

基于指纹图谱和含量测定评价地黄不同入药形式制千金黄连丸质量

张春亚¹, 张威², 李莹莹¹, 雷敬卫^{1*}, 杨颜溶¹, 田瀚举¹, 张娟¹, 赵新梅¹, 段浩瀚¹, 龚海燕¹, 杨春静³, 王笑笑¹

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046
2. 郑州卫生健康职业学院, 河南 郑州 450122
3. 河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 综合评价地黄不同入药形式制千金黄连丸 (Qianjin Huanglian Pills, QHP) 的质量。方法 建立地黄不同入药形式制 QHP 的 HPLC 指纹图谱, 通过多元统计分析及 2 种环烯醚萜苷类成分 (梓醇、益母草苷)、5 种生物碱类成分 (黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱、巴马丁)、5 种糖类成分 (果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖) 定量分析对 30 批地黄不同入药形式制 QHP 的质量进行评价。结果 30 批 QHP 样品指纹图谱相似度较高, 采用 SPSS 19.0 和 SIMCA-P14.1 软件对黄连丸 19 个共有峰峰面积进行系统聚类分析和主成分分析, 30 批样品可按鲜地黄连丸、鲜干地黄连丸、生地黄连丸明显分为 3 类; 采用正交偏最小二乘法-判别分析标记了黄连丸中 8 个差异性成分, 分别为峰 1、6、15 (表小檗碱)、3、4、2 (梓醇)、16、9。含量测定结果表明, 2 种环烯醚萜苷类成分梓醇、益母草苷总含量顺序为鲜干地黄连丸 > 鲜地黄连丸 > 生地黄连丸, 5 种生物碱类成分总含量顺序为生地黄连丸 > 鲜地黄连丸 > 鲜干地黄连丸, 5 种糖类成分总含量顺序为鲜地黄连丸 > 鲜干地黄连丸 > 生地黄连丸, 棉子糖和水苏糖的含量均值顺序为鲜地黄连丸 > 鲜干地黄连丸 > 生地黄连丸, 提示鲜地黄连丸、鲜干地黄连丸中梓醇、益母草苷、棉子糖、水苏糖含量较高, 鲜地黄连丸、鲜干地黄连丸中生物碱类成分含量略低于生地黄连丸。结论 建立的方法操作简便、重复性好, 可用于 QHP 的定性定量分析; 研究结果可为完善 QHP 质量标准提供依据。

关键词: 地黄; 千金黄连丸; 指纹图谱; 梓醇; 益母草苷; 黄连碱; 表小檗碱; 药根碱; 小檗碱; 巴马丁; 果糖; 葡萄糖; 蔗糖; 棉子糖; 水苏糖

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)07-2227-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.07.010

Quality evaluation of Qianjin Huanglian Pills with different medicinal forms of *Rehmanniae Radix* based on fingerprints and components determination

ZHANG Chunya¹, ZHANG wei², LI Yingying¹, LEI Jingwei¹, YANG Yanrong¹, TIAN Hanju¹, ZHANG Juan¹, ZHAO Xinmei¹, DUAN Haohan¹, GONG Haiyan¹, YANG Chunjing³, WANG Xiaoxiao¹

1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
2. Zhengzhou Health Vocational College, Zhengzhou 450122, China
3. The Third Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To comprehensively evaluate the quality of Qianjin Huanglian Pills (千金黄连丸, QHP) with different medicinal forms of Dihuang (*Rehmanniae Radix*, RR). **Methods** The HPLC fingerprints of QHP with different medicinal forms of RR were established. The quality of 30 batches of QHP was evaluated by multivariate statistical analysis and the quantitative analysis of two iridoid glycosides (catalpol, leonuride), five alkaloids (coptisine, epiberberine, jatrorrhizine, berberine, palmatine), and five carbohydrate components (fructose, glucose, sucrose, raffinose, stachyose). **Results** The fingerprints of 30 batches of QHP showed a high similarity. In addition, SPSS 19.0 and SIMCA-P14.1 were used for hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) of the 19 common peak areas of QHP HPLC fingerprints, and the 30 batches of samples were divided into three categories: Xiandi Huanglian Pills (鲜地黄连丸, XD), Xiangan Huanglian Pills (鲜干地黄连丸, XG) and Shengdi Huanglian Pills (生地黄连丸, SD).

收稿日期: 2023-09-07

基金项目: 河南省中医药科学研究专项 (2023ZY3037)

作者简介: 张春亚 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药分析与质量评价。Tel: 18864275411 E-mail: zcy101129@163.com

*通信作者: 雷敬卫, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药分析与质量评价。Tel: (0371)65575596 E-mail: 925390812@qq.com

Pills (生地黄连丸, SD). Eight differential components in QHP were marked by orthogonal partial least squares discrimination analysis (OPLS-DA), which were chromatographic peaks 1, 6, 15 (epiberberine), 3, 4, 2 (catalpol), 16 and 9. The results of content determination showed that the total content of the two iridoid glycosides were in the order of XG > XD > SD, the total content of the five alkaloids were in the order of SD > XD > XG, the total content of the five carbohydrate components were in the order of XD > XG > SD. The average content of raffinose and stachyose were in the order of XD > XG > SD, suggesting that XD and XG contained higher contents of catalpol, leonuride, raffinose and stachyose. XD and XG contained slightly lower contents of alkaloids than SD.

Conclusion The method established in this study is simple and reproducible, and can be used for the qualitative and quantitative analysis of QHP, which can provide a basis for improving the quality standard of QHP.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch.; Qianjin Huanglian Pills; fingerprint; catalpol; ajugol; coptisine; tableberberine; jatrorrhizine; berberine; palmatine; fructose; glucose; sucrose; raffinose; stachyose

千金黄连丸 (Qianjin Huanglian Pills, QHP) 出自药王孙思邈《备急千金要方》, 又名黄连丸, 方中黄连为君, 地黄为臣, 相须配伍, 具有养阴清热、生津止渴的功效。临床上主要用于治疗阴虚热盛型消渴病。书中写到“黄连一斤, 生地黄酒一斤 (张文仲云十斤)。右二味, 绞地黄汁, 浸黄连, 出曝之燥, 复纳之, 令汁尽干之, 捣末”^[1]。此处“生地黄”即现代意义上的鲜地黄, 由此可知原方是鲜地黄绞汁入药, 然而因地黄汁的制备及存放问题, 临床多使用生地黄与黄连配伍。临床上对于古方 QHP 的使用出现变化, 而对于其古今不同制法的成分分析研究较少, 因此, 需要进一步展开研究, 阐明中医遣方用药的科学内涵。目前, 道地产区将鲜地黄快速烘干, 得另一种鲜地黄形式鲜干地黄片, 保留了鲜地黄中的大量化学成分且便于储存, 基于此本研究创新性地将鲜干地黄片用于制备 QHP。

地黄主要含有糖类、环烯醚萜苷类、苯乙醇苷类成分^[2-4], 以梓醇为代表的环烯醚萜苷类成分具有抗氧化、保肝降糖等多种药理作用^[5-7], 以水苏糖为代表的地黄寡糖也是地黄活性组分^[8-9], 具有降低糖尿病大鼠血糖及调节肠道菌群功能^[10]。黄连主要含有异喹啉类生物碱、木脂素、香豆素、黄酮等化学成分, 具有降血糖、抗菌、抗氧化等药理作用^[11-12]。地黄中的寡糖类、苷类成分^[13-14], 黄连中的生物碱类成分^[15-16], 可能是发挥用于治疗糖尿病药理作用的物质基础。

因此, 本实验分别使用鲜地黄汁、鲜干地黄片、生地黄制备 QHP, 得鲜地黄连丸 (Xiandi Huanglian Pills, XD)、鲜干地黄连丸 (Xiangnan Huanglian Pills, XG)、生地黄酒连丸 (Shengdi Huanglian Pills, SD), 在此基础上建立 QHP 的 HPLC 指纹图谱和环烯醚萜苷类、黄连碱类、糖类成分的含量测定方法, 并利用化学计量学分析比较地黄不同入药形式制

QHP 中化学成分的差异, 为完善 QHP 质量标准提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Waters 2695-2998 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; Alltech 2000ES 型蒸发光检测器, 美国奥泰科技 (中国) 有限公司; Venusil XBP C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 天津博纳艾杰尔科技有限公司; Agilent Zorbax NH₂ 色谱柱, 安捷伦科技 (中国) 有限公司; 101-3AB 型电热鼓风干燥箱, 北京中兴伟业仪器有限公司; HQ-700DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; DZKW-4 型电子恒温水浴锅, 北京中兴伟业仪器有限公司; 四号药典筛, 浙江上虞市五四仪器筛具厂; BSA224S-CW 型万分之一天平、CPA225D 型十万分之一电子天平, 赛多利斯科学仪器北京有限公司; FW-100 型高速多功能粉碎机, 北京科伟永兴仪器有限公司。

1.2 试药

对照品益母草苷 (批号 MUST-21121010, 质量分数 ≥ 98.69%)、桃叶珊瑚苷 (批号 MUST-21100811, 质量分数 ≥ 99.10%)、梓醇 (批号 MUST-21041120, 质量分数 ≥ 99.56%)、地黄苷 D (批号 MUST-20101311, 质量分数 ≥ 98.15%) 均购自成都曼斯特生物科技有限公司; 对照品地黄苷 A (批号 wkq20032402, 质量分数 ≥ 98%)、毛蕊花糖苷 (批号 wkq17042401, 质量分数 ≥ 98%) 购自四川省维克奇生物科技有限公司; 对照品 D-无水葡萄糖 (批号 Y19F11J108781, 质量分数 ≥ 98%)、水苏糖 (批号 J04D10R104841, 质量分数 ≥ 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品果糖 (批号 AF21021653, 质量分数 ≥ 98%)、蔗糖 (批号

AF20110803, 质量分数 $\geq 98\%$)、棉子糖(批号AF21081854, 质量分数 $\geq 98\%$)均购自成都埃法生物科技有限公司; 甲醇, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 无水乙醇, 分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司; 甲醇均为分析纯; 娃哈哈水。

1.3 药材

本研究所用黄连饮片购自安徽德昌药业股份有限公司, 产地为四川彭州; 地黄样品于 2022 年 12 月采自河南省焦作市; 经河南中医药大学陈随清教授鉴定, 黄连为毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎, 地黄为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜根茎。

2 方法与结果

2.1 XD、XG、SD 的制备

分别以鲜地黄汁、鲜干地黄汤剂、生地黄汤剂与黄连粗粉混匀制备 XD、XG、SD。QHP 样品制备方法如下, 样品信息见表 1。

表 1 QHP 样品信息

Table 1 Information of QHP

| 药材来源 | | QHP 样品编号 | | |
|------|-------|----------|------|------|
| 黄连 | 地黄 | XD | XG | SD |
| 四川彭州 | 武陟古樊村 | XD1 | XG1 | SD1 |
| 四川彭州 | 武陟古樊村 | XD2 | XG2 | SD2 |
| 四川彭州 | 武陟古樊村 | XD3 | XG3 | SD3 |
| 四川彭州 | 武陟古樊村 | XD4 | XG4 | SD4 |
| 四川彭州 | 武陟张武村 | XD5 | XG5 | SD5 |
| 四川彭州 | 武陟张武村 | XD6 | XG6 | SD6 |
| 四川彭州 | 武陟张武村 | XD7 | XG7 | SD7 |
| 四川彭州 | 武陟张武村 | XD8 | XG8 | SD8 |
| 四川彭州 | 武陟东安村 | XD9 | XG9 | SD9 |
| 四川彭州 | 温县东留村 | XD10 | XG10 | SD10 |

2.1.1 XD 取鲜地黄 500 g, 经原汁机榨汁、滤网滤过得鲜地黄汁 250 mL; 取黄连粗粉 50 g 至托盘中, 少量多次加入全部鲜地黄汁, 混匀后 50 °C 低温烘干, 打粉, 过 4 号药典筛, 干粉保存于干燥器中^[17]。

2.1.2 XG 取鲜地黄 500 g (含水量 80%), 洗净, 切片, 置 70 °C 烘箱, 干燥 24 h, 得 100 g 鲜干地黄片。取 100 g 鲜干地黄片, 一煎加 7 倍量水, 浸泡 30 min, 从沸腾开始计时文火(300 W)煎煮 30 min; 二煎加 6 倍量水, 从沸腾后开始计时, 转文火(300 W)煎煮 20 min^[18]。合并 2 次煎煮液, 调整体积至

500 mL, 得鲜干地黄汤剂。取鲜干地黄汤剂 500 mL, 50 °C 水浴调整体积至 250 mL, 取黄连粗粉 50 g 至托盘中, 少量多次加入鲜干地黄汤剂, 混匀后 50 °C 低温烘干^[17], 过 4 号药典筛, 干粉保存于干燥器中。

2.1.3 SD 参照《中国药典》2020 年版“地黄”项下“生地黄”要求, 将 500 g 鲜地黄置烘箱 50 °C 烘 48 h, 后升温至 70 °C 继续烘至无硬心, 再将温度降至 40 °C 烘至地黄表面发硬, 取出, 用麻袋盖严发汗, 使内部水分往外渗出至表里干湿一致, 后 40 °C 干燥至地黄全身发软, 手握表面发硬, 取出, 放凉^[19], 得生地黄药材, 得率为 20%。切厚片, 得生地黄饮片。取 100 g 生地黄片, 一煎加 7 倍量水, 浸泡 30 min, 从沸腾开始计时文火(300 W)煎煮 30 min; 二煎加 6 倍量水, 从沸腾后开始计时, 转文火(300 W)煎煮 20 min^[18]。合并 2 次煎煮液, 调整体积至 500 mL 得生地黄汤剂。取生地黄汤剂 500 mL, 50 °C 水浴调整体积至 250 mL, 取黄连粗粉 50 g 至托盘中, 少量多次加入生地黄汤剂, 混匀后 50 °C 低温烘干^[17], 过 4 号药典筛, 干粉保存于干燥器中。

2.2 XD、XG、SD 的指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Venusil XBP C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-0.02 mol/L 磷酸二氢钾水溶液, 梯度洗脱: 0~8 min, 5%~10% 甲醇; 8~30 min, 10%~24% 甲醇; 30~50 min, 24%~32% 甲醇; 50~60 min, 32% 甲醇; 60~70 min, 32%~34% 甲醇; 70~80 min, 34%~38% 甲醇; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 35 °C; PDA 检测器检测波长: 0~25 min, 203 nm; 25~80 min, 280 nm; 进样量 5 μ L。

2.2.2 对照品溶液的制备 取梓醇、益母草苷、黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱、巴马丁对照品适量, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得到质量浓度分别为 3.020、0.520、0.535、0.570、0.510、4.500、1.030 mg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取各黄连丸样品约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声(700 W、40 kHz)处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 80% 甲醇补足减失的质量, 滤过, 取 2 mL, 经 0.22 μ m 的微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液, 备用。

2.2.4 精密度试验 取同一供试品溶液(XD1 样

品),按照“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次,以小檗碱为参照峰,计算得到各共有峰的相对保留时间的RSD为0~1.72%,相对峰面积的RSD为0~2.08%,结果表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液(XD1样品),分别在制备后0、2、4、8、12、24 h按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以小檗碱为参照峰,计算得到各共有峰的相对保留时间的RSD为0~1.32%,相对峰面积的RSD为0~2.11%,结果表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.6 重复性试验 取XD1样品6份,按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进样,以小檗碱为参照峰,计算得到各共有峰的相对保留时间的RSD为0~1.56%,相对峰

面积的RSD为0~2.34%,结果表明该方法重复性较好。

2.2.7 相似度评价 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,并按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,采集混合对照品溶液、XD、XG及SD样品的HPLC图,结果见图1、2。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》(2012A版)软件进行评价,以XD1样品图谱为参照图谱,时间窗为0.1 min,采用中位数法进行相似度评价,相似度评价结果见表2。

结果表明,样品间具有较高相似度。经多点校正和Mark峰匹配后生成对照指纹图谱,共标定19个共有峰,通过与对照品对比,分别为梓醇(2号峰)、益母草苷(7号峰)、黄连碱(14号峰)、表小檗碱(15号峰)、药根碱(17号峰)、小檗碱(18号

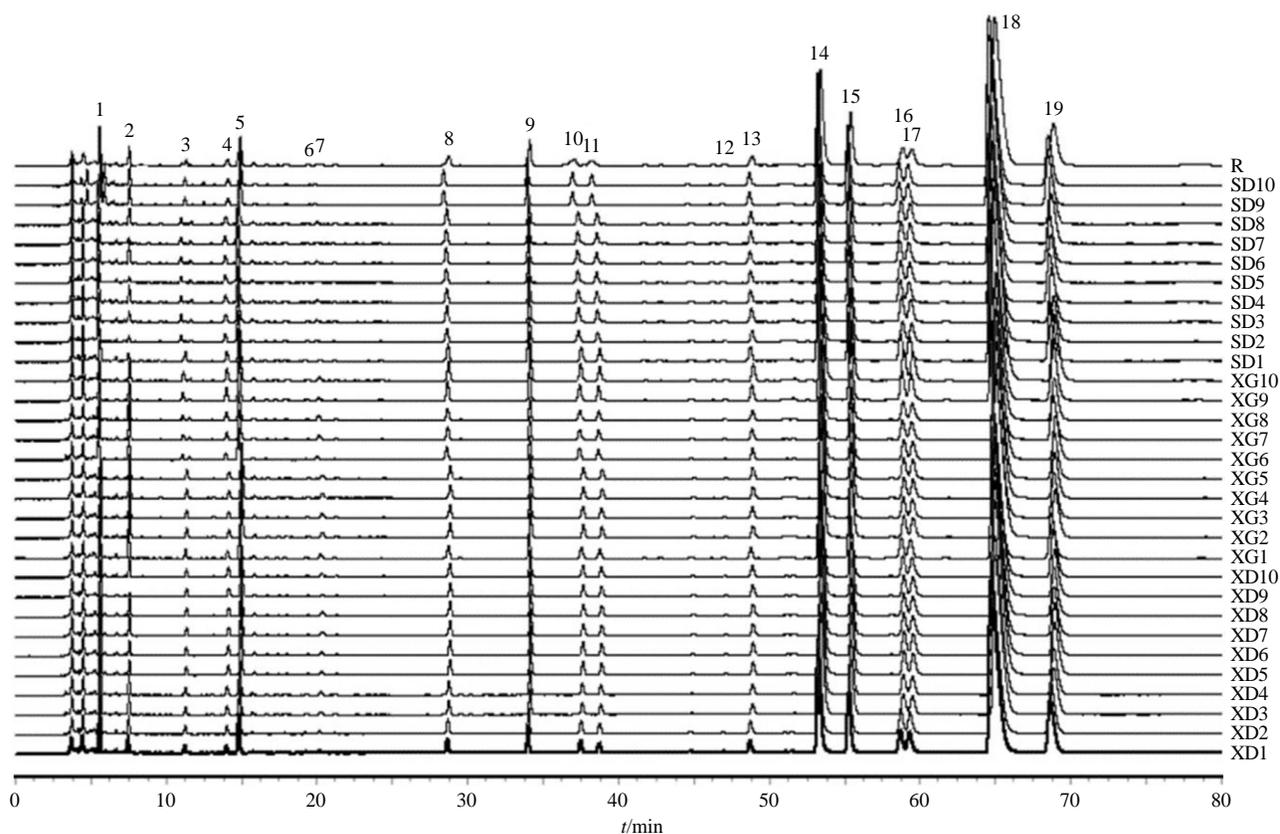


图1 30批QHP样品的HPLC图及其对照指纹图谱(R)

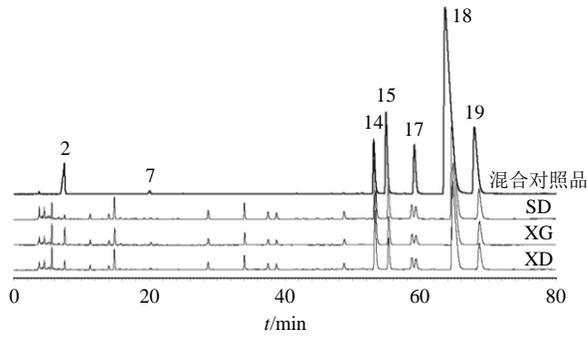
Fig. 1 HPLC fingerprint of 30 batches of QHP and its reference fingerprint (R)

峰)、巴马丁(19号峰)。其中,已指认的2个环烯醚萜苷类成分梓醇和益母草苷来自地黄,黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱、巴马丁来自黄连。

对HPLC图进行差异分析,如图2所示,可知不同入药形式制QHP的HPLC色谱图峰数目无明显区别,而XD及XG中峰1、峰2(梓醇)峰高明显高于SD。

2.3 统计学分析

为了进一步明确XD、XG、SD化学成分的差异,采用系统聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)对XD、XG、SD进行分析。



2-梓醇; 7-益母草苷; 14-黄连碱; 15-表小檗碱; 17-药根碱; 18-小檗碱; 19-巴马汀。

2-catalpol; 7-leonuride; 14-coptisine; 15-epiberberine; 17-jatrorrhizine; 18-berberine; 19-palmatine.

图2 混合对照品和 QHP 样品的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances and QHP sample

表2 30批 QHP 相似度评价

Table 2 Similarity evaluation of 30 batches of QHP

| 样品编号 | 相似度 | 样品编号 | 相似度 | 样品编号 | 相似度 |
|------|-------|------|-------|------|-------|
| XD1 | 0.974 | XG1 | 0.966 | SD1 | 0.965 |
| XD2 | 0.975 | XG2 | 0.956 | SD2 | 0.956 |
| XD3 | 0.961 | XG3 | 0.966 | SD3 | 0.933 |
| XD4 | 0.974 | XG4 | 0.956 | SD4 | 0.949 |
| XD5 | 0.953 | XG5 | 0.965 | SD5 | 0.922 |
| XD6 | 0.973 | XG6 | 0.966 | SD6 | 0.951 |
| XD7 | 0.975 | XG7 | 0.965 | SD7 | 0.951 |
| XD8 | 0.964 | XG8 | 0.967 | SD8 | 0.946 |
| XD9 | 0.965 | XG9 | 0.965 | SD9 | 0.931 |
| XD10 | 0.952 | XG10 | 0.951 | SD10 | 0.933 |

2.3.1 HCA 以 QHP 样品的 19 个共有峰峰面积为原始数据, 采用 SPSS 19.0 软件对数据进行 HCA, 采用 Ward 法, 以平方欧氏 (Euclidean) 距离为分类依据, 得聚类树状图见图 3。当距离为 4 时, QHP 样品可分为 3 类, XD1~XD10、XG1~XG10、SD1~SD10 分别聚为一类, 表明以不同入药形式制备的 QHP 内在质量存在差别; 当距离为 10 时, QHP 样品被分为 2 类, XD1~XD10 和 XG1~XG10 聚为一类, SD1~SD10 聚为一类, 表明 2 个样品组之间存在更大差异。

2.3.2 PCA 将 QHP 样品 19 个共有峰峰面积导入 SIMCA-P 14.1 软件中, 采用非监督模式识别方法 PCA 来观察样品的自然聚集。模型拟合的 3 个主成分对原始资料的解释率分别为 64.769%、13.389%、6.616%, 3 者累积贡献率达到 84.773% > 60%, 表明

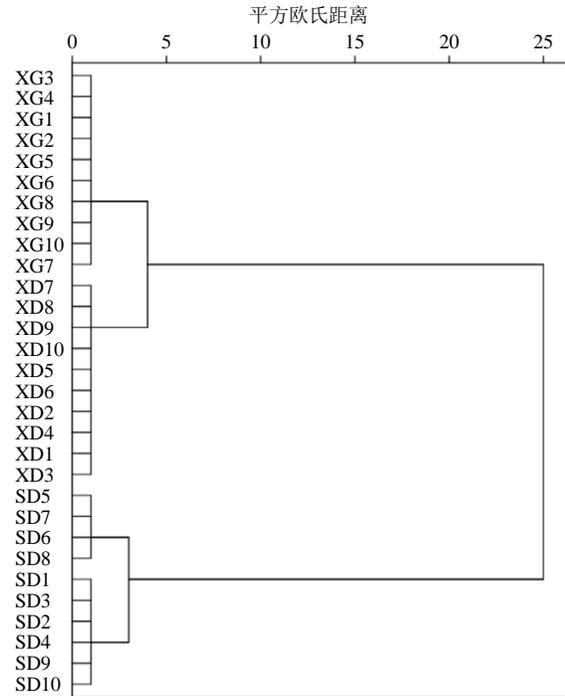


图3 30批 QHP 样品 HCA 树状图

Fig. 3 Dendrogram of HCA for 30 batches of QHP

模型预测良好。PCA 得分图见图 4。可以看出, XD (XD1~XD10)、XG (XG1~XG10)、SD (SD1~SD10) 分别聚为 3 组, 分类结果与地黄不同入药形式密切相关, 说明地黄不同入药形式制 QHP 在成分上的差异可以通过指纹图谱的差异来体现。

2.3.3 OPLS-DA 为了进一步研究造成 XD、XG、SD 差异的主要化学成分, 采用 SIMCA-14.1 软件对样品进行有监督模式的 OPLS-DA, 建立的模型稳定可靠, 散点得分图见图 5。图中 XD、XG、SD 明显聚为 3 类, 该结果验证了 HCA 和 PCA 结果。变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 值见图 6, 以 VIP > 1 为标准, 得到 8 个差异化学成分, 分别为色谱峰 1、6、15 (表小檗碱)、3、4、2 (梓醇)、16、9, 提示这些成分对区分 XD、XG、SD

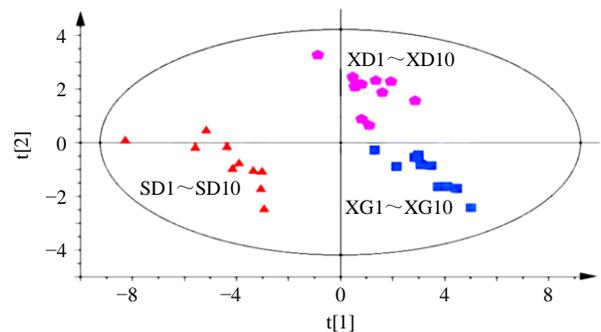


图4 30批 QHP 样品的 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot for 30 batches of QHP

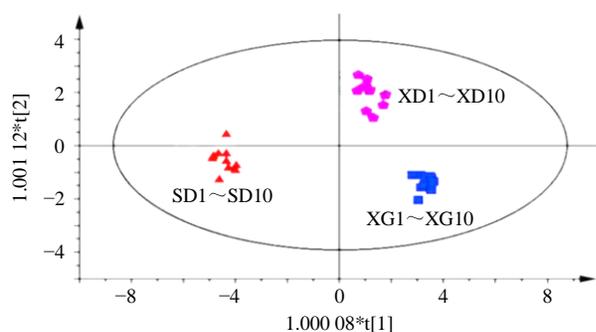


图5 30批QHP样品OPLS-DA得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot for 30 batches of QHP

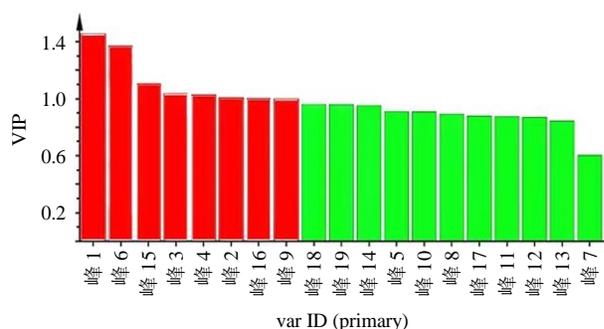


图6 QHP HPLC指纹图谱中19个共有峰的VIP得分图

Fig. 6 VIP score plot of 19 common peaks in HPLC fingerprints of QHP

的贡献较大。

2.4 环烯醚萜苷类、黄连碱类成分含量测定

2.4.1 色谱条件 同“2.2.1”项。

2.4.2 对照品溶液的制备 同“2.2.2”项。

2.4.3 供试品溶液的制备 同“2.2.3”项。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下方法制备的混合对照品溶液0.2、0.4、1.0、2.0、3.0 mL，分别置于10 mL量瓶中，加甲醇定容至刻度，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，分别以梓醇、益母草苷、黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱、巴马丁质量浓度为横坐标(X)，以对应的峰面积为纵坐标(Y)，绘制标准曲线，进行线性回归，得到各成分的回归方程、相关系数(r)及线性范围分别为梓醇 $Y=7\ 049\ 243.43 X-17\ 669.73$ ， $r=0.999\ 6$ ，线性范围60.0~906.0 $\mu\text{g/mL}$ ；益母草苷 $Y=2\ 410\ 724.04 X+8\ 887.17$ ， $r=0.999\ 1$ ，线性范围10.0~156.0 $\mu\text{g/mL}$ ；黄连碱 $Y=40\ 608\ 328.57 X-105\ 142.43$ ， $r=0.999\ 9$ ，线性范围11.0~160.0 $\mu\text{g/mL}$ ；表小檗碱 $Y=57\ 505\ 210.05 X-121\ 178.90$ ， $r=0.999\ 8$ ，线性范围11.0~171.0 $\mu\text{g/mL}$ ；药根碱 $Y=44\ 025\ 436.50 X-17\ 613.58$ ， $r=0.999\ 5$ ，线性范围10.0~153.0 $\mu\text{g/mL}$ ；小檗碱 $Y=47\ 708\ 886.24 X+262\ 093.47$ ，

$r=0.999\ 6$ ，线性范围91.0~1 368.0 $\mu\text{g/mL}$ ；巴马丁 $Y=2\ 410\ 724.04 X+8\ 887.17$ ， $r=0.999\ 1$ ，线性范围21.0~309.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.5 精密度试验 取XD1样品制备的供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样6次，计算各待测成分峰面积的RSD，考察仪器的精密度。结果显示，7个待测成分峰面积的RSD均小于2.02%，表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 取XD1样品制备的供试品溶液，于4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存，分别于供试品溶液制备后0、2、4、8、12、24 h，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算各待测成分峰面积的RSD。结果显示，7个待测成分峰面积的RSD均小于1.80%，结果表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.7 重复性试验 取XD1样品6份，按“2.2.3”项下方法平行制备供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件依次进样测定，计算各待测成分质量分数的RSD。结果显示，7个待测成分质量分数的RSD均小于2.12%，表明该方法的重复性较好。

2.4.8 加样回收率试验 取已测定各指标成分含量的XD1样品9份，每份约0.25 g，精密称定，分3组，分别按QHP样品中梓醇、益母草苷、黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱、巴马丁质量分数的50%、100%、150%加入相应对照品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算QHP样品中7种指标成分的加样回收率及其RSD。结果7种指标成分的平均加样回收率为97.64%~99.71%，RSD为0.74%~1.83%，均小于3%。

2.4.9 样品测定 取表1中的30批QHP样品，分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算各样品中7种指标成分的含量。混合对照品溶液和QHP供试品溶液的色谱图见图2，含量测定结果见表3、4。

由表3可知，QHP中环烯醚萜苷类成分梓醇和益母草苷总含量顺序为 $XG>XD>SD$ ；5种黄连碱类成分总含量顺序为 $SD>XD>XG$ 。由表4可知，10批XD中梓醇的均值为5.743 mg/g，益母草苷的均值为3.511 mg/g，黄连碱的均值为9.256 mg/g；表小檗碱的均值为1.135 mg/g，药根碱的均值为1.471 mg/g；小檗碱的均值为26.092 mg/g，巴马丁的均值为5.176 mg/g；10批XG中梓醇的均值为7.178 mg/g，益母草苷的均值为5.122 mg/g，黄连碱

表3 30批QHP样品中2种环烯醚萜苷类成分、5种生物碱类成分和5种糖类成分含量测定结果

Table 3 Determination results of two iridoid glycosides, five alkaloid components, and five carbohydrate components in 30 batches of QHP

| 样品 编号 | 质量分数/(mg·g ⁻¹) | | | | | | | | | | | |
|----------|----------------------------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|--------|---------|
| | 梓醇 | 益母草苷 | 黄连碱 | 表小檗碱 | 药根碱 | 小檗碱 | 巴马丁 | 果糖 | 葡萄糖 | 蔗糖 | 棉子糖 | 水苏糖 |
| XD1 | 5.863 | 3.602 | 9.170 | 1.130 | 1.414 | 26.126 | 5.154 | 6.635 | 5.040 | 34.819 | 16.595 | 121.834 |
| XD2 | 5.858 | 3.617 | 9.328 | 1.124 | 1.439 | 26.122 | 5.211 | 6.695 | 5.175 | 36.853 | 16.511 | 120.274 |
| XD3 | 5.654 | 3.457 | 9.322 | 1.140 | 1.439 | 26.198 | 5.284 | 6.893 | 5.400 | 36.418 | 16.269 | 121.438 |
| XD4 | 5.808 | 3.609 | 9.370 | 1.125 | 1.427 | 26.246 | 5.162 | 6.974 | 5.176 | 38.188 | 16.084 | 122.526 |
| XD5 | 5.768 | 3.410 | 9.404 | 1.130 | 1.485 | 25.992 | 5.197 | 7.919 | 5.473 | 35.164 | 15.764 | 120.710 |
| XD6 | 5.869 | 3.267 | 9.405 | 1.126 | 1.486 | 26.049 | 5.179 | 8.011 | 5.624 | 36.380 | 17.417 | 121.434 |
| XD7 | 5.769 | 3.517 | 8.920 | 1.138 | 1.489 | 26.051 | 5.210 | 7.955 | 5.499 | 36.839 | 16.604 | 121.431 |
| XD8 | 5.810 | 3.512 | 9.116 | 1.142 | 1.509 | 25.895 | 5.167 | 7.373 | 5.604 | 36.963 | 16.416 | 122.504 |
| XD9 | 5.727 | 3.596 | 9.297 | 1.148 | 1.516 | 26.005 | 5.255 | 6.785 | 5.204 | 36.556 | 15.208 | 119.088 |
| XD10 | 5.307 | 3.526 | 9.226 | 1.147 | 1.509 | 26.235 | 4.944 | 6.336 | 5.120 | 37.103 | 15.170 | 118.497 |
| XG1 | 7.548 | 5.193 | 8.802 | 1.050 | 1.391 | 25.130 | 5.070 | 4.909 | 5.294 | 38.955 | 14.454 | 118.031 |
| XG2 | 7.434 | 5.099 | 8.784 | 1.043 | 1.385 | 25.155 | 5.090 | 4.430 | 5.319 | 39.645 | 14.657 | 117.645 |
| XG3 | 7.336 | 5.013 | 8.841 | 1.046 | 1.389 | 25.180 | 5.100 | 4.794 | 5.257 | 39.849 | 14.623 | 116.210 |
| XG4 | 7.504 | 5.054 | 8.848 | 1.025 | 1.385 | 25.175 | 5.112 | 4.953 | 5.032 | 38.698 | 13.596 | 116.682 |
| XG5 | 7.469 | 5.256 | 8.879 | 1.066 | 1.387 | 23.995 | 5.287 | 5.178 | 5.229 | 38.270 | 14.054 | 115.794 |
| XG6 | 7.522 | 5.188 | 8.829 | 1.061 | 1.390 | 23.950 | 5.286 | 5.332 | 5.387 | 38.767 | 13.339 | 114.931 |
| XG7 | 7.462 | 5.215 | 8.757 | 1.032 | 1.382 | 23.815 | 5.250 | 4.873 | 5.426 | 39.129 | 13.909 | 117.284 |
| XG8 | 7.315 | 5.237 | 8.696 | 1.021 | 1.385 | 23.922 | 5.253 | 5.383 | 5.026 | 38.597 | 14.729 | 117.718 |
| XG9 | 6.073 | 5.034 | 9.638 | 1.068 | 1.407 | 24.242 | 5.260 | 5.080 | 4.932 | 38.658 | 13.894 | 113.517 |
| XG10 | 6.121 | 4.928 | 9.440 | 1.020 | 1.407 | 24.396 | 5.302 | 4.890 | 5.081 | 37.885 | 14.353 | 114.592 |
| SD1 | 3.216 | 1.293 | 10.290 | 1.447 | 1.600 | 29.365 | 6.066 | 8.271 | 5.522 | 32.007 | 12.353 | 101.178 |
| SD2 | 3.249 | 1.252 | 10.968 | 1.466 | 1.618 | 29.346 | 5.897 | 8.447 | 5.459 | 31.691 | 12.038 | 100.384 |
| SD3 | 3.210 | 1.279 | 10.223 | 1.474 | 1.613 | 29.338 | 5.923 | 7.637 | 5.540 | 31.756 | 12.467 | 100.022 |
| SD4 | 3.300 | 1.332 | 11.020 | 1.455 | 1.611 | 29.249 | 5.848 | 7.688 | 5.421 | 33.929 | 12.046 | 102.994 |
| SD5 | 3.320 | 1.428 | 10.259 | 1.388 | 1.654 | 27.556 | 5.622 | 8.010 | 5.445 | 33.629 | 12.452 | 99.714 |
| SD6 | 3.268 | 1.428 | 10.047 | 1.358 | 1.663 | 27.213 | 5.542 | 8.016 | 5.761 | 33.695 | 11.850 | 103.403 |
| SD7 | 3.365 | 1.444 | 10.494 | 1.387 | 1.663 | 27.556 | 5.532 | 8.303 | 5.678 | 32.858 | 12.569 | 100.507 |
| SD8 | 3.323 | 1.362 | 10.581 | 1.409 | 1.661 | 28.263 | 5.731 | 8.304 | 5.427 | 33.574 | 12.124 | 101.034 |
| SD9 | 2.755 | 1.230 | 11.388 | 1.514 | 1.640 | 28.886 | 5.539 | 9.439 | 5.478 | 31.895 | 12.540 | 102.137 |
| SD10 | 2.540 | 1.254 | 11.784 | 1.566 | 1.658 | 31.175 | 6.246 | 9.073 | 5.695 | 31.566 | 11.836 | 98.423 |

的均值为 8.951 mg/g; 表小檗碱的均值为 1.043 mg/g, 药根碱的均值为 1.391 mg/g; 小檗碱的均值为 24.496 mg/g, 巴马丁的均值为 5.201 mg/g; 10批SD中梓醇的均值为 3.154 mg/g, 益母草苷的均值为 1.330 mg/g, 黄连碱的均值为 10.705 mg/g; 表小檗碱的均值为 1.446 mg/g, 药根碱的均值为 1.638 mg/g; 小檗碱的均值为 28.794 mg/g, 巴马丁的均值为 5.795 mg/g。

对XD、XG和SD中7种成分含量进行统计学分析,SD与XD、XG相比7种成分含量均有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.5 糖类成分含量测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax NH₂ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈 (32:68); 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 5 μL。ELSD 参数: 气体体积流量 2.8 L/min, 漂移管温度

表4 2种环烯醚萜苷类成分、5种生物碱类成分和5种糖类成分含量差异性分析 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Analysis of differences of content in two iridoid glycosides, five alkaloid components, and five carbohydrate components ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 样品 | 质量分数/(mg·g ⁻¹) | | | | | |
|----|----------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | 梓醇 | 益母草苷 | 黄连碱 | 表小檗碱 | 药根碱 | 小檗碱 |
| XD | 5.743±0.159 ^b | 3.511±0.104 ^b | 9.256±0.145 ^b | 1.135±0.009 ^b | 1.471±0.036 ^b | 26.092±0.108 ^b |
| XG | 7.178±0.545 ^a | 5.122±0.106 ^a | 8.951±0.301 ^b | 1.043±0.017 ^c | 1.391±0.008 ^c | 24.496±0.564 ^c |
| SD | 3.154±0.262 ^c | 1.330±0.077 ^c | 10.705±0.538 ^a | 1.446±0.060 ^a | 1.638±0.024 ^a | 28.794±1.125 ^a |

| 样品 | 质量分数/(mg·g ⁻¹) | | | | | |
|----|----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | 巴马丁 | 果糖 | 葡萄糖 | 蔗糖 | 棉子糖 | 水苏糖 |
| XD | 5.176±0.087 ^b | 7.158±0.582 ^b | 5.332±0.202 ^b | 36.528±0.911 ^b | 16.204±0.648 ^a | 120.974±1.280 ^a |
| XG | 5.201±0.090 ^b | 4.982±0.264 ^c | 5.198±0.160 ^b | 38.845±0.558 ^a | 14.161±0.452 ^b | 116.240±1.439 ^b |
| SD | 5.795±0.232 ^a | 8.319±0.538 ^a | 5.543±0.118 ^a | 32.660±0.920 ^c | 12.228±0.267 ^c | 100.980±1.447 ^c |

纵向比较具有相同字母的两组差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。

there was no statistically significant difference between the two groups with the same letters in the longitudinal comparison ($P < 0.05$).

85.0 °C, 增益 1。

2.5.2 对照品溶液的制备 取果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖对照品适量, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得到质量浓度分别为 1.590、2.710、11.150、7.440、54.980 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 取 QHP 样品 0.2 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 色谱甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 45 min (功率 500 W、频率 40 kHz), 取出放冷, 称定质量, 补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 2 mL, 经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取“2.5.2”项下混合对照品溶液 0.10、0.50、1.00、1.25、2.50 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 按“2.5.1”项下色谱条件进样测定, 分别以果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖质量浓度的对数为横坐标 (X), 以对应的峰面积的对数为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得到各成分的回归方程、相关系数 (r) 及线性范围分别为果糖 $Y=0.767 X+2.740$, $r=0.999 3$, 线性范围 16.0~238.0 μg/mL; 葡萄糖 $Y=0.854 X+2.895$, $r=0.999 2$, 线性范围 27.0~406.0 μg/mL; 蔗糖 $Y=1.062 X+1.641$, $r=0.999 5$, 线性范围 111.0~1 673.0 μg/mL; 棉子糖 $Y=1.101 X+1.278$, $r=0.999 9$, 线性范围 74.0~1 116.0 μg/mL; 水苏糖 $Y=3.078 X-12.00$, $r=0.999 2$, 线性范围 550.0~8 247.0 μg/mL。

2.5.5 精密度试验 取 XD1 样品制备的供试品溶

液, 按照“2.5.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算各待测成分峰面积的 RSD, 考察仪器的精密度。结果显示, 5 个待测成分峰面积的 RSD 均小于 2.76%, 表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 取 XD1 样品制备的供试品溶液, 4 °C 条件下保存, 分别于供试品溶液制备后 0、2、4、8、12、24 h, 按照“2.5.1”项下色谱条件进样测定, 计算各待测成分峰面积的 RSD。结果显示, 5 个待测成分峰面积的 RSD 均小于 1.86%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.7 重复性试验 取 XD1 样品 6 份, 按“2.5.3”项下方法平行制备供试品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件依次进样分析, 计算各待测成分质量分数的 RSD。结果显示, 5 个待测成分质量分数的 RSD 均小于 3.44%, 表明该方法的重复性较好。

2.5.8 加样回收率试验 取已测定各指标成分含量的 XD1 样品 9 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 分 3 组, 分别按 QHP 样品中果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖质量分数的 50%、100%、150% 加入对照品, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件进样测定, 计算 QHP 样品中 5 种成分的加样回收率及其 RSD。结果 5 种成分的平均加样回收率为 98.57%~99.40%, RSD 为 0.80%~1.56%, 均小于 3%。

2.5.9 样品测定 取表 1 中的 30 批 QHP 样品, 分别按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件进样测定, 计算样品中 5 种糖类成分的含量。混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图见

图7, 含量测定结果见表3。由表3可知, 5种糖类成分含量总值顺序为XD>XG>SD。由表4可知, 10批XD中果糖含量的均值为7.158 mg/g, 葡萄糖的均值为5.332 mg/g, 蔗糖的均值为36.528 mg/g, 棉子糖的均值为16.204 mg/g, 水苏糖的均值为120.974 mg/g; 10批XG中果糖含量的均值为4.982 mg/g, 葡萄糖的均值为5.198 mg/g, 蔗糖的均值为38.845 mg/g, 棉子糖的均值为14.161 mg/g, 水苏糖的均值为116.240 mg/g; 10批SD中果糖含量的均值为8.319 mg/g, 葡萄糖的均值为5.543 mg/g, 蔗糖的均值为32.660 mg/g, 棉子糖的均值为12.228 mg/g, 水苏糖的均值为100.980 mg/g。其中, 棉子糖和水苏糖的含量均值顺序为XD>XG>SD, 与5种糖含量总值一致, 而果糖、葡萄糖的含量均值顺序为SD>XD>XG, 蔗糖的含量均值顺序为XG>XD>SD。对XD、XG和SD中5种糖类成分含量进行统计学分析, SD与XD、XG相比5种糖类成分含量均有显著性差异 ($P<0.05$)。

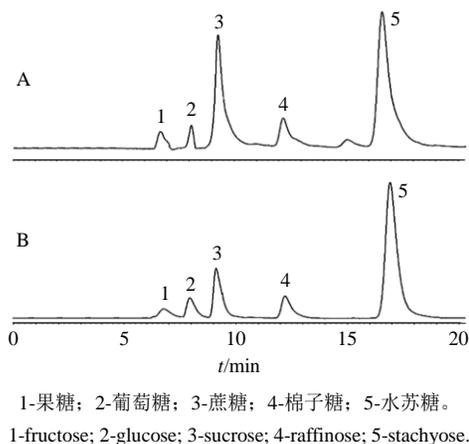


图7 混合对照品 (A) 和 XD1 样品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 7 HPLC of mixed reference substances (A) and XD1 sample (B)

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

考察了甲醇-0.1%磷酸水、甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾、甲醇-0.02 mol/L 磷酸二氢钾、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾、乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾 6 个流动相系统, 结果发现以甲醇-0.02 mol/L 磷酸二氢钾为流动相, 色谱峰的分度度较好, 且基线平稳。考察不同柱温(25、30、35 °C)、不同波长(203、210、230、280、354 nm) 条件下检测、不同体积流量(0.6、0.8、1.0 mL/min)、不同进样量(5、10、20 μL), 发现柱温 35 °C、检测

波长(0~25 min, 203 nm; 25~80 min, 280 nm)、体积流量 0.8 mL/min、进样量 5 μL 时, 供试品溶液中各色谱峰均有较好的分离。

3.2 XD、XG、SD 的质量分析

本研究采用 HPLC 建立了地黄不同入药形式制 QHP 的 HPLC 指纹图谱, 30 批样品具有较高相似度。对 HPLC 指纹图谱进行差异分析, 可知 XD、XG、SD 的 HPLC 色谱图峰数目无明显区别, 而 XD 和 XG 中峰 1、2 (梓醇) 峰高明显高于 SD。采用 HPLC 指纹图谱结合化学计量学分析, 可以将黄连丸样品分为 XD、XG、SD 3 类, 并确定 1、6、15 (表小檗碱)、3、4、2 (梓醇)、16、9 色谱峰对区分地黄不同入药形式制 QHP 的贡献较大。

含量测定研究中, 通过测定 QHP 中环烯醚萜苷类成分梓醇、益母草苷, 发现梓醇和益母草苷总含量顺序为 XG>XD>SD。测定生物碱类成分黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗碱、巴马丁的含量发现, 5 种黄连碱类成分总含量顺序为 SD>XD>XG。测定 5 种糖类成分发现, 5 种糖类成分含量总值顺序为 XD>XG>SD, 棉子糖和水苏糖的含量均值顺序为 XD>XG>SD。统计学分析结果显示, SD 与 XD、XG 相比 2 种环烯醚萜苷类、5 种生物碱类、5 种糖类成分含量均有显著性差异。分析含量测定结果, 发现 XD、XG 中梓醇、益母草苷、棉子糖、水苏糖含量较高, XD、XG 中生物碱类成分含量略低于 SD。其中梓醇具有抗炎、降糖等药理作用, 棉子糖和水苏糖是地黄低聚糖, 主要具有补血、降血糖等药理活性^[14]。研究表明, 黄连单独使用治疗 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 大鼠致死率较黄连丸高^[17], 推测可能与黄连中的生物碱类成分有关, 其可能原因是黄连配伍地黄后, 地黄中梓醇等苷类成分及糖类成分的存在对生物碱类成分溶出存在抑制作用, 因此, 鲜地黄用于制备 QHP 质量更好, 考虑到鲜地黄汁不易储存等问题, 实际应用中可以使用鲜干地黄片来制备黄连丸。下一步可设计临床药理实验探究地黄不同入药形式制 QHP 的药效差异并对梓醇和地黄寡糖配伍黄连治疗糖尿病展开研究。

综上所述, 指纹图谱作为一种中药质量控制模式, 可以结合化学计量学对中药成分进行有效的分析, 并且与多成分含量测定相结合进一步达到中药质量评价^[20]。本研究采集鲜地黄, 创新地将地黄不同入药形式与黄连配伍制备黄连丸, 研究结果揭示

了 XD、XG、SD 中有效成分含量差异,为鲜干地黄片用于制备 QHP 提供科学的参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张印生, 韩学杰. 孙思邈医学全书 [M]. 第 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 380.
- [2] 张波泳, 江振作, 王跃飞, 等. UPLC/ESI-Q-TOF MS 法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(5): 1104-1108.
- [3] 郭琳, 苗明三. 生(鲜)地黄的化学、药理与应用特点 [J]. 中医学报, 2014, 29(3): 37.
- [4] 张银浩, 贾可欣, 罗苜艺, 等. 生地黄、熟地黄水提取物通过抑制铁死亡进程改善肝缺血再灌注损伤的药效对比研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 46-56.
- [5] Gu J F, Zheng Z Y, Yuan J R, *et al.* Comparison on hypoglycemic and antioxidant activities of the fresh and dried *Portulaca oleracea* L. in insulin-resistant HepG2 cells and streptozotocin-induced C57BL/6J diabetic mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 161: 214-223.
- [6] 张月月, 王君明, 巫晓慧. 基于以梓醇为主要成分的地黄环烯醚萜苷生物活性研究 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(12): 75-77.
- [7] 崔锦鹏, 耿晓桐, 张宝, 等. 地黄中环烯醚萜苷类成分在根际土壤中的分布特征研究 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(10): 2492-2497.
- [8] 王君明, 郭晓娜, 冯卫生, 等. 地黄多糖和寡糖的药理作用研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(22): 6603-6605.
- [9] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. 离子交换树脂和活性炭分离提取地黄寡糖工艺探讨 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(5): 400-405.
- [10] 王晓莉, 张汝学, 贾正平. 地黄寡糖灌胃对糖尿病大鼠的降糖作用及对肠道菌群的影响 [J]. 西北国防医学杂志, 2003, 24(2): 121-123.
- [11] 王苗苗, 周雅倩, 顾涓, 等. 中药特色临方炮制品种挖掘——胆黄连饮片的炮制工艺及质量标准研究 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7421-7428.
- [12] 吴心悦, 丁可欣, 葛改变, 等. 胡黄连提取物化学指示性成分与感官指标变化规律研究 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8064-8076.
- [13] 张汝学, 贾正平, 刘景龙, 等. 地黄寡糖对 2 型糖尿病大鼠肝脏糖代谢关键酶活性及基因表达的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 316-320.
- [14] 王明琴, 张雪荣, 吴宿慧, 等. 地黄用于消渴病研究进展 [J]. 新中医, 2021, 53(4): 19-24.
- [15] 李静, 陈泫锦, 余成焯, 等. 中药千金黄连丸的抗动脉粥样硬化作用 [J]. 中南药学, 2021, 19(12): 2569-2575.
- [16] 蒋小飞, 王立军, 李学刚, 等. 黄连中药根碱和表小檗碱的分离及其体外降糖活性 [J]. 贵州农业科学, 2011, 39(9): 44-46.
- [17] 雷蕾. 基于传统用法的千金黄连丸治疗 2 型糖尿病大鼠的药效评价与机制研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2019.
- [18] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.
- [19] 王敏, 刘欢欢, 张婷, 等. 基于化学特征和核心功效的经典名方清胃散中地黄炮制品研究 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 3940-3952.
- [20] 崔婷, 方朝缙, 田甜, 等. 基于 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定的骨碎补不同炮制品差异性研究 [J]. 中药材, 2021, 44(3): 580-585.

[责任编辑 郑礼胜]