min⁻¹ and detection wavelength set at 260 nm. **Result:** The content of volatile oil in various tissues of *A. annua* was in the order of flowers > leaves > fruits > roots > stems, but the content of artemisinin was flowers > fruits > leaves > roots > stems. Artemisinin showed a good linear relationship in 1.025×10⁻³-1.025 μg with r of 1.0, average recovery was 100.34% with RSD of 2.3%. **Conclusion:** Distributions of volatile oil and artemisinin in different tissues of *A. annua* have large differences, but they both have the highest content in flowers. This established determination of artemisinin is accurate, stable and reliable, which can be used for quality control of *A. annua*.

[Key words] *Artemisia annua*; volatile oil; artemisinin; pre-column derivatization

青蒿为菊科植物黄花蒿的干燥地上部分,性寒,味苦、辛,主治阴虚发热、暑热外感、疟疾、湿热黄疸^[1-2]。《中华本草》除青蒿外,还收录了青蒿子与青蒿根^[3],二者来源与青蒿相同,但药用部位不同。文献报道青蒿子可治疗创伤和脓肿^[4]。但关于青蒿根及青蒿子化学成分、药理作用等方面的系统研

究却未见报道。

青蒿素是从黄花蒿中提取的抗疟活性成分,关于该成分提取分离、药理作用等方面的研究层出不穷,而关于其在黄花蒿中分布规律的研究却少有报道,且主要集中在植株不同部位的叶片上,认为黄花蒿叶片中青蒿素含量从上至下逐渐减少,却忽视了

[收稿日期] 20140425(003)

[第一作者] 吴蜀瑶,硕士,讲师,从事中药材品种质量评价研究,Tel:0791-87119776,E-mail:jsq_lqp@163.com

[通讯作者] *李敏,教授,博士生导师,从事中药材品种质量评价和中药材GAP研究,Tel:13980038316,E-mail:028limin@163.com

黄花蒿花、子等组织的研究^[5-6]。除青蒿素外,黄花蒿挥发油因有多种生物活性而引起学者的重视^[7],其具有抗菌、解热、止咳、平喘等药理作用,可治疗上呼吸道感染、神经性皮炎及皮肤真菌病等疾病^[8-9]。本实验拟通过比较黄花蒿叶、花、茎、子、根中青蒿素和挥发油的含量,定量分析这两类成分在各组织的分布情况,为更好地利用和发掘该药材资源提供实验依据,同时为黄花蒿子和根的药用价值开发提供参考。

1 材料

prostar210 型高效液相色谱仪(美国瓦里安有限公司),UV1100 型紫外-可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司),BP121S 型电子天平(德国赛多利斯公司)。药材采自四川省资阳市安岳县及成都市温江区,经成都中医药大学中药鉴定教研室李敏教授鉴定为菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* 的干燥全株;青蒿素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100202-200402),甲醇为色谱纯,水为纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

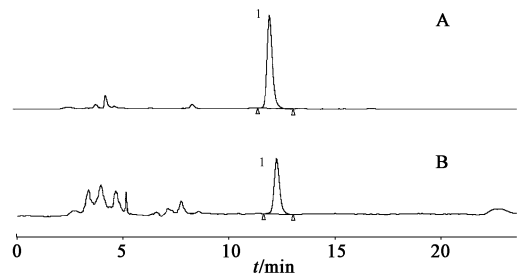
2.1 挥发油含量的测定 将黄花蒿子、根、叶、花、茎分别粉碎过二号筛,精密称取 50 °C 恒温干燥后的黄花蒿子、根、叶、花、茎样品各约 100 g,按 2010 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法中甲法进行试验,计算挥发油含量,结果见表 1。

表 1 黄花蒿植株不同组织中有效成分的含量测定
Table 1 Determination of active ingredients in different tissues of *Artemisia annua* (n = 2)

产地	组织	青蒿素/mg·g ⁻¹	挥发油/%
四川省资阳市安岳县	子	2.823	0.41
	根	0.064	0.31
	叶	1.155	0.73
	花	4.976	2.13
	茎	0.040	0.15
四川省资阳市安岳县	子	3.174	0.40
	根	0.061	0.22
	叶	1.034	0.65
	花	4.342	2.01
	茎	0.020	0.11
四川省成都市温江区	子	3.019	0.49
	根	0.101	0.40
	叶	2.309	0.92
	花	5.818	2.33
	茎	0.054	0.19

2.2 青蒿素的含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 Welch Materials XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相磷酸盐缓冲液-甲醇(40:60),检测波长 260 nm,流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 10 μL。在该条件下,青蒿素色谱峰与相邻色谱峰达到基线分离,分离度 > 1.5,理论塔板数按青蒿素峰计 > 5 000,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 青蒿素

图 1 黄花蒿 HPLC

Fig. 1 HPLC of *Artemisia annua*

2.2.2 对照品溶液的制备 采取柱前衍生生化法测定,通过单因素试验考察了衍生化反应的温度、NaOH 质量分数及反应时间,确定了对照品溶液的制备方法。精密称取青蒿素对照品 25.62 mg 置于 25 mL 量瓶中,用 95% 乙醇溶解并稀释至刻度;精密量取 10 mL 至 100 mL 量瓶中,加入 0.2% NaOH 溶液 40 mL,于 25 °C 恒温水浴中反应 60 min,取出,冷却至室温,加 0.4% 乙酸溶液稀释至刻度,摇匀,得 102.48 mg·L⁻¹ 对照品溶液。

2.2.3 线性范围考察 精密吸取对照品溶液 0.01, 0.5, 1, 2, 5, 10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得系列对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,记录色谱图,以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 1.957 \times 10^7 X + 2.750 \times 10^4$ ($r = 1.0$),结果表明青蒿素在 $1.025 \times 10^{-3} \sim 1.025 \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.4 供试品溶液的制备 在预试验基础上,精密称取药材粉末(过五号筛)约 5.0 g,加入石油醚(60~90 °C)60 mL,回流提取 2 h,提取液浓缩成浸膏,加 95% 乙醇溶解,过滤并转移至 50 mL 量瓶中,加 95% 乙醇稀释至刻度。精密量取该溶液 5 mL 至 50 mL 量瓶中,按 2.2.2 项下方法自“加入 0.2% NaOH 溶液 20 mL”至“摇匀”操作,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 精密度试验 精密吸取 102.48 mg·L⁻¹ 青

蒿素对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算青蒿素峰面积的 RSD 1.3%,表明仪器精密密度良好。

2.2.6 重复性试验 取同一批样品,平行 6 份,按 2.2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算青蒿素平均质量分数 $1.619 2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.5%,表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温密闭保存,分别于 0,1,2,4,8,10 h 按 2.2.1 项下色谱条件进样,计算青蒿素峰面积的 RSD 1.3%,表明供试品溶液在室温下密闭保存 10 h 稳定性良好。

2.2.8 回收率试验 精密称取已知含量的黄花蒿全株样品粉末(过五号筛)9 份,每份约 1.0 g,分别精密加入 $102.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 青蒿素对照品溶液 13,13,13,16,16,16,19,19,19 mL,挥干溶剂,按 2.2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算青蒿素的回收率 95% ~ 105%,平均回收率 100.34%,RSD 2.3%,说明该检测方法准确可行。

2.2.9 样品测定 精密吸取青蒿素对照品溶液和黄花蒿植株不同组织(子、根、叶、花、茎)供试品溶液各 10 μL ,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算青蒿素含量,结果见表 1。

3 讨论

由于青蒿素分子结构内无共轭基团,仅在紫外区 203 nm 处有较弱的末端吸收。与碱反应后,分子内过氧桥结构被破坏,重排形成共轭结构,产物在 260 nm 处有最大吸收,故本文采取柱前衍生化法测定青蒿素含量。本文建立了青蒿素的 HPLC 含量测定方法,结果显示该方法准确度、灵敏度及稳定性均较好,测定方法可靠,可用于黄花蒿的质量控制,测定结果能客观反映黄花蒿各组织中青蒿素的含量。

由表 1 可知,黄花蒿植株各组织挥发油含量排序为花 > 叶 > 子 > 根 > 茎,青蒿素含量排序为花 > 子 > 叶 > 根 > 茎,均以黄花蒿花中含量为最高,且与其他组织中挥发油和青蒿素含量差异显著,印证了

黄花蒿的最佳采收季节应为开花时期。

近年研究发现黄花蒿挥发油能用于治疗神经性皮炎、真菌等疾病,能诱导人肝癌细胞发生凋亡,并具有明显的抑菌活性和抗氧化能力;青蒿素可抗寄生虫,包括疟原虫、血吸虫,而且还具有显著的抗炎、调节免疫和抗肿瘤等药理作用^[10]。本文通过比较四川产黄花蒿植株不同组织中挥发油和青蒿素的含量,可为全面了解这两类成分在黄花蒿植株中分布情况提供实验数据,同时也完善了药材青蒿子和青蒿根的化学成分研究内容,为黄花蒿药用资源的有效开发和利用提供参考。

[参考文献]

- [1] 肖培根. 新编中药志. 第3卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 154.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(精选本)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 1851-1853.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第21卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 665.
- [4] 徐伟英, 徐德生. 青蒿子外敷治疗创伤和脓肿[J]. 中国民间疗法, 2000, 8(12): 15.
- [5] 陈金娥, 赵晓梅, 张海容. 青蒿不同组织采集时期和干燥方式对青蒿素含量影响研究[J]. 生物学通报, 2012, 47(9): 50-51.
- [6] 钟凤林, 陈和荣, 陈敏. 青蒿最佳采收时期、采收部位和干燥方式的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(7): 405-406.
- [7] 李燕, 胡浩斌, 郑旭东, 等. 青蒿挥发油研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3960-3961.
- [8] 林伯香, 郑仪信. 青蒿油丸[J]. 医院药学杂志, 1982(5): 35.
- [9] 冯文宇. 青蒿油治疗神经性皮炎[J]. 四川中医, 1985(3): 51.
- [10] 郭燕, 王俊, 陈正堂. 青蒿素类药物的药理作用新进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(6): 615-619.

[责任编辑 刘德文]