

基于指纹图谱和多指标定量分析鲜地黄不同加工方式后化学成分变化

赵新梅¹, 张 威³, 李莹莹¹, 杨春静^{2*}, 雷敬卫^{1*}, 张 娟¹, 谢彩侠¹, 田瀚举¹, 杨颜溶¹

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450046

3. 郑州卫生健康职业学院, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 基于指纹图谱和多指标定量测定对鲜地黄中地黄汁、地黄片、地黄渣的化学成分进行分析与比较, 阐明鲜地黄药材不同加工方法指标性成分的分布规律。 **方法** 采用 HPLC 法建立 10 批地黄汁、地黄片和地黄渣指纹图谱, 相似度分析结合化学模式识别法进行分析。采用 HPLC 法, HPLC-蒸发光散射检测 (ELSD) 法分别测定地黄样品中苷类、糖类成分含量。 **结果** 建立的 HPLC 指纹图谱共标定 14 个共有峰, 聚类分析将样品分为 3 类; 经主成分分析, 主成分 1~3 是影响鲜地黄样品质量的主要因子; 采用正交偏最小二乘-判别法标记了鲜地黄样品中 8 个差异性成分。苷类、糖类成分总含量测定均表明地黄汁>地黄片>地黄渣, 苷类成分中除地黄苷 A 外, 地黄汁中梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 D、益母草苷含量都高于地黄片和地黄渣, 质量分数为 7.43%~7.78%、0.10%~0.11%、0.59%~0.66%、0.69%~0.72%; 糖类成分除棉子糖外, 地黄汁中果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖的含量都高于地黄片和地黄渣, 质量分数为 2.40%~2.55%、1.84%~2.02%、12.33%~12.77%、33.03%~33.45%。 **结论** 通过指纹图谱和含量测定方法, 明确了鲜地黄不同加工方式化学成分变化, 为临床地上地黄汁、地黄片的使用提供参考, 并为地黄渣的回收利用提供科学依据。

关键词: 鲜地黄; 不同加工方式; 含量测定; 指纹图谱; 化学模式识别; 梓醇; 桃叶珊瑚苷; 地黄苷 D; 地黄苷 A; 益母草苷; 毛蕊花糖苷

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)12-4020-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.010

Chemical composition changes of fresh *Rehmanniae Radix* after different processing methods based on fingerprinting and multi-index components determination

ZHAO Xinmei¹, ZHANG Wei³, LI Yingying¹, YANG Chunjing², LEI Jingwei¹, ZHANG Juan¹, XIE Caixia¹, TIAN Hanju¹, YANG Yanrong¹

1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. The Third Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Zhengzhou Vocational College of Health, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To comprehensively compare and evaluate the composition of fresh Dihuang (*Rehmanniae Radix*, RR) juice, tablets and residues samples based on fingerprint analysis and quantitative analysis of multi-components. **Methods** Fingerprints of 10 batches of RR juice, RR tablets and RR residues were established by HPLC, and similarity analysis was combined with chemical pattern recognition method. HPLC and HPLC-evaporative light scattering (ELSD) detection were used to determine the contents of glycosides and sugars in RR samples. **Results** A total of 14 common peaks were identified in the established fingerprints. Cluster analysis classified the samples into three categories; According to the principal component analysis, principal components 1—3 were the main factors affecting the quality of fresh RR samples; Eight differential components in RR samples were marked by partial least squares discrimination analysis. The total content of glycosides and sugars were in the order of fresh RR juice > RR tablets > RR

收稿日期: 2023-11-22

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题 (2023ZY3037)

作者简介: 赵新梅, 女, 硕士, 研究方向为中药质量分析研究。E-mail: 1529190059@qq.com

*通信作者: 杨春静, 女, 学士, 主任药师, 研究方向为临床药学。E-mail: ycj5961@163.com

雷敬卫, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药质量分析研究。E-mail: 925390812@qq.com

residues, glycosides in the RR samples were higher than those in RR tablets and RR residue except for rehmannioside A. The contents of catalpol, aucubin, rehmannioside D, ajugol were all higher than those in RR tablets and RR residue, with the contents ranging from 7.43%—7.78%, 0.10%—0.11%, 0.59%—0.66%, 0.69%—0.72%; Carbohydrate components other than raffinose, the contents of fructose, glucose, sucrose, stachyose in the RR juice were higher than those in the RR tablets and RR residues, with contents of 2.40%—2.55%, 1.84%—2.02%, 12.33%—12.77%, 33.03%—33.45%. **Conclusion** The fingerprint and content determination methods, the changes of chemical composition in different processing methods of fresh RR were clarified to provide scientific and rational references for the use of RR juice and RR tablets in clinic, as well as to provide scientific basis for the recycling of RR residue.

Key words: fresh *Rehmanniae Radix*; different processing methods; content determination; fingerprint; chemical pattern recognition; catalpol; aucubin; rehmannioside D; rehmannioside A; ajugol; verbascoside

地黄为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根, 具有清热凉血、生津润燥功效^[1]。地黄的化学成分有环烯醚萜苷类、糖类成分, 包括梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 D、益母草苷、果糖、葡萄糖、蔗糖、水苏糖^[2-3]等。临床主要以鲜地黄、生地黄、熟地黄 3 种形式入药。目前多以生地黄、熟地黄研究为主, 对于鲜地黄的研究较少。中药以鲜药入药是中医临床用药的一大特色, 温病学的形成和发展使鲜药的使用得到了广泛应用^[4]。

因运输和储存的问题, 使鲜药的使用受到了限制。但是鲜药所发挥的疗效是不可替代的。目前, 临床上治疗糖尿病的化学药都以降糖为目的, 长期使用会出现许多不良反应, 千金黄连丸具有很好的降糖作用, 雷蕾^[5]研究发现处方中地黄以鲜地黄汁入药疗效更好。百合地黄汤具有抗抑郁、镇静催眠、抗焦虑等作用, 处方中地黄使用的就是鲜地黄汁^[6]。李谦等^[7]研究发现, 鲜地黄汁可以降低内毒素、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 水平, 治疗慢性重型肝炎内毒素血症。有研究表明, 鲜药与其加工品比较化学成分、药效会发生变化。贾秀梅等^[8]采用 HPLC-蒸发光散射检测 (ELSD) 法测定鲜地黄、生地黄、熟地黄中的水苏糖含量, 结果表明鲜地黄比生地黄、熟地黄中的水苏糖含量都高。温学森等^[9]研究鲜地黄炮制生地黄、熟地黄过程中 HPLC 指纹图谱的变化, 结果表明鲜地黄经过加工炮制色谱图发生了变化, 生地黄经过烘焙 1 d 后半乳糖峰较鲜地黄和熟地黄显著。王珊等^[10]研究发现鲜地黄在水提物、醇提物实验中抗氧化活性都高于熟地黄和生地黄。

目前, 有对鲜地黄的药理作用、化学成分、不同储存方式、不同炮制时间点等^[11-16]方面的研究, 但关于鲜地黄不同加工方法后化学成分变化尚未报道, 本实验在前期研究基础上, 建立了 HPLC 法,

多糖含量测定方法, 该方法具有检测分辨率和灵敏度高、分析速度快等优势。同时, 前期研究发现, 地黄渣中仍然有较高含量的环烯醚萜苷类化合物及寡糖类成分。赵桐悉等^[17]发现地黄渣色素具有抗氧化性活性、热稳定性、pH 值稳定性较好, 可以将其开发成为饲用色素。王甲^[18]发现地黄药渣经过厌氧处理可以将餐厨垃圾、市政污泥的高无机物含量及重金属等生物质固体废弃物无害化处理, 获得清洁能源。

故本实验对鲜地黄的地黄汁、地黄片及地黄渣进行处理, 测定其化学成分含量, 并对其指纹图谱进行分析, 探讨化学成分在鲜地黄不同加工方式后的变化情况, 为地黄片、地黄汁的临床应用及地黄渣的再利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

对照品桃叶珊瑚苷 (批号 MUST-21100811, 质量分数 $\geq 99.10\%$)、梓醇 (批号 MUST-21041120, 质量分数 $\geq 99.56\%$)、益母草苷 (批号 MUST-21121010, 质量分数 $\geq 98.69\%$)、地黄苷 D (批号 MUST-20101311, 质量分数 $\geq 98.15\%$), 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)、毛蕊花糖苷 (批号 wkq17042401), 质量分数 $\geq 98\%$, 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)、水苏糖 (批号 J04D10R104841), 质量分数 $\geq 98\%$, 购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品果糖 (批号 AF21021653)、蔗糖 (批号 AF20110803)、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、甲醇, 分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司; 娃哈哈水。

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, 为玄参科地黄

属植物地黄 *R. glutiosa* Libosch. 的新鲜块根。

1.2 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Alltech 2000ES 型蒸发光检测器, 美国奥泰科技(中国)有限公司; Agilent Zorbax NH₂ 色谱柱, 安捷伦科技(中国)有限公司; Venusil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 天津博纳艾杰尔科技有限公司; 101-3AB 型电热鼓风干燥箱、DZKW-4 型电子恒温水浴锅, 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; 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; 四号药典筛, 浙江上虞市五四仪器筛具厂; FW-100 型高速多功能粉碎机, 北京科伟永兴仪器有限公司。

2 方法与结果

2.1 样品的处理

制备冻干地黄片、地黄汁及地黄渣的方法如下:

地黄片(DP): 将鲜地黄洗净, 晾干, 取 2.0 kg 地黄切片, 放入-40 ℃冰箱冷冻 48 h。

地黄渣(DA): 将鲜地黄洗净, 晾干, 取 4.0 kg 地黄洗净切成 2 mm 的薄片, 分次加入原汁机中得到地黄汁和地黄渣, 将地黄渣样品放入-40 ℃冰箱预冻。

地黄汁(DZ): 取经原汁机榨汁所得地黄汁, 用 200 目滤网滤过, 将鲜地黄汁定容至 2 000 mL, 精密移取 1 mL 作为地黄鲜汁的冻干样 1, 精密移取 2.5 mL 作为鲜地黄汁的冻干样 2, 精密移取 5 mL 于西林瓶中作为鲜地黄汁的冻干样 3, 放入-40 ℃冰箱冷冻 48 h。

将地黄片、地黄汁及地黄渣样品再置于真空冷冻干燥机中, 冻干温度-60 ℃, 真空度(10±5) Pa, 干燥 96 h。冷冻干燥后, 将地黄片和地黄渣粉碎过 4 号药典筛, 密封保存于干燥器中备用。

采用原汁机榨汁, 经计算得地黄的出汁率在 50%左右。且 5 g 鲜地黄可以得 1 g 冻干地黄片。为了最大程度地维持地黄汁样品相当于原地黄药材的一致性, 榨汁后调整地黄汁体积为 1 g/mL(鲜地黄)的地黄汁, 并分装入 1、2.5、5 mL 西林瓶中, 在计算地黄汁样品含量时, 选择将 1 mL 地黄汁折算为 0.2 g 冻干地黄, 2.5 mL 地黄汁折算为 0.5 g 冻干地黄、5 mL 地黄汁折算为 1 g 冻干地黄进行分析。样品信息如表 1 所示。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

采收地	样品	编号	样品	编号	样品	编号
武陟古樊村	地黄片	DP1~DP4	地黄汁	DZ1~DZ4	地黄渣	DA1~DA4
武陟张武村	地黄片	DP5~DP8	地黄汁	DZ5~DZ8	地黄渣	DA5~DA8
武陟东安村	地黄片	DP9	地黄汁	DZ9	地黄渣	DA9
温县东留村	地黄片	DP10	地黄汁	DZ10	地黄渣	DA10

2.2 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Venusil XBP C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液; 梯度洗脱: 0~5 min, 1%~3%乙腈; 5~20 min, 3%~5%乙腈; 20~35 min, 5%~12%乙腈; 35~50 min, 12%~15%乙腈; 50~80 min, 15%~30%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 ℃; PDA 检测器检测波长 203 nm; 进样量 10 μL。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取 0.5 g 地黄片、地黄渣、地黄汁(鲜地黄汁的冻干样 2), 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 80%甲醇 50 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 取滤液 20 mL, 65 ℃水浴蒸干, 用 20%甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷、毛蕊花糖苷对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得到质量浓度依次为 6.036、0.322、0.566、0.032、0.408、0.519 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.4 精密度试验 精密称取地黄样品(DP2)1 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 以梓醇为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0~0.92%, 相对峰面积的 RSD 值为 0~2.88%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 精密称取地黄样品(DP2)6 份, 按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样分析, 以梓醇为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0~0.76%, 相对峰面积的 RSD 为 0~3.29%, 结果表明该试验重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 精密称取地黄样品(DP2)1 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 按照“2.2.1”项下色谱条件进样, 以梓醇为参照峰, 计算各共有峰的相对峰面积和相对保留时间, 计算得到各共有峰相对保留时间的

RSD 值为 0~1.18%，相对峰面积的 RSD 为 0~2.66%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 指纹图谱相似度的评价 按照“2.2.2”项下

方法制备供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样分析，采集混合对照品溶液、地黄片、地黄汁及地黄渣样品的 HPLC 指纹图谱，结果见图 1、2。

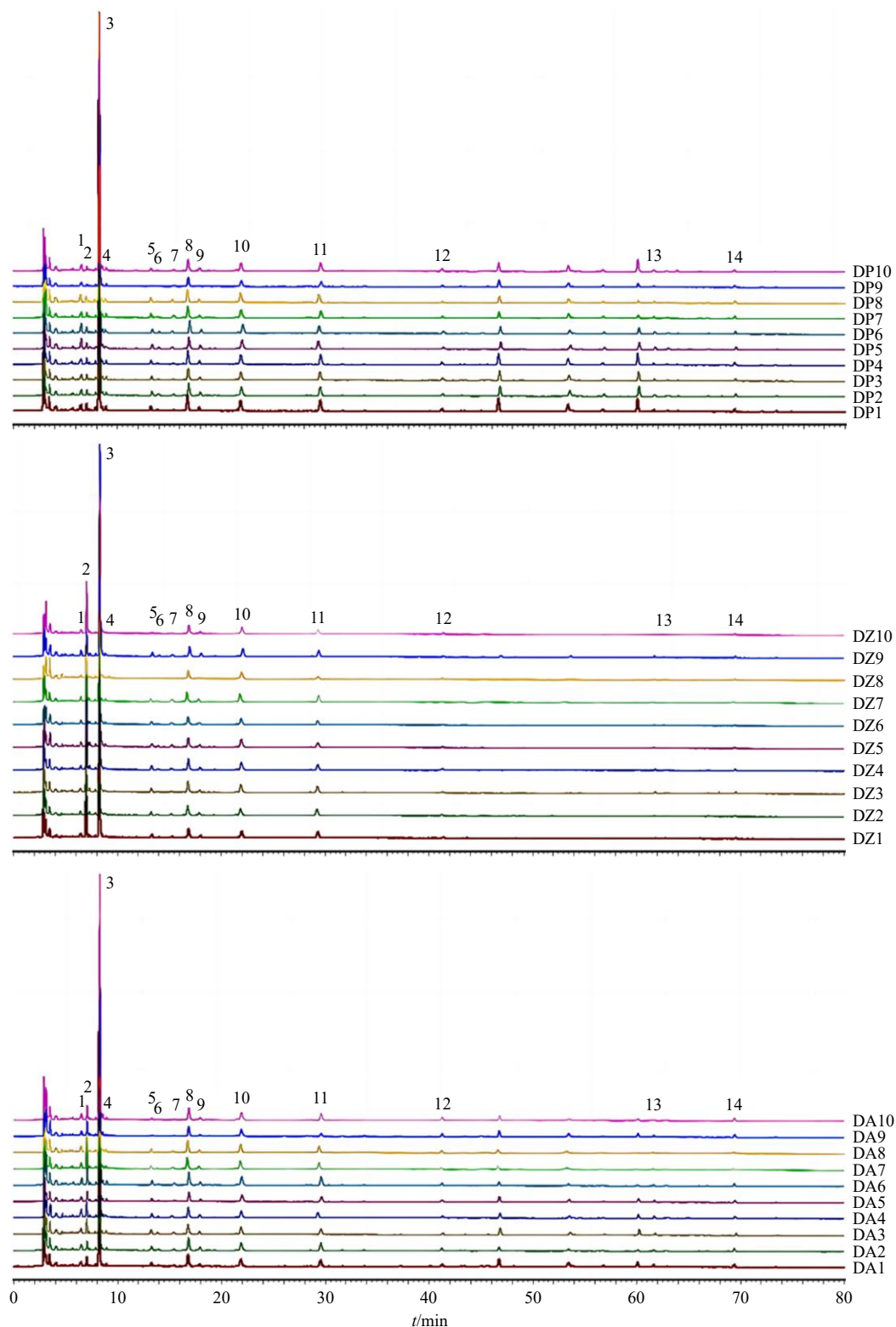
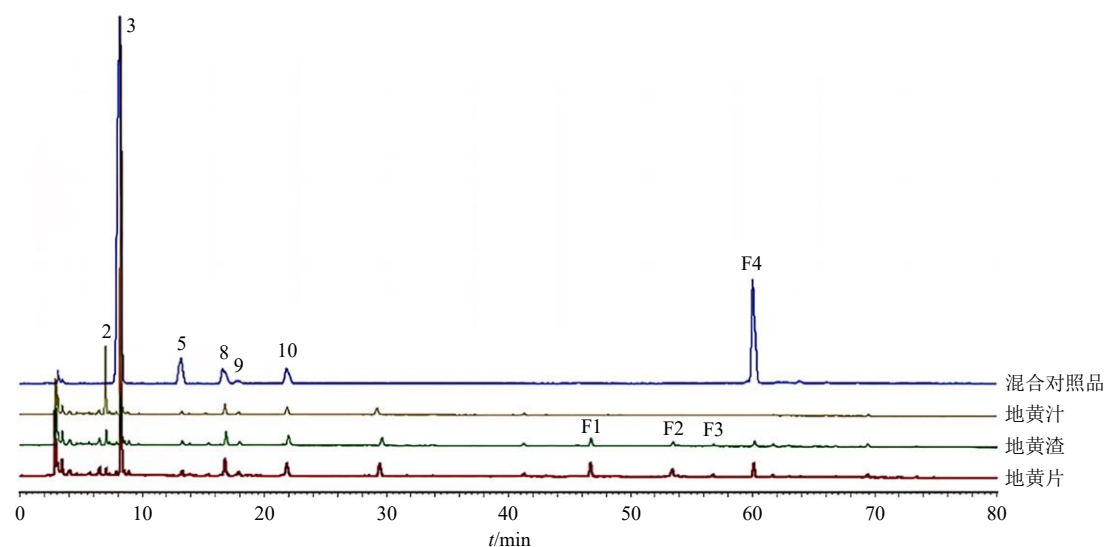


图 1 地黄片 (DP)、地黄汁 (DZ)、地黄渣 (DA) 的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of *Rehmanniae Radix* (RR) tablets (DP), *Rehmanniae Radix* juice (DZ), and *Rehmanniae Radix* residues (DA)



3-梓醇; 5-桃叶珊瑚苷; 8-地黄苷 D; 9-地黄苷 A; 10-益母草苷; F4-毛蕊花糖苷。
3-catalpol; 5-aucubin; 8-rehmannioside D; 9-rehmannioside A; 10-ajugol; F4-verbascoside.

图 2 混合对照品及地黄样品的对照指纹图谱

Fig. 2 Control fingerprints of mixed control and RR samples

将地黄样品 HPLC 指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2012 版)”,以 DP2 样品为参照图谱,设定时间窗宽度,采用中位数法,经多点校正和 Mark 峰匹配后生成对照指纹图谱,共标定 14 个共有峰,经对照品指认,其中 3、5、8~10 号共有峰分别为梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷。

经过“中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2012 版)”,以 DP2 样品为参照图谱,设定时间窗宽度,采用中位数法,经多点校正和 Mark 峰匹配后生成对照指纹图谱,计算相似度,结果见表 2,地黄汁的相似度均在 0.996 以上,地黄片的相似度均在 0.993 以上,地黄渣的相似度均在 0.884 以上,表明

鲜地黄不同加工方式后的化学成分一致性较好、质量稳定。对 HPLC 图谱进行差异分析,结果见图 2,可知地黄汁中 2 号峰明显高于地黄渣和地黄片,峰 F1、F2、F3、F4(毛蕊花糖苷)只存在于地黄渣和地黄片中。

2.2.8 聚类分析 以地黄样品的 14 个共有峰峰面积为原始数据,采用 SPSS 19.0 软件对数据进行系统聚类分析,采用组内连接法,以平方欧式(Euclidean)距离为分类依据,结果见图 3。当平方 Euclidean 距离为 10 时,地黄样品被分为 3 类,DP1~DP10、DZ1~DZ10、DA1~DA10 分别聚为一类,表明地黄片、地黄汁、地黄渣内在质量存在差别。

2.2.9 主成分分析(principal component analysis, PCA) 以地黄样品的 14 个共有峰峰面积为变量,采用 SPSS 19.0 软件对数据进行降维因子分析,KMO 检验统计量为 $0.772 > 0.6$,巴特利球形检验统计量为 0.000,表示各因子间关联性好表明,适合 PCA。主因子碎石图见图 4,特征值和方差贡献率、初始因子载荷矩阵见表 3、4。以特征值 > 1 为标准,提取出 3 个主成分,方差贡献率分别为 57.866%、12.160%、8.213%,累积方差贡献率为 $78.240% > 60%$,认为能比较全面地表征地黄的化学成分特征。由表 4 可知,峰 3、5、8、10、2、12、4 在第 1 主成分有较高载荷,峰 9、6、1、14、13 在第 2 主成分有较高载荷,峰 11 在第 3 主成分上有较高载荷,

表 2 地黄样品相似度

Table 2 Similarity of RR samples

样品	相似度	样品	相似度	样品	相似度
DP1	0.995	DZ1	0.997	DA1	0.981
DP2	0.996	DZ2	0.997	DA2	0.978
DP3	0.995	DZ3	0.998	DA3	0.966
DP4	0.995	DZ4	0.998	DA4	0.967
DP5	0.993	DZ5	0.999	DA5	0.968
DP6	0.997	DZ6	0.998	DA6	0.965
DP7	0.996	DZ7	0.996	DA7	0.971
DP8	0.996	DZ8	0.998	DA8	0.884
DP9	0.995	DZ9	0.997	DA9	0.998
DP10	0.994	DZ10	0.998	DA10	0.972

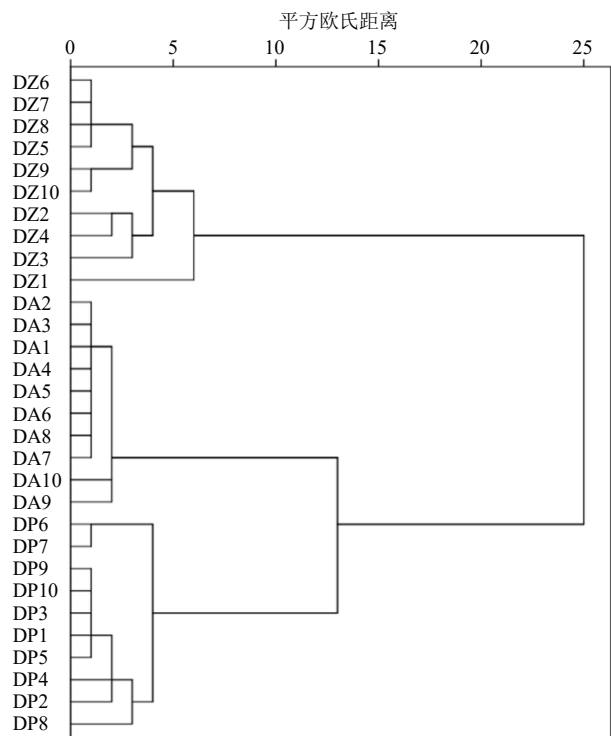


图 3 地黄指纹图谱聚类分析树状图

Fig. 3 Cluster analysis dendrogram of RR fingerprints

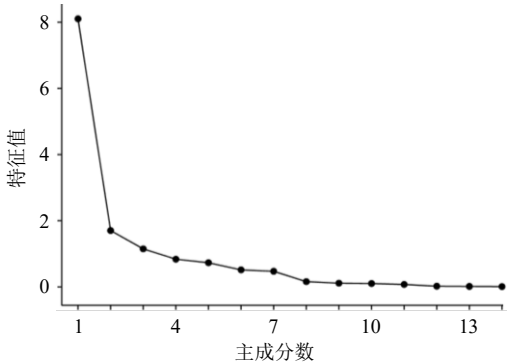


图 4 地黄主因子碎石图

Fig. 4 RR main factor gravel plot

表 3 特征值及累积方差贡献率
Table 3 Eigenvalue and cumulative variance contribution rate

主成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	8.101	57.866	57.866	8.101	57.866	57.866
2	1.702	12.160	70.027	1.702	12.160	70.027
3	1.150	8.213	78.240	1.150	8.213	78.240
4	0.837	5.977	84.217			
5	0.730	5.217	89.434			
6	0.515	3.678	93.112			
7	0.472	3.369	96.481			
8	0.159	1.139	97.620			
9	0.112	0.800	98.420			
10	0.102	0.730	99.150			
11	0.073	0.525	99.675			
12	0.022	0.156	99.831			
13	0.015	0.106	99.937			
14	0.009	0.063	100.000			

表明第 3 主成分主要反映峰 13 的信息。根据方差贡献率，计算不同地黄样品的综合得分，绘制主成分得分图，得分见表 5，得分图见图 5。

2.2.10 正交偏最小二乘-判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA）以地黄样品的 14 个共有峰峰面积为变量，运用 SIMCA-P 14.1 软件，采用有监督模式的 OPLS-DA 模型对地黄片、地黄汁、地黄渣样品进行分析，OPLS-DA 得分图见图 6。

VIP 值的大小代表了各指标成分对模型贡献率

表 4 地黄初始因子载荷矩阵

Table 4 Initial factor loading matrix of RR

峰号	初始因子载荷矩阵			峰号	初始因子载荷矩阵			峰号	初始因子载荷矩阵		
	主成分 1	主成分 2	主成分 3		主成分 1	主成分 2	主成分 3		主成分 1	主成分 2	主成分 3
1	0.479	0.590	-0.067	6	-0.297	0.594	-0.448	11	-0.586	0.013	0.665
2	0.926	-0.069	0.057	7	-0.543	-0.364	0.098	12	0.837	0.038	-0.381
3	0.970	-0.032	0.118	8	0.934	0.068	0.023	13	-0.893	0.215	0.039
4	0.609	-0.176	0.280	9	0.144	0.813	0.412	14	-0.895	0.310	0.088
5	0.954	0.027	0.201	10	0.934	0.148	0.176				

的大小，值越大表明该色谱峰对于鲜地黄不同加工方式的分类贡献越大，同时也是导致地黄片、地黄汁、地黄渣相区分的差异成分^[19]。VIP 的得分见图

7。以 VIP>1 为界限进行筛选，筛选出 VIP>1 的成分为峰 9（地黄苷 A）、10（益母草苷）、14、3（梓醇）、5（桃叶珊瑚苷）、13、8（地黄苷 D）、2，可能

表 5 地黄主成分得分及综合得分

Table 5 Principal component scores and composite scores of RR

样品	得分			综合得分	样品	得分			综合得分	样品	得分			综合得分
	主成分 1	主成分 2	主成分 3			主成分 1	主成分 2	主成分 3			主成分 1	主成分 2	主成分 3	
DP1	-0.41	1.36	1.92	0.09	DZ1	2.79	-1.43	0.31	1.47	DA1	-2.78	-0.07	0.06	-1.61
DP2	-1.63	-0.47	1.84	-0.85	DZ2	3.94	-1.11	0.43	2.18	DA2	-2.91	0.63	-0.03	-1.61
DP3	-0.71	-0.87	2.28	-0.33	DZ3	3.88	-1.03	-0.19	2.11	DA3	-2.74	-1.34	-0.25	-1.77
DP4	-0.65	0.37	1.40	-0.22	DZ4	3.54	-1.07	-0.09	1.91	DA4	-2.02	-1.53	0.98	-1.27
DP5	-0.74	1.14	0.56	-0.24	DZ5	3.41	-0.09	-1.03	1.88	DA5	-3.18	0.06	0.07	-1.83
DP6	0.71	2.21	-1.85	0.53	DZ6	4.11	2.37	-0.64	2.62	DA6	-3.13	-0.71	-0.52	-1.94
DP7	0.81	2.11	-1.44	0.61	DZ7	3.97	0.84	0.31	2.42	DA7	-3.10	-1.11	-0.89	-2.00
DP8	-0.32	2.49	0.50	0.16	DZ8	3.84	-0.88	0.42	2.15	DA8	-3.07	-0.23	-1.13	-1.90
DP9	-1.62	1.27	0.61	-0.73	DZ9	3.37	-0.94	-0.62	1.78	DA9	-2.98	-0.70	-2.14	-1.98
DP10	-1.15	1.68	0.86	-0.39	DZ10	3.10	-1.95	-0.67	1.50	DA10	-4.34	-1.02	-1.06	-2.72

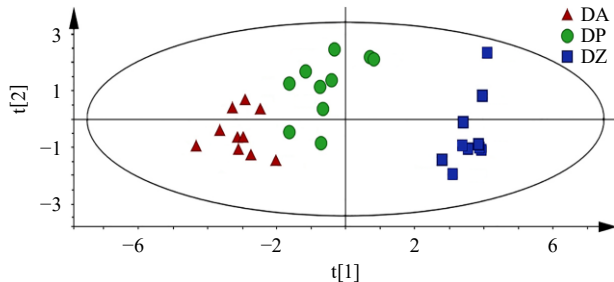


图 5 地黄主成分得分图

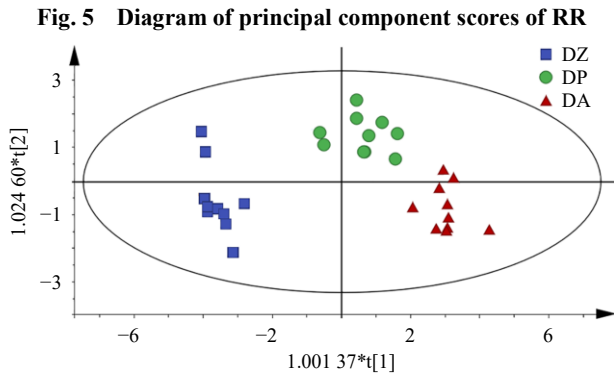


图 6 地黄 OPLS-DA 得分图

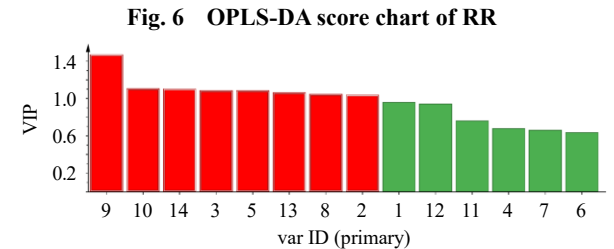


图 7 地黄 VIP 得分图

Fig. 7 Diagram of RR VIP score

是导致不同地黄样品产生差异的主要标志性成分，具有一定标志作用。

2.3 地黄中 5 种苷类化学成分含量测定

2.3.1 供试品溶液的制备 精密称取 1 g 地黄片、地黄渣、地黄汁（鲜地黄汁的冻干样 3）于 100 mL 锥形瓶中，加 25% 甲醇 25 mL，称定质量，超声处理 60 min（700 W、40 kHz），放冷，称定质量，补足减失的质量，摇匀，4 000 r/min 离心（离心半径 15.7 cm）20 min，取上清液 2 mL，用 0.22 μm 的微孔滤膜滤过，作为供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷对照品适量，置 10 mL 量瓶中，加甲醇定容至刻度，得到质量浓度依次为 6.036、0.322、0.566、0.032、0.408 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.3 色谱条件 色谱柱为 Venusil XBP C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液；梯度洗脱：0~8 min，3% 乙腈；8~20 min，3%~4% 乙腈；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；PDA 检测器检测波长 203 nm；进样量 10 μL。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项下混合对照品溶液 0.10、0.50、1.00、1.25、2.50 mL 于 5 mL 量瓶中，加甲醇定容至刻度，按“2.3.3”项下色谱条件进样分析，分别以梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷质量浓度为横坐标（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，得回归方程：梓醇 $Y=5\,824\,114.14X+765\,755.81$ ， $r=0.999\,0$ ，线性范围 120.7~3\,018.0 μg/mL；桃叶珊瑚苷 $Y=9\,970\,944.82X-33\,758.30$ ， $r=0.999\,4$ ，线性范围 6.4~161.0 μg/mL；地黄苷 D

$Y=6\,246\,786.44X+59\,506.44$, $r=0.999\,3$, 线性范围 $11.3\sim 283.0\,\mu\text{g/mL}$; 地黄苷 A $Y=6\,896\,935.15X+5\,939.97$, $r=0.999\,7$, 线性范围 $0.6\sim 16.0\,\mu\text{g/mL}$; 益母草苷 $Y=5\,671\,921.68X+25\,485.19$, $r=0.999\,1$, 线性范围 $8.2\sim 204.0\,\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.5 精密度试验 取地黄样品(DP2)的供试品溶液,按照“2.3.3”项下色谱条件连续进样6次,计算得梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷峰面积的RSD分别为0.29%、1.46%、1.00%、1.32%、0.41%,表明仪器精密度良好。

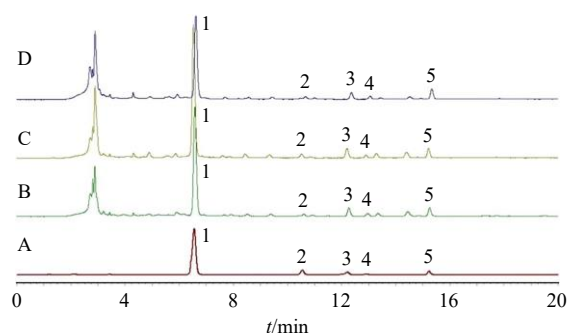
2.3.6 重复性试验 精密称取地黄样品(DP2),按“2.3.1”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件进样分析,计算得到梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷质量分数的RSD分别为0.31%、1.79%、1.10%、1.91%、0.19%,表明该方法重复性较好。

2.3.7 稳定性试验 取地黄样品(DP2)的供试品溶液,4℃条件下保存,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,分别在制备后0、2、4、8、12、24h,按“2.3.3”项下色谱条件进样分析,计算得梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷峰面积的RSD分别为0.27%、0.98%、0.35%、1.44%、0.28%,结果表明供试品溶液在24h内稳定性较好。

2.3.8 加样回收率试验 取地黄样品(DP2)样品9份,每份精密称定0.5g,分别按地黄样品中梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷质量分数的50%、100%、150%加入对照品,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条

件进样分析,测得地黄样品中5种成分平均加样回收率及RSD值,结果平均加样回收率分别为98.83%、98.43%、98.55%、99.49%、98.75%,RSD分别为1.48%、1.25%、1.43%、1.23%、1.09%。

2.3.9 成分含量测定 精密称取各地黄样品,按“2.3.1”项下方法制备各供试品溶液,按照“2.3.3”项下色谱条件进样分析,色谱图见图8,计算各样品中5种成分含量,结果见表6、7。结果表明,地黄样品中5种环烯醚萜苷类成分总含量顺序为地黄汁>地黄片>地黄渣,表示环烯醚萜苷类成分含量多分布于在地黄汁中。地黄汁样品中梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷D、益母草苷含量均值略高于地黄片和地黄渣,地黄片中地黄苷A高于地黄汁和地黄渣,且地黄渣中含量略高于地黄汁。



1-梓醇; 2-桃叶珊瑚苷; 3-地黄苷D; 4-地黄苷A; 5-益母草苷。
1-catalpol; 2-aucubin; 3-rehmannioside D; 4-rehmannioside A; 5-ajugol.

图8 混合对照品(A)与地黄片(B)、地黄汁(C)、地黄渣(D)供试品溶液的HPLC图

Fig. 8 HPLC of mixed reference substances (A) and RR tablets (B), RR juice (C), RR residues (D) test solution

表6 5种苷类成分含量测定结果 ($n=2$)

Table 6 Determination of the content of five glycosides ($n=2$)

质量分数/%						质量分数/%						质量分数/%					
样品	梓醇	桃叶珊瑚苷	地黄苷D	地黄苷A	益母草苷	样品	梓醇	桃叶珊瑚苷	地黄苷D	地黄苷A	益母草苷	样品	梓醇	桃叶珊瑚苷	地黄苷D	地黄苷A	益母草苷
DP1	6.991	0.101	0.553	0.153	0.632	DZ1	7.473	0.100	0.592	0.101	0.704	DA1	5.554	0.084	0.475	0.135	0.467
DP2	7.002	0.100	0.552	0.152	0.633	DZ2	7.780	0.103	0.611	0.126	0.715	DA2	5.786	0.082	0.476	0.149	0.458
DP3	6.834	0.103	0.530	0.150	0.631	DZ3	7.633	0.114	0.634	0.174	0.725	DA3	5.708	0.079	0.475	0.142	0.502
DP4	6.920	0.122	0.554	0.143	0.610	DZ4	7.522	0.112	0.641	0.149	0.714	DA4	5.826	0.079	0.467	0.134	0.518
DP5	6.404	0.091	0.491	0.151	0.612	DZ5	7.520	0.111	0.662	0.154	0.700	DA5	5.752	0.080	0.469	0.139	0.494
DP6	6.342	0.090	0.463	0.143	0.603	DZ6	7.712	0.112	0.654	0.138	0.714	DA6	5.793	0.085	0.462	0.137	0.486
DP7	6.581	0.100	0.482	0.152	0.592	DZ7	7.631	0.100	0.650	0.113	0.708	DA7	5.909	0.083	0.458	0.132	0.502
DP8	6.993	0.103	0.541	0.140	0.590	DZ8	7.454	0.103	0.632	0.124	0.707	DA8	5.804	0.080	0.466	0.135	0.468
DP9	6.733	0.090	0.513	0.132	0.574	DZ9	7.430	0.100	0.622	0.106	0.703	DA9	5.656	0.071	0.444	0.118	0.439
DP10	6.831	0.101	0.511	0.124	0.553	DZ10	7.464	0.101	0.621	0.114	0.708	DA10	5.725	0.073	0.440	0.114	0.466

表 7 5 种苷类成分指标性成分含量差异性分析 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 7 Analysis of differences of index components in five glycosides ($\bar{x} \pm s, n=10$)

样品	质量分数/%				
	梓醇	桃叶珊瑚苷	地黄苷 D	地黄苷 A	益母草苷
DP	6.763±0.244 ^a	0.100±0.009 ^a	0.519±0.032 ^a	0.144±0.009 ^a	0.603±0.026 ^a
DZ	7.562±0.121 ^b	0.106±0.006 ^b	0.632±0.021 ^b	0.130±0.023 ^a	0.710±0.007 ^b
DA	5.751±0.098 ^c	0.080±0.005 ^b	0.463±0.013 ^c	0.134±0.010 ^a	0.480±0.024 ^c

纵向比较具有不同字母的两组差异有统计学意义 ($P<0.05$), 表 9 同。

There was statistical significance in longitudinal comparison between two groups with different letters ($P<0.05$), same as table 9.

采用 SPSS 21.0 软件, 对鲜地黄不同加工方式苷类化学成分的质量分数进行差异统计分析, 由表 7 可知, 鲜地黄经过 3 种方式加工后地黄苷 A 含量没有发生变化、在 DZ 与 DA 中的桃叶珊瑚苷含量没有发生变化, 其他成分含量两两比较均有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.4 5 种糖类成分含量测定

2.4.1 供试品溶液的制备 精密称取 0.2 g 地黄片、地黄渣、地黄汁 (鲜地黄汁的冻干样 1) 于入 100 mL 锥形瓶中, 加 60% 色谱甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 45 min (500 W、40 kHz), 放冷, 称定质量, 补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 2 mL, 用 0.22 μ m 的微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得到质量浓度依次为 1.586、2.710、11.150、7.440、54.980 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.4.3 色谱条件 Agilent Zorbax NH₂ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为水-乙腈 (32:68); 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 5 μ L。ELSD 参数: 气体流量 2.8 L/min; 漂移管温度 85.0 $^{\circ}$ C; 增益 1。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取 “2.4.2” 项下混合对照品溶液 0.10、0.50、1.00、1.25、2.50 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 按 “2.4.3” 项下色谱条件进样分析, 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, 进行线性回归, 得回归方程: 果糖 $Y=0.766\ 7\ X+2.740$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 15.9~237.9 μ g/mL; 葡萄糖 $Y=0.854\ X+2.895$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 27.1~406.5 μ g/mL; 蔗糖 $Y=1.062\ X+1.641$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 111.5~1\ 672.5 μ g/mL; 棉子糖

$Y=1.101\ X+1.278$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 74.4~1\ 116.0 μ g/mL; 水苏糖 $Y=3.078\ X-12.002$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 549.8~8\ 247.0 μ g/mL。

2.4.5 精密度试验 取地黄样品 (DP2) 的供试品溶液, 按照 “2.4.3” 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖峰面积的 RSD 分别为 1.80%、2.33%、2.76%、2.04%、0.82%, 结果表明仪器精密度良好。

2.4.6 重复性试验 精密称取地黄样品 (DP2), 按 “2.4.1” 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 “2.4.3” 项下色谱条件进样分析, 计算得果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖质量分数的 RSD 分别为 3.44%、2.15%、0.22%、1.85%、0.42%, 表明该方法重复性较好。

2.4.7 稳定性试验 取地黄样品 (DP2) 的供试品溶液, 分别在制备后 0、2、4、8、12、24 h, 按 “2.4.3” 项下色谱条件进样, 计算得果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖峰面积的 RSD 分别为 1.43%、1.86%、1.76%、1.78%、0.59%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

2.4.8 加样回收率试验 取地黄样品 (DP2) 样品 9 份, 每份精密称定 0.1 g, 分别按地黄样品中果糖、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 “2.4.1” 项下方法制备供试品溶液, 按 “2.4.3” 项下色谱条件进样分析, 测得地黄样品中 5 种成分的平均加样回收率及 RSD 值, 得平均加样回收率分别为 98.76%、98.87%、99.32%、98.57%、99.40%, RSD 分别为 1.56%、1.37%、0.80%、1.53%、0.87%。

2.4.9 5 种糖类成分含量测定 精密称取各地黄样品, 按 “2.4.1” 项下方法制备各供试品溶液, 按照 “2.4.3” 项下色谱条件进样分析, 色谱图见图 9, 计算各样品中 5 种糖类成分的含量, 结果见表 8、9。结果表明, 地黄样品中 5 种单糖及寡糖成分总含量

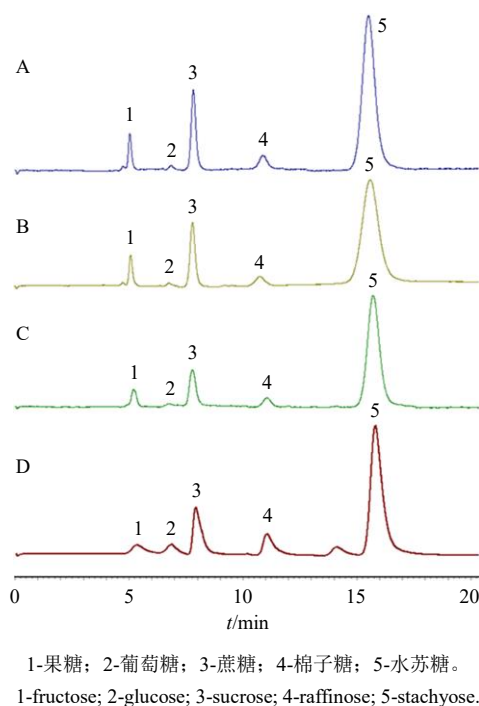


图 9 混合对照品 (A) 与地黄片 (B)、地黄汁 (C)、地黄渣 (D) 供试品溶液的 HPLC 图

Fig. 9 HPLC of mixed reference substances (A) and RR tablets (B), RR juice (C), RR residues (D) test solution

顺序为地黄汁>地黄片>地黄渣, 果糖、蔗糖、水苏糖的含量均值具有规律性, 含量均值顺序为地黄汁>地黄片>地黄渣, 棉子糖含量均值顺序为地黄汁≈地黄片>地黄渣, 葡萄糖含量均值顺序为地黄汁>地黄渣>地黄片。这 5 种单糖及寡糖类成分的分布量为地黄汁大于地黄渣。

采用 SPSS 21.0 软件, 对鲜地黄不同加工方式糖类化学成分的质量分数进行差异统计分析, 由表 9 知, 鲜地黄经过 3 种方式加工后葡萄糖含量没有发生变化、在 DZ 与 DP 中的棉子糖含量没有发生变化, 其他成分含量两两比较均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

实验前期在选择 5 种苷类成分的含量测定方法时, 通过考察不同流动相乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液, 不同柱温 25、30、35 °C, 不同波长 203、210、334 nm, 不同体积流量 0.6、0.8、1.0 mL/min, 不同进样量 10、15、20 μL。最终发现, 流动相以乙腈-0.1%磷酸水溶液、柱温 30 °C、体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL 进行洗脱时, 各色谱峰分离度较好、基线平稳、峰形

表 8 地黄中 5 种糖类成分含量测定结果 ($n = 2$)

Table 8 Determination of content of five carbohydrate components in RR ($n = 2$)

样品	质量分数/%					样品	质量分数/%					样品	质量分数/%				
	果糖	葡萄糖	蔗糖	棉子糖	水苏糖		果糖	葡萄糖	蔗糖	棉子糖	水苏糖		果糖	葡萄糖	蔗糖	棉子糖	水苏糖
DP1	2.096	1.993	11.133	8.045	31.214	DZ1	2.495	1.914	12.776	7.707	33.384	DA1	1.599	1.750	6.777	7.424	29.964
DP2	2.122	1.865	11.281	7.965	31.662	DZ2	2.472	2.002	12.635	7.709	33.222	DA2	1.495	1.786	6.488	7.165	29.941
DP3	2.076	1.887	10.185	7.526	31.525	DZ3	2.534	1.990	12.394	7.638	33.395	DA3	1.447	1.855	6.335	7.315	29.405
DP4	2.125	1.878	10.705	7.522	30.886	DZ4	2.549	2.008	12.377	7.383	33.268	DA4	1.445	2.012	6.572	7.446	30.332
DP5	2.244	1.955	10.792	7.658	32.490	DZ5	2.555	1.929	12.394	7.704	33.200	DA5	1.514	2.044	6.396	7.389	30.047
DP6	2.295	1.986	11.166	7.414	32.051	DZ6	2.496	1.872	12.338	7.438	33.402	DA6	1.616	1.985	6.284	7.218	29.964
DP7	2.286	1.938	10.808	7.385	31.485	DZ7	2.494	1.844	12.429	7.582	33.448	DA7	1.402	1.940	6.288	7.415	30.049
DP8	2.155	1.844	10.925	7.500	31.199	DZ8	2.408	2.026	12.485	7.195	33.456	DA8	1.381	1.982	6.465	7.544	30.122
DP9	2.164	1.878	10.733	7.195	32.288	DZ9	2.559	1.868	12.506	7.454	33.037	DA9	1.294	1.838	6.322	6.932	29.72
DP10	2.245	1.854	10.614	7.177	32.237	DZ10	2.445	1.874	12.454	7.509	33.067	DA10	1.535	1.899	6.408	6.983	30.11

表 9 5 种糖类成分指标性成分含量差异性分析 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 9 Analysis of differences of index components in five carbohydrate components ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

样品	质量分数/%				
	果糖	葡萄糖	蔗糖	棉子糖	水苏糖
DP	2.181 ± 0.080 ^a	1.908 ± 0.055 ^a	10.834 ± 0.317 ^a	7.539 ± 0.287 ^a	31.704 ± 0.538 ^a
DZ	2.501 ± 0.050 ^b	1.933 ± 0.068 ^a	12.479 ± 0.134 ^b	7.532 ± 0.169 ^a	33.288 ± 0.153 ^b
DA	1.473 ± 0.100 ^c	1.909 ± 0.100 ^a	6.434 ± 0.152 ^c	7.283 ± 0.204 ^b	29.966 ± 0.251 ^c

较好, 故选择此条件作为 5 种苷类成分的含量测定方法。

实验前期在选择 5 种糖类成分的含量测定方法时, 通过考察不同流动相乙腈-水、甲醇-水, 不同柱温 25、30、35 °C, 不同体积流量 0.6、0.8、1.0 mL/min, 不同进样量 5、10、15 μ L, 不同气体流量 2.5、2.8、3.0、3.2 L/min; 不同漂移管 75、80、85、90 °C。最终发现流动相以乙腈-水, 柱温 30 °C, 体积流量 0.8 mL/min, 进样量 5 μ L, 气体流量 2.8 L/min; 漂移管温度 85.0 °C, 进行洗脱各色谱峰分离度较好、基线平稳、峰形较好, 故选择此条件作为 5 种糖类成分的含量测定方法。

HPLC 指纹图谱研究结果表明地黄汁、地黄片和地黄渣相似度均大于 0.965 (除 DP8 批次外), 所建立的指纹图谱证实了鲜地黄中地黄汁、地黄片、地黄渣存在明显差异, 生产上应根据临床适应症选取合适的加工工艺。OPLS-DA 结果与 HCA 结果一致, 均可分为 3 类, 即地黄片、地黄汁、地黄渣存在一定差异, 通过 VIP 值 > 1^[20]筛选出对样品影响最大的成分, 筛选出地黄苷 A、地黄苷 D、梓醇、桃叶珊瑚苷、益母草苷、峰 2、峰 14、峰 13 为差异标志物。

本实验结合显著性差异分析对鲜地黄不同加工方式中的苷类和糖类含量进行数据分析, 综合评价鲜地黄药材质量。结果表明, 苷类和糖类成分主要存在于地黄汁中, 其次是地黄片, 但在地黄渣中也含有大量的苷类和糖类成分。通过对不同加工方式的鲜地黄中苷类和糖类进行对比分析, 发现除了地黄苷 A、葡萄糖、棉子糖, 其他化学成分都具有显著性差异。刘炯等^[21]使用 HPLC 法同时测定地黄中地黄苷 A、D 含量发现地黄苷 A 的稳定性较好, 且经过加工炮制有利于地黄苷 A 的富集。地黄苷 A 具有抗炎、抗氧化、镇痛和解热作用^[22]。现代研究表明, 水苏糖、蔗糖由于结构中吡喃葡萄糖苷相连的呋喃果糖基性质不稳定^[23-24], 易发生水解, 但葡萄糖含量保持稳定。也可能与加工过程蔗糖分解为果糖和葡萄糖、水苏糖分解为果糖相关。现代药理作用表明果糖、葡萄糖具有直接供给热能、补充体液及营养全身的补益功效^[25]。

综上所述, 本研究所建立的鲜地黄冻干样品含量测定方法及 HPLC 指纹图谱方法简单且准确度高, 可为鲜地黄质量控制、临床应用及地黄渣的再利用提供参考。鲜地黄提取地黄汁后的地黄渣中水

苏糖等寡糖的含量较高, 因此也可将其作为水苏糖等寡糖的提取原料或者开发为牲畜饲养料等。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 129-130.
- [2] 陈金鹏, 张克霞, 刘毅, 等. 地黄化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1772-1784.
- [3] 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.
- [4] 王梦溪, 吴启南, 乐巍, 等. 中药鲜药的应用与现代研究 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3125-3130.
- [5] 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.
- [6] 秦国玉, 曲夷, 张浩, 等. 百合地黄汤药理作用研究进展 [J]. 山东中医杂志, 2023, 42(3): 299-303.
- [7] 李谦, 袁桂玉, 贾建伟, 等. 鲜地黄联合人工肝治疗慢性重型肝炎疗效研究 [J]. 透析与人工器官, 2007, 18(4): 1-4.
- [8] 贾秀梅, 张振凌. HPLC-ELSD 法测定鲜地黄及其炮制加工品中水苏糖的含量 [J]. 新疆中医药, 2022, 40(5): 53-56.
- [9] 温学森, 杨世林, 马小军, 等. 地黄在加工炮制过程中 HPLC 谱图的变化 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 39-42.
- [10] 王珊, 许海燕, 侯敏娜, 等. 地黄不同炮制品的抗氧化及酶促褐变反应活性比较研究 [J]. 西北药学杂志, 2023, 38(6): 23-30.
- [11] 刘萌, 曾梦楠, 阚玉璇, 等. 鲜地黄中两个酰胺类化合物通过 SIRT3/Bcl-2/Caspase-3 信号通路减轻 LPS 诱导的 NRK-52e 细胞损伤 [J]. 中药材, 2022, 45(5): 1212-1217.
- [12] 王晓尧, 崔璨, 刘雅琳, 等. 鲜地黄及其多糖对实热大鼠焦虑模型影响的研究 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(6): 95-100.
- [13] 崔微, 郑琇梅, 李虹霞, 等. 鲜地黄的化学成分研究 [J]. 中药材, 2022, 45(10): 2369-2375.
- [14] 李俊萍, 周福军, 贾建伟, 等. 不同贮藏条件对地黄中梓醇含量的影响 [J]. 中草药, 2003, 34(3): 84.
- [15] 张科, 郭建华, 田成旺, 等. 不同处理方法及影响因素对地黄中梓醇量的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 896-899.
- [16] 张文婷, 岳超, 黄琴伟, 等. 地黄生品与炮制品中 8 个糖类成分及不同炮制时间点其量变化分析 [J]. 中草药, 2016, 47(7): 1132-1136.
- [17] 赵桐悉, 闵琰, 罗婧欣, 等. 地黄渣色素抗氧化性与稳定性研究 [J]. 饲料研究, 2023, 46(16): 71-76.
- [18] 王甲. 地黄渣半连续式厌氧处理试验研究 [D]. 武汉:

- 武汉工程大学, 2016.
- [19] 宋驰, 葛威, 邹佳莉, 等. 北柴胡及醋北柴胡标准汤剂质量差异性分析 [J]. 中草药, 2022, 53(8): 2331-2340.
- [20] 杨颜溶, 田瀚举, 李莹莹, 等. 基于化学模式识别筛选清炒香附的差异标志物 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1411-1418.
- [21] 刘炯, 张杰, 张华锋, 等. HPLC 测定不同品种怀地黄中地黄苷 A、D 的含量 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(2): 335-339.
- [22] Sun M, Shen X M, Ma Y Z. Rehmannioside A attenuates cognitive deficits in rats with vascular dementia (VD) through suppressing oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120: 109492.
- [23] 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: 74-87.
- [24] Guo Y X, Wen X S, Zhao Y, *et al*. Maillard reaction contributing to chemical changes happened in the processing of Shu Dihuang, the steamedroot of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Asian J Tradit Med*, 2012, 7: 50-58.
- [25] 胡志方, 王小平, 陈建章. HPLC-ELSD 测定地黄不同炮制品中单糖含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 72-74.

[责任编辑 郑礼胜]