

· 药学基础 ·

## 四制艾叶炮制前后的UPLC指纹图谱及主要成分含量比较

王丽霞<sup>1</sup>, 刘聪<sup>1,2</sup>, 杨晓芸<sup>1</sup>, 陈晓旭<sup>1</sup>, 蒋彤<sup>1</sup>, 唐力英<sup>1\*</sup>, 王祝举<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 山西医科大学 药学院, 太原 030001)

**[摘要]** 目的:建立艾叶及四制艾叶的超高效液相色谱法(UPLC)指纹图谱,并对其所含的8种酚酸及黄酮类成分进行定量分析,探索四制艾叶质量评价方法。方法:采用UPLC, Shim-pack XR-ODS C<sub>18</sub>色谱柱(2.0 mm×75 mm, 2.2 μm), 流动相乙腈(A)-0.2%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~1 min, 10%A; 1~2 min, 10%~15%A; 2~17 min, 15%~18%A; 17~24 min, 18%~28%A; 24~36 min, 28%~38%A; 36~41 min, 38%~60%A; 41~45 min, 60%~100%A), 检测波长330 nm, 流速0.2 mL·min<sup>-1</sup>, 建立艾叶、四制艾叶的UPLC指纹图谱,通过化学计量学方法对艾叶炮制前后指纹图谱进行分析,并对新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、棕矢车菊素、异泽兰黄素和异绿原酸A~C进行含量测定。结果:建立了艾叶及四制艾叶的指纹图谱,艾叶及四制艾叶UPLC指纹图谱一致性较好,相似度均>0.94。与艾叶比较,四制后绿原酸和异绿原酸B的含量无明显变化,棕矢车菊素和异泽兰黄素含量下降;而新绿原酸、隐绿原酸和异绿原酸C含量显著升高( $P<0.01$ ),平均升高率分别达到32.50%, 66.83%和29.39%;异绿原酸A含量显著降低( $P<0.01$ ),平均降低率达51.25%。结论:艾叶与四制艾叶的化学成分含量发生了一定程度改变,其中新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸A和异绿原酸C可作为艾叶四制前后质量评价的关键性指标,可为艾叶和四制艾叶质量的深入研究及质量标准的建立提供科学依据。

**[关键词]** 四制艾叶; 指纹图谱; 中药炮制; 超高效液相色谱法(UPLC); 含量测定; 酚酸类; 黄酮类

**[中图分类号]** R22;R28;R943.1;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)22-0147-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211759 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210607.1605.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-06-07 16:45

### Comparison of UPLC Fingerprint and Determination of Main Components Before and After Processing of Artemisiae Argyi Folium Processed with Four Excipients

WANG Li-xia<sup>1</sup>, LIU Cong<sup>1,2</sup>, YANG Xiao-yun<sup>1</sup>, CHEN Xiao-xu<sup>1</sup>, JIANG Tong<sup>1</sup>,  
TANG Li-ying<sup>1\*</sup>, WANG Zhu-ju<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the ultra-performance liquid chromatography (UPLC) fingerprints of Artemisiae Argyi Folium and Artemisiae Argyi Folium processed with four excipients, and quantitatively analyze the 8 phenolic acids and flavonoids contained in them, in order to explore the quality evaluation method of Artemisiae Argyi Folium processed with four excipients. **Method:** UPLC was used with Shim-pack XR-ODS C<sub>18</sub> column (2.0 mm×75 mm, 2.2 μm), mobile phase of acetonitrile (A) -0.2% formic acid aqueous solution (B) for gradient elution (0-1 min, 10%A; 1-2 min, 10%-15%A; 2-17 min, 15%-18%A; 17-24 min, 18%-28%A; 24-36 min, 28%-38%A; 36-41 min, 38%-60%A; 41-45 min, 60%-100%A), detection wavelength of

**[收稿日期]** 20210508(024)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2018YFC1707106)

**[第一作者]** 王丽霞,在读硕士,从事饮片化学成分及炮制原理研究,E-mail:wanglxia95@163.com

**[通信作者]** \*唐力英,副研究员,从事饮片化学成分及炮制原理研究,E-mail:bjtangliying@163.com;

\*王祝举,研究员,从事饮片化学成分及炮制原理研究,E-mail:wangzhuju@sina.com

330 nm and flow rate of 0.2 mL·min<sup>-1</sup>. The UPLC fingerprints of Artemisiae Argyi Folium before and after processing were established, and analyzed by chemometrics. Contents of 5-caffeoylquinic acid, 3-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3, 4-dicaffeoylquinic acid, 3, 5-dicaffeoylquinic acid, 4, 5-dicaffeoylquinic acid, jaceosidin and epuatilin in the decoction pieces were determined. **Result:** The fingerprints of Artemisiae Argyi Folium before and after processing were established, and the UPLC characteristic chromatograms of Artemisiae Argyi Folium before and after processing had good consistency, and the similarity was >0.94. Compared with Artemisiae Argyi Folium, the contents of 3-caffeoylquinic acid and 3, 4-dicaffeoylquinic acid had no significant change after processing, the contents of jaceosidin and epuatilin decreased after processing, while the contents of 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid and 4, 5-dicaffeoylquinic acid increased significantly ( $P<0.01$ ), their average increasing rates were 32.50%, 66.83%, 29.39%, respectively. And content of 3, 5-dicaffeoylquinic acid was significantly decreased ( $P<0.01$ ), and the average reduction rate was 51.25%. **Conclusion:** The contents of chemical components in Artemisiae Argyi Folium and Artemisiae Argyi Folium processed with four excipients have changed to a certain extent. Among them, 5-caffeoylquinic acid, 3, 5-dicaffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid and 4, 5-dicaffeoylquinic acid can be used as the key indicators for quality evaluation of Artemisiae Argyi Folium before and after processing.

**[Keywords]** Artemisiae Argyi Folium processed with four excipients; fingerprint; Chinese medicine processing; ultra-performance liquid chromatography (UPLC); determination; phenolic acids; flavonoids

艾叶性温,味辛、苦,有小毒,具有温经止血、散寒止痛和祛湿止痒的功效<sup>[1]</sup>,常用于治疗妇科疾病,如吐血、衄血、崩漏、月经过多、胎漏下血、少腹冷痛、经寒不调、宫冷不孕等。艾草的生长范围极为广泛,其中以湖北蕲州艾草的药性最佳,被称为蕲艾<sup>[2]</sup>。研究表明艾叶中主要化学成分有挥发油、有机酸类、黄酮类、萜类等,具有抗菌、抗病毒、平喘镇咳祛痰、止血、抗凝血、抗过敏、镇静、护肝利胆及补体激活等作用<sup>[3-4]</sup>。艾叶生用性燥,适于湿寒之证,除了生用之外,历代还制成不同炮制品用于中医临床。其炮制方法在汉代《中藏经》中最早提出“炒”,到了唐代,又提出了“烧”和“熬”的炮制方法。至宋代,除继承上述炮制方法外,还发展了醋炙、糯米制等方法。艾叶的炮制方法在明清两朝发展最为充分,这个时期创建了多种不同辅料炮制的方法,有制绒、酒制、盐制、米泔制、香附同醋与酒共制、硫磺制等方法<sup>[5]</sup>。到了现代,广东、四川等地区新增了以酒、姜、醋、盐共同炮制的四制艾叶<sup>[6-7]</sup>。四制是岭南炮制极具特色的一种药物炮制方法,由于岭南的气候特点和岭南人的体质,在临床用药上多使用蒸制后的药物以避免伤阴和去除药物燥性。艾叶经四制后可以增强药效、缓和辛燥峻烈之性、降低毒性<sup>[8-9]</sup>。目前四制艾叶多用于成方制剂中,如更年期舒片、健身安胎丸等。

四制艾叶是用4种辅料(酒、姜、醋、盐)对艾叶进行加工炮制的一种地方传统特色饮片。艾叶经

四制后能增强逐寒祛瘀止痛作用<sup>[10]</sup>。目前,艾叶的炮制研究主要集中在醋艾叶、醋艾炭方面,二者炮制前后质量及化学特征已有表征,但尚无四制艾叶化学成分变化相关的定性及定量研究报道。基于此,本研究拟通过超高效液相色谱法(UPLC)构建艾叶四制前后指纹图谱,采用化学计量学方法分析四制前后艾叶指纹图谱的总体变化,对15批不同产地样品中主要的酚酸类及黄酮类指标成分进行含量测定,为揭示四制艾叶炮制前后成分变化规律奠定基础,并为其质量控制提供科学依据。

## 1 材料

LC-30AD型超高效液相色谱仪(日本岛津公司),DFT-50A型手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司),XS205DU型1/10万电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司),BSA124S-CW型1/1万电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司),JY-5002型电子天平(上海衡平仪器仪表厂),DK-S14型电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司)。

新绿原酸(批号CHB190217),绿原酸(批号CHB190121),隐绿原酸(批号CHB180905),异绿原酸A(批号CHB180921),异绿原酸B(批号CHB180923),异绿原酸C(批号CHB180925),棕矢车菊素(批号CHB181103),异泽兰黄素(批号CHB181022)对照品均购自成都克洛玛生物科技有限公司,纯度均≥98%;米醋(江苏恒顺醋业股份有限公司,执行标准GB/T 18187-2000),黄酒(上海金枫

酒业股份有限公司,执行标准 GB/T 13662-2018),净制食用盐(中盐长江盐化有限公司,执行标准为 GB/T 5461-2016),生姜(经中国中医科学院中药研究所王祝举研究员鉴定为姜科植物姜 *Zingiber officinale* 的新鲜根茎)均购于超市,水为娃哈哈纯净水,甲酸、乙腈均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。1批艾叶购于河北安国药材市场(编号 A0),用于方法学考察用;15批艾叶药材[产地为河南(编号 A1~5),湖北(编号 A6~10),山东(编号 A11~15)]由广州采芝林药业有限公司提供,作为样品检测,均经中国中医科学院中药研究所王祝举研究员鉴定为菊科植物艾 *Artemisia argyi* 的干燥叶。

## 2 方法与结果

**2.1 艾叶及四制艾叶饮片的制备** 艾叶饮片的制备参考2020年版《中华人民共和国药典》(一部)“艾叶”项下艾叶饮片的制法。除去杂质及梗,筛去灰屑,即得。15批四制艾叶饮片[产地为河南(编号 B1~5),湖北(编号 B6~10),山东(编号 B11~15)]的制备参考2015年版《四川省中药饮片炮制规范》中四制艾叶的炮制方法。将生姜捣碎并用滤布包裹挤压,即得生姜汁,取净艾叶100g,用黄酒、米醋、生姜汁各10g和净制食用盐2g的混合液体拌匀,待艾叶吸尽混合液后,蒸2h,取出,晒干,即得。

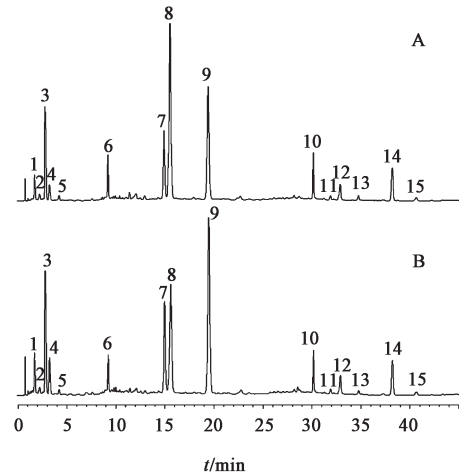
**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取新绿原酸,绿原酸,隐绿原酸,异绿原酸A,异绿原酸B,异绿原酸C,棕矢车菊素和异泽兰黄素对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为0.0488, 0.227, 0.0644, 0.816, 0.330, 0.600, 0.1125, 0.227 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液,即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取不同产地艾叶和四制艾叶粉末(过二号筛,下同)约0.5g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入80%甲醇25mL,称定质量,回流提取30min,放冷,称定质量,用80%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤纸滤过,取续滤液,经0.22 μm微孔滤膜滤过,即得。

## 2.4 指纹图谱

**2.4.1 色谱条件** Shim-pack XR-ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(2.0 mm×75 mm, 2.2 μm),流动相乙腈(A)-0.2%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~1 min, 10%A; 1~2 min, 10%~15%A; 2~17 min, 15%~18%A; 17~24 min, 18%~28%A; 24~36 min, 28%~38%A; 36~41 min, 38%~60%A; 41~45 min, 60%~100%A),检测波长330 nm,流速0.2 mL·min<sup>-1</sup>,进样量2 μL,柱温35 °C。在以上色谱条件下,艾叶及四制艾叶指纹图

谱中共确定了15个共有峰,并以9号色谱峰(异绿原酸C)作为参照峰,经对照品保留时间定位及色谱峰光谱分析,指出8个共有峰,见图1。



A. 艾叶; B. 四制艾叶; 1. 新绿原酸; 2. 绿原酸; 3. 隐绿原酸; 4. 异绿原酸A; 5. 异绿原酸B; 6. 异绿原酸C; 7. 棕矢车菊素; 8. 异泽兰黄素

图1 不同艾叶样品的UPLC指纹谱

Fig. 1 UPLC fingerprint common patterns of different *Artemisiae Argyi Folium* samples

**2.4.2 方法学考察** 取艾叶粉末(编号A0)适量,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.4.1项下色谱条件连续进样6次,以9号峰为参照,测得各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积基本一致,RSD均<3.0%,表明仪器精密度良好。取艾叶(编号A0)的同一供试品溶液,分别于制备后0, 2, 4, 8, 12, 24 h按2.4.1项下色谱条件测定,以9号峰为参照,测得各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积基本一致,RSD均<3.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。取同一艾叶样品(编号A0)6份,精密称定,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.4.1项下色谱条件测定,测得各色谱峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均<3.0%,表明该方法重复性良好。

**2.4.3 UPLC指纹图谱建立及相似度评价** 取15批艾叶和15批四制艾叶样品粉末各0.5g,精密称定,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.4.1项下色谱条件进行检测,得到UPLC指纹图谱,将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)对30批样品的指纹图谱进行处理,将样品A1设为参照图谱,设定时间漂移值0.2 min,用中位数法谱峰自动匹配,生成不同艾叶样品UPLC指纹图谱共有模式,即对照指纹图谱。艾叶及四制艾叶UPLC指纹图谱共标定了15个共有峰。以对照指纹图谱对

30批样品的指纹图谱进行相似度评价,所有批次药材的相似度介于0.947~0.996,见表1。说明艾叶与四制艾叶有较好的一致性,可以用来评价艾叶与四制艾叶的整体质量。艾叶四制前后指纹图谱叠加图见图2。

表1 艾叶与四制艾叶样品的相似度分析

Table1 Similarities of 30 batches of Artemisiae Argyi Folium samples

编号	相似度	编号	相似度
A1	0.960	B1	0.996
A2	0.947	B2	0.996
A3	0.957	B3	0.996
A4	0.968	B4	0.993
A5	0.961	B5	0.989
A6	0.966	B6	0.958
A7	0.971	B7	0.955
A8	0.987	B8	0.959
A9	0.980	B9	0.951
A10	0.972	B10	0.954
A11	0.967	B11	0.968
A12	0.962	B12	0.962
A13	0.975	B13	0.969
A14	0.978	B14	0.949
A15	0.974	B15	0.955

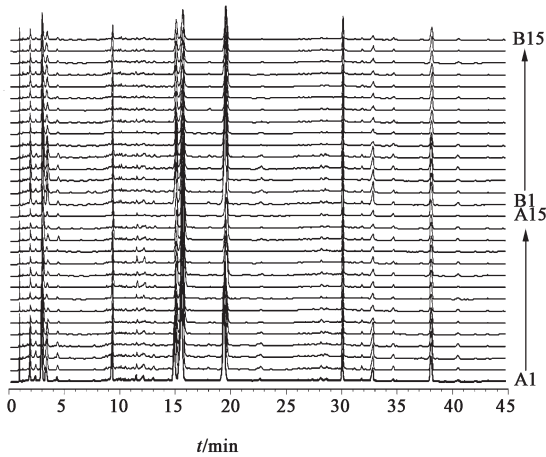


图2 不同艾叶样品的UPLC指纹谱叠加

Fig. 2 UPLC fingerprints of different Artemisiae Argyi Folium samples

图2 不同艾叶样品的UPLC指纹谱叠加

## 2.5 多元统计分析

2.5.1 聚类分析(HCA) 以艾叶和四制艾叶中的15个特征峰的面积作为变量,利用SIMCA-P 13.0对指

纹图谱数据进行HCA,见图3。结果显示,30批样品整体可分成两大类,第一大类包括样品A1~5和B1~5;第二大类包括样品A6~15和B6~15。第一大类可分为A1~5和B1~5两小类;第二大类也可分为A6~15和B6~15两小类。第一大类产地均为河南,第二大类产地为湖北和山东,说明不同产地艾叶样品质量存在的差异是较为明显的。在不同产地差异的基础上,艾叶又各自被区分成两小类,即艾叶和四制艾叶,说明艾叶四制后整体化学成分有一定变化。

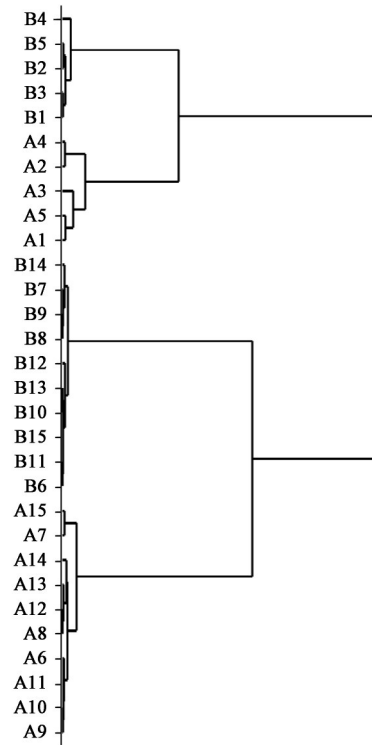


图3 不同艾叶样品的HCA

Fig. 3 HCA of different Artemisiae Argyi Folium samples

2.5.2 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA) 将处理后的峰面积数据导入SIMCA-P 13.0中进行有监督模式的PLS-DA,获得相应的模型,模型参数为 $R^2X$ (在X轴方向模型的解释率)0.95, $R^2Y$ (在Y轴方向模型的解释率)0.955, $Q^2$ (模型预测率)0.939,均 $>0.5$ ,表明该模型稳定可靠,见图4。结果表明艾叶和四制艾叶两大类区分显著,可以更加直观地显示不同样品组间的差异。为了衡量每个特征峰对区分艾叶和四制艾叶的重要性,结合变量重要性投影(VIP)值对15个共有峰峰面积的VIP值大小进行排列,见图5。以VIP值 $>1$ 为标准,筛选四制对艾叶化学成分差异影响贡献较大的化合物,结果一共得到6个共有峰,分别为8号峰(异绿原酸A),4号峰(隐

绿原酸), 9号峰(异绿原酸C), 1号峰(新绿原酸), 11号峰和13号峰。说明这些化学成分对于艾叶和四制艾叶分类具有显著影响, 是引起艾叶四制前后质量差异的主要潜在标志性成分。因此, 可以考虑将这几个成分作为含量测定的指标成分来控制四制艾叶的质量。

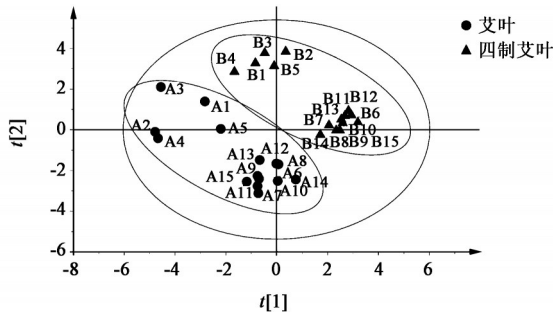
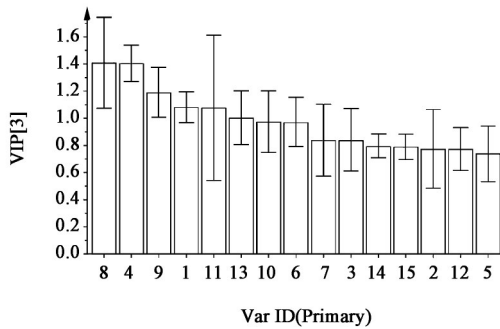


图4 不同艾叶样品的PLS-DA得分散点

Fig. 4 PLS-DA score scatter plots of different Artemisiae Argyi Folium samples



横坐标轴1~15. 指纹图谱(图1)中标记的色谱峰1~15

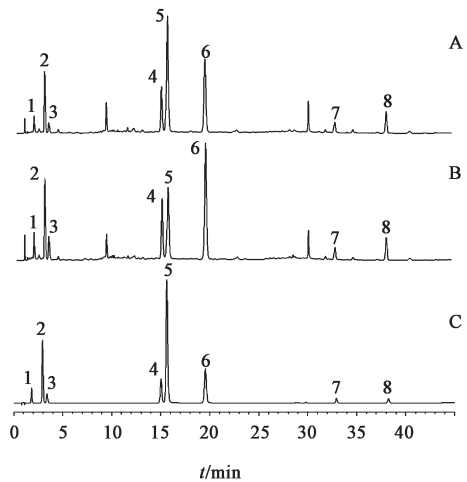
图5 不同艾叶样品PLS-DA的VIP分析

Fig. 5 VIP analysis of different Artemisiae Argyi Folium samples by PLS-DA

结合化学计量法对艾叶四制前后的指纹图谱进行分析, 结果表明不同产地艾叶差异较为明显, 虽然四制前后艾叶在总体化学成分上比较相似, 但仍可以通过统计分析方法区分生品及炮制品, 具有一定区分度。总体而言, 指纹图谱的特点是特征性和整体性较强, 从定性研究的角度出发, 具有一定的模糊性。为了更加系统全面地评价艾叶和四制艾叶的质量, 还需对艾叶四制前后的专属性指标成分含量进行研究。以VIP值>1为标准, 筛选出四制艾叶相较艾叶中色谱峰变化较大且已被指认的4个专属性指标成分(隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸A和异绿原酸C), 此外, 还对艾叶中含量较高的2种有机酸和2种黄酮类成分进行了含量测定。

## 2.6 艾叶炮制前后酚酸及黄酮类成分含量测定

### 2.6.1 色谱条件 同2.4.1项, 见图6。



A. 艾叶; B. 四制艾叶; C. 混合对照品; 1. 新绿原酸; 2. 绿原酸; 3. 隐绿原酸; 4. 异绿原酸B; 5. 异绿原酸A; 6. 异绿原酸C; 7. 棕矢车菊素; 8. 异泽兰黄素

图6 不同艾叶样品中指标成分含量测定的UPLC

Fig. 6 UPLC chromatograms of determination of different Artemisiae Argyi Folium samples

**2.6.2 线性关系考察** 将2.2项下的混合对照品溶液稀释2, 3, 5, 10, 25倍, 按2.4.1项下色谱条件测定, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得各成分的回归方程和线性范围, 见表2。

表2 艾叶样品中指标成分的回归方程、线性范围及相关系数

Table 2 Regression equation, linear range and correlation coefficient of index components in Artemisiae Argyi Folium

化合物	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}$	$r$
新绿原酸	$Y=1.4659 \times 10^7 X + 29\ 643.217$	0.003 9~0.048 8	0.999 8
绿原酸	$Y=1.4420 \times 10^7 X - 30\ 770.188$	0.018 2~0.227 0	0.999 4
隐绿原酸	$Y=1.2531 \times 10^7 X - 14\ 515.900$	0.005 2~0.064 4	0.999 4
异绿原酸B	$Y=1.5468 \times 10^7 X - 205\ 472.234$	0.026 4~0.330 0	0.999 3
异绿原酸A	$Y=1.8492 \times 10^7 X - 296\ 668.265$	0.065 3~0.816 0	0.999 4
异绿原酸C	$Y=1.6398 \times 10^7 X - 194\ 550.673$	0.048 0~0.600 0	0.999 5
棕矢车菊素	$Y=1.8796 \times 10^7 X - 11\ 089.967$	0.009 0~0.112 5	0.999 9
异泽兰黄素	$Y=1.8834 \times 10^7 X - 14\ 985.719$	0.018 2~0.227 0	0.999 9

**2.6.3 精密度试验** 取艾叶(编号A0)粉末适量, 按2.3项下方法制备供试品溶液, 按2.4.1项下色谱条件连续进样6次, 计算新绿原酸, 绿原酸, 隐绿原酸, 异绿原酸B, 异绿原酸A, 异绿原酸C, 棕矢车菊素和异泽兰黄素峰面积的RSD分别为0.9%, 0.3%, 0.5%, 0.3%, 0.3%, 0.3%, 0.3%, 0.3%。

**2.6.4 重复性试验** 取同一批艾叶(编号A0)粉末, 称取6份, 按2.3项下方法制备供试品溶液, 按2.4.1项下条件测定, 计算样品中新绿原酸, 绿原酸, 隐绿原酸, 异绿原酸B, 异绿原酸A, 异绿原酸C, 棕矢车

菊素和异泽兰黄素的平均质量分数分别为1.383 6, 6.554 7, 1.316 7, 3.616 5, 16.253, 5.992 1, 0.548 4, 0.527 2 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 分别为 0.7%, 0.9%, 1.1%, 1.1%, 0.7%, 0.8%, 2.0%, 1.9%。

**2.6.5 稳定性试验** 取同一份艾叶(编号A0)粉末的供试品溶液,分别于制备后0,2,4,8,12,24 h按2.4.1项下色谱条件测定,计算样品中新绿原酸,绿原酸,隐绿原酸,异绿原酸B,异绿原酸A,异绿原酸C,棕矢车菊素和异泽兰黄素峰面积的RSD分别为1.4%,0.5%,0.5%,0.7%,0.5%,0.4%,0.4%,0.5%,表明供试品溶液在24 h内的稳定性良好。

**2.6.6 加样回收率试验** 取艾叶(编号A0)粉末约0.2 g,精密称定,共6份,分别精密加入混合对照品溶液25 mL(新绿原酸,绿原酸,隐绿原酸,异绿原酸B,异绿原酸A,异绿原酸C,棕矢车菊素和异泽兰黄素质量浓度分别为10.1, 51.8, 10.75, 29.7, 125, 46.55, 4.02, 4.24 mg·L<sup>-1</sup>),按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.4.1项下色谱条件测定,计算上述成分的平均加样回收率分别为98.44%, 104.35%, 97.54%, 101.71%, 103.22%, 101.41%, 96.45%, 99.17%, RSD 分别为2.3%, 1.2%, 3.0%, 2.1%, 1.4%, 1.2%, 3.6%, 2.6%,表明建立的含量测定方法准确性良好,具体数据见增强出版附件材料。

**2.6.7 样品测定** 取不同产地的艾叶和四制艾叶粉末适量,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.4.1项下色谱条件测定,计算各成分含量,采用t检验对艾叶四制前后的成分含量进行显著性差异分析。结果显示,艾叶和四制艾叶中的8个主要化学成分含量差异较大。首先,在不同产地的样品中,河南产的5批样品中各成分均高于其他产地样品,湖北和山东产的不同批次样品中各个成分含量范围相似;其次,艾叶四制后,新绿原酸、隐绿原酸和异绿原酸C在炮制后平均质量分数均显著上升( $P < 0.01$ ),新绿原酸四制前后质量分数范围分别为0.29~1.61, 0.47~1.48 mg·g<sup>-1</sup>;隐绿原酸四制前后质量分数范围分别为0.33~1.75, 0.72~1.97 mg·g<sup>-1</sup>;异绿原酸C四制前后质量分数范围分别为2.88~10.86, 3.77~10.57 mg·g<sup>-1</sup>。异绿原酸A在炮制后平均质量分数显著下降( $P < 0.01$ ),炮制前后质量分数范围分别为6.21~13.41, 2.89~7.01 mg·g<sup>-1</sup>;棕矢车菊素和异泽兰黄素在炮制后平均含量均显著下降( $P < 0.01$ ),棕矢车菊素炮制前后质量分数范围分别为0.35~0.95, 0.33~0.85 mg·g<sup>-1</sup>,异泽兰黄素炮制前后质量分数范围分别为0.97~1.87, 0.82~1.79 mg·g<sup>-1</sup>;绿原酸和异绿原酸B含量在炮制前后则无明显变化,具体数据见表3。

表3 艾叶四制前后8种指标成分的含量比较(n=2)

Table 3 Comparison of contents of eight index components in *Artemisiae Argyi Folium* before and after processing (n=2) mg·g<sup>-1</sup>

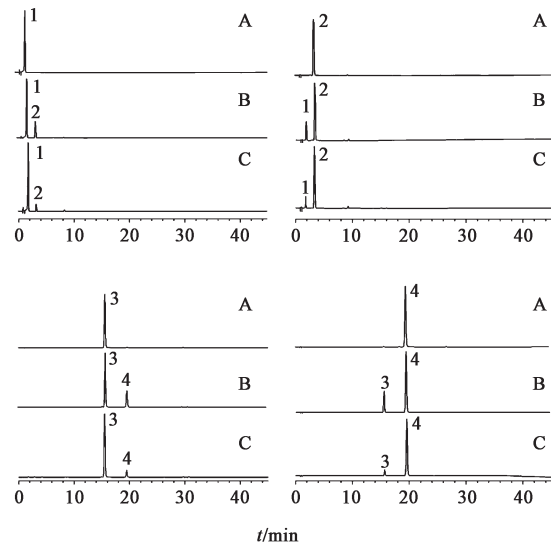
编号	新绿原酸		绿原酸		隐绿原酸		异绿原酸B		异绿原酸A		异绿原酸C		棕矢车菊素		异泽兰黄素	
	生品	四制品	生品	四制品	生品	四制品	生品	四制品	生品	四制品	生品	四制品	生品	四制品	生品	四制品
1	1.30	1.34	5.10	4.57	1.38	1.96	4.51	4.44	10.79	6.58	8.61	10.40	0.87	0.84	1.72	1.53
2	1.24	1.41	5.15	4.75	1.37	1.93	4.56	4.34	11.86	5.69	8.91	9.68	0.94	0.72	1.87	1.39
3	1.61	1.48	5.84	4.77	1.75	1.97	5.80	4.44	13.41	6.47	10.86	10.50	0.93	0.76	1.83	1.50
4	1.28	1.33	4.61	4.37	1.43	1.93	4.27	4.16	11.75	7.01	7.87	10.57	0.95	0.85	1.81	1.79
5	1.07	1.26	4.02	4.33	1.08	1.86	3.43	3.84	10.34	5.69	6.88	8.81	0.84	0.77	1.67	1.42
6	0.33	0.67	1.82	2.08	0.41	0.85	1.72	1.80	6.63	3.06	3.05	4.44	0.44	0.37	1.08	0.90
7	0.30	0.59	1.49	2.06	0.38	0.90	1.77	1.94	6.21	3.35	3.03	4.60	0.50	0.40	1.15	0.95
8	0.42	0.47	2.17	1.95	0.54	0.79	2.04	1.77	7.64	3.70	3.44	4.35	0.45	0.36	1.17	0.85
9	0.50	0.54	2.56	1.88	0.51	0.72	2.16	1.76	8.60	3.23	3.58	4.02	0.47	0.37	1.19	0.92
10	0.43	0.52	2.36	2.09	0.47	0.83	2.04	1.95	8.28	3.33	3.59	4.66	0.52	0.38	1.11	0.95
11	0.37	0.58	1.78	2.17	0.46	0.88	1.91	1.97	6.28	3.35	3.24	4.90	0.52	0.37	1.29	0.97
12	0.45	0.65	2.42	2.22	0.55	1.05	2.19	2.11	8.01	3.47	3.73	5.17	0.47	0.33	1.07	0.82
13	0.60	0.58	2.78	2.16	0.68	0.89	2.40	1.93	8.35	3.45	4.11	4.63	0.48	0.37	1.23	0.89
14	0.29	0.54	1.68	2.22	0.33	0.80	1.68	1.94	6.74	3.82	2.88	4.89	0.35	0.39	0.97	1.03
15	0.43	0.59	2.13	1.85	0.55	0.75	2.07	1.81	7.59	2.89	3.31	3.77	0.50	0.33	1.14	0.86

### 3 讨论

通过对艾叶及四制艾叶的UPLC指纹图谱进行比较和分析,发现在色谱峰数目上两者无明显差异,但部分成分的峰面积有明显变化,其中,8号峰(异绿原酸A),4号峰(隐绿原酸),9号峰(异绿原酸C),1号峰(新绿原酸)对区分艾叶和四制艾叶的贡献最大。同时,根据含量测定结果,发现新绿原酸、隐绿原酸和异绿原酸C在四制后含量显著升高,而异绿原酸A的含量则显著降低,可作为两者的专属性特征标识。总之,艾叶四制后的主要化学成分没有发生质的改变,但部分成分含量的改变比较明显,其中4个成分(新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸A和异绿原酸C)是区分艾叶和四制艾叶指纹图谱的重要指标成分。

艾叶四制前后酚酸类成分绿原酸和异绿原酸B的含量差异无统计学意义,而新绿原酸、隐绿原酸,异绿原酸A和异绿原酸C的含量则均发生了显著变化。四制后新绿原酸、隐绿原酸和异绿原酸C含量的平均升高率分别达到32.50%,66.83%和29.39%(以每批样品含量变化率的平均值计算,下同),而异绿原酸A含量平均降低率达51.25%;黄酮类成分棕矢车菊素和异泽兰黄素含量平均降低率分别为18.02%和17.47%。分析各成分含量变化的原因,可能是部分绿原酸类化合物结构不稳定,炮制过程中高温使其结构发生了转化。为了验证以上推测,将新绿原酸,绿原酸,隐绿原酸,异绿原酸B,异绿原酸A,异绿原酸C,棕矢车菊素和异泽兰黄素8个单体化合物分别按照四制艾叶制备方法加入4种辅料进行模拟炮制,以只加入水蒸制样品为对照,蒸制2h。结果发现新绿原酸和隐绿原酸会发生相互转化,而艾叶四制后两者的含量均升高,这可能是因为在艾叶炮制过程中除了这2种成分相互转化外,还存在其他成分向这2种成分转化;异绿原酸A和异绿原酸C在蒸制过后也会发生相互转化,但艾叶四制后异绿原酸A的含量下降、异绿原酸C的含量升高,这可能是因为在艾叶四制过程中异绿原酸A向异绿原酸C的转化更加容易,见图7,8。同时,这4种相互转化的单体化合物与加水蒸制相对比,加入4种辅料蒸制后转化率明显增大,说明这4种单体在四制条件下更有利于相互转化,这可能与辅料中加入的乙酸有关,但还需要进一步的实验证实。另外,绿原酸和异绿原酸B在模拟四制后未产生新的成分,结构比较稳定,与艾叶四制前后的含测结果变化趋势一致;棕矢车菊素和异泽兰黄素在模拟四制

条件下,也未产生新的成分,结构相对比较稳定,然而艾叶在四制后二者含量均有所下降,说明这2个黄酮类化合物的含量变化不是在四制过程中结构转化而导致的,具体的原因还有待进一步探讨,此外,后续还将探索艾叶四制前后成分含量变化与其药效变化之间的相关性<sup>[11-12]</sup>。



A. 对照品; B. 四制对照品; C. 加水蒸制对照品; 1. 新绿原酸; 2. 隐绿原酸; 3. 异绿原酸A; 4. 异绿原酸C

图7 艾叶中4个单体化合物炮制前后的UPLC

Fig. 7 UPLC of four monomers in *Artemisiae Argyi Folium* before and after processing

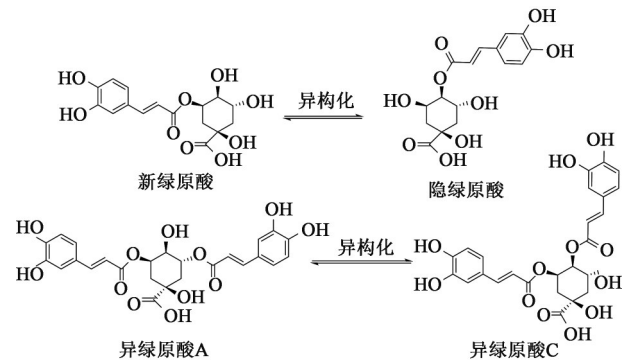


图8 艾叶中4个成分转化的示意

Fig. 8 Schematic diagram of transformation of four components in *Artemisiae Argyi Folium*

本实验在确定供试品溶液的制备方法时,考察了提取方式和提取溶剂对艾叶不同成分含量的影响。结果发现回流提取时8个指标性成分的含量均略高于超声提取法;选择不同体积分数甲醇(30%, 50%, 80%, 100%)提取时,80%甲醇对各成分均具有较好的提取效果,故确定了2.3项下供试品溶液的制备方法。本实验建立的UPLC指纹图谱及8种酚酸、黄酮类成分含量测定方法可为艾叶及四制艾

叶的质量评价提供有益借鉴,初步揭示了艾叶四制前后化学成分含量变化规律,可为艾叶及四制艾叶的质量评价和临床应用提供依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [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,2020:91.
- [2] 袁林祥,吴航宇,邱彩玲. 艾叶的药物活性成分、药理作用及临床应用浅析[J]. 当代医药论丛,2020,18(2):171-173.
- [3] 蒋志惠,常雪梅,张照然,等. 艾草的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国兽药杂志,2019,53(2):76-85.
- [4] 梅全喜. 艾叶的药理作用研究概况[J]. 中草药,1996,27(5):311-314.
- [5] 吴惠时,麻兵继,单小兵. 艾叶炮制历史沿革的研究

[J]. 中药材,1998,21(10):511-512.

- [6] 广东省卫生厅. 广东省中药炮制规范[M]. 广州:广东省卫生厅,1984:217.
- [7] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药饮片炮制规范[M]. 成都:四川科学技术出版社,2015:1.
- [8] 孟江,张英,曹晖,等. 岭南中药炮制特色探析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(6):193-200.
- [9] 孟江,张英,曹晖,等. 中药蒸法的历史沿革分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(10):176-183.
- [10] 姚景南,肖鑫和. 中药的炮制[M]. 广州:广东科技出版社,1984:78.
- [11] 乔晶晶,吴啟南,薛敏,等. 基于化学成分和药理效应比较益母草的传统加工工艺与一体化加工工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(8):101-107.
- [12] 马慕祯. 炮制方法对黄精多糖成分和“补气养阴”功效相关药理作用的影响[D]. 杭州:浙江中医药大学,2019.

[责任编辑 刘德文]

#### · 书讯 ·

## 中医护理对改善危重病患者胃肠功能的影响 ——评《内科护理学》

中医是中华民族传统医学,经过千百年的医学实践,在医学理论和护理操作技术方面均独树一帜,与现代医学护理存在较为明显的区别。近年来,中医护理在临床各科室的运用有了较为明显的进展,中西医结合护理理念也被许多医院广泛接纳。中医护理对一些内科病症的改善效果显著,因此,中医护理技术在内科临床护理中的应用频率较高。

《内科护理学》唐宗琼主编,由科学出版社2014年12月出版,本书供中医、护理、中医护理、助产等专业使用。已经纳入全国中等中医药学校教材,以中医护理学基础理论知识为特点,是每个护士学习护理实操的组成部分。全书分为十个章节,涉及到严格定义下内环境系统疾病的护理知识,内容包括呼吸系统、消化系统、循环系统、内分泌系统、血液系统、神经系统、泌尿系统等。此外,对于免疫系统中较为常见的风湿性疾病及常见传染病(病毒性肝炎、狂犬病、艾滋病等)的护理,也在本书后两节做出了常规介绍和指引。在内容结构设置上,对于每一个系统性疾病都进行了急、慢性患者的护理技术的区分。例如呼吸系统疾病患者的护理中,就将急性呼吸道感染患者的护理单独列举出来,形成章节,而慢性支气管炎、慢性呼吸衰竭、肺炎患者、哮喘患者则是另外一套护理体系与操作。既有常规系统性护理操作,又有对特殊群体和特定人群所采用的特殊护理方法;如第四章第6节急性胰腺炎患者的护理措施指出,急性胰腺炎患者分为轻症和重症,护理过程中,护理方案也各有侧重。重症患者在禁食期要保证绝对的卧床休息,通过禁止饮食来对胃肠道减压,在这个期间,护理工作以常规护理方案为主,侧重观察患者的各项指标。当患者腹痛和呕吐症状消失后,适当恢复饮食时,可适当进行中医护理技术,改善胃肠功能。在这一阶段,常规护理仍然是最为基础,也是最为重要的。近年来,中医护理技术对危重症患者胃肠功能改善效果受到更广泛的关注。危重症患者病情严重,往往存在明显的多器官功能障碍,而胃肠障碍是最为常见的功能障碍之一,通常都是由危重症患者的严重炎症反应累及作用及发展导致。针对危重症患者胃肠功能的常规护理技术,例如床头抬高、腹部按摩、留置胃管等技术操作,其目的都是为了防止患者产生肠胃不适,减轻其疼痛和心理负担。通过临床试验发现运用中医护理技术,例如穴位注射、耳穴埋豆、脐疗(热敷、艾灸、敷料)等方式,却能够起到疏通气血、调理经络的作用,让患者能够安神宁心、行气止痛,甚至能够有效提升食欲,可以形成一定的治疗意义。改善危重症患者胃肠功能的中医护理技术固然重要,常规有效的护理才是重要基石。

中医护理技术与常规护理结合形成中西医结合护理方案,应用于危重症患者临床护理实践中。危重症患者的胃肠功能不好,可能加重病情,危重症患者在恢复饮食后,通常有着比较强烈的康复欲望,在心理上更愿意配合中西医结合护理。根据患者的临床特征,护理人员应当在保证常规护理有效的基础上,按照护理评估预期进行中医护理,并对患者进行胃肠功能的持续性监测和记录,当患者出现明显的胃肠功能恢复状态时,需及时对医生反馈,并合理推进护理方案,调整有效治疗。

《内科护理学》既是一本基础的护理学教材,同时又是一本核心工作的指导用书,为内科护理提供了详细、全面、系统的护理理论和操作技能,是临床应用的中医护理技术,也是进一步推广中医护理临床的重要参考资料。本书内容理论知识详实,并与内科临床实践联系紧密,可供临床工作者反复参考阅读,是一本值得长期深入学习的重要学术书籍。

(作者刘玥,重庆市九龙坡区中医院,重庆 400050)