

• 综 述 •

基于药效物质基础的熟地黄质-效评价研究进展

杜珂^{1,2}, 高晓霞¹, 王 锋³, 王佩义³, 秦雪梅^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 山西广誉远国药有限公司, 山西 太谷 030800

摘 要: 通过综述熟地黄的化学成分、活性成分药理作用、炮制研究, 阐释熟地黄的药效物质基础, 从整体的角度探究不同炮制程度熟地黄的全面质-效评价, 以期揭示熟地黄炮制的科学内涵, 为熟地黄的质-效评价和炮制终点的确定提供新的思路。

关键词: 熟地黄; 药效物质基础; 炮制; 代谢组学; 质-效评价

中图分类号: R284; R283.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)06-1477-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.06.033

Research progress on quality and efficacy evaluation of *Rehmanniae Radix Praeparata* based on pharmacodynamic material basis

DU Ke^{1,2}, GAO Xiao-xia¹, WANG Feng³, WANG Pei-yi³, QIN Xue-mei¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Shanxi Guangyuyuan Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Taigu 030800, China

Abstract: The chemical constituents, pharmacological action of active components, and processing of *Rehmanniae Radix Praeparata* were reviewed in this study to explain its pharmacodynamic material basis and explore the quality and efficacy evaluation of *Rehmanniae Radix Praeparata* with different processing degrees from the view of the whole. This paper is expected to reveal the scientific connotation of processing, providing new research ideas for the quality and efficacy evaluation and the determination of the possessing end-point of *Rehmanniae Radix Praeparata*.

Key words: *Rehmanniae Radix Praeparata*; pharmacodynamic material basis; processing; metabonomics; quality and efficacy evaluation

地黄系玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根。《中国药典》2015 年版^[1]收录了地黄(鲜地黄、生地黄)及其炮制品熟地黄, 其生熟之品性味功效迥异。鲜地黄性寒, 味甘苦, 具有清热生津、凉血止血之功效; 生地黄是鲜地黄经过烘焙至约 8 成干而成, 性寒, 味甘, 具有清热凉血、养阴生津之功效; 熟地黄是生地黄经过酒炖或蒸制而成, 性温, 味甘, 具有补血滋阴、

益精填髓之功效。三者之间药性迥异^[2]归因于在加工炮制过程中其化学成分种类和含量发生变化。

熟地黄的炮制加工方法^[3]始载于南北朝雷敫的《雷公炮炙论》, 炮制方法发展至今, 由最初的 2 次蒸晒发展到九蒸九晒, 再从单一辅料(酒)的炮制演变至多种辅料(酒、砂仁、茯苓等)的反复蒸制, 直到现行标准又简化为一次性蒸制和酒炖, 熟地黄制法各异, 主要为加工方法和所用辅料、蒸制次数

收稿日期: 2018-11-12

基金项目: 山西省科技重点研发计划项目(201603D3113006); 山西省重点实验室项目(201605D111004); 山西省科技创新重点团队项目(201605D131045-18)

作者简介: 杜珂(1995—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药复方药效作用研究。Tel: 15536831390 E-mail: 529175202@qq.com

*通信作者 秦雪梅, 女, 博士, 教授, 主要从事中药质量控制及新药研发方面的工作。Tel: (0351)7011501 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

及时间等方面的不同。传统九蒸九晒地黄炮制品^[4]不仅具有“黑如漆，亮如油，甘之饴”的优点，而且在炮制中借黄酒行散之力以增强熟地黄通血脉、补血的功效；同时地黄通过反复蒸晒，使其厚重之气得以散失，克服了湿腻之性，增强了补益的功效。现今大都仍遵循“光黑如漆，味甘如饴”的质量评价标准，以“九蒸九晒”为达到炮制终点的制作要求和理想状态，同时还需符合“太过则性味发酸”的准则^[5]。为保证熟地黄的质量稳定性，必须建立科学完备的质量评价体系，《中国药典》2015 年版鉴别项下以薄层鉴别毛蕊花糖苷来鉴别熟地黄，含量测定项下以毛蕊花糖苷质量分数不少于 0.020% 为限量，评价方式较为单一。近年来，国内外学者在熟地黄的化学、药理、炮制等方面做了大量研究工作，为熟地黄的质-效评价奠定了基础。为更加明确熟地黄的药效物质基础，全面揭示熟地黄炮制的科学内涵，本文通过查阅文献，对熟地黄化学成分、药理作用、炮制研究进行综述，并展望了结合效应代谢组学，从化学、药理、不同炮制程度等角度全面评价熟地黄质量，以期对熟地黄的质-效评价和炮制终点的确定提供新的思路。

1 熟地黄炮制前后化学成分变化

地黄经炮制后化学成分发生了一定的变化，开展熟地黄化学成分的相关研究是探究其多种药理作用的基础，也是从化学角度探索熟地黄质量评价方法的前提。

1.1 环烯醚萜及其苷类化合物

地黄中环烯醚萜及其苷类化合物^[6]主要有梓醇、乙酰梓醇、益母草苷、地黄苷 A、B、C、D、地黄素等。地黄中的地黄苷 A、D 的含量比熟地黄高，梓醇为鲜地黄中含量最高的环烯醚萜苷，在加工炮制后其含量有所下降。据报道^[7]，9 次蒸晒后，熟地黄中益母草苷、密力特苷的含量降低，梓醇和桃叶珊瑚苷含量急剧降低。

1.2 苯乙醇苷类化合物

地黄中苯乙醇苷类成分^[8-10]主要有毛蕊花糖苷、红景天苷、焦地黄苯乙醇苷 D、焦地黄苯乙醇苷 A1、焦地黄苯乙醇苷、异地黄苷、purpleaside C、darendoside B、decaffeoylacteoside、氢化阿魏酸、对羟基苯乙醇松果菊苷、异毛蕊花糖苷等。经过加工炮制苯乙醇苷类成分易水解，故多存在于生地黄中，熟地中含量较少。如毛蕊花糖苷在地黄中的平均含量依次为鲜地黄>生地黄>熟地黄。

1.3 糖类化合物

地黄中的糖类成分占地黄较大比例，分为单糖、寡糖（低聚糖）和多糖。各种糖类成分在鲜地黄、生地黄和熟地黄中含量亦不相同，多糖含量^[11]：鲜地黄（90.2~98.6 mg/g）>熟地黄（65.9 mg/g）>生地黄（31.3~50.5 mg/g）。鲜地黄及生地黄中含量最高的寡糖为水苏糖^[12]，而炮制后熟地黄中水苏糖含量明显降低。因生地蒸制过程中水苏糖以脱果糖为主，生成甘露三糖，故熟地黄中的寡糖以甘露三糖为主。据报道^[13]，棉子糖和蔗糖、毛蕊花糖炮制后含量降低，蜜二糖、甘露三糖、果糖和葡萄糖含量增加。

1.4 呋喃醛衍生物

呋喃醛衍生物在炮制后含量明显上升，5-羟甲基糠醛（5-HMF）在地黄中的平均含量依次为熟地黄>生地黄>鲜地黄^[12]。研究发现其他呋喃醛衍生物 5-(α -D-glucopyranosyl)-2-furancarboxaldehyde（5-GMF）、5-(α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- α -D-glucopyranosyloxymethyl)-2-furancarboxaldehyde（5-GGMF）仅在熟地黄中检测到，生地黄中检测不到，被认为是快速区分生、熟地黄的标志物^[6]。

1.5 微量元素

生药炮制是一个微量元素的转移过程^[14]，一般认为，离子交换态和碳酸盐结合态的微量元素易溶出，易被生物体吸收利用；而氧化物结合态、有机结合态和残渣态的微量元素比较稳定，难以被生物利用^[15]。生地黄中微量元素含量顺序为 Cr>Fe>Al>Cu>Zn>Mn>Sr>Co>Pb^[12]。熟地黄中微量元素含量顺序为 Fe>Al>Cu>Zn>Mn>Sr>Cr>Co>Pb。生地黄炮制成熟地黄后^[16-17]，Fe、Mn、Cu、Zn 元素的含量都有所增加。加酒与不加酒炮制的熟地黄，微量元素含量顺序基本一致。熟地黄中 Sr、Mn 的溶出率略降低，而 Cu 的溶出率有所增高，水炖熟地黄较酒炖熟地黄中 Zn、Al、Fe 的溶出率稍高。

加工炮制过程可致地黄中多种化学成分发生质和量的改变，主要集中在环烯醚萜及其苷类、苯乙醇苷类、糖类、呋喃醛衍生物、微量元素等物质。这些化学成分的变化是导致熟地黄药性改变的物质基础。

2 熟地黄活性成分药理作用

地黄经炮制后其性由寒转温，其味由苦转甘，其功效由清转补，以滋阴补血、益精填髓为主。近

年来,相关学者在熟地黄活性成分的药理作用方面做了大量的研究,为进一步明确熟地黄的药效物质奠定了基础,通过总结分析近年文献,对熟地黄炮制后变化较大的活性成分的药理作用进行综述。

2.1 对血液系统的影响

熟地黄中地黄苷 A、D 有滋阴、补血、降血糖的作用^[18-19],梓醇有降血糖的作用^[20-21]。熟地黄多糖对气血双虚小鼠外周血血细胞状况和血清粒-巨噬细胞集落刺激因子水平均有显著改善作用,可促进机体的造血机能;对血虚模型小鼠白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HB)、血小板(PLT)的保护作用优于熟地黄非多糖部分和熟地黄水煎液,熟地黄多糖为其补血有效部位^[22-23]。研究发现水苏糖和甘露三糖^[24-25]能显著促进骨髓细胞的增殖,具有补血活性,还有降血糖、降血压、调血脂的作用。果糖也表现出较好的造血作用^[26]。5-HMF 对镰状细胞贫血症和改善血液流变学方面具有一定的疗效^[27-28]。熟地黄中 Fe 元素含量较高,可能与其补血功效有关。

2.2 对免疫系统的影响

地黄苷 A^[18,29]、毛蕊花糖苷^[2]、异毛蕊花糖苷和松果菊苷等具有免疫调节作用。熟地黄多糖^[30]可促进细胞凋亡,并有一定调节免疫的作用。5-HMF 通过抑制免疫 BALB/c 小鼠的 Th2 型免疫反应,抑制总免疫球蛋白 E(IgE)和卵清蛋白特异性 IgE 的上调,从而达到抗过敏的效果^[31]。从熟地黄中分离得到的 2,5-二羟基苯乙酮(DHAP)对脂多糖刺激大鼠巨噬细胞引起的炎症反应具有抑制作用^[32]。

2.3 对中枢神经系统的影响

梓醇、毛蕊花糖苷、松果菊苷^[33-36]都被证实具有良好的神经保护作用。熟地黄多糖能够延缓异烟肼致惊厥的发作潜伏期,减少动物死亡数,提示熟地黄多糖对中枢神经系统具有抑制作用^[37]。熟地黄有效成分甘露三糖可保护大鼠海马神经细胞免遭高浓度皮质酮的损伤,通过调节学习记忆信号转导途径中的重要蛋白糖皮质激素受体(GCR)、脑源性神经营养因子(BDNF)、血清和糖皮质激素调节蛋白激酶(SGK)的表达,从而改善高浓度皮质酮致学习记忆功能退化^[38]。水苏糖也有保护神经活性^[2]。5-HMF 可阻断东莨菪碱诱导的大鼠学习缺陷并增强认知功能;保护大鼠海马神经细胞免遭高浓度皮质酮的损伤,通过调节学习记忆信号转导途径中的重要蛋白 P-synapsin I 的表达,在延缓学习记忆功能

退化方面发挥作用^[39-40]。

2.4 肝、肾保护作用

梓醇^[41-42]、毛蕊花糖苷^[43]有保护肾脏的功能,地黄苷 C、桃叶珊瑚苷、野菰酸、红景天苷均有保肝活性。甘露三糖有抗肝损伤活性^[2]。5-HMF 可以通过调节蛋白激酶 R 样内质网激酶-真核翻译起始因子 2 α (PERK-eIF2 α)信号通路保护半乳糖(GalN)/肿瘤坏死因子- α (TNF- α)损伤的肝细胞免受内质网应激诱导的细胞凋亡,这表明 5-HMF 可能是治疗肝病药物的候选者,可显著改善酒精诱导的肝细胞凋亡和脂肪变性^[44-45]。

2.5 其他作用

梓醇有抗胃癌、抗氧化损伤作用^[46-47],毛蕊花糖苷具有保护卵巢功能的作用^[48]。熟地黄多糖能促进肿瘤细胞的凋亡,并有很好的抗氧化作用^[49]。有研究证明,水苏糖、甘露三糖和棉子糖对喉癌细胞和肺癌细胞的生长均显示出一定的抑制作用,其中水苏糖和甘露三糖的作用较强^[2]。果糖等低聚糖还有润肠通便的作用^[50]。5-HMF 能够缓解氧化损伤所导致的红细胞溶血,具有抗氧化活性;还可诱导黑色素瘤 A375 细胞凋亡,在癌症化学预防中具有潜在的应用价值;可抑制大鼠脑缺血再灌注损伤;还是脂肪生成强有力的抑制剂和成骨细胞生成的增强剂,其可能是熟地黄发挥抗骨质疏松作用的成分之一^[51-54]。

综上所述,熟地黄活性成分对血液、免疫、中枢神经系统均显示出药理作用,并有肝、肾保护活性等,由于中药多成分、多靶点、协同作用的特点,炮制后其药理作用的变化尚不能确定具体是哪些成分的增减所导致的,笔者推测可能是由于炮制后成分群比例发生变化造成其药理作用产生变化。综合熟地黄 24 种主要活性成分的现代药理研究,依据文献方法^[55],采用 Cytoscape 软件构建基于主要药效作用的熟地黄化学物质基础网络(图 1)。

3 不同炮制程度熟地黄的质-效评价

3.1 熟地黄炮制过程中化学成分的动态变化

生地黄苦寒清热,炮制成熟地黄后则变成甘温滋补。对其炮制过程中化学成分的动态变化的研究有利于监测炮制过程、确定九蒸九晒的炮制终点及对不同炮制程度熟地黄的质量进行动态监测与评价。

3.1.1 利用红外光谱(FTIR)和正交试验法对炮制终点的确定 樊克锋等^[56]利用 FTIR 对酒炖熟地黄

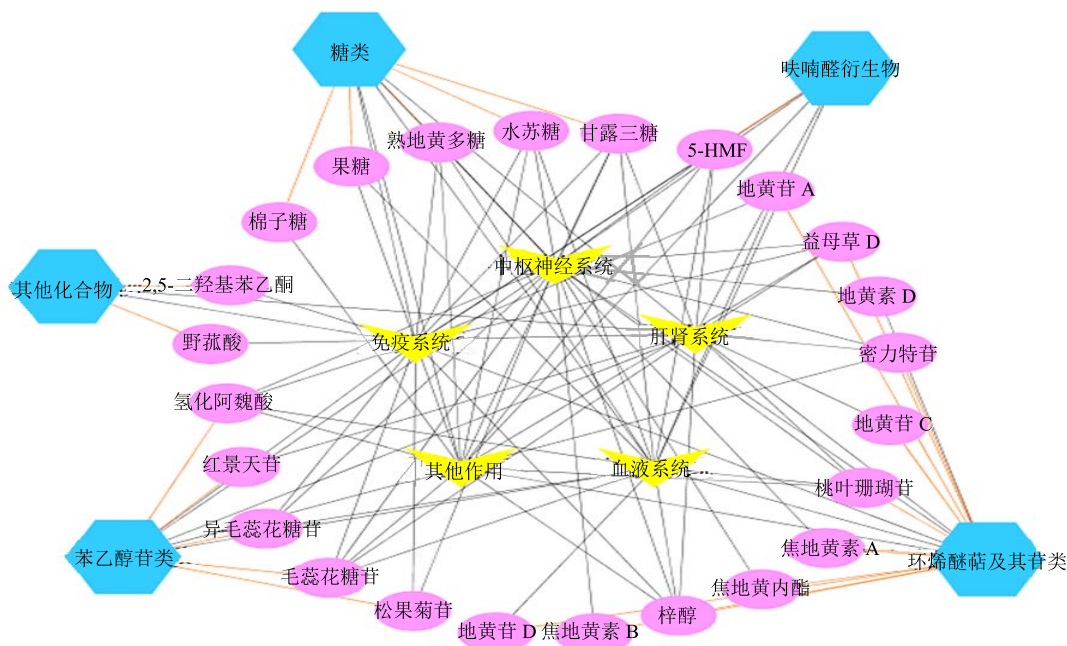


Fig. 1 Chemical substances network of *Rehmanniae Radix Praeparata* based on main pharmacodynamic effects

进行炮制过程和炮制终点的评价分析。结果表明 15 h 时各项指标趋于稳定、特征化。(1) 性状变化: 颜色完全变黑;(2) 谱图特征: 双强峰(1 057、1 026 cm^{-1})、阶梯组峰(817、797、777 cm^{-1})、777 特征峰及二阶导数谱峰(819、800、778 cm^{-1}) 等特征化稳定;(3) 量化指标: 相关峰面积比值持续降低, 在 15 h 时拐点明显且趋于稳定。张静等^[57]采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 以 5-HMF、毛蕊花糖苷、还原性糖、水浸出物含量及性状评分为指标筛选熟地黄的炮制工艺。结果表明最优炮制工艺条件为加黄酒量 40%, 反复 9 次蒸制、每次蒸制 6 h, 70 $^{\circ}\text{C}$ 鼓风干燥。

3.1.2 利用高效液相色谱 (HPLC) 法对炮制过程中物质变化的动态监测 孟祥龙等^[5]基于 HPLC 探讨炮制辅料黄酒对九蒸九晒得到的熟地黄的化学成分动态变化的影响。结果显示, 随蒸晒次数的增加, 清蒸法与酒炖法制得的熟地黄中梓醇、益母草苷、毛蕊花糖苷、水苏糖、蔗糖、棉子糖均减少; 5-HMF、果糖、葡萄糖、甘露三糖均增加。在古法熟地黄九蒸九晒的炮制过程中, 炮制辅料黄酒对炮制品的质量存在显著影响, 且清蒸法与酒蒸法均在第 3、4、6 次蒸晒所得熟地黄的相关物质的量呈现出较大的波动性。

钟恋等^[58-59]应用统计质量法分析电子舌的传感器响应值, 结合 HPLC 法发现地黄蒸制法九蒸九晒

时随着炮制程度加深, 蒸晒 4 次后梓醇和毛蕊花糖苷含量明显下降。而 5-HMF 在蒸晒第 2~9 次过程中含量明显增加。地黄苷 A、D 在整个炮制过程中含量逐渐减少。葡萄糖在第 1 次蒸晒时含量就明显增加, 最后 1 次蒸晒含量有下降趋势。果糖在蒸晒第 4 次时含量增加明显, 蒸制 6~9 次时含量有明显下降趋势。相关性分析表明地黄炮制过程中颜色变化与梓醇、毛蕊花糖苷、5-HMF、地黄苷 A、地黄苷 D 均有显著的相关性。“气味特征”变化与梓醇、毛蕊花糖苷、5-HMF、地黄苷 A、地黄苷 D、葡萄糖均有显著的相关性。“味觉特征”变化与梓醇、5-HMF、地黄苷 A、地黄苷 D 均有显著的相关性。结合“性状”及内在成分聚类分析结果表明, 地黄清蒸炮制过程中蒸晒 5 次为其炮制性状达到火候标准的“拐点”。

3.1.3 利用代谢组学技术对炮制过程中代谢物和标志物的研究

代谢组学的技术平台主要有核磁共振技术（NMR）、气-质联用（GC-MS）及液-质联用（LC-MS）等，并结合多元统计等方法，较为符合中药整体性的特点。

Liu 等^[60]采用 LC-MS 对生地黄和酒炖制熟地黄中目标糖进行定量分析。结果表明水苏糖和蔗糖可能是区分生地黄和熟地黄的合理标记。Chang 等^[61-62]用 GC-MS 联用技术、主成分分析 (PCA) 统计学方法, 对地黄“九蒸九晒”过程的 1、5、9

次蒸晒过程和生地黄的代谢物质进行了分析。结果表明随着蒸制次数的增多, 梓醇和水苏糖的量逐渐减少。PCA 分析结果表明 5 个蒸晒循环后, 结果趋于稳定, 差异变小。经过 $^1\text{H-NMR}$ 、傅里叶红外-质谱联用 (FT-MS)、多元统计分析结果表明, 梓醇、棉子糖和水苏糖含量在炮制过程中逐渐下降, 而单糖 (包括半乳糖和葡萄糖) 在炮制后含量逐渐升高, 代谢物的谱图随加工周期的不同而逐渐变化。差异在第 5 个处理周期后变小。Zhou 等^[7,13]采用基于 UPLC-PDA-QTOF-MS/MS 的非靶标中药次生代谢物组学及基于整合 HPLC (C_{18})-UV、HPLC (NH_2)-ELSD 和 HPGPC-ELSD 多维色谱的靶标中药糖组学方法, 从整体上探寻“九蒸九制”对地黄次生代谢物组和糖组的变化规律。9 次蒸制后, 密力特苷的含量降低, 梓醇和桃叶珊瑚苷 5 次蒸制后几乎检测不到。蒸制过程中苯乙醇苷类化合物含量呈波动性变化。在地黄蒸制过程中, 5-HMF 含量先大幅上升后略有下降。前 4 次蒸制, 总寡糖含量呈下降趋势, 随后趋于稳定。水苏糖、棉子糖和蔗糖第 1 次蒸制后, 含量急剧下降, 5 次蒸制后, 几乎检测不到, 而蜜二糖和甘露三糖急剧增加, 随着蒸制时间的延长含量趋于平稳, 果糖和葡萄糖含量也有所增加。6 次蒸制后, 熟地黄整体品质趋于稳定和均一。在此基础上从生地黄及蒸晒 6 次和 9 次的熟地黄的化学物质组中挖掘出 14 个化学标志物, 分别为苷类 (地黄苷 A、B、D 和毛蕊花糖苷)、呋喃醛衍生物 (5-HMF 及其单糖苷和二糖苷)、单糖 (果糖、葡萄糖)、寡糖 (蜜二糖、蔗糖、甘露三糖、棉子糖及水苏糖) 和多糖等成分。

3.2 不同炮制程度熟地黄的药效和机制研究

随着代谢组学的发展, 中药整体质/效评价方法有了新的进展。中药效应代谢组学可表征内源性代谢产物组及其在中药干预下的变化, 以评价中药的整体生物学效应^[63]。

有研究^[64]整合效应代谢组学和经典药效指标, 从内源代谢干预层面阐明不同炮制次数对熟地黄药效的影响。用环磷酸胺和乙酰苯肼诱导血虚大鼠模型, 比较在血虚状态下, 模型鼠分别灌服生地黄 (RRR0)、蒸晒 6 次的地黄 (PRR6)、蒸晒 9 次的地黄 (PRR9) 水煎液后的药效差异, 结果表明三者补血强度趋势为 $\text{PRR6} > \text{PRR9} > \text{RRR0}$ 。PRR9 和 RRR0 能显著回调的生物标志物 ($P < 0.05$) 主要涉及戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化 (pentose and

glucuronate interconversions) 和鞘脂代谢 (sphingolipid metabolism) 通路, 而 PRR6 除上述通路外, 还涉及乙醛酸和二羧酸代谢 (glyoxylate and dicarboxylate metabolism) 通路。而在用左旋甲状腺素钠诱导的肾阴虚大鼠模型中, 三者滋阴强度趋势为 $\text{PRR9} > \text{PRR6} > \text{RRR0}$ 。PRR6 能显著回调的生物标志物 ($P < 0.05$) 主要涉及鞘脂代谢通路, RRR0 主要涉及戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化通路, 而 PRR9 除涉及上述通路外, 还包括色氨酸代谢 (tryptophan metabolism) 通路。效应代谢组学分析结果表明, 蒸晒 9 次的熟地黄滋阴效果较好, 而 6 次蒸晒后的熟地黄补血效果较好, 并找到了其可能涉及的代谢通路, 但相关的研究还较少, 关于不同炮制程度熟地黄的其他药效研究未见报道。

借助红外、液相、核磁、质谱等检测手段和代谢组学策略对熟地黄的炮制过程进行动态监测, 熟地黄中的化学成分在蒸制 5 次或 6 次达到拐点, 后趋于稳定, 效应代谢组学结果表明, 9 次蒸晒的熟地黄滋阴效果较好, 6 次蒸晒后的熟地黄补血效果较好, 为临床上针对不同用药目的选择不同炮制程度的熟地黄提供了依据。

4 结语与展望

古法熟地黄炮制过程大都要求“九蒸九晒”, 并以“色黑如漆, 味甘如饴”为性味标准来判断炮制终点。借助现代研究手段, 有关学者对熟地黄的药效物质基础做了大量研究, 炮制后环烯醚萜类、苯乙醇苷类、糖类、呋喃醛类等成分发生了变化, 含量升高的成分主要为多糖、甘露三糖、5-HMF 等, 对血液、免疫、中枢神经系统和肝脏等均有药理作用。

熟地黄经常与其他药味配伍使用发挥其功效^[65]。常见的复方有六味地黄丸、龟龄集、定坤丹等。如熟地黄常与当归配伍以更好地发挥其滋阴补血的功效, 熟地黄与山茱萸配伍能更好发挥其保护肝肾的功能, 熟地黄与人参配伍, 益气补血养阴, 气血双补, 阴阳兼顾。临床上, 中药大都以组方发挥疗效, 把握熟地黄常见药对的一般配伍规律, 有利于更好地发挥熟地黄的功效, 进一步阐明龟龄集^[66]等中药组方的内涵。但对于不同炮制程度的熟地黄对于药对、组方的药效影响研究还较少, 如龟龄集等古方为保证优良药效大都采用古法九蒸九晒, 这是对古法炮制工艺的传承, 但其科学内涵亟待阐明, 可通过建立动物模型, 给予含不同炮制次数熟地黄的龟龄集复方, 结合效应代谢组学, 对不同炮制程度的

熟地黄进行整体、全面的质/效评价,进而揭示炮制内涵,确定在组方中熟地黄的炮制终点,优化炮制工艺。

中药具有“整体性、多靶点、协同性”的特点,仅仅从化学层面出发对药材进行质/效评价,不能对中药的复杂体系进行科学诠释,不能体现出中医药复方的优势。结合效应代谢组学,探究不同炮制程度熟地黄对经典组方的贡献程度,从化学、药效等指标对熟地黄的质/效进行评价,进一步明确熟地黄的药效物质基础,为客观诠释地黄传统炮制工艺的科学内涵和创新工艺优化提供科学依据,为中药饮片传统炮制工艺的继承和创新研究提供新思路和新方法。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 刘彦飞. 地黄活性物质与功能研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.
- [3] 江云, 张超. 熟地黄炮制工艺及质量标准的探讨 [J]. 中药与临床, 2017, 8(6): 21-25.
- [4] 张丽萍, 李军, 张振凌, 等. 熟地黄炮制方法的历史沿革 [J]. 河南中医学院学报, 2005, 20(2): 69-71.
- [5] 孟祥龙, 马俊楠, 张朔生, 等. 熟地黄炮制(九蒸九晒)过程中药效化学成分变化及炮制辅料对其影响研究 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 752-759.
- [6] 周丽, 徐金娣, 毛茜, 等. 地黄加工炮制研究新进展及展望 [J]. 中药材, 2016, 39(5): 1184-1190.
- [7] Zhou L, Xu J D, Zhou S S, *et al.* Chemomics-based marker compounds mining and mimetic processing for exploring chemical mechanisms in traditional processing of herbal medicines, a continuous study on *Rehmanniae Radix* [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1530(2): 232-240.
- [8] 李行诺, 周孟宇, 沈培强, 等. 生地黄化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(22): 3125-3129.
- [9] 刘彦飞, 梁东, 罗桓, 等. 地黄的化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 16-22.
- [10] Feng W, Lv Y, Zheng K, *et al.* A new megastigmane from fresh roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2013, 3(5): 333-336.
- [11] 付国辉, 杜鑫. 地黄化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国医药科学, 2015, 5(15): 39-41.
- [12] 杨雨. 地黄炮制品成分分析的研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(7): 1332-1335.
- [13] Zhou L, Xu J D, Zhou S S, *et al.* Integrating targeted glycomics and untargeted metabolomics to investigate the processing chemistry of herbal medicines, a case study on *Rehmanniae Radix* [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1472(2): 74-87.
- [14] 钟伯雄, 张婉, 刘伟志, 等. 炮制对生药化学成分的影响研究概述 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11): 2763-2764.
- [15] 张寒, 张婷盼, 张彦, 等. 不同炮制方法对杜仲中重金属含量及其赋存形态的影响 [J]. 国际药学研究杂志, 2017, 44(5): 437-441.
- [16] 拜玲, 钟进芳, 吴晓云, 等. 生地熟地中矿物元素的测定与分析 [J]. 广东微量元素科学, 2009, 16(10): 50-55.
- [17] 徐旭耀, 唐纯良, 潘荣楷, 等. 火焰原子吸收法测定中草药生地熟地黄中的钙 镁 铁 钾 [J]. 微量元素与健康研究, 2007, 24(6): 19-21.
- [18] 王军, 于震, 李更生, 等. 地黄苷 A 对“阴虚”及免疫功能低下小鼠的药理作用 [J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(1): 22-24.
- [19] 于震, 王军, 李更生, 等. 地黄甙 D 滋阴补血和降血糖作用的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2001, 28(4): 240-242.
- [20] Cai Q, Ma T, Tian Y, *et al.* Catalpol inhibits ischemia-induced premyelinating oligodendrocyte damage through regulation of intercellular calcium homeostasis via $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger 3 [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 1925-1943.
- [21] Xu D, Wang L, Jiang Z, *et al.* A new hypoglycemic mechanism of catalpol revealed by enhancing MyoD/MyoG-mediated myogenesis [J]. *Life Sci*, 2018, 209(18): 313-323.
- [22] 刘培建, 苗明三, 高渐联. 熟地黄多糖对气血双虚小鼠全血细胞及血清粒-巨噬细胞集落刺激因子水平的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(38): 7543-7546.
- [23] 黄霞, 庆慧, 王惠森, 等. 熟地水煎剂及其提取物对小鼠外周血象影响的比较研究 [J]. 中成药, 2002, 24(2): 35-37.
- [24] 武卫红. 地黄寡糖的制备工艺及其药理活性研究 [D]. 济南: 山东大学, 2006.
- [25] 段素芳. 水苏糖的功能及应用 [J]. 饮料工业, 2016, 19(5): 74-78.
- [26] Liang Q D, Gao Y, Tan H L, *et al.* Effects of four Si-Wu-Tang's constituents and their combination on irradiated mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(7): 1378-1382.
- [27] Xu G G, Pagare P P, Ghatge M S, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of ester and ether derivatives of antisickling agent 5-HMF for the treatment of sickle cell disease [J]. *Mol Pharm*, 2017, 14(10): 3499-3511.
- [28] Lin A S, Qian K, Usami Y, *et al.* 5-Hydroxymethyl-2-furfural, a clinical trials agent for sickle cell anemia,

- and its mono/di-glucosides from classically processed steamed *Rehmanniae Radix* [J]. *J Nat Med*, 2008, 62(2): 164-167.
- [29] 于震, 王军, 李更生, 等. 地黄苷 A 对环磷酸腺苷小鼠白细胞减少症的影响 [J]. 中草药, 2001, 32(11): 45-47.
- [30] 管斯琪, 陈培丰, 祝雨田, 等. 熟地黄多糖对阿霉素致小鼠骨髓抑制及免疫功能损伤的影响 [J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(3): 312-315.
- [31] Alizadeh M, Khodaei H, Mesgari Abbasi M, et al. Assessing the effect of 5-hydroxymethylfurfural on selected components of immune responses in mice immunised with ovalbumin [J]. *J Sci Food Agric*, 2017, 97(12): 3979-3984.
- [32] Han Y, Jung H W, Lee J Y, et al. 2,5-dihydroxyacetophenone isolated from *Rehmanniae Radix Preparata* inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide-stimulated RAW264. 7 macrophages [J]. *J Med Food*, 2012, 15(6): 505-510.
- [33] Liu C, Chen K, Lu Y, et al. Catalpol provides a protective effect on fibrillary A β 1-42-induced barrier disruption in an *in vitro* model of the blood-brain barrier [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(6): 1047-1055.
- [34] 梁建庆, 何建成. 复方地黄颗粒和毛蕊花糖苷治疗帕金森病模型大鼠的作用靶标研究 [J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(8): 641-646.
- [35] Geng X, Tian X, Tu P, et al. Neuroprotective effects of echinacoside in the mouse MPTP model of Parkinson's disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 564(1/3): 66-74.
- [36] 高莉, 彭晓明, 霍仕霞, 等. 毛蕊花糖苷改善 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠脑损伤的作用 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 81-85.
- [37] 崔豪, 冯静, 崔瑛, 等. 熟地黄及其多糖中枢抑制作用研究 [J]. 河南中医学院学报, 2006, 21(6): 18-19.
- [38] 张丽娜, 金国琴. 熟地有效成分甘露三糖对高浓度皮质酮损伤的海马神经细胞 SGK/BDNF/GCR 表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(5): 16-20.
- [39] Lee Y, Gao Q, Kim E, et al. Pretreatment with 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde blocks scopolamine-induced learning deficit in contextual and spatial memory in male mice [J]. *Pharmacol Biochem Behavior*, 2015, 134(7): 57-64.
- [40] 张丽娜, 张天良, 金国琴, 等. 5-羟甲基糠醛对皮质酮损伤型海马神经元 P-synapsin I 蛋白表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(9): 2305-2307.
- [41] Jiang P, Xiang L, Chen Z, et al. Catalpol alleviates renal damage by improving lipid metabolism in diabetic db/db mice [J]. *Am J Translat Resh*, 2018, 10(6): 1750-1761.
- [42] Zhang H, Jia R, Wang F, et al. Catalpol protects mice against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury through inhibiting inflammatory and oxidative response [J]. *Oncotarget*, 2017, 9(3): 3887-3894.
- [43] 郑帅, 杨敏. 毛蕊花糖苷治疗糖尿病肾病的研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(16): 3232-3236.
- [44] Jiang Z Q, Ma Y X, Li M H, et al. 5-Hydroxymethylfurfural protects against ER stress-induced apoptosis in GalN/TNF- α -injured L02 hepatocytes through regulating the PERK-eIF2 α signaling pathway [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(12): 896-905.
- [45] Li W, Qu X N, Han Y, et al. Ameliorative effects of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) from *Schisandra chinensis* on alcoholic liver oxidative injury in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(2): 2446-2457.
- [46] Wang Z H, Hu Z S. Catalpol inhibits migration and induces apoptosis in gastric cancer cells and in athymic nude mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103(7): 1708-1719.
- [47] 王园, 刘珂, 邱邴勋, 等. 梓醇调控自噬和凋亡促进 H₂O₂ 诱导的 PC12 细胞存活 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2018, 40(2): 27-34.
- [48] 邓锦芳, 熊英, 王淳, 等. 毛蕊花糖苷对顺铂诱导小鼠卵巢损害的保护作用 [J]. 解剖科学进展, 2017, 23(3): 257-261.
- [49] 梁颖, 李冀, 郭盛磊, 等. 熟地黄多糖对荷瘤小鼠肿瘤组织 Cyt-C 及 Caspase-3 基因表达的影响 [J]. 中医药信息, 2017, 34(3): 24-27.
- [50] 刘晓梅, 彭芝榕, 倪学勤, 等. 低聚果糖、乳酸杆菌对便秘模型大鼠的通便功能影响 [J]. 食品科学, 2013, 34(11): 296-299.
- [51] 赵玲. 5-羟甲基糠醛抗氧化活性及其抑制肿瘤细胞增殖的作用机制 [D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [52] Zhao L, Chen J, Su J, et al. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(44): 10604-10611.
- [53] Zhang J H, Di Y, Wu L Y, et al. 5-HMF prevents against oxidative injury via APE/Ref-1 [J]. *Free Rad Res*, 2015, 49(1): 86-94.
- [54] Tan X L, Zhang Y H, Cai J P, et al. 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde inhibits adipogenic and enhances osteogenic differentiation of rat bone mesenchymal stem cells [J]. *Nat Prod Commun*, 2014, 9(4): 529-532.
- [55] 高耀, 高丽, 高晓霞, 等. 基于网络药理学的逍遥散抗抑郁活性成分作用靶点研究 [J]. 药学报, 2015, 50(12): 1589-1595.
- [56] 樊克锋, 赵建平, 汤法银, 等. FTIR 对酒炖熟地黄炮制

- 终点的量化分析 [J]. 中国兽药杂志, 2017, 51(9): 49-55.
- [57] 张 静, 马 瑛. 多指标综合平衡法-正交试验优化九蒸九晒地黄炮制工艺 [J]. 中国药房, 2016, 27(7): 962-965.
- [58] 钟 恋, 汪云伟, 杨诗龙, 等. 地黄酒炖过程化学成分及“味”的关系 [J]. 中成药, 2015, 37(5): 1041-1044.
- [59] 钟 恋. 基于“性状”和化学成分的清蒸九制地黄过程研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [60] Liu Z R, Lou Z Y, Ding X, *et al.* Global characterization of neutral saccharides in crude and processed *Radix Rehmanniae* by hydrophilic interaction liquid chromatography tandem electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2013, 141(3): 2833-2840.
- [61] Chang W T, Thissen U, Ehlert K A, *et al.* Effects of growth conditions and processing on *Rehmannia glutinosa* using fingerprint strategy [J]. *Planta Med*, 2006, 72(5): 458-467.
- [62] Chang W T, Choi Y H, van der Heijden R, *et al.* Traditional processing strongly affects metabolite composition by hydrolysis in *Rehmannia glutinosa* roots [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59(5): 546-552.
- [63] 吴昱铮, 王广基, 郝海平. 中药代谢组学研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(2): 129-135.
- [64] 周 丽. 基于整体观的地黄“九蒸九制”质/效评价研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [65] 冯永辉. 浅谈熟地黄常见药对的配伍应用 [J]. 陕西中医, 2011, 32(8): 1064-1065.
- [66] 赵晓喆, 赵思俊, 田俊生, 等. 基于药效作用的龟龄集物质基础研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(7): 1424-1431.