

## 艾叶 UPLC 指纹图谱

王远敏, 吴红梅\*, 杨焯, 王祥培, 张文龙  
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

**[摘要]** 目的:建立艾叶的 UPLC 指纹图谱鉴别方法,为其质量控制提供参考。方法:采用 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm),流动相乙腈-0.10% 乙酸水梯度洗脱,流速 0.20 mL·min<sup>-1</sup>,290 nm 波长下测定艾叶及其混淆品指纹图谱,并作相似度比较分析。结果:建立了艾叶 UPLC 指纹图谱共有模式,有 36 个共有指纹峰被标定且相似度较高,而艾叶与非药用部位及混淆品的指纹图谱相似度均 < 0.700,共有峰的个数低于 36 个,具有明显的差异。结论:HPLC 艾叶鉴别方法简便,快速,重复性好,特征性强。艾叶与非药用部位及混淆品的指纹图谱差异提示药材间的化学成分存在差异,相互不能混用。

**[关键词]** 艾叶; 超高压液相色谱; 指纹图谱; 混淆品

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0050-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130050

**UPLC Fingerprints of Artemisae Argyi Folium** WANG Yuan-min, WU Hong-mei\*, YANG Ye, WANG Xiang-pei, ZHANG Wen-long (Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an UPLC method for fingerprints of Artemisae Argyi Folium, and provide reference for quality control of it. **Method:** The RP-UPLC method was achieved on a ultimate-C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) column with mobile phase consisting of acetonitrile-0.10% acetic acid water with gradient elution. Flow rate was set at 0.20 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 290 nm. Then established the fingerprints based on samples from different sources, and the similarity was analyzed. **Result:** The UPLC fingerprint was established with 36 common peaks. However similarity of the UPLC fingerprints of Artemisae Argyi Folium and non-medicinal parts and adulterants were lower than 0.700 and the common peaks less than 36. **Conclusion:** A simple, reproducible, and characteristic UPLC fingerprint was developed, which can be used to identify of Artemisae Argyi Folium. The difference of fingerprint indicated that of chemical compositions of Artemisae Argyi Folium, non medicinal parts and adulterants were varied, it should not be mixed.

**[Key words]** Artemisae Argyi Folium; UPLC; fingerprint; confusion

艾叶具有温经止血、散寒止痛、祛湿止痒的功效,用于治疗吐血、衄血、崩漏经多、经寒不调、宫冷不孕、外治皮肤瘙痒等<sup>[1]</sup>。近年来,有将野艾蒿和北艾植物的叶作艾叶药材用<sup>[2-3]</sup>。北艾、野艾蒿与艾属同科同属同组植物,亲缘关系相近,药材性状相似,易混淆。已有从药材性状、显微、紫外及红外光谱等角度对艾叶进行了鉴别研究报道<sup>[4-6]</sup>。近年

来,液相指纹图谱技术已广泛应用于中药材鉴别研究,取得较好的药材鉴别效果。已有报道艾叶饮片 HPLC 指纹图谱<sup>[7]</sup>,信息量不大,分析时间过长,未能较为全面的表征艾叶药材成分,且未涉及艾叶及其亲缘关系相近混淆品的鉴别研究。本实验采用 UPLC 指纹图谱技术对 21 批艾叶及其混淆品进行鉴别,以期艾叶药材及其混淆品的鉴别提供参考

**[收稿日期]** 20140929(016)

**[基金项目]** 贵州省优秀科技教育人才省长专项(黔省专合字[2011]60号);贵州省教育厅创新团队建设(黔教合人才团队[2013]12号)

**[第一作者]** 王远敏,硕士,从事中药、民族药的品种鉴定与质量控制研究, Tel:18798084502, E-mail:wym01234@sina.com

**[通讯作者]** \*吴红梅,副教授,博士,从事中药及民族药新制剂及质量控制研究, E-mail:381176659@qq.com

依据。

## 1 材料

艾叶药材样品共 16 份,经贵阳中医学院王祥培教授鉴定为菊科植物艾 *Artemisia argyi* 的干燥叶(S1~S16);艾叶混淆品为菊科植物野艾蒿 *A. lavandulaefolia*(B,C)和北艾 *A. vulgaris* 的干燥叶(D,E);艾茎 1 份(A),经贵阳中医学院王祥培教授鉴定为菊科植物艾 *A. argyi* 的干燥茎。分别购买自贵州、云南、重庆、河南等地药房及药市。

1290 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦,配有 DAD 检测器),AL204-IC 型 1/1 万分析天平(Mettler Toledo),甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Tedia),其余试剂均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

## 2 方法与结果<sup>[8-9]</sup>

**2.1 色谱条件** ZORBAX RRHD Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm);流动相乙腈(A)-0.10% 乙酸水(B)溶液,梯度洗脱(0~4 min,1%~10% A;4~8 min,10%~15% A;8~12 min,15%~20% A;12~14 min,20%~22% A;14~16 min,22%~30% A;16~18 min,30%~35% A;18~24 min,35%~55% A;24~29 min,55%~100% A;29~33 min,100% A),柱温 35 °C,检测波长 290 nm,流速 0.20 mL·min<sup>-1</sup>,运行时间 33 min,进样量 2 μL。

**2.2 供试品溶液的制备** 取艾叶样品粉末(过 60 目筛)约 1.0 g,精密称定,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,超声提取 2 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,置蒸发皿中于 60 °C 水浴挥干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.3 空白溶液的制备** 精密量取甲醇 50 mL 于 100 mL 具塞锥形瓶中,超声提取 2 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,置蒸发皿中于 60 °C 水浴挥干,残渣用

甲醇溶解并定容至 10 mL,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 空白试验** 精密吸取空白溶液 2 μL,注入高效液相色谱仪,按规定的梯度条件洗脱,结果表明空白不干扰测定。

**2.4.2 精密度试验** 取贵州开阳上坝的艾叶样品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图,结果各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 0.1%~1.9% 和 0.07%~0.9%,表明仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取贵州开阳上坝的艾叶供试品溶液,分别在 0,6,12,18,24,36 h 进样,按 2.1 项下色谱条件测定,记录色谱图,结果各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 0.2%~1.9% 和 0.07%~1.0%,表明在 36 h 内样品溶液稳定。

**2.4.4 重复性试验** 取同一批贵州开阳上坝的艾叶样品 6 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下的色谱条件进样分析,结果显示各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 0.06%~2.1% 和 0.07%~1.2%,表明该方法重复性良好。

**2.5 指纹图谱建立** 取 16 批艾叶药材粉末,精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下的色谱条件对 16 批供试品溶液进行检测,测得所有供试品的 UPLC 色谱图;根据不同供试品测定结果的峰数目、峰值、峰位等相关参数进行比较、分析,制定优化的药材指纹图谱,结果见图 1,2。取 4 批混淆品及 1 批艾茎药材粉末,按 2.2 项下的方法制备供试品溶液,进样,获得 4 批混淆品及 1 批艾茎药材样品的指纹图谱,见图 3。

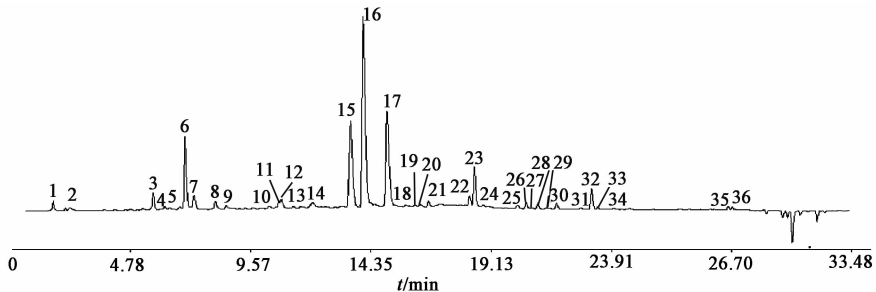


图 1 艾叶 UPLC 指纹图谱共有模式

Fig.1 UPLC fingerprint of *Artemisia Argyi Folium*

## 2.6 指纹图谱分析

**2.6.1 艾叶药材共有指纹峰的确定** 比较不同艾

叶供试品溶液色谱图的相关参数,以保留时间约为 14.557 min 的 17 号峰作为参照峰 S,对各批次艾叶

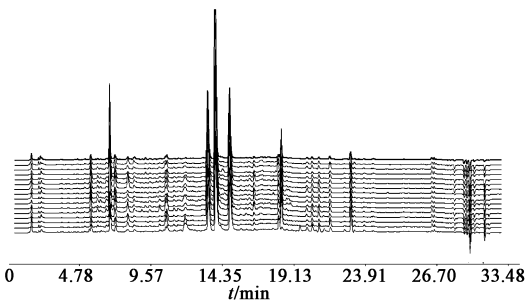
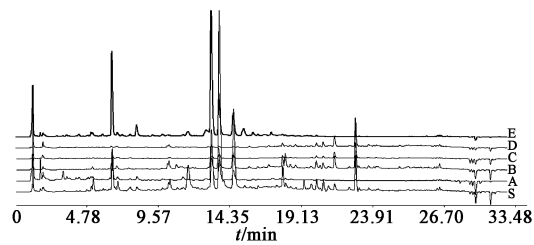


图 2 16 批艾叶 UPLC 指纹谱  
Fig. 2 UPLC fingerprint of 16 batch of Artemisiae Argyi Foliom



S. 艾叶; A. 艾叶茎秆; B, C, D, E. 艾叶混淆品  
图 3 艾叶与混淆品的 UPLC 指纹谱  
Fig. 3 UPLC fingerprint of Artemisiae Argyi Foliom and adulterants

的指纹图谱进行考察,确定了 36 个共有峰。其共有峰的相对保留时间的平均值分别是 0.081, 0.115, 0.356, 0.386, 0.403, 0.444, 0.469, 0.527, 0.558, 0.675, 0.702, 0.711, 0.741, 0.795, 0.901, 0.936, 1, 1.052, 1.077, 1.092, 1.115, 1.222, 1.241, 1.263, 1.356, 1.385, 1.399, 1.415, 1.438, 1.468, 1.532, 1.562, 1.580, 1.622, 1.936, 1.949, 相对峰面积的的平均值分别是 0.393, 0.0493, 0.116, 0.039, 0.022, 0.620, 0.231, 0.137, 0.061, 0.032, 0.105, 0.196, 0.056, 0.092, 1.156, 1.852, 1, 0.034, 0.077, 0.035, 0.046, 0.232, 0.340, 0.090, 0.106, 0.257, 0.066, 0.265, 0.049, 0.549, 0.059, 1.411, 0.030, 0.115, 0.056, 0.078。

**2.6.2 指纹图谱相似度评价** 分别将收集的 16 批艾叶药材样品的色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版,进行匹配,时间窗为 0.20,采用中位数法考察色谱峰相似度的一致性。结果 16 批艾叶样品的相似度分别为 0.965, 0.976, 0.995, 0.980, 0.978, 0.975, 0.983, 0.986, 0.974, 0.971, 0.980, 0.979, 0.984, 0.990, 0.931, 0.982。4 批混淆品及 1 批艾茎样品的相似度分别为 0.379, 0.390, 0.495, 0.967, 0.221。16 批艾叶药材样品的相似度均 > 0.930, 而混淆品及艾茎与艾叶比较 < 0.700。

### 3 讨论

本实验比较了文献[7]的供试品溶液制备方法,通过考察不同浓度的甲醇、乙醇等提取溶剂发现,甲醇提取的样品溶液的出峰信息量较大,基线较为平稳;考察了超声和回流提取 2 种方法,结果超声和回流提取率差异不明显,故选择省时方便的超声提取方法;同时超声提取 2 次,每次提取 1 h 后才能基本提取完全。

试验考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.10% 乙酸水、乙腈-0.10% 乙酸水及甲醇-乙腈(1:1)-0.10% 乙酸水系统,结果发现乙腈-0.10% 乙酸水系统,各峰的分度度较好,基线平稳。通过 Agilent DAD 多通道波长检测,发现 290 nm 检测波长信息量丰富,特征峰较明显。考察 25, 32, 35, 40 °C 时柱温对色谱峰分离度的影响,结果在 35 °C 柱温条件下,分离效果较好。

通过对收集到的艾叶药材及混淆品进行 UPLC 指纹图谱研究发现,各批次艾叶药材指纹图谱相似度均 > 0.930,有 36 个共有峰,而混淆品与艾叶药材的指纹图谱比较,相似度均 < 0.700,其共有峰数明显少于艾叶药材指纹图谱共有峰数目,能很好区别混淆品和艾叶药材,也能鉴别艾叶外的其他部位(艾茎)。本文建立的 UPLC 指纹图谱,较文献报道[7]的 HPLC 指纹图谱具有方法简便、高效,快速、信息丰富、特征性强等特点,可用于艾叶药材的鉴别,为控制和评价艾叶药材的整体质量提供参考。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版,2010:82-83.
- [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:上海科技出版社,1998:1864-1867.
- [3] 陈宗良,张慧芳. 艾叶、野艾及细叶艾的比较鉴别[J]. 中药材,1999,22(5):235-237.
- [4] 咸春城,黄玮. 用 NIRORS 指纹图谱集鉴别三种中药材[J]. 中国医药指南,2013,11(17):432-434.
- [5] 程存归,刘鹏,陈宗良. 艾、野艾及细叶艾的 FTIR 直接鉴别[J]. 中药材,2002,25(5):315-316.
- [6] 林锦明,秦路平,赵卫权,等. 艾叶及其同属植物的差热分析鉴别及燃烧热比较[J]. 第二军医大学学报,2000,21(10):903-906.
- [7] 于凤蕊,孙立立,周倩. 艾叶饮片 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中华中医药学刊,2012,30(11):2432-2434.
- [8] 吴红梅,徐峰,刘李梅,等. 康复新液 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):59-62.
- [9] 刘静,苏建春,甘林建,等. 鸡血藤 UPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(4):87-90.

[责任编辑 顾雪竹]