

· 中药及天然药物专栏 ·

新疆一枝蒿药材高效液相色谱指纹图谱研究 *

贺 飞^{1,2}, 侯桂萍³, 仲 婕¹, 阿布力米提·伊力¹, 阿吉艾克拜尔·艾萨¹

(1. 中国科学院新疆理化技术研究所, 乌鲁木齐 830011; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 新疆西域药业有限公司, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的 研究新疆一枝蒿药材的高效液相色谱指纹图谱, 为科学评价及有效控制其质量提供可靠方法。

方法 色谱柱: Inertsil ODS-3 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.2% 的甲酸水溶液, 梯度洗脱; 流速: 1 mL·min⁻¹; 检测波长: 245 nm; 柱温: 32 °C。结果 该方法可使新疆一枝蒿中各成分得到较好的分离, 并根据检测结果确定了 14 个共有指纹峰。结论 该指纹图谱检测方法简便、重复性好, 可作为新疆一枝蒿药材质量控制的重要方法。

[关键词] 新疆一枝蒿; 一枝蒿酮酸; 指纹图谱; 色谱法, 高效液相

[中图分类号] R282.7; R927 [文献标识码] A [文章编号] 1004-0781(2010)07-0854-04

Fingerprints of *Artemisia rupestris* L. from Xinjiang by HPLC

HE Fei^{1,2}, HOU Gui-ping³, ZHONG Jie¹, ABULIMITI · Yi-li¹, HAJI AKBER · Aisa¹ (1. Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Xinjiangxiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Urumqi 830011, China)

ABSTRACT Objective To study the HPLC fingerprints and establish a sensitive and specific method for controlling the quality of *Artemisia rupestris* L. from Xinjiang. Methods The sample was separated on an Inertsil ODS-3 column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with the mobile phase consisting methanol-0.2% methyl acid by gradient elution; with flow rate at 1.0 mL·min⁻¹, wavelength at 245 nm and the temperature at 32 °C. Results The chemical constituents of *Artemisia rupestris* L. were optimally separated, among which 14 fingerprint peaks in common were confirmed. Conclusion This method is simple, accurate and with good reproducibility, which can be used specifically for the quality control of *Artemisia rupestris* L. from Xinjiang.

KEY WORDS *Artemisia rupestris* L. from Xinjiang; Rupestonic acid; Fingerprint; HPLC

新疆一枝蒿 (*Artemisia rupestris* L.) 为菊科蒿属植物岩蒿的全草, 是维吾尔医用传统药材, 维医习称一枝蒿。一枝蒿主要分布于我国新疆阿尔泰山、天山和昆仑山区, 海拔 1 600~4 500 m 森林草原带。一枝蒿于夏、秋采收, 割取地上部分, 阴干或晒干扎成把, 置阴凉干燥处保管。具有清热解毒、消食健胃、利胆、解蛇毒等功能。用于消化不良、腹胀痛、肝炎、荨麻疹、蛇咬伤、感冒发热等^[1]。一枝蒿主要含有酮酸、黄

[收稿日期] 2009-10-22

[基金项目] * 国家自然科学基金资助项目(基金编号: 20872174); 新疆维吾尔自治区重大科技专项项目(基金编号: 200733146); 新疆维吾尔自治区科技厅少数民族特培项目(基金编号: 200723111)。

[作者简介] 贺 飞(1980-), 男, 安徽池州人, 在读硕士, 主要研究方向: 中药及天然药物的研究与开发。电话: 0991-3836733, E-mail: hefei641@163.com。

[通讯作者] 阿吉艾克拜尔·艾萨, 男, 研究员, 研究方向: 有机化学及药物化学。电话: 0991-3835679, E-mail: haji@ms.xjb.ac.cn。

酮类、倍半萜类、氨基酸、挥发油类等多种化合物^[2]。其中, 酮酸和黄酮类化合物含量最丰富^[3-5]。由于受产地、气候和生态环境等的影响, 各地一枝蒿的化学成分存在差异, 仅针对中药材或其制剂的某个有效成分进行定性、定量分析, 并不能有效有效控制其质量。中药指纹图谱为中药分析提供了有效的分析手段, 能从整体上进行质量控制^[6]。笔者在本研究中采用高效液相色谱法对不同产地一枝蒿药材进行指纹图谱研究, 为全面控制其药材质量提供科学依据。

1 仪器、试药与药材

1.1 仪器 DIONEX P680 型高效液相色谱仪, 包括戴安 SUMMIT 系统, ASI-100 自动进样器, UVD170U 紫外检测器, Chromeleon 色谱工作站, 四元溶剂系统、在线脱气机、柱温箱; SK2200LH 型超声波清洗机。

1.2 试药 甲醇为色谱纯(TEDIA 公司, 美国); 其他试剂均为分析纯; 水为二次重蒸水。一枝蒿酮酸对照品(自制, 经光谱及色谱法检测, 纯度为 98.3%)。

1.3 药材 2008 年 6~8 月共采集新疆 14 个不同产

地一枝蒿药材样品，并由中国科学院新疆生态与地理研究所标本馆克里木副研究员鉴定为菊科蒿属植物岩

蒿 *Artemisia rupestris* L.，取花及枝自然风干后备用。样品采集情况见表 1。

表 1 14 种一枝蒿药材来源

Tab. 1 Sources of 14 samples *Artemisia rupestris* L.

编号	产地	来源	采收时间	编号	产地	来源	采收时间
S1	新疆昌吉(栽培1)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月27日	S8	新疆新湖农场(栽培3)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日
S2	新疆新湖农场(栽培1)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月27日	S9	新疆新湖农场(栽培4)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日
S3	新疆昌吉(栽培2)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日	S10	新疆新湖农场(栽培5)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日
S4	新疆昌吉(栽培3)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日	S11	新疆富蕴(栽培)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年8月20日
S5	新疆昌吉(栽培4)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日	S12	乌鲁木齐南山板房沟	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年7月20日
S6	新疆昌吉(栽培5)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日	S13	新疆富蕴(野生)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年8月20日
S7	新疆新湖农场(栽培2)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年6月16日	S14	新疆木垒(野生)	<i>Artemisia rupestris</i> L.	2008年7月20日

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Inertsil ODS-3 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱, 预保护柱为 Phenomenex, Security Guard; 流动相为甲醇(A)-0.2% 甲酸水(B) (V/V)。梯度洗脱程序: 0~40 min, A 30%~70%; 40~67 min, A 70%~90%。流速: 1 mL·min⁻¹; 检测波长: 245 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 32 °C。

2.2 供试品溶液的制备 取新疆一枝蒿药材, 50 °C 干燥 4 h, 粉碎, 过筛孔内径 0.250 mm (60 目) 筛。取药材粉末 2.5 g, 精密称定, 加甲醇 40 mL 回流提取 1 h, 过滤, 残渣加少量甲醇洗涤, 合并滤液, 置旋转蒸发仪上挥干溶剂, 加甲醇溶解并定容至 25 mL, 孔径 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液为新疆一枝蒿药材检测供试品溶液。

2.3 对照品溶液的配制 精密称取一枝蒿酮酸对照品适量, 用甲醇溶解定容即得。

2.4 精密度考察 精密吸取 S1 号样品的供试品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 检测指纹图谱, 测得各共有峰相对峰面积的 RSD 均<3%。表明仪器精密度良好。

2.5 重复性考察 取昌吉产药材 6 份, 制备供试品溶液, 分别进样 10 μL, 检测指纹图谱, 测得各共有峰相对峰面积的 RSD 均<3%。表明方法重复性良好。

2.6 稳定性考察 取昌吉产药材供试品溶液, 分别在制备后 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 检测指纹图谱, 测得各共有峰相对峰面积的 RSD 均<3%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 新疆一枝蒿药材的 HPLC 指纹图谱中特征峰的标定 按“2.2”项下条件测定 14 个批号新疆产一枝蒿药材样品, 进样, 记录 67 min 的 HPLC 谱。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件生成新疆一枝蒿药材共有模式的对照指纹图谱, 得到 14 个共有峰, 见图 1。其中 9 号峰一枝蒿酮酸含量高, 峰面积稳定, 分离度较好, 故将其作为参照峰, 以对酮酸色谱峰的保留

时间和色谱峰面积为 1, 计算各产地指纹峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果见表 2, 3。

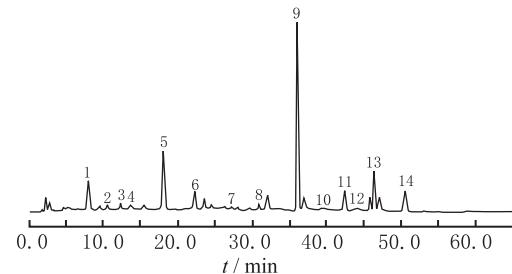


图 1 新疆一枝蒿 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC Fingerprint of *Artemisia rupestris* L.

2.8 14 批新疆一枝蒿药材相似度的比较 将 14 批药材的色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2004 年 A 版相似度软件, 考察色谱峰相似度的一致性, 进行相似度评价。具体数据见表 4。

3 讨论

笔者在实验中比较 245, 254, 280, 360 nm 等检测波长下获得的色谱图。结果表明, 280, 360 nm 处各色谱峰之间分离度好, 但峰数少; 245 nm 检测, 峰数与 254 nm 检测基本一致, 但分离效果较好, 综合考虑, 选 245 nm 处检测。

在实验过程中, 考察不同提取溶剂, 包括石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇、乙醇、水等对样品提取效果的影响, 色谱图表明甲醇对一枝蒿药材的提取效率较优。对加热回流、索式提取、超声提取等提取方法进行了比较, 证明回流提取法能较好地将成分富集, 因此确定回流提取为样品的提取方法。并进一步考察提取时间, 分别对药材回流提取 0.5, 1.0, 1.5 h 进行考察, 结果表明对大多数色谱峰而言, 以 1 h 提取效率最高, 1.0, 1.5 h 提取效率差异无显著性, 因此确定样品的提取时间为 1.0 h。

为将供试品中的化学成分尽可能洗脱和分离, 最大限度地提供鉴别信息, 笔者在本研究中采用反相梯

表 2 不同来源一枝蒿共有峰的相对保留时间

Tab. 2 Relative retention time of common peaking of *Artemisia rupestris* L. samples from different sources

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S1	0.224	0.296	0.342	0.382	0.503	0.618	0.756	0.842	1.000	1.084	1.176	1.271	1.285	1.404
S2	0.223	0.295	0.342	0.381	0.503	0.617	0.755	0.855	1.000	1.083	1.176	1.270	1.285	1.404
S3	0.223	0.296	0.342	0.382	0.503	0.617	0.756	0.855	1.000	1.088	1.177	1.271	1.286	1.405
S4	0.222	0.295	0.341	0.381	0.502	0.617	0.755	0.855	1.000	1.088	1.177	1.272	1.286	1.405
S5	0.221	0.292	0.338	0.377	0.499	0.614	0.754	0.854	1.000	1.089	1.178	1.273	1.288	1.408
S6	0.221	0.292	0.338	0.377	0.514	0.614	0.754	0.854	1.000	1.089	1.179	1.274	1.289	1.408
S7	0.223	0.295	0.342	0.381	0.503	0.617	0.756	0.855	1.000	1.088	1.177	1.271	1.286	1.405
S8	0.221	0.292	0.339	0.379	0.500	0.615	0.754	0.853	1.000	1.089	1.178	1.273	1.288	1.408
S9	0.224	0.296	0.343	0.382	0.505	0.620	0.757	0.849	1.000	1.085	1.172	1.272	1.287	1.406
S10	0.223	0.295	0.341	0.382	0.503	0.618	0.756	0.855	1.000	1.088	1.176	1.271	1.286	1.404
S11	0.220	0.291	0.338	0.379	0.499	0.614	0.778	0.853	1.000	1.088	1.179	1.288	1.288	1.407
S12	0.219	0.290	0.337	0.378	0.499	0.614	0.778	0.854	1.000	1.088	1.178	1.288	1.288	1.407
S13	0.217	0.288	0.334	0.374	0.495	0.611	0.775	0.847	1.000	1.087	1.180	1.290	1.290	1.410
S14	0.219	0.291	0.337	0.377	0.499	0.614	0.777	0.850	1.000	1.089	1.180	1.289	1.289	1.410

表 3 不同来源一枝蒿共有峰的相对峰面积

Tab. 3 Relative peak area of common peaking of *Artemisia rupestris* L. samples from different sources

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S1	0.022	0.030	0.034	0.027	0.232	0.077	0.023	0.001	1.000	0.015	0.144	0.036	0.198	0.110
S2	0.068	0.090	0.104	0.018	0.212	0.105	0.022	0.043	1.000	0.029	0.166	0.041	0.322	0.144
S3	0.018	0.023	0.027	0.025	0.396	0.111	0.017	0.037	1.000	0.012	0.139	0.012	0.151	0.046
S4	0.015	0.020	0.023	0.023	0.266	0.068	0.016	0.030	1.000	0.028	0.141	0.006	0.078	0.052
S5	0.014	0.019	0.022	0.020	0.280	0.087	0.019	0.033	1.000	0.010	0.135	0.006	0.069	0.033
S6	0.013	0.017	0.019	0.016	0.268	0.081	0.020	0.032	1.000	0.010	0.137	0.007	0.047	0.027
S7	0.018	0.024	0.028	0.012	0.196	0.056	0.017	0.033	1.000	0.006	0.166	0.015	0.033	0.037
S8	0.018	0.024	0.027	0.014	0.184	0.065	0.012	0.002	1.000	0.014	0.182	0.008	0.046	0.032
S9	0.015	0.020	0.023	0.008	0.312	0.089	0.009	0.016	1.000	0.005	0.134	0.001	0.083	0.019
S10	0.025	0.033	0.038	0.008	0.237	0.056	0.014	0.040	1.000	0.009	0.142	0.008	0.062	0.040
S11	0.012	0.015	0.018	0.016	0.157	0.046	0.011	0.005	1.000	0.014	0.151	0.011	0.023	0.031
S12	0.020	0.026	0.031	0.023	0.244	0.096	0.011	0.030	1.000	0.007	0.158	0.012	0.024	0.040
S13	0.031	0.041	0.048	0.077	0.269	0.140	0.018	0.066	1.000	0.013	0.256	0.159	0.320	0.016
S14	0.061	0.080	0.093	0.088	0.480	0.117	0.042	0.027	1.000	0.028	0.427	0.431	0.866	0.034

表 4 14 批一枝蒿药材相似度评价结果

Tab. 4 Similarity of 14 batches of *Artemisia rupestris* L.

samples

批号	相似度	批号	相似度
S1	0.977	S8	0.981
S2	0.984	S9	0.990
S3	0.925	S10	0.974
S4	0.970	S11	0.678
S5	0.990	S12	0.978
S6	0.991	S13	0.971
S7	0.991	S14	0.957

度色谱法分离了一枝蒿药材供试品中性质差异较大的各种组分,考察乙腈-磷酸、甲醇-三氟乙酸、甲醇-醋酸、甲醇-甲酸溶液等多种色谱系统,结果表明甲醇-0.2%甲酸溶液系统各色谱峰的分离和峰形较好。

笔者在实验中同时比较 Synergi 4u Fusion-Rp80 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) (Phenomenex , USA)、Inertsil ODS-3 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) (GL Science , Japan) 2 种色谱柱。实验结果表明,这两种色谱柱均使一枝蒿中各成分很好分离,用 Inertsil ODS-3 色谱柱所得色谱图的基线较平稳。

[DOI] 10.3870/yydb.2010.07.007

参考文献

- [1] 易沙克江·马合穆德.中国医学百科全书·维吾尔医学[M].上海:上海科学技术出版社,2005:287.
- [2] 肖威,斯拉甫.新疆一枝蒿研究进展[J].中国民族医药杂志,2008,7(7):61-66.
- [3] MA Y M, HAJI AKBER · AISHA, LIAO L X, et al. Preparative isolation and purification of rupestonic acid from the

- Chinese medicinal plant *Artemisia rupestris* L. by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatography A*, 2005, 1076 (1-2): 198-201.
- [4] 马雁鸣, 赵芸, 吴韬, 等. 高效液相制备色谱制备一枝蒿酮酸对照品[J]. 中草药, 2005, 36(7): 1002-1004.
- [5] HAJI AKBER · AISA, YONG J P. (5R,8R)-2-(3,8-Dimethyl-2-oxo-1,2,4,5,6,7,8,8a-octahydroazulen-5-yl) acrylic acid (rupestonic acid) [J]. *Acta Cryst*, 2008, 64:479.
- [6] 洪筱坤, 王智华. 中药数字化色谱指纹图谱[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 18.

中草药提取物复配化妆品乳液延缓皮肤衰老实验研究 *

高瑞英^{1,2}, 张秀宇^{1,2}, 慕丹¹, 傅中¹

(1. 广东食品药品职业学院化妆品科学系, 广州 510520; 2. 广东省中药研究所, 广州 510520)

[摘要] 目的 研究当归等 5 味中草药提取物复配护肤品乳液的抗皮肤衰老作用。方法 将 60 只 12 个月龄雌性昆明种小鼠随机分成 3 组($n=20$), 自然衰老正常对照组(N 组)、低剂量中草药提取物组(L 组)、高剂量中草药提取物组(H 组); 另将 20 只 3 个月龄小鼠组成年青对照组(Y 组)。L 组用 4% 中草药提取物复配的化妆品乳液外涂, H 组用 16% 中草药提取物复配的化妆品乳液外涂, N 组和 Y 组用不含中草药提取物成分的化妆品基质乳液外涂。连续涂抹 60 d, 取小鼠背部涂抹部位皮肤, 测定皮肤组织匀浆中的羟脯氨酸(HYP)、超氧化物歧化酶(SOD)及过氧化脂质(LPO)代谢产物丙二醛(MDA)、脂褐质(LF)的含量。结果 L 组 SOD 活力较 Y 组明显下降, 而 MDA、LF 的含量明显增加。L 组及 H 组小鼠皮肤匀浆中的 HYP 含量分别达到 (30.85 ± 3.71) 和 (35.46 ± 3.54) mg · g⁻¹, SOD 含量分别达到 (17.92 ± 0.58) 和 (20.38 ± 0.71) U · mL⁻¹, MDA 含量达到 (6.92 ± 1.38) 和 (5.96 ± 1.25) mmol · g⁻¹, LF 含量达到 (6.13 ± 1.73) 和 (4.89 ± 1.15) μg · g⁻¹; 与对照组比较, 均差异有显著性($P < 0.05$)。结论 当归等 5 味中药提取物复配护肤品乳液具有较显著的抗皮肤衰老作用。

[关键词] 中草药提取物; 复配; 抗衰老; 皮肤

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2010)07-0857-04

Anti-aging Effects of Skin Care Emulsion Mixed with Chinese Herbal Extracts

GAO Rui-ying^{1,2}, ZHANG Xiu-yu^{1,2}, MU Dan¹, FU Zhong¹ (1. Department of Cosmetic Science, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China; 2. Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510520, China)

ABSTRACT Objective To study the anti-aging effects of skin care emulsion mixed with five kinds of Chinese herbal extracts (CHE). **Methods** Sixty female mice of 12 months were randomly divided into 3 groups ($n=20$): normal aging control group (N), low dose (L) and high dose (H) of CHE groups. Twenty other female mice of 3 months were used as young control groups (Y group). Skin care emulsion with 4% CHE was besmeared on the skin of mice in L group, that with 16% CHE was besmeared on H group, and cosmetic matrix without CHE was besmeared on N and Y groups for 60 d. The dorsal skin samples were collected to determine the contents of hydroxyproline (HYP), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and lipofuscin (LF). **Results** The SOD activity of natural aging group (N group) decreased more significantly, and the contents of MDA and LF increased obviously than those in the Y group, which showed that the natural aging model was successfully set up. The content of HYP in L and H groups reached to (30.85 ± 3.71) and (35.46 ± 3.54) mg · g⁻¹, SOD were (17.92 ± 0.58) and (20.38 ± 0.71) U · mL⁻¹, MDA were (6.92 ± 1.38) and (5.96 ± 1.25) mmol · g⁻¹, LF were (6.13 ± 1.73) and (4.89 ± 1.15) μg · g⁻¹, respectively, which were significantly different from those of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The skin care emulsion with five CHE including angelicae sinensis has a noticeable anti-skin aging effect.

KEY WORDS Chinese herbal extracts; Mix up; Anti-aging; Skin

皮肤衰老是一种持续渐进性的生理过程, 直接影响皮肤的外观和功能^[1]。研究显示, 传统护肤方剂中常用中草药, 如当归、黄芪、白芷、枸杞、高良姜、佛手、茯苓和人参等均具有维持皮肤的正常组织形态、保养皮肤及抵抗衰老的作用。中药提取物中的有效成分通过透皮吸收, 改善皮肤的微循环状况, 增强皮肤保持旺

盛抗病和修复的能力, 达到延缓皮肤衰老的目的。化妆品附加值高, 将中草药提取物用于抗衰老化妆品的复配, 具有功效持久稳定、作用温和、副作用小的优点, 有很大的开发价值^[2~11]。笔者在本研究拟以自然老化小鼠为研究对象, 以小鼠背部皮肤组织匀浆中羟脯氨酸(HYP)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)