

# 吴茱萸和制吴茱萸的饮片、水煎液、配方颗粒UPLC特征图谱研究<sup>△</sup>

邓李红\*, 张志鹏, 田清清, 程学仁, 鲁云, 刘燎原<sup>#</sup>(广东一方制药有限公司/广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东佛山 528244)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)14-1739-07  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.14.14

**摘要** 目的:建立吴茱萸和制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的超高效液相色谱(UPLC)特征图谱,比较其相关性和差异性。方法:采用UPLC法。色谱柱为YMC Triart C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,检测波长为254 nm,柱温为30 ℃,进样量为1 μL。以柠檬苦素为参照,绘制吴茱萸和制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒(各10批,共60批)的特征图谱,利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行相似度评价,确定共有特征峰;采用方差分析评价共有特征峰峰面积占比的差异,并采用SPSS 20.0软件对吴茱萸和制吴茱萸的饮片、水煎液、配方颗粒进行聚类分析和主成分分析。结果:吴茱萸样品和制吴茱萸样品(饮片、水煎液和配方颗粒)的特征图谱中分别均含有共有特征峰16、17个,指认8、9、11、17号峰分别为柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱和甘草酸;与饮片比较,水煎液和配方颗粒的特征峰相似度均低于0.55,而水煎液与配方颗粒特征峰的相似度均高于0.95。聚类分析和主成分分析结果显示,吴茱萸饮片和制吴茱萸饮片聚为一类,吴茱萸水煎液、配方颗粒聚为一类,制吴茱萸水煎液、配方颗粒聚为一类。结论:制吴茱萸较吴茱萸增加了甘草酸,二者的饮片、水煎液、配方颗粒主要化学成分组成基本相同,但饮片与水煎液、配方颗粒成分的含量有所差异。

**关键词** 吴茱萸;制吴茱萸;饮片;水煎液;配方颗粒;超高效液相色谱法;特征图谱;化学模式识别

## Study on UPLC Characteristic Chromatograms of *Euodia rutaecarpa*, Processed *E. rutaecarpa* Decoction Piece, Water Decoction and Formula Granules

DENG Lihong, ZHANG Zhipeng, TIAN Qingqing, CHENG Xueren, LU Yun, LIU Liaoyuan (Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd./Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Foshan 528244, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish UPLC characteristic chromatograms of *Euodia rutaecarpa*, processed *E. rutaecarpa* decoction piece, water decoction and formula granules, and to compare its relationship and difference. METHODS: UPLC method was used. The determination was performed on YMC Triart C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid water solution (gradient elution) at the flow rate of 0.3 mL/min. The detection wavelength was set at 254 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 1 μL. Using limonin as reference, the characteristic chromatograms of *E. rutaecarpa*, processed *E. rutaecarpa* decoction piece, water decoction and formula granules (each 10 batches, totally 60 batches) were drawn. The similarity was evaluated with *TCM Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System* (2012 edition), and to determine the common characteristic peak. The differences of ratio of common characteristic peak area were evaluated according to variance analysis. Meanwhile, the cluster analysis and principal component analysis (PCA) were performed to research the differences of *E. rutaecarpa*, processed *E. rutaecarpa* decoction piece, water decoction and formula granules by using SPSS 20.0 software. RESULTS: Totally 16 and 17 common peaks were respectively confirmed in characteristic chromatograms of *E. rutaecarpa* samples and processed *E. rutaecarpa* samples (decoction piece, water decoction and formula granules). No. 8, 9, 11, 17 peaks were identified as limonin, evodiamine, rutaecarpine and glycyrrhizic acid. Compared with decoction piece, the similarities of characteristic peak between water decoction and formula granules were lower than 0.55, while those between water decoction and formula granule were higher than 0.95. Cluster analysis and PCA results showed that *E. rutaecarpa* decoction piece and processed *E. rutaecarpa* decoction piece could be clustered into one category; *E. rutaecarpa* water decoction and formula granules could be clustered into one category; processed *E. rutaecarpa* water decoction and formula granules could be clustered into one category. CONCLUSIONS: Compared with *E. rutaecarpa*, processed *E. rutaecarpa* additionally contain glycyrrhizic acid; main chemical components of decoction piece, water decoction and formula granules are basically the same, but the contents of the components between decoction piece to water decoction and formula granules are different.

<sup>△</sup> 基金项目:广东省省级科技计划项目(No.2018B030323004);“广东特支计划”科技创业领军人才项目(No.2017TY04R197)

\* 学士。研究方向:中药及中药配方颗粒质量标准。电话:0757-85128603。E-mail:denglihongyz@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:主管药师。研究方向:中药配方颗粒质量标准与技术管理。电话:0757-85128603。E-mail:99263@163.com

**KEYWORDS** *Euodia rutaecarpa*; processed *E. rutaecarpa*; Decoction piece; Water decoction; Formula granules; UPLC; Characteristic chromatogram; Chemical pattern recognition

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 [*Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.]、石虎 [*Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang] 或疏毛吴茱萸 [*Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang] 的干燥近成熟果实, 具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻的功效<sup>[1]</sup>。现代研究表明, 吴茱萸主要含有生物碱、柠檬苦素以及黄酮、酚酸、多糖、挥发油等多类成分, 其中具有重要生物活性的生物碱类多为脂溶性成分, 其极性较小, 难溶于水<sup>[2-4]</sup>。吴茱萸生品性燥烈, 有小毒, 多以炮制品入药, 以达到减毒和降燥的目的<sup>[5-8]</sup>。中药配方颗粒是单味中药饮片经过炮制、水提取、浓缩、干燥、制粒、包装等生产工艺, 加工制成的新型配方用中药制剂。有研究表明, 吴茱萸炮制后生物碱类、苦味素类等药效成分含量及指纹图谱均会发生不同程度的变化<sup>[9-11]</sup>, 炮制前后饮片化学成分的变化及临床煎煮提取率的不同均可能会影响吴茱萸的疗效<sup>[12]</sup>。因此, 探讨吴茱萸配方颗粒制备过程中的化学成分转化与药效的关联性, 是保证吴茱萸临床应用安全、有效的切实可行的措施。目前, 对吴茱萸饮片和配方颗粒指标成分含量的相关质量控制研究报道较多<sup>[13-15]</sup>, 但关于吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒及其炮制品制吴茱萸的饮片、水煎液、配方颗粒间成分变化的相关性研究较少。本研究分别建立了吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒和制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的超高效液相色谱(UPLC)特征图谱, 比较了6种制剂间特征图谱的相关性和差异性, 旨在为吴茱萸炮制过程的质量控制提供依据, 为保证吴茱萸与制吴茱萸相关制剂质量的稳定可控及其临床使用的安全有效提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

H-Class 型 UPLC 仪(美国 Waters 公司); ME204E 型万分之一天平、XP26 型百万分之一天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ-500DE 型数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 111B 型二两装高速中药粉碎机(浙江瑞安市永历制药机械有限公司); MiliQ Direct 8 型超纯水机(德国 Merck 公司)。

### 1.2 药品与试剂

吴茱萸碱对照品(批号: 110802-201710, 纯度: >99.6%)、吴茱萸次碱对照品(批号: 110801-201608, 纯度: >99.7%)、柠檬苦素对照品(批号: 110800-201707, 纯度: >97.9%)、甘草酸铵对照品(批号: 110731-201720, 纯度: >97.7%)均购自中国食品药品检定研究院; 吴茱萸配方颗粒(编号: K1~K10)和制吴茱萸配方颗粒(编号: K11~K20)均由广东一方制药有限公司提供(规格: 每1g 配方颗粒相当于饮片3g); 甲醇、乙腈均为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

10批吴茱萸药材(编号: 1~10)由广东一方制药有限公司提供, 并经该公司魏梅主任药师鉴定为芸香科植物吴茱萸 [*E. rutaecarpa* (Juss.) Benth.] 的干燥近成熟果

实。上述10批药材主产于我国广西壮族自治区、湖南省和江西省, 其来源信息见表1。

表1 10批吴茱萸药材的来源信息

Tab 1 Source information of 10 batches of *E. rutaecarpa*

编号	品种	产地	编号	品种	产地
1	吴茱萸	江西省	6	吴茱萸	湖南省
2	吴茱萸	江西省	7	吴茱萸	湖南省
3	吴茱萸	江西省	8	吴茱萸	江西省
4	吴茱萸	广西壮族自治区	9	吴茱萸	江西省
5	吴茱萸	广西壮族自治区	10	吴茱萸	江西省

## 2 方法与结果

### 2.1 吴茱萸饮片和制吴茱萸饮片的制备

取10批吴茱萸药材, 按照2015年版《中国药典》(一部)吴茱萸项下饮片炮制方法<sup>[1]</sup>进行炮制, 分别制成10批吴茱萸饮片(编号: Y1~Y10)和10批制吴茱萸饮片(编号: Y11~Y20); 按照《医疗机构中药煎药室管理规范》<sup>[16]</sup>中药材煎煮方法相关要求, 分别制备10批相应的吴茱萸水煎液(编号: S1~S10)和制吴茱萸水煎液(编号: S11~S20), 每1000 mL 水煎液由100 g 饮片加水煎煮制得。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: YMC Triart C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~9 min, 8%A; 9~18 min, 8%A→30%A; 18~28 min, 30%A→80%A; 28~33 min, 80%A→100%A); 流速: 0.3 mL/min; 检测波长: 254 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 1 μL。

### 2.3 对照品溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 分别取吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素对照品适量, 精密称定, 加乙腈-四氢呋喃混合溶液(25:15, V/V)制成每1 mL 中分别含吴茱萸碱30 μg、吴茱萸次碱10 μg、柠檬苦素50 μg 的混合对照品溶液。

2.3.2 甘草酸对照品溶液 取甘草酸铵对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每1 mL 中含甘草酸20 μg 的对照品溶液(甘草酸质量=甘草酸铵质量/1.0207)。

### 2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 饮片供试品溶液 饮片经粉碎后, 取细粉约0.3 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加70%甲醇50 mL, 称质量后超声(功率: 300 W, 频率: 40 kHz)处理40 min, 冷却至室温, 再次称定质量, 用70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经0.22 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.2 水煎液供试品溶液 精密量取水煎液5 mL, 置于50 mL 量瓶中, 加水10 mL, 再加甲醇定容, 按“2.4.1”项下方法进行超声、补液、滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.3 配方颗粒供试品溶液 取配方颗粒适量, 研细, 取粉末约0.2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入70%甲醇50 mL, 按“2.4.1”项下方法进行超声、补液、滤过, 取续滤液, 即得。

## 2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取“2.4.1”项下供试品溶液(编号: Y8)适量,按“2.2”项下色谱条件重复进样6次,记录色谱图。以保留时间适中且3种样品中较稳定的8号峰柠檬苦素为参照,计算得各特征峰相对保留时间(RRT)的RSD为0.02%~0.23% ( $n=6$ ),相对峰面积(RPA)的RSD为0.16%~1.66% ( $n=6$ ),表明本方法精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取“2.4.1”项下供试品溶液(编号: Y8)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以8号峰柠檬苦素为参照,计算得各特征峰RRT的RSD为0.01%~0.71% ( $n=6$ ),RPA的RSD为0.24%~3.05% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定。

2.5.3 重复性试验 精密称取吴茱萸饮片样品(编号: Y8),共6份,按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以8号峰柠檬苦素为参照,计算得各特征峰RRT的RSD为0.01%~0.16% ( $n=6$ ),RPA的RSD为0.15%~2.69% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.6 吴茱萸特征图谱的建立与相似度、特征峰分析

2.6.1 吴茱萸特征图谱的建立 按“2.4”项下方法分别制备10批吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,以编号Y1、S1、K1样品的图谱作为参照图谱(R),生成特征图谱,详见图1。结果,10批吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的特征图谱中,均含共有特征峰16个;与饮片比较,水煎液及配方颗粒中1~8号特征峰峰面积占特征峰总面积的比例(以下简称“峰面积占比”)均明显增加,而9~16号特征峰的峰面积占比则有所下降。

2.6.2 相似度分析 在“2.6.1”基础上,使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对10批吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒特征图谱中同一来源样品进行两两相似度分析。结果,与吴茱萸饮片比较,吴茱萸水煎液、配方颗粒特征图谱中的16个特征峰均存在,但相似度均低于0.55,而吴茱萸水煎液与配方颗粒的相似度均高于0.95,表明吴茱萸饮片加水煎煮或制成配方颗粒后主要化学成分个数未发生变化,但其含量发生了明显的变化;且吴茱萸配方颗粒与水煎液成分基本一致,这说明吴茱萸水煎液在浓缩、干燥、制粒过程中,其成分谱无明显变化,详见表2。

2.6.3 特征峰分析 取“2.3.1”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图2。通过对比图2与图1,指认出吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒UPLC特征图谱中的8号峰为柠檬苦素、9号峰为吴茱萸碱、11号峰为吴茱萸次碱。

## 2.7 制吴茱萸特征图谱的建立与相似度、特征峰分析

2.7.1 制吴茱萸特征图谱的建立 按“2.6.1”项下方法,

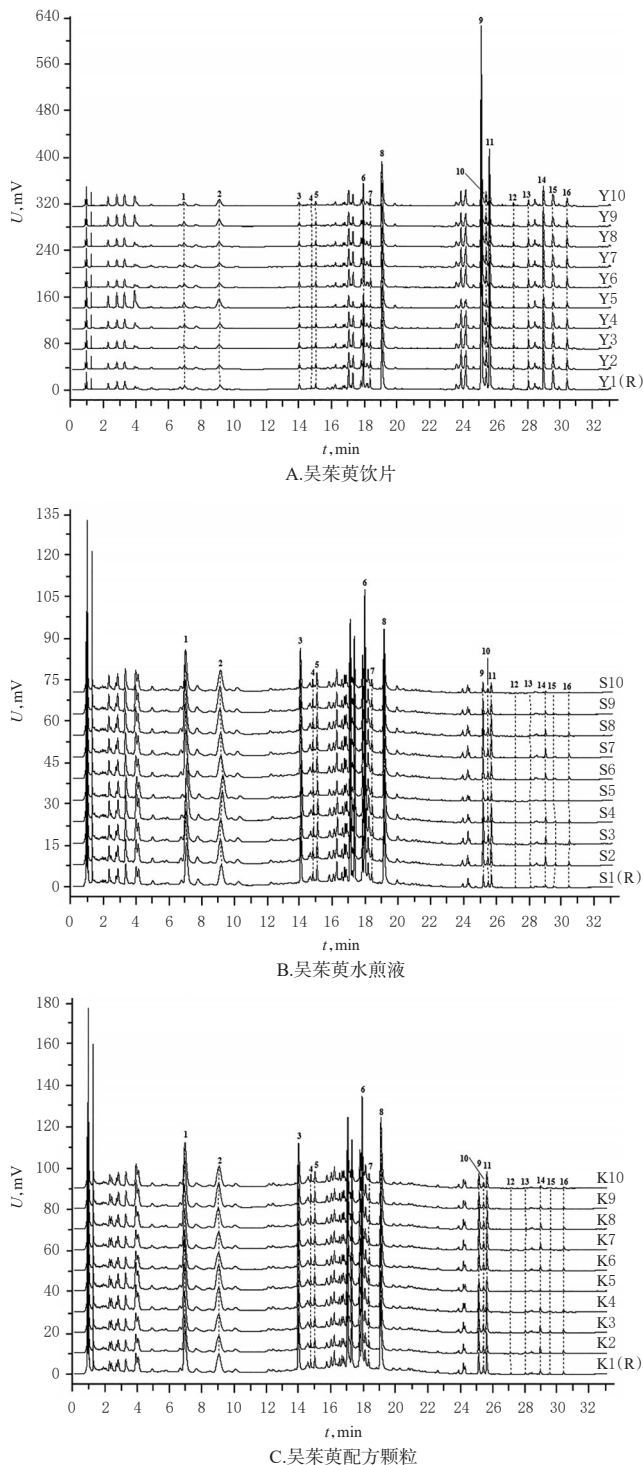


图1 10批吴茱萸饮片、水煎液和配方颗粒的UPLC特征图谱

Fig 1 UPLC characteristic chromatograms of 10 batches of decoction piece, water decoction and formula granules of *E. rutaecarpa*

使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,以编号Y11、S11、K11样品的图谱作为参照图谱(R),生成特征图谱,详见图3。结果,10批吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的特征图谱中,均含共有特征峰17个;与饮片比较,水煎液及配方颗粒中1~8号特征峰的峰面积占比

均明显增加,而9~16号特征峰的峰面积占比均有所下降,17号特征峰的峰面积占比有增加趋势。

表2 10批吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的UPLC特征图谱相似度分析

Tab 2 Similarity analysis of UPLC characteristic chromatograms of 10 batches of decoction piece, water decoction, formula granules of *E. rutaecarpa*

样品	批次									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
吴茱萸饮片与水煎液	0.297	0.354	0.359	0.333	0.521	0.328	0.357	0.347	0.410	0.374
吴茱萸饮片与配方颗粒	0.366	0.390	0.415	0.374	0.544	0.376	0.403	0.393	0.435	0.414
吴茱萸水煎液与配方颗粒	0.988	0.995	0.991	0.993	0.995	0.994	0.966	0.996	0.997	0.995

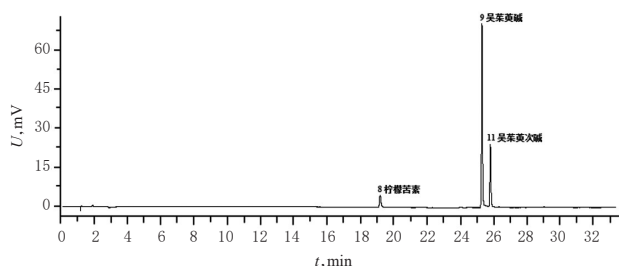


图2 混合对照品的UPLC色谱图

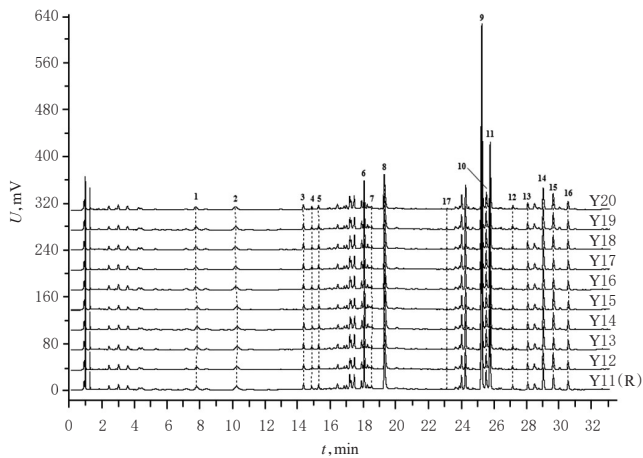
Fig 2 UPLC chromatogram of mixed reference

2.7.2 相似度分析 在“2.7.1”基础上,按“2.6.2”项下方法对10批制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒特征图谱中同一来源样品进行两两相似度分析。结果,与制吴茱萸饮片比较,制吴茱萸水煎液、配方颗粒特征图谱中的17个特征峰均存在,但相似度均低于0.50,而制吴茱萸水煎液与配方颗粒的相似度均高于0.95,表明制吴茱萸饮片加水煎煮或制成配方颗粒后主要化学成分个数未发生变化,但其含量发生了明显的变化;且制吴茱萸配方颗粒与水煎液成分基本一致,这说明制吴茱萸水煎液在浓缩、干燥、制粒过程中,其成分谱无明显变化,详见表3。

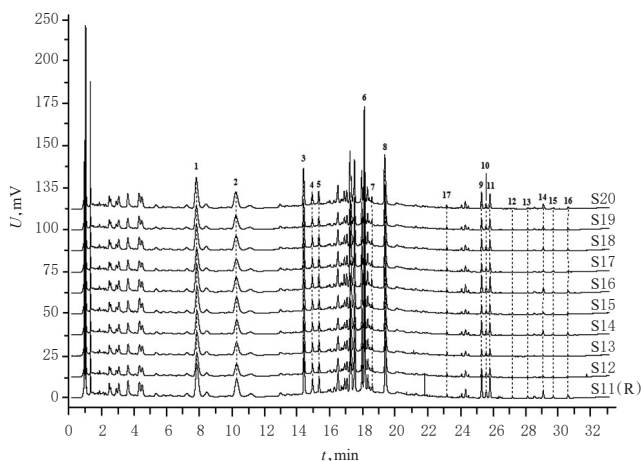
2.7.3 特征峰分析 取“2.3”项下混合对照品溶液和甘草酸对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图2、图4。通过对比图2、图4与图3,指出制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒UPLC特征图谱中的8号峰为柠檬苦素、9号峰为吴茱萸碱、11号峰为吴茱萸次碱、17号峰为甘草酸。

## 2.8 吴茱萸与制吴茱萸UPLC特征图谱的相似度分析

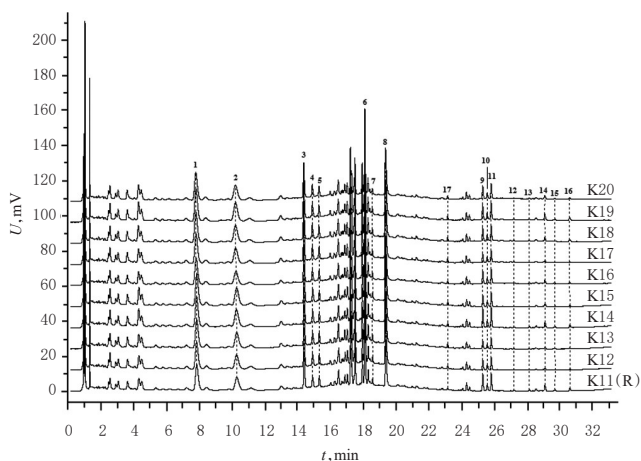
比较同一来源的吴茱萸和制吴茱萸的特征图谱,吴茱萸中有16个特征峰,制吴茱萸中有17个特征峰,后者新增的特征峰为17号峰甘草酸,其他特征峰为二者共有。排除17号峰,吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒与制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒两两比较的相似度均高于0.9,详见表4。这表明排除17号峰后,吴茱萸生品与炮制品的物质基础具有较高的相似性。



A.制吴茱萸饮片



B.制吴茱萸水煎液



C.制吴茱萸配方颗粒

图3 10批制吴茱萸饮片、水煎液和配方颗粒的UPLC特征图谱

Fig 3 UPLC characteristic chromatograms of 10 batches of decoction piece, water decoction, formula granules of processed *E. rutaecarpa*

## 2.9 化学模式识别研究

2.9.1 方差分析 以10批吴茱萸、制吴茱萸的饮片、水煎液、配方颗粒共60个样品的特征图谱中16/17个特征峰峰面积占比作为变量(缺失特征峰峰面积记为0),使用SPSS 20.0软件进行方差分析,结果见表5(检验水准

表3 10批制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的UPLC特征图谱相似度分析

Tab 3 Similarity analysis of UPLC characteristic chromatograms of 10 batches of decoction piece, water decoction, formula granules of processed *E. rutaecarpa*

样品	批次									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
制吴茱萸饮片与水煎液	0.385	0.324	0.281	0.365	0.313	0.363	0.305	0.330	0.335	0.352
制吴茱萸饮片与配方颗粒	0.380	0.329	0.284	0.376	0.329	0.352	0.306	0.345	0.358	0.349
制吴茱萸水煎液与配方颗粒	0.999	1.000	0.999	0.998	0.998	0.999	0.999	0.998	0.996	0.998

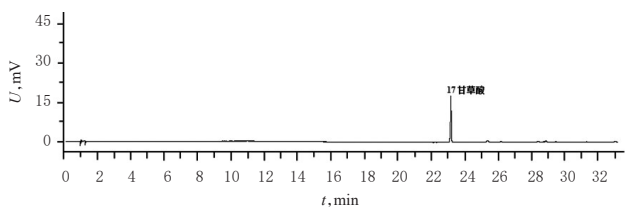


图4 甘草酸对照品的UPLC色谱图

Fig 4 UPLC chromatogram of ammonium glycyrrhizic acid control

表4 10批吴茱萸与制吴茱萸饮片、水煎液、配方颗粒的UPLC特征图谱相似度分析

Tab 4 Similarity analysis of UPLC characteristic chromatograms of 10 batches of decoction piece, water decoction, formula granules of *E. rutaecarpa* and processed *E. rutaecarpa*

样品	批次									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
吴茱萸饮片与制吴茱萸饮片	0.998	0.999	0.999	0.998	0.917	0.999	0.999	0.998	0.981	0.988
吴茱萸水煎液与制吴茱萸水煎液	0.986	0.985	0.988	0.991	0.994	0.989	0.986	0.990	0.994	0.989
吴茱萸配方颗粒与制吴茱萸配方颗粒	0.973	0.977	0.967	0.986	0.986	0.982	0.977	0.986	0.989	0.985

$\alpha=0.05, P<0.05$ 为差异有统计学意义)。由表5可见,与吴茱萸饮片比较,吴茱萸水煎液和配方颗粒的16个特征峰均有显著性差异( $P<0.05$ );与制吴茱萸饮片比较,制吴茱萸水煎液和配方颗粒的17个特征峰均有显著性差异( $P<0.05$ )。这说明吴茱萸和制吴茱萸饮片加水煎煮提取后化学成分间的比例关系发生了显著的变化。与吴茱萸样品比较,制吴茱萸样品除增加17号特征峰甘草酸外,两种饮片主要区别在于4、6~8、10、11、14、16号特征峰的峰面积占比,两种水煎液主要区别在于1、2、4~7号特征峰的峰面积占比,两种配方颗粒主要区别在于特征图谱前半段水溶性成分1~8、11号特征峰的峰面积占比,组间比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

2.9.2 聚类分析和主成分分析 将10批吴茱萸与制吴茱萸的饮片、水煎液、配方颗粒共60个样品的特征图谱中16/17个特征峰的相对峰面积作为变量(缺失特征峰峰面积记为0),使用SPSS 20.0软件进行聚类分析和主成分分析,结果见图5、表6。

表5 特征图谱中各特征峰峰面积占比的方差分析结果( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Tab 5 Results of variance analysis of the ratio of each characteristic peak area in the characteristic chromatograms( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

共有峰	吴茱萸饮片	吴茱萸水煎液	吴茱萸配方颗粒	制吴茱萸饮片	制吴茱萸水煎液	制吴茱萸配方颗粒
1号峰	1.66±0.68	22.30±0.55 <sup>a</sup>	21.84±1.00 <sup>a</sup>	2.05±0.05 <sup>bc</sup>	20.28±0.65 <sup>abcd</sup>	20.38±0.73 <sup>abcd</sup>
2号峰	4.10±2.36	17.23±1.57 <sup>b</sup>	16.55±1.77 <sup>b</sup>	2.76±0.13 <sup>bc</sup>	14.90±1.31 <sup>abcd</sup>	14.32±1.18 <sup>abcd</sup>
3号峰	1.06±0.06	10.94±0.67 <sup>b</sup>	11.15±0.49 <sup>b</sup>	1.33±0.09 <sup>bc</sup>	10.83±0.76 <sup>cd</sup>	10.59±1.01 <sup>cd</sup>
4号峰	0.24±0.03	1.14±0.05 <sup>b</sup>	1.00±0.03 <sup>b</sup>	0.65±0.05 <sup>bc</sup>	3.37±0.20 <sup>abcd</sup>	3.86±0.24 <sup>abcd</sup>
5号峰	0.73±0.09	2.66±0.29 <sup>b</sup>	2.17±0.08 <sup>b</sup>	0.88±0.03 <sup>bc</sup>	3.05±0.26 <sup>abcd</sup>	2.61±0.27 <sup>abc</sup>
6号峰	4.43±0.51	16.17±0.63 <sup>b</sup>	13.19±0.73 <sup>ab</sup>	5.27±0.12 <sup>abc</sup>	19.09±0.98 <sup>abcd</sup>	18.19±1.20 <sup>abcd</sup>
7号峰	0.99±0.30	1.36±0.12 <sup>b</sup>	1.13±0.02 <sup>b</sup>	0.23±0.03 <sup>bc</sup>	0.90±0.09 <sup>abcd</sup>	0.79±0.13 <sup>abcd</sup>
8号峰	15.37±4.19	18.96±1.17 <sup>b</sup>	21.04±1.37 <sup>b</sup>	11.89±0.41 <sup>bc</sup>	17.64±0.94 <sup>cd</sup>	18.74±0.89 <sup>cd</sup>
9号峰	40.41±3.87	3.41±1.11 <sup>b</sup>	4.31±1.33 <sup>b</sup>	41.17±0.90 <sup>bc</sup>	3.13±0.92 <sup>cd</sup>	3.00±0.78 <sup>cd</sup>
10号峰	3.01±0.32	1.25±0.20 <sup>b</sup>	1.46±0.26 <sup>b</sup>	3.80±0.16 <sup>bc</sup>	1.33±0.14 <sup>cd</sup>	1.46±0.17 <sup>abcd</sup>
11号峰	13.82±1.08	2.92±0.73 <sup>b</sup>	4.30±0.91 <sup>b</sup>	14.79±0.29 <sup>bc</sup>	3.05±0.64 <sup>cd</sup>	3.52±0.62 <sup>cd</sup>
12号峰	0.90±0.06	0.10±0.06 <sup>b</sup>	0.09±0.05 <sup>b</sup>	0.93±0.02 <sup>bc</sup>	0.10±0.05 <sup>cd</sup>	0.10±0.04 <sup>cd</sup>
13号峰	1.51±0.14	0.18±0.12 <sup>b</sup>	0.18±0.11 <sup>b</sup>	1.60±0.05 <sup>bc</sup>	0.17±0.10 <sup>cd</sup>	0.15±0.09 <sup>cd</sup>
14号峰	5.27±0.40	0.86±0.45 <sup>b</sup>	0.98±0.47 <sup>b</sup>	5.65±0.07 <sup>bc</sup>	0.85±0.45 <sup>cd</sup>	0.91±0.49 <sup>cd</sup>
15号峰	4.26±0.72	0.10±0.12 <sup>b</sup>	0.09±0.05 <sup>b</sup>	4.31±0.94 <sup>bc</sup>	0.21±0.15 <sup>cd</sup>	0.15±0.07 <sup>cd</sup>
16号峰	2.25±0.12	0.42±0.23 <sup>b</sup>	0.50±0.23 <sup>b</sup>	2.50±0.02 <sup>bc</sup>	0.50±0.21 <sup>cd</sup>	0.52±0.26 <sup>cd</sup>
17号峰				0.18±0.03	0.62±0.10 <sup>d</sup>	0.71±0.10 <sup>d</sup>

注:与吴茱萸饮片比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与吴茱萸水煎液比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与吴茱萸配方颗粒比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与制吴茱萸饮片比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ ;与制吴茱萸水煎液比较,<sup>e</sup> $P<0.05$

Note: vs. *E. rutaecarpa* decoction piece, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; vs. *E. rutaecarpa* water decoction, <sup>b</sup> $P<0.05$ ; vs. *E. rutaecarpa* formula granules, <sup>c</sup> $P<0.05$ ; vs. processed *E. rutaecarpa* decoction piece, <sup>d</sup> $P<0.05$ ; vs. processed *E. rutaecarpa* water decoction, <sup>e</sup> $P<0.05$

由图5可见,吴茱萸饮片和制吴茱萸饮片可聚为I类,其中吴茱萸饮片和制吴茱萸饮片又可分别聚为Ia和Ib类;吴茱萸和制吴茱萸的水煎液和配方颗粒可聚为II类,其中吴茱萸水煎液和制吴茱萸水煎液可聚为IIa类、吴茱萸配方颗粒和制吴茱萸配方颗粒可聚为IIb类。这表明炮制前后吴茱萸饮片和制吴茱萸饮片成分存在一定差异,但仍可聚为一类;饮片加水煎煮后提取出的成分变化较大,但其水煎液与配方颗粒之间无明显差异,可聚为一类。

主成分分析结果以特征值大于1为判断标准,提取出两个主成分,主成分1(PC1)、主成分2(PC2)对总方差的累积贡献率达89.883%,说明这两个主成分可作为样品的主要评价指标。根据主成分分析二维得分散点图(见图6)显示,吴茱萸饮片、制吴茱萸饮片各聚为一类,与水煎液、配方颗粒样品距离较大,表明饮片加水煎煮或制成配方颗粒后成分变化明显;而吴茱萸水煎液与吴茱萸配方颗粒样品距离较小,可聚为一类;制吴茱萸水煎液与制吴茱萸配方颗粒样品距离较小,可聚为一类,表明水煎液与配方颗粒之间成分差异较小。

### 3 讨论

供试品制备方法对特征图谱的建立影响较大,本研究分别选取了不同比例的甲醇和乙醇作为提取溶剂。

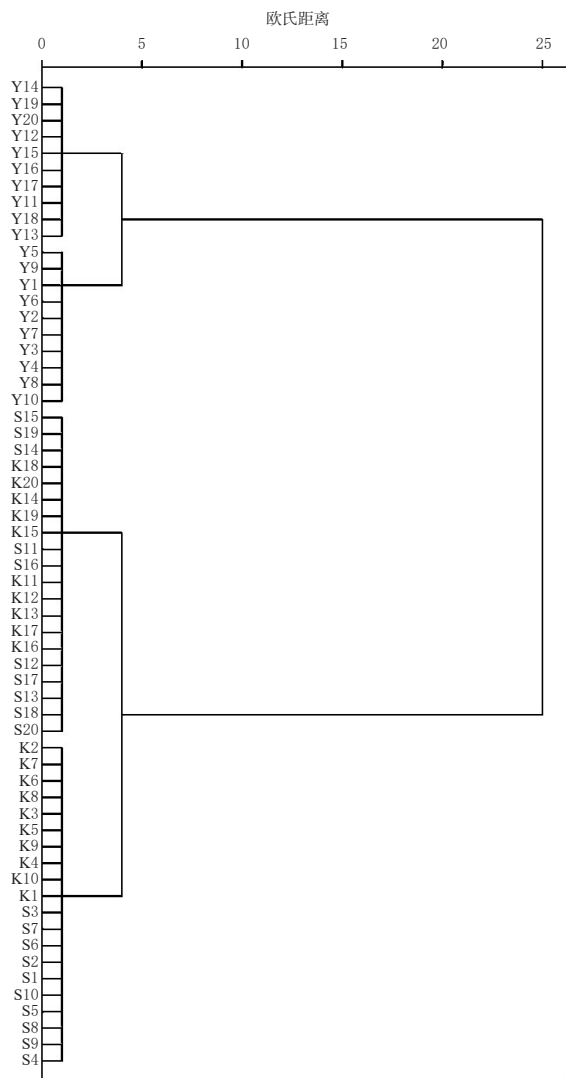


图5 吴茱萸与制吴茱萸的聚类分析树状图

Fig 5 Dendrogram of hierarchical cluster analysis of *E. rutaecarpa* and processed *E. rutaecarpa*

表6 特征值和累积方差贡献率

Tab 6 Eigen values and cumulative variance contribution rates

成分	特征值	方差贡献率, %	累计方差贡献率, %
1	11.928	74.548	74.548
2	2.454	15.335	89.883
3	0.827	5.169	95.052
4	0.553	3.457	98.509
5	0.065	0.406	98.915
6	0.057	0.353	99.268
7	0.048	0.298	99.567
8	0.037	0.231	99.797
9	0.017	0.106	99.903
10	0.007	0.041	99.944
11	0.004	0.023	99.967
12	0.002	0.013	99.980
13	0.002	0.010	99.991
14	0.001	0.008	99.998
15	0	0.001	99.999
16	0	0.001	100

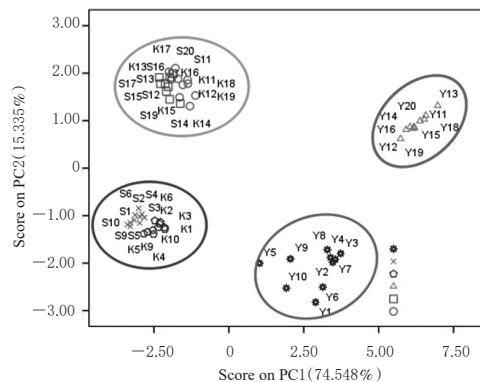


图6 吴茱萸与制吴茱萸的主成分分析二维得分散点图

Fig 6 2D score scatter plot of *E. rutaecarpa* and processed *E. rutaecarpa* by PCA

结果表明,当选择70%甲醇作为提取溶剂时,色谱峰的分 离效果最好,响应值较高,故选择70%甲醇作为提取溶剂。本研究同时考察了超声和回流及不同提取时间对特征图谱的影响。结果显示,提取方法和提取时间对特征图谱影响较小,故选择超声40 min为提取方法。

与吴茱萸/制吴茱萸饮片相比,其水煎液及配方颗粒特征图谱中1~8号特征峰的峰面积占比明显增加,而9~16号特征峰的峰面积占比有所下降,推测1~8号特征峰主要为水溶性黄酮苷类成分,易提取富集;9~16号特征峰主要为脂溶性生物碱类成分,煎煮提取率较低<sup>[10,17]</sup>。不同极性化学成分的生物活性存在差异,后续可对各个特征峰的化学成分进行进一步鉴定,对不同极性大小的化学成分进行有效部位分离及生物活性研究。

吴茱萸和制吴茱萸的饮片、水煎液、配方颗粒对照特征图谱对比结果显示,制吴茱萸饮片增加了17号特征峰甘草酸,同时特征峰的增加也出现在制吴茱萸水煎液和配方颗粒中,这是因为制吴茱萸是用甘草煎汤进行炮制,17号峰可能来源于甘草,此特征峰可用于鉴别吴茱萸和制吴茱萸。同时,4、6~8、10、11、14、16号特征峰的峰面积占比差异显著也可作为吴茱萸饮片与制吴茱萸饮片的另一个区别要点。聚类分析和主成分分析结果显示,吴茱萸饮片和制吴茱萸饮片虽有差异,但仍可聚为一类;吴茱萸水煎液、配方颗粒聚为一类,制吴茱萸水煎液、配方颗粒聚为一类。但炮制前后化学成分量变显著是否是降低毒性或区别不同主治功能的原因,还有待进一步药理及临床方面的研究予以验证。

综上所述,制吴茱萸较吴茱萸增加了甘草酸,二者的饮片、水煎液、配方颗粒主要化学成分组成基本相同,但饮片与水煎液、配方颗粒成分的含量有所差异。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:171-172.  
 [2] 胡传芹,杨鑫宝,杨秀伟,等. 吴茱萸中的黄酮苷类化合物[J]. 中国中药杂志,2012,37(17):2571-2575.  
 [3] 苏秀丽,印敏,徐曙,等. UPLC-Q-TOF-MS法分析吴茱萸

# 不同NSAIDs联合PICA在妇科腹腔镜手术患者术后镇痛中的作用及其对血清相关指标的影响<sup>△</sup>

黎仕焕<sup>1\*</sup>,李 繁<sup>2</sup>,黄奕第<sup>2</sup>,徐志新<sup>1#</sup>(1.海南医学院第二附属医院麻醉科,海口 571100;2.海南医学院第一附属医院解剖教研室,海口 570102)

中图分类号 R713;R971<sup>+.1</sup> 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)14-1745-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.14.15

**摘要** 目的:探讨帕瑞昔布钠、氟比洛芬酯、氯诺昔康联合自控静脉镇痛(PICA)在妇科腹腔镜手术患者术后镇痛中的作用及其对血清相关指标的影响。方法:选取2017年3月—2019年3月在海南医学院第二附属医院接受妇科腹腔镜手术的患者280例,根据随机数字表法分为对照组(C组)、帕瑞昔布钠组(P组)、氟比洛芬酯组(F组)和氯诺昔康组(L组),每组70例。4组患者均于术前30 min分别静脉注射氯化钠注射液5 mL、注射用帕瑞昔布钠40 mg、氟比洛芬酯注射液50 mg、注射用氯诺昔康8 mg(效果欠佳时加用8 mg),手术结束后给予枸橼酸舒芬太尼注射液和地佐辛注射液PICA镇痛。采用数字评分法(NRS)评估4组患者术后6、12、24、48 h的疼痛、恶心情况;采用化学发光法和酶联免疫吸附法分别检测4组患者术前及术后6、12、24、48 h时的血清C反应蛋白(CRP)以及白细胞介素6(IL-6)、心肌细胞P物质(SP)、前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)水平;记录4组患者术后24 h内镇痛泵按压次数及镇痛药物用量;记录患者术后48 h内的腹胀、呕吐、眩晕、皮肤瘙痒、呼吸抑制、尿潴留等不良反应(ADR)的发生情况。结果:在上述各检测时间点,P、F、L组患者的NRS评分均显著低于C组;且术后48 h时,L组患者的疼痛NRS评分显著低于P组与F组( $P < 0.05$ )。术前,4组患者的CRP、IL-6、SP、PGE<sub>2</sub>水平比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),术后各时间点的P、F、L组患者的CRP、IL-6、SP、PGE<sub>2</sub>水平均显著低于C组;F组患者术后48 h的血清SP水平及术后12、24、48 h的血清PGE<sub>2</sub>水平,L组患者术后48 h的血清IL-6水平,术后24、48 h的血清SP水平以及术后12、24、48 h的血清PGE<sub>2</sub>水平均显著低于P组;L组患者术后48 h的血清SP水平以及术后12、24、48 h的血清PGE<sub>2</sub>水平均显著低于F组( $P < 0.05$ )。4组患者间腹胀、呕吐的发生率比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论:帕瑞昔布钠、氟比洛芬酯、氯诺昔康联合PICA均能够有效缓解妇科腹腔镜手术患者术后疼痛,降低其血清相关指标水平,且氯诺昔康的作用可能更优。

**关键词** 腹腔镜;妇科;自控静脉镇痛;非甾体抗炎药;帕瑞昔布钠;氟比洛芬酯;氯诺昔康;术后镇痛

化学成分[J].中成药,2017,39(6):1223-1227.

[4] 楼璐璐,徐姗姗,方淡思.吴茱萸化学成分与质量控制研究进展[J].中华中医药学刊,2017,35(8):2154-2157.

[5] 肖洋,段金芳,刘影,等.吴茱萸炮制方法和功能主治沿革[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(3):223-228.

[6] 刘舒凌,张晟瑞,韦慧,等.炮制降低吴茱萸肝毒性作用的初步研究[J].中药材,2018,41(3):570-575.

[7] 张晟瑞,刘舒凌,钟振国,等.吴茱萸不同炮制品致小鼠肝毒性的“量-时-毒”关系研究[J].时珍国医国药,2018,29(4):881-884.

[8] 赵楠,李达翎,李占林,等.吴茱萸化学成分的分离与鉴定[J].沈阳药科大学学报,2016,33(2):103-109.

[9] 赵娟娟,陈向明,郑树娜,等.基于化学指纹图谱和多成分含量测定的吴茱萸质量评价[J].现代中药研究与实践,2015,29(6):62-65.

[10] 赵平,许海玉,许浚,等.吴茱萸不同炮制品化学成分的变化分析[J].中国中药杂志,2011,36(5):559-562.

[11] 温慧玲,程齐来,吴龙火,等.基于指纹图谱探讨吴茱萸不同炮制品成分的差异[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(5):76-80.

[12] 文丽梅,马超英,余德林,等.吴茱萸的化学成分和药理作用研究进展[J].中华中医药学刊,2012,30(9):1976-1977.

[13] 王晓亚,甄亚钦,王鑫国,等.HPLC同时测定吴茱萸配方颗粒中4种成分的含量[J].中药材,2017,40(2):392-394.

[14] 樊小瑞,刘梓晗,冯伟红,等.基于UPLC技术的吴茱萸定性定量一体化研究[J].中国中药杂志,2017,42(20):3945-3956.

[15] 吴蔚苗,罗锦莹.UPLC法同时测定不同产地吴茱萸中绿原酸、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量[J].中国药房,2016,27(24):3446-3448.

[16] 卫生部,国家中医药管理局.医疗机构中药煎药室管理规范[S].2009-03-16.

[17] 张崇佩,张欣欣,李潮,等.不同年份吴茱萸UPLC指纹图谱及多成分化学模式识别研究[J].中草药,2019,50(11):2700-2707.

△基金项目:海南省自然科学基金资助项目(No.818QN319)

\* 主治医师。研究方向:临床麻醉。电话:0898-66808108。E-mail:Lsh1982924@163.com

# 通信作者:主任医师,博士。研究方向:临床麻醉。电话:0898-66808108。E-mail:xiaozhulifan@163.com

(收稿日期:2020-03-05 修回日期:2020-04-08)

(编辑:邹丽娟)