

苍耳子清炒改砂炒炮制工艺研究

柳清¹, 洪燕¹, 汪永忠², 李钰馨¹, 潘凌宇¹, 韩燕全^{2*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230038

2. 安徽中医药大学第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031

摘要: 目的 通过比较苍耳子 *Xanthii Fructus* 不同炮制品活性成分及毒性成分的质量分数, 对苍耳子炮制工艺进行改进。方法 采用《中国药典》2015 年版方法测定生品、清炒和砂炒苍耳子中活性成分新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸以及毒性成分羧基苍术苷和苍术苷的质量分数; 建立了苍耳子样品的指纹图谱, 并对其用中国药典委员会颁布的中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (版本: 2004A)、SPSS 19.0 软件、SIMCAI 13.0 软件进行相似度分析、聚类分析和偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA)。结果 苍耳子清炒改进为控温砂炒后的炮制工艺活性成分的质量分数高且毒性成分的质量分数低; 19 个样品的相似度均大于 0.98; 聚类分析表明样品可大致聚成 4 类; PLS-DA 分析表明不同样品间可以区分开。结论 建立的苍耳子质量分析方法重现性好, 苍耳子炮制工艺由清炒法改进为砂炒法可行, 实验为苍耳子炮制工艺改进提供了科学依据。

关键词: 苍耳子; 超高效液相色谱法; 炮制工艺; 指纹图谱; 新绿原酸; 绿原酸; 隐绿原酸; 咖啡酸; 3,5-二咖啡酰奎宁酸; 4,5-二咖啡酰奎宁酸; 羧基苍术苷; 苍术苷; 活性成分; 毒性成分; 相似度分析; 聚类分析; 偏最小二乘法判别分析

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)15-2656-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.012

Improvement of different processing technologies of *Xanthii Fructus*

LIU Qing¹, HONG Yan¹, WANG Yong-zhong², LI Yu-xin¹, PAN Ling-yu¹, HAN Yan-quan²

1. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China

2. Grade 3 Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparation, State Administration of TCM, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China

Abstract: **Objective** To compare the different processed products of *Xanthii Fructus* and improve the processing technology of *Xanthii Fructus*. **Methods** Using 2015 version of *Chinese Pharmacopoeia* to determine the contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, and 4,5-dicaffeoylquinic acid as well as toxic ingredients, such as carboxyatractyloside and atractyloside in raw products, stir-fried and sand fried active ingredients of *Xanthii Fructus*; The fingerprint of *Xanthii Fructus* samples was established, and the *Chinese Pharmacopoeia* Commission promulgated the chromatographic fingerprint similarity evaluation system software (version: 2004A) for the similarity evaluation; SPSS 19.0 software analyzed cluster analysis and SIMCAI 13.0 software analyzed partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA). **Results** The results showed that the active ingredient content of improved processing technology was high and toxic constituents content was low; The similarity of the 19 samples was greater than 0.98; Cluster analysis showed that the samples might be roughly classified into four groups; PLS-DA analysis showed that different samples can be distinguished. **Conclusion** The established analysis method of *Xanthii Fructus* has a good reproducibility verifies the feasibility of improved processing technology, and provides a scientific basis for quality control of *Xanthii Fructus*.

Keywords: *Xanthii Fructus*; UPLC; processing technology; fingerprint; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; caffeic acid; 3,5-dicaffeoylquinic acid; 4,5-dicaffeoylquinic acid; carboxyatractyloside; atractyloside; active ingredients; toxic ingredients; similarity analysis; cluster analysis; partial least squares discriminant analysis

收稿日期: 2016-03-08

基金项目: 2015 年中医药部门公共卫生专项资金“中药炮制技术传承基地建设”项目

作者简介: 柳清 (1991—), 女, 硕士研究生。E-mail: 2731671043@qq.com

*通信作者 韩燕全 (1978—), 男, 副主任中药师, 研究方向为中药炮制与质量控制。E-mail: hyquan2003@163.com

苍耳子为菊科植物苍耳 *Xanthium sibiricum* Patr. 的干燥成熟带总苞的果实, 具有散风除湿、通鼻窍的功能^[1]。研究发现苍耳子中含有大量的酚酸类化合物, 包括绿原酸、新绿原酸、咖啡酸和多种咖啡酰奎宁酸类等^[2-3], 此类化学成分被证实是苍耳子发挥临床疗效的重要活性成分, 具有良好的抗菌、抗病毒和镇痛作用等生物活性^[4-5]; 而苍耳子中的水溶性苷类成分, 包括羧基苍术苷、苍术苷等具有一定毒性, 是其主要的毒性成分^[6]。苍耳子生品有毒, 经炮制后, 可降低毒性^[7-8]。

生苍耳子表面密被硬刺, 易相互粘连, 传统的碾法去刺较复杂, 且除刺效率较低。《中国药典》2015 年版中记载苍耳子的炮制方法为清炒法, 炒后去刺。清炒法的主要目的是降低毒性, 并易去刺和洗净药物。而目前市售的苍耳子多采用机械去刺, 方法简单, 高效。因此, 对于传统清炒后去刺的炮制工艺有待进行改进。将清炒法改为砂炒法炮制去刺后的苍耳子药材, 可克服清炒法炮制的不足。砂炒法以砂为传热媒介, 增大了药材的受热面积且使其受热均匀, 炮制的药材色泽均一, 质地疏松, 使其有效成分易于溶出, 毒性成分变性达到增效减毒的目的^[9]。砂炒法炮制苍耳子虽具有较明显的优点, 但其具体工艺及合理性目前报道还较少, 本实验从活性成分和毒性成分的量及特征指纹图谱等角度, 对传统清炒法、控温砂炒法和随机温度砂炒法进行比较, 探讨了砂炒法炮制工艺的可行性, 为苍耳子炮制工艺改进的合理性提供实验依据。

1 仪器与材料

Waters Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱系统, 美国 Waters 公司; KQ3200DB 型超声清洗器, 江苏昆山超声仪器有限公司; XFB-200 型高速中药粉碎机, 吉首市中州制药机械厂; BP211D 型电子天平, 德国 Sartorius 公司。

对照品绿原酸 (批号 110753-200413, 质量分数 99.39%)、咖啡酸 (批号 110885-200102, 质量分数 98.00%) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品 3,5-二咖啡酰奎宁酸 (批号 12101101, 质量分数 99.2%)、4,5-二咖啡酰奎宁酸 (批号 11081803, 质量分数 98.40%)、隐绿原酸 (批号 11112203, 质量分数 99.00%) 和新绿原酸 (批号 11112202, 质量分数 99.00%) 均购自成都曼斯特化工有限公司; 羧基苍术苷和苍术苷对照品, 自制, 经 IR、UV、¹H-NMR、¹³C-NMR 和 MS 等光谱检测确认其结构; 按归一化

法测得其质量分数均 $\geq 98\%$ 。

去刺的苍耳子药材购于安徽省药材公司, 产地为河南, 经安徽中医药大学药学部李立华主任药师鉴定为菊科苍耳属植物苍耳 *Xanthium sibiricum* Patr. 的干燥成熟带总苞的果实。色谱纯甲醇、乙腈购自 Sigma 公司; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苍耳子炮制品的制备

苍耳子生品 1 份, 以传统清炒法、控温砂炒法及不控温砂炒法分别制备炮制品, 每种炮制品每份 50 g, 每种 6 份, 共有 19 份样品。(1) 生苍耳子 (S0): 取大小均匀的原药材, 机械去刺, 除去杂质, 洗净, 50 °C 真空干燥。(2) 清炒苍耳子 (S1~S6): 按《中国药典》2015 年版 (四部) 0213 炮制通则 (清炒法), 取苍耳子置炒制容器内, 用文火炒至终点颜色 (药材表面呈黄褐色为标准) 时, 取出, 放凉。(3) 控温砂炒苍耳子 (砂炒 1; S7~S12): 按《中国药典》2015 年版 (四部) 0213 炮制通则 (砂炒法), 取洁净河砂置炒制容器内, 用武火加至滑利状态, 测定离锅底 1 cm 左右处的温度, 设定为炒制温度为 160 °C, 投入苍耳子不断翻动, 炒至终点颜色时, 取出, 去砂, 放凉。(4) 随机温度砂炒苍耳子 (砂炒 2; S13~S18): 取洁净河砂置炒制容器内, 用武火加至滑利状态时, 投入苍耳子不断翻动, 炒至终点颜色时, 取出, 筛去砂, 放凉。

2.2 苍耳子炮制品的 UPLC 定量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~1 min, 3% 乙腈; 1~2.5 min, 3%~5% 乙腈; 2.5~9 min, 5%~15% 乙腈; 9~9.5 min, 15%~18% 乙腈; 9.5~16 min, 18% 乙腈; 16~16.5 min, 18%~28% 乙腈; 16.5~19 min, 28% 乙腈; 19~21 min, 28%~50% 乙腈; 21~22 min, 50% 乙腈; 22~25 min, 3% 乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 检测波长 327 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称定新绿原酸 2.88 mg、绿原酸 5.09 mg、隐绿原酸 2.99 mg、咖啡酸 3.06 mg、3,5-二咖啡酰奎宁酸 2.99 mg 和 4,5-二咖啡酰奎宁酸 2.91 mg, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 摇匀。再依次精密称定上述对照品溶液 0.25、0.50、0.25、0.10、0.25、0.10 mL, 置于 5 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 摇匀,

制成含新绿原酸 14.4 $\mu\text{g/mL}$ 、绿原酸 50.9 $\mu\text{g/mL}$ 、隐绿原酸 14.59 $\mu\text{g/mL}$ 、咖啡酸 6.12 $\mu\text{g/mL}$ 、3,5-二咖啡酰奎宁酸 14.95 $\mu\text{g/mL}$ 和 4,5-二咖啡酰奎宁酸 5.82 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取苍耳子炮制品和生品粉末(过 3 号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加水 10 mL, 称定质量, 超声处理(功率 300 W, 频率 40 kHz) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 6 000 r/min 离心 10 min, 取上清液滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取 6 种酚酸类混合对照品溶液 0.5、1、2、3、4、5 μL , 注入液相色谱仪中, 测定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸的峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 6 种酚酸混合对照品的进样量为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 计算回归方程, 结果分别为新绿原酸 $Y=301\ 078.964\ 38\ X-23\ 153.824\ 66$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 7.2~72.0 ng; 绿原酸 $Y=846\ 977.879\ 45\ X-17\ 306.021\ 92$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 25.5~254.5 ng; 隐绿原酸 $Y=518\ 773.868\ 49\ X-1\ 618.660\ 27$, $r=0.998\ 6$, 线性范围 7.5~74.8 ng; 咖啡酸 $Y=46\ 966.898\ 63\ X-4\ 743.654\ 79$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 3.1~30.6 ng; 3,5-二咖啡酰奎宁酸 $Y=324\ 417.819\ 18\ X-24\ 033.032\ 88$, $r=0.998\ 6$, 线性范围 7.5~74.8 ng; 4,5-二咖啡酰奎宁酸 $Y=151\ 629.320\ 55\ X-13\ 570.578\ 08$, $r=0.998\ 6$, 线性范围 0.3~2.9 ng。

2.2.5 精密度试验 精密吸取 6 种酚酸类对照品溶液 10 μL , 按“2.2.1”项色谱条件重复进样 6 次, 测定峰面积积分值, 结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸的峰面积的 RSD 分别为 1.14%、0.89%、0.97%、0.70%、0.99%、0.55%。

2.2.6 稳定性试验 取苍耳子 (S5) 供试品溶液 6 份 (4 $^{\circ}\text{C}$ 低温避光下保存), 按照“2.2.3”项方法进行提取, 采用“2.2.1”项色谱条件, 在 0、4、8、12、24 h 进样 10 μL , 测定各成分峰面积, 结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸峰面积的 RSD 分别为 1.32%、1.99%、2.14%、1.64%、1.93%、2.06%。

2.2.7 重复性试验 取同一批苍耳子药材 (S5) 样品 6 份, 按“2.2.3”项下供试品溶液制备方法操作, 采用上述色谱条件分别进样 10 μL , 由标准曲线求

出各分量, 结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸质量分数的 RSD 分别为 2.17%、2.05%、1.98%、1.58%、2.81%、2.56%。

2.2.8 加样回收率试验 称取 S5 样品 0.2 g, 精密称定, 共 6 份, 分别置 10 mL 量瓶中, 加入各对照品溶液适量, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 计算得新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸的平均回收率分别为 97.78%、99.47%、98.39%、98.49%、97.65%、96.87%, RSD 分别为 2.01%、3.23%、2.75%、2.81%、1.75%、1.48%。

2.2.9 样品测定 分别称取苍耳子生品及炮制品粉末(过 50 目筛) 0.3 g, 精密称定, 按照“2.2.3”项下方法进行供试品溶液的制备, 采用“2.2.1”项色谱条件测定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸 6 种酚酸的量。实验结果(表 1)表明苍耳子经炮制后, 6 种酚酸类成分的量较高, 且控温砂炒苍耳子(砂炒 1)中各酚酸类成分总量最高。

2.3 羧基苍术苷和苍术苷的定量测定

2.3.1 色谱条件 在前期研究的基础上^[10], 优选的最佳色谱条件为 Agilent CT-C₁₈ 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钠水溶液 (4% 氢氧化钠调 pH 值 6, 62 : 38), 检测波长 203 nm; 体积流量 0.8 mL/min; 进样体积 5 μL ; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称定羧基苍术苷 6.22 mg 和苍术苷 5.73 mg, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 摇匀。再精密称定上述对照品溶液各 1 mL, 置于 5 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 摇匀, 制成含羧基苍术苷 124.4 $\mu\text{g/mL}$ 、苍术苷 114.6 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 方法同“2.2.3”项方法。

2.3.4 定量测定 按“2.2.3”项下方法制备各供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件, 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液, 自动进样器进样, 计算各样品中羧基苍术苷与苍术苷的量, 结果见表 1, 研究表明, 苍耳子生品中羧基苍术苷的量较高, 炮制后各样品羧基苍术苷的量降低, 苍术苷的量较高, 且改进后的控温砂炒苍耳子(砂炒 1)中各成分最低, 说明炮制后, 苍耳子毒性成分羧基苍术

表 1 苍耳子炮制品和生品的定量测定和指纹图谱相似度

Table 1 Quantitative determination and similarity of processed and raw *Xanthii Fructus*

样品	序号	质量分数/(mg·g ⁻¹)								相似度
		新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	3,5-二咖啡酰奎宁酸	4,5-二咖啡酰奎宁酸	羧基苍术苷	苍术苷	
生品	S0	0.055	3.241	0.139	0.125	0.481	0.044	3.252	1.466	0.997
清炒	S1	0.074	3.350	0.191	0.038	0.482	0.078	0.624	2.135	0.998
	S2	0.094	3.184	0.209	0.033	0.450	0.052	0.175	2.469	0.999
	S3	0.047	2.644	0.115	0.031	0.634	0.066	0.921	1.456	0.996
	S4	0.053	2.951	0.131	0.057	0.672	0.079	1.114	1.875	0.997
	S5	0.070	3.228	0.166	0.065	0.663	0.081	1.075	2.052	0.998
	S6	0.074	3.311	0.167	0.035	0.458	0.057	0.671	2.838	0.999
砂炒 1	S7	0.072	3.988	0.176	0.084	0.717	0.109	0.535	1.519	0.997
	S8	0.055	3.505	0.145	0.105	0.504	0.064	0.527	0.697	0.997
	S9	0.061	3.652	0.145	0.182	0.700	0.073	0.645	1.185	0.997
	S10	0.066	4.054	0.158	0.109	0.754	0.078	0.694	0.961	0.998
	S11	0.062	3.948	0.139	0.108	0.693	0.084	0.727	0.905	0.998
	S12	0.056	3.679	0.149	0.111	0.675	0.078	0.616	0.843	0.998
砂炒 2	S13	0.174	2.349	0.324	0.004	0.320	0.068	0.913	1.772	0.984
	S14	0.133	2.477	0.272	0.009	0.339	0.090	0.864	1.899	0.988
	S15	0.145	2.748	0.292	0.016	0.538	0.100	1.023	2.388	0.989
	S16	0.162	2.513	0.308	0.008	0.355	0.072	1.057	2.292	0.987
	S17	0.156	2.247	0.299	0.004	0.390	0.083	0.990	1.949	0.986
	S18	0.116	2.752	0.254	0.013	0.567	0.094	1.034	2.480	0.989

苷可能部分转化为苍术苷；也可能被温度破坏，说明炮制后，可降低毒性成分，为苍耳子炮制工艺改进提供了实验依据。

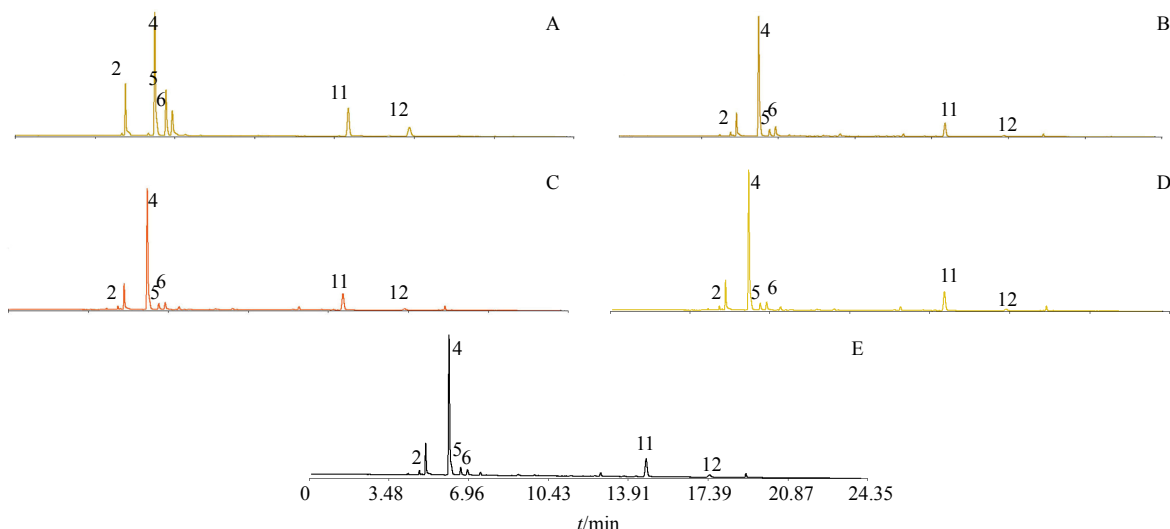
2.4 指纹图谱分析

2.4.1 苍耳子指纹图谱的测定及特征峰指认 精密吸取苍耳子炮制样品和生品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样，测定样品的指纹图谱。采用中国药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2004 年版 A) 处理图谱，生成混合对照品、苍耳子生品和炮制品的共有模式的 UPLC 色谱图，见图 1，结果表明，共匹配了 13 个色谱峰，通过对照保留时间，指认了其中的 6 个峰，分别为 2 号峰（新绿原酸）、4 号峰（绿原酸）、5 号峰（隐绿原酸）、6 号峰（咖啡酸）、11 号峰（3,5-二咖啡酰奎宁酸）、12 号峰（4,5-二咖啡酰奎宁酸）。

2.4.2 UPLC 特征指纹图谱的建立和相似度分析 将 19 个苍耳子炮制品和生品实验数据导入色谱指纹图谱系统软件，经选峰，设定匹配模式，将谱峰自动匹配，以 S1 号样品图谱作为参照谱进行指纹

匹配，对各样品色谱图的原始数据进行分析，确定了 13 个共有峰，并进行了相似度计算，见图 2 和表 1。相似度计算结果表明 19 个苍耳子样品指纹图谱的相似度均大于 0.98，相似度良好，说明炮制品内在成分与对照指纹图谱整体相似。因此，19 个苍耳子炮制品和生品生成的共有模式指纹图谱可作为苍耳子的特征指纹图谱。

2.4.3 样品的聚类分析 为了更直观地、准确地比较苍耳子不同炮制工艺的差异性，以每个炮制样品特征峰的峰面积为指标，采用 SPSS 19.0 软件，进行聚类分析研究，结果见图 3，19 个苍耳子样品大致可聚为 4 大类，I 类砂炒苍耳子 1，包括 S9、S12 和 S8，质量最好；II 类砂炒苍耳子 1，包括 S7、S11 和 S10，质量较好；III 类清炒和生品，包括 S2、S6、S1、S、S5、S3 和 S4，质量次之；IV 类砂炒 2，包括 S14、S15、S13、S16、S17 和 S18，与前 3 类样品差异较大，质量最差。以 13 个共有峰峰面积为指标的聚类分析结果与指纹图谱和相似度分析后的总体趋势一致，因此，本研究可以推测不同炮制工艺



2-新绿原酸 4-绿原酸 5-隐绿原酸 6-咖啡酸 11-3,5-二咖啡酰奎宁酸 12-4,5-二咖啡酰奎宁酸
 2-neochlorogenic acid 4-chlorogenic acid 5-implicit chlorogenic acid 6-caffeic acid 11-3,5-dicaffeoylquinic acid 12-4,5-dicaffeoylquinic acid

图 1 混合对照品 (A)、苍耳子生品 (B)、砂炒 1 (C)、砂炒 2 (D) 和清炒 (E) 的共有模式的 UPLC 图

Fig.1 UPLC of mixed reference substances (A), raw (B), sand fried 1 (C), sand fried 2 (D), and stir-fried (E) processed *Xanthii Fructus*

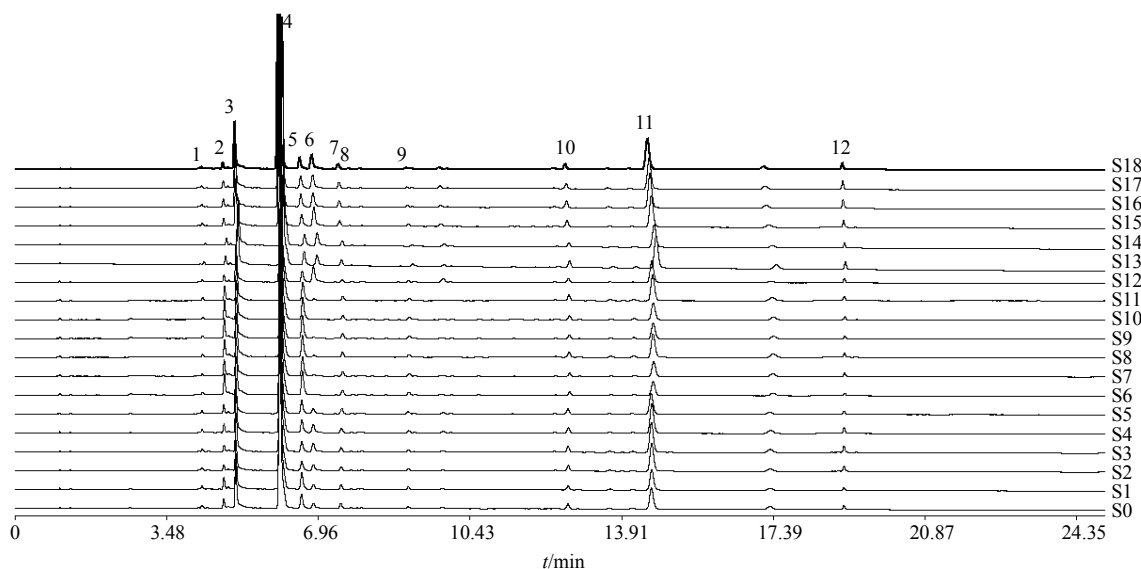


图 2 苍耳子炮制品和生品的 UPLC 特征指纹图谱

Fig.2 UPLC fingerprint of processed and raw *Xanthii Fructus*

苍耳子的比较中,改进的控温砂炒苍耳子(砂炒 1)炮制工艺稳定,可靠,重现性好。

2.4.4 样品的偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA)
 PLS-DA 是一种多因变量对多自变量的回归建模方法。采用 SPSS 19.0 软件对 19 个炮制样品和生品的峰面积数据进行归一化后,导入 SIMCA 13.0 软件,建立 PLS-DA 数学模型,见图 4-A。PLS-DA 得分图,可将样品清晰地分为 4 类。砂炒苍耳子 1 中各成分最高,与相似度、聚类分析分析的结果

基本一致。PLS-DA 分析反映各炮制品和生品间的差异,且 19 个样品进行预测,模型建立稳定、可靠。VIP 得分图(图 4-B)显示,色谱峰变量对样品分类影响大小排序为峰 5>峰 4>峰 8>峰 11>峰 1>峰 12>峰 7>峰 10>峰 14>峰 6>峰 2>峰 13>峰 3>峰 9;其中 VIP 值>1.0 的色谱峰共有 8 个,分别是峰 5、峰 4、峰 8、峰 11、峰 1、峰 12、峰 7、峰 10,说明这 8 个成分的色谱峰对分类具有显著性的差异。

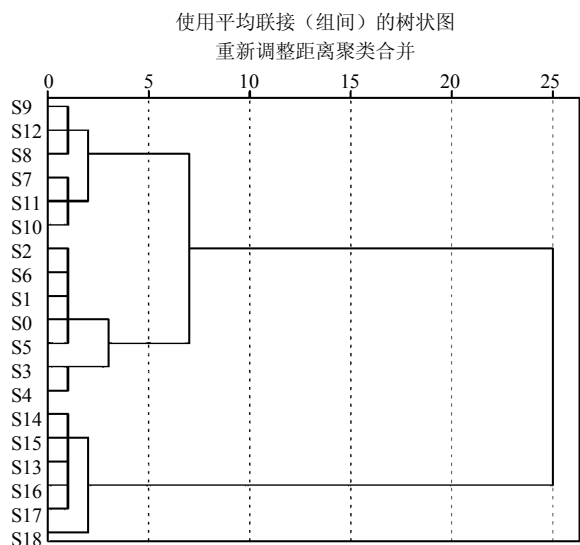


图 3 苍耳子炮制品和生品的聚类分析

Fig. 3 Hierarchical cluster analysis of processed and raw *Xanthii Fructus*

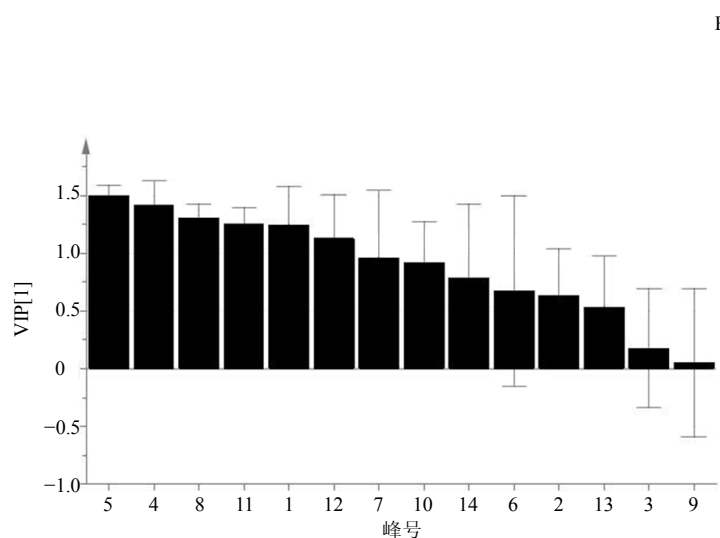
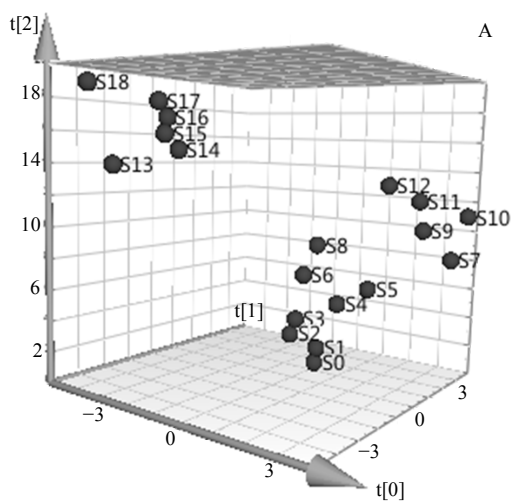


图 4 苍耳子炮制品和生品的 PLS-DA 得分图 (A) 和 VIP 得分图 (B)

Fig. 4 PLS-DA scores plot (A) and VIP plot (B) of processed and raw *Xanthii Fructus*

品的酚酸类成分的含量较高，故本实验选择其作为控温砂炒苍耳子（砂炒 1）炮制工艺的最佳工艺条件，且炮制后的毒性成分含量较低。

在指纹图谱数据处理中，发现绿原酸的量很高，用相似度法分析时，它的影响很大，容易导致各样品相似度都很高，体现不出炮制品的优劣，而 PLS-DA 法^[13-15]通过对不同组分量的变化分析，能够清晰、准确的将不同工艺的炮制样品分组。本实验选择采用有监督的 PLS-DA 方法，能使不同炮制样品组完全分开，体现其质量差异。

实验在课题组前期研究和文献基础上^[16]，对色

3 讨论

《本草纲目》中，苍耳子有“入药炒熟，去刺用”的记载。苍耳子机械去刺方法简单，且去刺后便于运输和炮制，目前市售的生品苍耳子多已去刺。鉴于上述情况，本实验考虑对其炮制工艺适当改进，即对去刺后的苍耳子，以砂炒法进行炮制。以河沙为加热介质，传热速度快，河沙颗粒小可充分包裹药材，使其表面受热均匀，且砂炒后几乎无破裂现象，保证了药材的外观质量。因此，炒砂法较清炒法具有较明显的优势。

近年对苍耳子炮制的研究主要集中在降低毒性和增强疗效等方面^[11]，酚酸类成分的定量测定测定易受光线和温度等影响，因此要严格控制实验条件。课题组前期对苍耳子砂炒的温度和时间进行考察^[12]，确定了苍耳子炮制的最佳砂炒法工艺，炮制温度为 160 ℃，炮制时间 7 min 左右。此工艺炮制

谱条件、样品处理方法等均进行了优化，建立的实验方法稳定、可行。实验建立了不同炮制工艺指纹图谱，采用了相似度评价、聚类分析、PLS-DA 等分析方法，结合活性成分和毒性成分的量变化，对其炮制工艺进行了比较，研究结果表明改进后的控温砂炒苍耳子（砂炒 1）较传统工艺活性成分量高且毒性成分含量较低，能达到传统鉴定的外观质量标准；实验建立的含量测定、指纹图谱分析方法稳定、可靠，重现性好。实验结果表明，改用砂炒法炮制苍耳子具有一定的可行性，但能否最终代替清炒法仍需要药效、毒理学方面进一步的实验验证。

参考文献

- [1] 崔秀荣, 马海波, 张旗, 等. 苍耳子的化学成分和临床应用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 614-618.
- [2] 韩婷, 李慧梁, 胡国, 等. 苍耳子中酚酸类化合物及不同品种和居群苍耳子中总酚酸含量的测定 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 4(2): 194-198.
- [3] 陈洁, 王瑞, 师彦平. 苍耳子的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(13): 1717-1720.
- [4] 杨柳, 苏芝军, 许舜军, 等. UPLC 法同时测定苍耳子中 4 种酚酸类成分的含量 [J]. 药学学报, 2010, 45(12): 1537-1540.
- [5] Han T, Zhang Q Y, Zhang H, *et al.* Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of *Xanthium* fruit (Cang-Er-Zi) by high-performance liquid chromatography-diode-array detection tandem mass spectrometry method [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 634(2): 272-278.
- [6] Obatomi D K, Thanh N T, Brant S, *et al.* The toxic mechanism and metabolic effects of atractyloside in precision-cut pig kidney and liver slices [J]. *Arch Toxicol*, 1998, 72(8): 524-530.
- [7] 金传山, 吴德林, 张京生. 不同炮制方法对苍耳子成分及药效的影响 [J]. 安徽中医学院学报, 2000, 19(1): 54-56.
- [8] Huang M H, Wang B S, Chiu C S, *et al.* Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii Fructus* extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(2): 545-552.
- [9] 刘树民, 曹敏, 武斌, 等. 基于 UPLC-TOF /MS 的苍耳子不同部位化学成分研究 [J]. 中药材, 2013, 36(6): 924-929.
- [10] 韩燕全, 洪燕, 夏伦祝, 等. UPLC 指纹图谱技术结合毒性成分含量优选苍耳子的炮制工艺 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1248-1254.
- [11] 安靖, 王耀登, 盛昌翠, 等. 苍耳子炮制前后羧基苍术苷和苍术苷的含量比较 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(11): 1910-1913.
- [12] 洪燕, 韩燕全, 夏伦祝, 等. 不同炮制时间和温度对苍耳子中 2 种酚酸含量的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(4): 82-85.
- [13] Yang L, Su Z, Zeng X, *et al.* Quality assessment of *Fructus xanthii* based on fingerprinting using high-performance liquid chromatography [J]. *JAOA CInt*, 2012, 95(4): 1053-1058.
- [14] 李瑞煜, 张定堃, 韩雪, 等. 基于代谢组学方法的制附片煎煮过程成分变化规律及煎煮时限探讨 [J]. 中草药, 2016, 47(1): 38-45.
- [15] 李娟, 张松, 秦雪梅, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的款冬花生品与蜜炙品化学成分比较 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3009-3016.
- [16] 李钰馨, 韩燕全, 洪燕, 等. 多指标正交试验优选炮苍耳子中酚酸类成分的提取工艺 [J]. 安徽中医药大学学报, 2015, 34(4): 82-85.