

## 基于指纹图谱结合化学模式识别对不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的质量评价

张 帅<sup>1</sup>, 郭 幸<sup>1</sup>, 李雅静<sup>1</sup>, 院 军<sup>1</sup>, 吴亚宁<sup>1</sup>, 张振凌<sup>1,2</sup>

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046

**摘要:** **目的** 建立曼地亚红豆杉 *Taxus × media* 曲指纹图谱, 对曼地亚红豆杉曲质量控制和资源开发提供科学依据。方法采用 HPLC 法建立 45 批曼地亚红豆杉曲的指纹图谱, 通过对照品比对, 对共有峰进行指认, 确定并建立 7 种有效成分含量的测定方法。在指纹图谱基础上, 结合聚类分析、主成分分析及正交偏最小二乘法-判别分析等筛选出不同发酵程度曼地亚红豆杉曲间差异性标志物。**结果** 45 批曼地亚红豆杉共有 32 个共有峰, 指认了 18 种成分, 相似度均大于 0.9。通过聚类分析将不同发酵程度曼地亚红豆杉曲分为 5 类, 主成分分析提取了 4 个主成分; 综合分析筛选 10-脱乙酰基巴卡亭Ⅲ、巴卡亭Ⅲ、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮作为曼地亚红豆杉曲的质控成分, 质量分数范围分别为 0.071 5~0.123 7、0.124 5~0.117 1、0.113 5~0.126 1、0.122 5~0.162 7、0.071 0~0.089 3、0.809 1~1.110 2、1.003 1~1.994 8 mg/g。**结论** 建立的指纹图谱及多成分含量测定方法专属性强, 稳定, 可靠, 为曼地亚红豆杉曲的质量控制及资源开发提供参考。

**关键词:** HPLC; 指纹图谱; 发酵; 紫杉醇; 曼地亚红豆杉曲; 10-脱乙酰基巴卡亭Ⅲ; 巴卡亭Ⅲ; 三尖杉宁碱; 紫杉醇; 7-表紫杉醇; 银杏双黄酮; 金松双黄酮

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)14-4871-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.14.023

## Quality evaluation of *Taxus × media* fermented materials (Mandiyahongdoushan Qu) with different fermentation degree based on fingerprint and chemical pattern recognition

ZHANG Shuai<sup>1</sup>, GUO Xing<sup>1</sup>, LI Yajing<sup>1</sup>, YUAN Jun<sup>1</sup>, WU Yaning<sup>1</sup>, ZHANG Zhenling<sup>1,2</sup>

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Collaborative Innovation Center of Research and Development on Whole Industry Chain of Yu Medicine, Zhengzhou 450046, China

**Abstract: Objective** To establish the HPLC fingerprints of *Taxus × media* fermented materials (Mandiyahongdoushan Qu), so as to provide the scientific basis for the quality control and resources development of Mandiyahongdoushan Qu. **Methods** The fingerprints of 45 batches of Mandiyahongdoushan Qu were established by HPLC. The common peaks were identified by comparison with reference products, and seven methods for the determination of active components were established. On the basis of the fingerprints, clustering analysis, principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were combined to analyze the differential markers of Mandiyahongdoushan Qu with different fermentation degree. **Results** There were 32 common peaks in 45 batches of *Taxus × media* Qu, identifying 18 components. The similarity was all greater than 0.9. Mandiyahongdoushan Qu with different fermentation degrees were classified into five categories by clustering analysis; Four principal components were extracted by PCA; The comprehensive analysis screened 10-deacetyl baccatin III, baccatin III, cephalomannine, paclitaxel, 7-epipaclitaxel, ginkgo biflavonoids, and sciadopitysin as the active components, the contents of which ranged from 0.071 5~0.123 7, 0.124 5~0.117 1, 0.113 5~0.126 1, 0.122 5~0.162 7, 0.071 0~0.089 3, 0.809 1~1.110 2 and 1.003 1~1.994 8 mg/g, respectively. **Conclusion** The established fingerprinting and multi-component content determination methods were exclusive, stable and reliable. It can provide reference for the quality control and resource development

收稿日期: 2023-12-06

基金项目: 河南中医药大学 2022 年度研究生科研创新项目 (2022KYCX030)

作者简介: 张 帅 (1999—), 女, 硕士研究生, 从事中药炮制机制及饮片标准化研究工作。

Tel: 15036170842 E-mail: zsdyouxiang1713@163.com

\*通信作者: 张振凌 (1957—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制机制及饮片标准化研究工作。

Tel: (0371)65680970 E-mail: zhangzl6758@163.com

of Mandiyahongdoushan Qu.

**Key words:** HPLC; fingerprints; fermentation; paclitaxel; *Taxus × media* fermented materials (Mandiyahongdoushan Qu); 10-deacetylbaccatin III; baccatin III; cephalomannine; paclitaxe; 7-epipaclitaxel; ginkgo biflavonoids; sciadopitysin

曼地亚红豆杉 *Taxus × media* Rehder 是东北红豆杉和欧洲红豆杉杂交的天然品种,其生长速度快。曼地亚红豆杉树皮、枝叶中的紫杉醇含量高于其他红豆杉树皮<sup>[1]</sup>,可作为提取紫杉醇的原料,在国内大量种植<sup>[2]</sup>。曼地亚红豆杉主要药效成分为紫杉烷类、黄酮类<sup>[3-5]</sup>等化合物,临床上常用来抗肿瘤、抗炎、抗镇痛、降血糖等<sup>[6-10]</sup>。发酵是一种传统的特色中药炮制技术,历史悠久,最早出现于《神农本草经》<sup>[12]</sup>。在一定环境下,可以改变药性,增强或增加新的功效<sup>[13]</sup>。曲类是常见的发酵中药,借助微生物和酶的催化分解作用,使药物发泡,大多数最后产生黄白色霉衣<sup>[14]</sup>。曲类中药在我国有悠久的用药历史,其中六神曲、建神曲、沉香曲、半夏曲、红曲等一直沿用至今<sup>[15]</sup>。传统发酵多采用自然菌种和自然条件发酵。随着中药炮制学、发酵工程等学科的发展,单一菌株发酵和多菌种协同进行可控制发酵逐渐成为曲类中药发酵的形式之一。目前常从红豆杉树皮中分离获得内生真菌,进行菌种发酵。姚晓<sup>[6]</sup>使用5种药用真菌对南方红豆杉枝叶进行发酵,并提升了空白紫杉烷二萜类含量。曼地亚红豆杉是我国引进栽培最广泛的品种<sup>[17]</sup>,但临床使用较少。发酵曼地亚红豆杉曲,创新曼地亚红豆杉炮制工艺,对红豆杉资源可持续发展具有重要意义。

基于此,本实验发酵曼地亚红豆杉曲,建立不同发酵时间曼地亚红豆杉曲的 HPLC 指纹图谱,并结合化学模式识别筛选不同发酵阶段曼地亚红豆杉曲的差异性标志物。建立 10-脱乙酰基巴卡亭III等7种有效物质含量测定方法,对曼地亚红豆杉曲发酵过程中化学成分变化进行初步探究,为后续曼地亚红豆杉发酵机制、质量控制、药效研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

BSA224S-CW 型万分之一电子天平、BT25S 型十万分之一电子天平(北京赛多利斯天平有限公司); KQ-500DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Waters 2489UV/Visible 型半自动高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); 色谱柱: Waters Symmetry Shield RP<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); PT-II-10T 型超纯水器(成都现超纯科技有

限公司); HWS-250 型恒温恒湿培养箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司)。

### 1.2 试剂

甲醇、乙腈,美国 Tedia 公司,色谱纯;磷酸,天津市科密欧化学试剂有限公司,色谱纯;三氟乙酸,天津市科密欧化学试剂有限公司,色谱纯;对照品对羟基苯甲酸(批号 PS010297,质量分数 99.0%)、芹菜素(批号 PS000755,质量分数 98.0%)、柚皮素(批号 PS0606-0025,质量分数 95.0%)、穗花杉双黄酮(批号 PS0400877,质量分数 98.0%)均购自成都普思生物科技股份有限公司;10-脱乙酰基巴卡亭III(批号 H11S9X70008,质量分数 98.0%)、槲皮苷(批号 MFCD00016932,质量分数 98.0%)、巴卡亭III(批号 H19J10X93344,质量分数 98.0%)、10-去乙酰紫杉醇(批号 H22M10X88906,质量分数 98.0%)、三尖杉宁碱(批号 J09J12T136339,质量分数 98.0%)、7-表-10-脱乙酰基紫杉醇(批号 B28362,质量分数 98.0%)、紫杉醇(批号 J04S11H123510,质量分数 98.0%)、7-表紫杉醇(批号 H07A8D41177,质量分数 98.0%)、银杏双黄酮(批号 A13GB157563,质量分数 98.0%)、金松双黄酮(批号 P20N10F103774,质量分数 98.0%)均购自上海源叶生物科技有限公司;芦丁(批号 DSTDL001701,质量分数 98.0%)、山奈酚(批号 DSTDS005601,质量分数 98.0%)、槲皮素(批号 MUST-15090717,质量分数 99.35%)均购自成都德思特生物技术有限公司、对羟基苯甲醛(批号 RFSD05911812016,质量分数 98.0%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司。

### 1.3 药材

麦麸购自河南张仲景大药房,实验材料经河南中医药大学张振凌教授鉴定为红豆杉科植物曼地亚红豆杉 *Taxus × media* Rehder,种植于平顶山市郟县红豆杉种植基地,2023年6月采摘其6年生枝叶60℃烘干、粉碎(过80目筛)用于后续实验。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品的制备

称取 100 g 曼地亚红豆杉药粉、20 g 麦麸进行混匀,再称取 10 g 面粉加入 112 mL 蒸馏水用电磁炉加热至煮沸制成稀糊,放置温热与上述药粉揉和

均匀，以手捏成团状，掷之即散为宜，放入模具内切成薄厚、大小均匀的方块，置于托盘中，取部分样品作为 0 h 发酵样品放入恒温干燥箱中，温度设置为 60 °C 烘干即得。其余样品放置于恒温恒湿发酵箱中，温度设置为 32 °C、湿度设置为 75% 进行发酵，从发酵 0 h 起，间隔 12 h 取样 1 次，除取样之外，发酵箱门保持密闭，将 12、24、36、48、60、72、84、96 h 的发酵样品置于恒温干燥箱中，温度 60 °C 烘干即得。结果见表 1 和图 1。并将上述发酵样品粉碎过 80 目筛备用。将 9 个发酵时间曼地亚红豆杉曲 (A~I) 分别每组随机取出 5 批，共 45 批，分别编号为 A1~A5、B1~B5、C1~C5、D1~D5、E1~E5、F1~F5、G1~G5、H1~H5、I1~I5 用于后续实验。

表 1 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲外观性状

Table 1 Appearance characteristics of *Taxus × media* fermented materials fermented in different time

编号	发酵时间/h	外观性状
A	0	块状，绿色，软硬适中
B	12	块状，棕色，无白霉
C	24	块状，棕色，无白霉
D	36	块状，棕褐色，极少量白霉
E	48	块状，棕褐色，少量白霉
F	60	块状，遍布白霉
G	72	块状，遍布白霉，覆盖整个表面
H	84	块状，遍布白霉，覆盖整个表面，有少量黑色孢子
I	96	块状，遍布白霉，覆盖整个表面，黑色孢子遍布表面

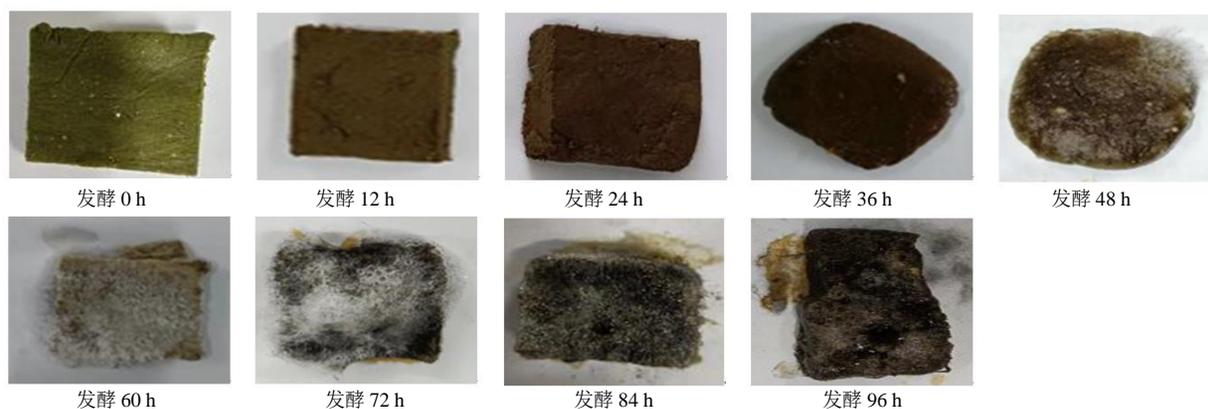


图 1 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲外观性状差异

Fig. 1 Difference of appearance characteristics of *Taxus × media* fermented materials fermented in different time

## 2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters Symmetry Shield RP<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为 0.1% 三氟乙酸水溶液 (B) - 乙腈 (A)，体积流量为 1.0 mL/min；检测波长为 254 nm；柱温为 30 °C；进样量为 10 μL。梯度洗脱：0~15 min, 35%~55% A；15~17.5 min, 55%~60% A；17.5~20 min, 60%~64% A；20~22.5 min, 64%~70% A；22.5~32.5 min, 70%~90% A；32.5~35 min, 90%~35% A。

## 2.3 供试品溶液制备

精密称取“2.1”项下样品粉末(过五号筛)1 g，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，密塞，称定质量，超声 30 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，静置，取上清液滤过，再加入甲醇 50 mL 重复提取，将超声后的甲醇连同药

粉过滤，合并 2 次滤液，60 °C 减压蒸干，色谱甲醇溶解，定容至 10 mL，使用 0.22 μm 的微孔滤膜滤过，备用。

## 2.4 对照品溶液的制备

分别精密称取对羟基苯甲酸、对羟基苯甲醛、芦丁、槲皮苷、10-脱乙酰基巴卡亭 III、巴卡亭 III、槲皮素、柚皮素、芹菜素、山柰酚、10-去乙酰紫杉醇、穗花杉双黄酮、三尖杉宁碱、7-表-10-脱乙酰基紫杉醇、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮适量，加甲醇配置成单一对照品溶液，精密移取适量单一对照品溶液，加甲醇配制成质量浓度为 86.00、51.30、51.50、42.50、56.00、43.00、91.50、43.50、47.00、159.00、81.00、52.50、150.00、65.50、49.00、49.50、123.00、17.00 μg/mL 混合对照品溶液。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液(A1),按“2.2”项下色谱条件连续进样6针,以10-脱乙酰基巴卡亭III为参照峰,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD值分别在0.08%~0.28%和0.72%~3.77%。

**2.5.2 重复性试验** 精密称定同一曼地亚红豆杉曲样品(A1)6份,按“2.3”项下制备6份供试品溶液按“2.2”项下色谱条件连续进样6针,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD值分别在0.05%~0.39%和1.46%~3.79%。

**2.5.3 稳定性试验** 取同一供试品溶液(A1),按“2.2”项下色谱条件,分别于0、2、4、8、12、24 h进样检测,测得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD值分别在0.05%~0.39%。

## 2.6 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲指纹图谱建立及分析

**2.6.1 指纹图谱的建立** 将9个发酵时间45批曼地亚红豆杉曲按照“2.2”项色谱条件进样测定,得到HPLC色谱图,并导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)软件进行数据匹配和相似度评价。其A1为指纹图谱为参照图谱,采用中位数法,时间宽度为0.2 s,进行多点校正和色谱峰匹配,生成不同发酵程度曼地亚红豆杉曲HPLC指纹图谱和对照图谱(R),见图2。

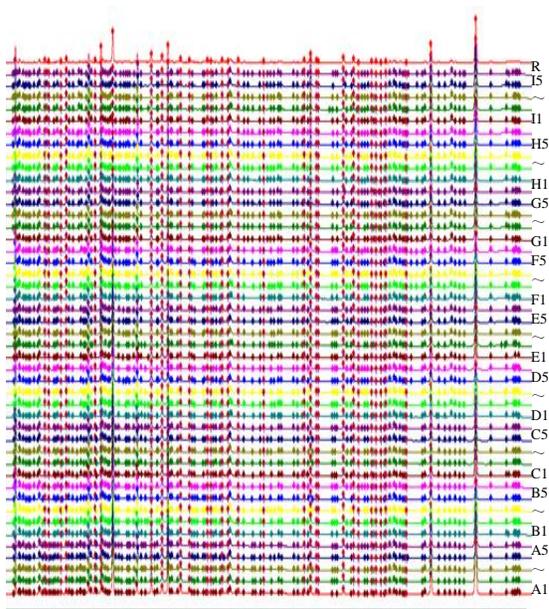


图2 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲HPLC指纹图谱叠加图  
Fig.2 HPLC chromatogram fingerprint of *Taxus × media* fermented materials fermented in different time

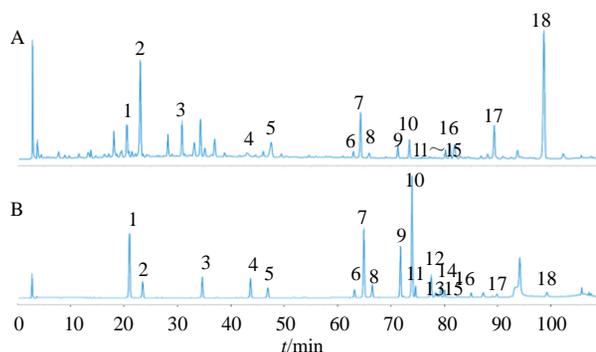
**2.6.2 指纹图谱分析** 9个发酵时间共45批曼地亚红豆杉曲共标记了32个共有峰,指认18个共有峰,分别为峰6(对羟基苯甲酸)、峰7(对羟基苯甲醛)、峰10(芦丁)、峰14(槲皮苷)、峰16(10-脱乙酰基巴卡亭III)、峰19(巴卡亭III)、峰20(槲皮素)、峰22(柚皮素)、峰23(芹菜素)、峰24(山柰酚)、峰25(10-去乙酰紫杉醇)、峰26(穗花杉双黄酮)、峰27(三尖杉宁碱)、峰28(7-表-10-脱乙酰基紫杉醇)、峰29(紫杉醇)、峰30(7-表紫杉醇)、峰31(银杏双黄酮)、峰32(金松双黄酮)。见图3。各样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度在0.986~0.997(表2)。

## 2.7 聚类分析

采用微生物在线网站,以45批曼地亚红豆杉曲中32个共有峰的峰面积为变量,以欧氏距离法进行Ward聚类分析,结果如图4所示,45批曼地亚红豆杉曲可以聚为5类,B1~B5、C1~C5聚为第1类,D1~D5、E1~E5、F1~F5聚为第2类,A1~A5聚为第3类,I1~I5聚为第4类,G1~G5、H1~H5聚为第5类。

## 2.8 主成分分析(principal component analysis, PCA)

**2.8.1 主成分因子特征值、方差贡献率分析** 以45批曼地亚红豆杉曲指纹图谱中32个共有峰的峰面积



1-对羟基苯甲酸; 2-对羟基苯甲醛; 3-芦丁; 4-槲皮苷 5-10-脱乙酰基巴卡亭III; 6-巴卡亭III; 7-槲皮素; 8-柚皮素; 9-芹菜素; 10-山柰酚; 11-10-去乙酰紫杉醇; 12-穗花杉双黄酮; 13-三尖杉宁碱 14-7-表-10-脱乙酰基紫杉醇; 15-紫杉醇; 16-7-表紫杉醇; 17-银杏双黄酮; 18-金松双黄酮。

1-4-hydroxybenzoic acid; 2-4-hydroxybenzaldehyde; 3-rutin; 4-quercitrin; 5-10-deacetylbaccatin III; 6-baccatin III; 7-quercetin; 8-naringenin; 9-apigenin; 10-kaempferol; 11-deacetyl taxol; 12-amentoflavone; 13-cephalomannine; 14-7-*epi*-deacetyl taxol; 15-paclitaxel; 16-7-*epi*paclitaxel; 17-ginkgo bioflavonoids; 18-sciadopitysin.

图3 供试品溶液(A)与对照品(B)色谱图

Fig.3 Chromatograms of sample (A) and reference (B)

表 2 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲指纹图谱相似度评价结果

Table 2 HPLC chromatograms similarity evaluation results of *Taxus × media* fermented materials fermented in different time

编号	相似度								
A1	0.984	B5	0.988	D4	0.996	F3	0.985	H2	0.947
A2	0.986	C1	0.993	D5	0.865	F4	0.925	H3	0.950
A3	0.983	C2	0.990	E1	0.996	F5	0.929	H4	0.962
A4	0.801	C3	0.989	E2	0.977	G1	0.977	H5	0.969
A5	0.984	C4	0.861	E3	0.995	G2	0.976	I1	0.920
B1	0.994	C5	0.997	E4	0.996	G3	0.974	I2	0.923
B2	0.994	D1	0.950	E5	0.856	G4	0.905	I3	0.930
B3	0.993	D2	0.996	F1	0.989	G5	0.981	I4	0.937
B4	0.856	D3	0.995	F2	0.993	H1	0.949	I5	0.937

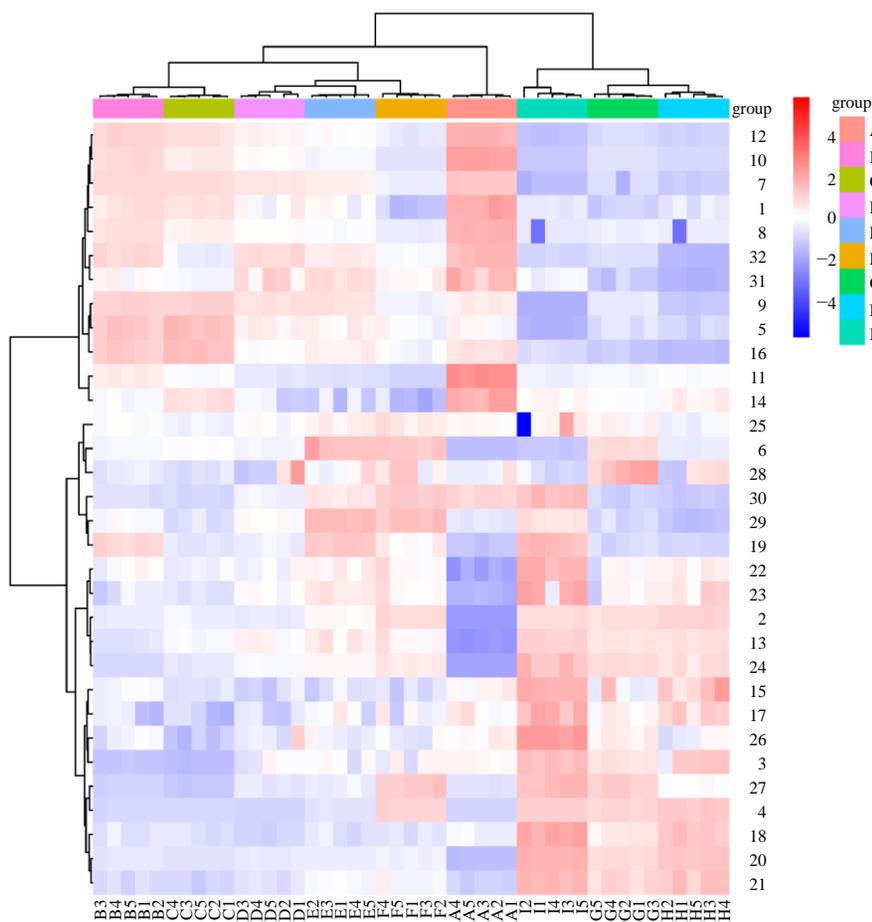


图 4 45 批样品聚类图

Fig. 4 Clustering analysis diagram of 45 batches of samples

为变量，输入 SPSS，进行因子分析，由表 3 可知，以特征值>1 为提取标准，得到 4 个主成分，其累积贡献率为 87.716%，可以代表指纹图谱中 32 个共有峰的大部分信息，碎石图见图 5，主成分图见图 6。

因子载荷矩阵反映了 32 个共有峰对各主成分的贡献率，相关系数的绝对值越大，其对主成分的贡献也就越大，结果见表 4。峰 2~4、13、20~24、27 对第 1 主成分贡献较大，峰 11、14、15 对第 2 主成分贡献较大，峰 19 对第 3 主成分贡献较大，峰

28 对第 4 主成分贡献较大。为了区分 45 批曼地亚红豆杉曲的质量差异，以主成分方差贡献率为权重系数，计算各主成分因子综合得分并排序，结果如表 5 所示。综合得分从大到小排序依次是 I1>I5>I2>I3>I4>H4>H3>H1>H5>H2>G4>G2>G3>G1>G5>F2>F4>F3>F1>F5>E1>E3>E2>E5>E4>D1>D4>D5>D2>D3>B5>B4>B2>B1>B3>C4>C5>C1>C3>A5>A1>A4>C2>A3。

表3 45批样品主成分因子特征值、方差贡献率  
Table 3 Principal component factor eigenvalues and variance contribution rates of 45 batches of samples

成分	初始特征值		
	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	17.297	54.054	54.054
2	5.427	16.959	71.014
3	3.354	10.482	81.495
4	1.991	6.220	87.716

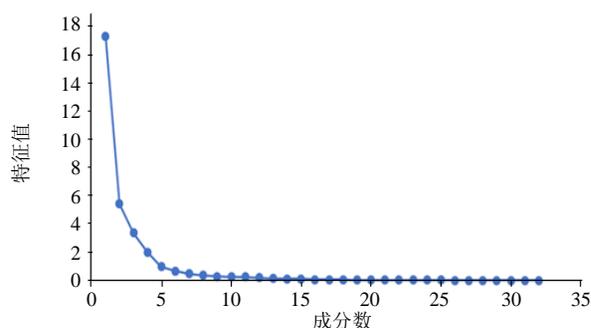


图5 碎石图  
Fig. 5 Scree plot

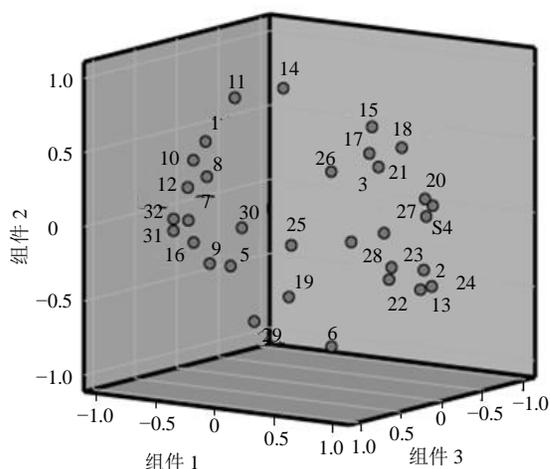


图6 主成分图  
Fig. 6 PCA gravel map

2.8.2 PCA 对 45 批曼地亚红豆杉曲指纹图谱中 32 个共有峰的峰面积进行初值化处理, 采用多元统计软件 SIMCA 14.1 进行主成分分析, 得到 45 批不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的主成分得分图, 见图 7。模型累计模型解释率  $R^2_x$  为 0.907, 累计模型预测能力  $Q^2$  为 0.756, 模型可靠。图中样本点的空间越接近, 表明样本化学成分越接近。由图 7 可见, 发酵前后化学成分差异明显, 发酵前 72 h 后化学成

表4 因子载荷矩阵

Table 4 Factor loading matrix

共有峰	载荷			
	1	2	3	4
12	-0.984	0.125	0.051	-0.026
7	-0.976	-0.096	0.054	-0.077
24	0.956	-0.243	0.000	-0.057
21	0.951	0.232	-0.023	-0.025
20	0.949	0.173	-0.119	-0.185
10	-0.939	0.313	0.048	0.045
4	0.908	0.099	-0.099	0.252
9	-0.890	-0.398	-0.079	-0.091
2	0.887	-0.389	-0.194	-0.055
13	0.853	-0.401	-0.108	-0.210
16	-0.849	-0.215	0.174	-0.323
32	-0.843	-0.020	0.423	0.148
27	0.823	0.033	0.285	0.379
23	0.823	-0.211	0.194	-0.254
8	-0.815	0.216	0.065	0.154
5	-0.811	-0.425	-0.212	-0.230
22	0.805	-0.294	0.198	-0.394
1	-0.798	0.461	0.105	-0.249
18	0.782	0.566	0.013	-0.147
3	0.718	0.456	0.200	0.299
17	0.663	0.547	0.232	0.011
26	0.557	0.458	0.535	0.007
6	0.115	-0.858	-0.098	0.311
14	-0.335	0.828	-0.165	-0.143
11	-0.592	0.769	0.049	0.117
15	0.556	0.688	0.047	-0.228
30	0.077	0.086	0.920	0.198
29	0.095	-0.562	0.797	0.066
31	-0.668	-0.046	0.674	0.102
19	0.286	-0.398	0.655	-0.437
28	0.195	-0.162	-0.219	0.693
25	-0.105	-0.174	0.069	0.420

分和发酵前中期差异较大。发酵 12 h 和发酵 24 h 存在相互重合, 未得到有效区分。为了更好地分析不同发酵时间曼地亚红豆杉曲之间才差异, 采用正交偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 筛选不同发酵时间曼地亚红豆杉曲间的差异性成分。

2.8.3 OPLS-DA 基于 PCA 结果, 为进一步分析不同发酵时间曼地亚红豆杉曲的差异标志物, 在模型 M1 基础上, 建立模型 M2, 以筛选曼地亚红豆杉曲发酵程度控制的关键指标。OPLS-DA 得分结果见图 8,  $R^2_x[1]=0.783$ ,  $R^2_x[2]=0.108$ , 说明模型具有较好的解释预测能力, 通过 200 次置换验证 (图 9),  $R^2$  和  $Q^2$  的的回归线斜率均大于 0,  $R^2$  和  $Q^2$  的回归线截距为 0.224 和 -0.728, 表明置换验证结果较为理想, 不存在过拟合现象出现。 $R^2_x=0.999$ ,  $R^2_y=0.980$ , 预测参数  $Q^2=0.903$ , 具有良好的可预测性。

表 5 45 批样品的主成分因子得分和排序

Table 5 Principal component factor scores and ranking of 45 batches of samples

编号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	综合得分	排序
A1	-6.465	4.587	1.247	1.715	-2.479	41
A2	-6.539	4.503	1.462	1.141	-2.547	43
A3	-6.475	4.269	1.064	1.360	-2.580	45
A4	-6.524	4.532	1.489	1.445	-2.511	42
A5	-6.347	4.352	1.421	1.245	-2.466	40
B1	-3.747	-0.84	0.059	-1.557	-2.258	34
B2	-3.653	-0.874	-0.053	-1.491	-2.221	33
B3	-3.975	-0.703	-0.128	-1.359	-2.366	35
B4	-3.775	-0.488	0.227	-1.434	-2.189	32
B5	-3.579	-0.720	0.014	-1.460	-2.146	31
C1	-3.563	-0.897	-2.013	-1.576	-2.387	38
C2	-3.776	-1.087	-2.113	-1.585	-2.545	44
C3	-3.555	-0.836	-2.057	-1.717	-2.386	39
C4	-3.625	-0.858	-1.564	-1.683	-2.374	36
C5	-3.593	-1.065	-1.591	-1.531	-2.384	37
D1	-1.348	-0.985	0.026	0.914	-0.836	26
D2	-2.111	-1.621	0.048	0.492	-1.380	29
D3	-2.183	-1.171	0.213	-0.662	-1.397	30
D4	-1.786	-1.160	-0.024	-0.505	-1.196	27
D5	-1.948	-1.493	0.350	-0.403	-1.295	28
E1	-0.249	-2.588	1.909	-0.242	-0.389	21
E2	-0.501	-3.101	1.961	0.004	-0.591	23
E3	-0.427	-2.241	1.665	-0.449	-0.465	22
E4	-0.752	-2.877	1.407	-0.071	-0.751	25
E5	-0.585	-3.207	1.605	0.347	-0.670	24
F1	1.589	-3.016	0.949	2.073	0.576	19
F2	1.874	-2.662	1.791	1.665	0.853	16
F3	1.581	-2.828	1.058	1.656	0.589	18
F4	1.939	-2.439	1.209	0.929	0.819	17
F5	1.584	-3.292	0.907	2.542	0.551	20
G1	3.076	0.003	-2.190	2.017	1.559	14
G2	3.539	0.069	-2.199	1.861	1.810	12
G3	3.487	-0.249	-2.052	1.944	1.748	13
G4	3.705	0.603	-2.083	1.411	1.974	11
G5	2.602	0.051	-2.273	2.093	1.307	15
H1	5.014	1.770	-2.919	-1.266	2.625	8
H2	3.916	1.540	-2.987	-1.117	1.995	10
H3	4.832	2.061	-2.775	0.023	2.672	7
H4	4.835	2.323	-2.752	0.034	2.721	6
H5	4.122	1.652	-3.168	0.411	2.202	9
I1	7.128	1.902	2.702	-1.663	4.355	1
I2	6.983	2.365	2.462	-2.942	4.251	3
I3	6.472	1.708	2.600	-0.584	4.024	4
I4	6.118	2.629	2.376	-0.917	3.944	5
I5	6.687	2.378	2.720	0.00	4.303	2

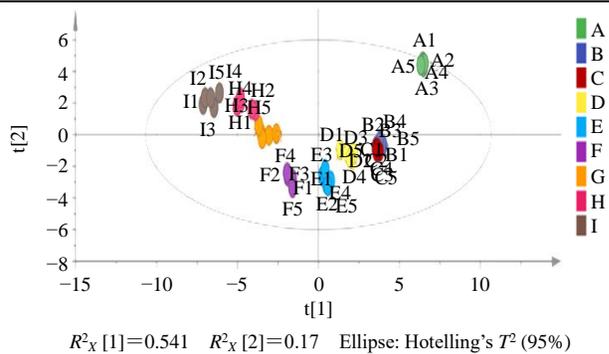


图 7 曼地亚红豆杉曲 PCA 得分图

Fig. 7 PCA scores of *Taxus x media* fermented materials

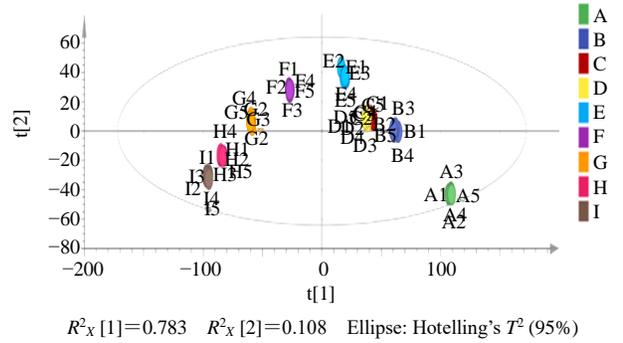


图 8 曼地亚红豆杉曲 OPLS-DA 得分图

Fig. 8 OPLS-DA scores of *Taxus x media* fermented materials

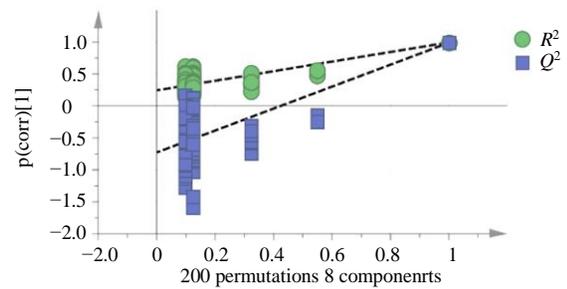


图 9 曼地亚红豆杉曲 OPLS-DA 置换检验图

Fig. 9 OPLS-DA replacement test chart for *Taxus x media* fermented materials

由模型 VIP 图 (图 10) 可知, 不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的差异性成分主要是峰 4、峰 20 (槲皮素)、峰 2、峰 6 (对羟基苯甲酸)、峰 13、峰 30 (7-表紫杉醇)、峰 24 (山柰酚)、峰 3、峰 29 (紫杉醇)、峰 16 (10-脱乙酰基巴卡亭 III)、峰 14 (槲皮苷)、峰 19 (巴卡亭 III)、峰 27 (三尖杉宁碱)、峰 32 (金松双黄酮)、峰 31 (银杏双黄酮)。

### 2.9 含量测定

由 OPLS-DA 结果显示, 有 15 个成分 VIP 值 > 1, 分别是峰 4、峰 20 (槲皮素)、峰 2、峰 6 (对羟基苯甲酸)、峰 13、峰 30 (7-表紫杉醇)、峰 24 (山柰酚)、峰 3、峰 29 (紫杉醇)、峰 16 (10-脱乙酰基巴卡亭 III)、峰 14 (槲皮苷)、峰 19 (巴卡亭 III)、峰 27 (三尖杉宁碱)、峰 32 (金松双黄酮)、峰 31 (银杏双黄酮)。说明不同发酵时间曼地亚红豆杉曲这些成分差异较大, 是曼地亚红豆杉曲的差异性特征成分, 基于质量标志物的五项原则<sup>[18]</sup>, 筛选 10-脱乙酰基巴卡亭 III、巴卡亭 III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮作为曼地亚红豆杉曲差异特征成分进行含量测定。

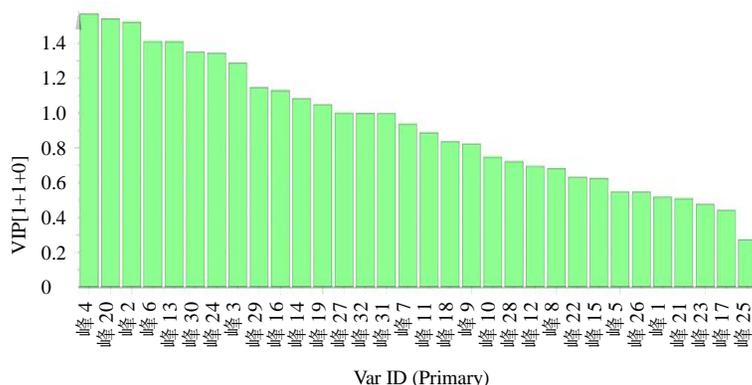


图 10 曼地亚红豆杉曲 OPLS-DA VIP 值图

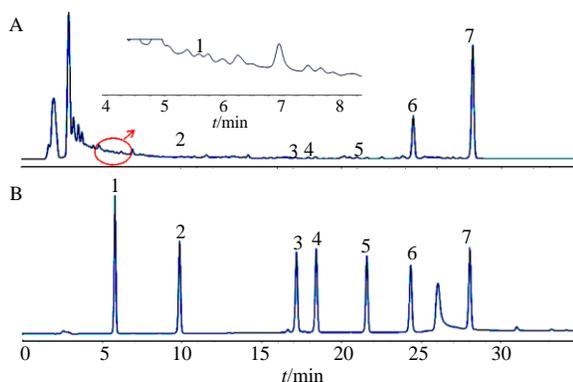
Fig. 10 VIP value from OPLS-DA load diagram of *Taxus x media* fermented materials

2.9.1 供试品溶液的制备 同“2.3”项下。

2.9.2 对照品溶液的制备 精密称定 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮适量，加甲醇溶解，制成单一对照品母液，精密吸取各对照品母液适量，加甲醇配成质量浓度分别为 606.70、280.00、250.00、163.30、66.70、380.00、440.00 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.9.3 色谱条件 Waters 2489UV/Visible 型半自动高效液相色谱仪，色谱柱为 Waters Symmetry Shield RP<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相：0.1% 磷酸水 (A) -乙腈 (B)，梯度洗脱：0~15 min, 65%~45% A；15~22.5 min, 45%~30% A；22.5~32.5 min, 30%~10% A；32.5~35 min, 10%~65% A；进样量 10 μL，柱温 30 °C，波长 232 nm。色谱图见图 11。

2.9.4 线性关系考察 精密吸取“2.9.2”项下混合对照品溶液 1、0.75、0.5、0.25、0.05、0.01 mL 分别定容至 1 mL，进样量固定 10 μL，按“2.9.3”项下色谱条件测定，以对照品质量浓度为横坐标



1-10-脱乙酰基巴卡亭III；2-巴卡亭III；3-三尖杉宁碱；4-紫杉醇；5-7-表紫杉醇；6-银杏双黄酮；7-金松双黄酮。  
1-10-deacetylbaicatin III；2-baccatin III；3- cephalomannine；4-paclitaxel；5-7-epipaclitaxel；6-ginkgo bioflavonoids；7-sciadopitysin.

图 11 供试品 (A) 和混合对照品 (B) HPLC 图

Fig. 11 HPLC diagram of sample (A) and mixed references (B)

(X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，见表 6。

2.9.5 精密度试验 精密吸取“2.9.4”项下混合对照品溶液 10 μL，连续进样 6 次，计算 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-

表 6 7 种成分的线性回归方程与线性范围

Table 6 Regression equations and linearity of seven components

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
10-脱乙酰基巴卡亭III	Y=16 704.82 X+12.37	0.999 9	6.07~606.70
巴卡亭III	Y=15 635.49 X+3.69	0.999 9	2.80~280.00
三尖杉宁碱	Y=14 113.40 X+0.49	0.999 9	2.50~250.00
紫杉醇	Y=14 957.48 X+1.60	0.999 9	1.63~163.30
7-表紫杉醇	Y=15 766.64 X+1.31	0.999 9	0.67~66.70
银杏双黄酮	Y=29 788.22 X+15.23	0.999 9	3.80~380.00
金松双黄酮	Y=36 537.77 X+40.12	0.999 9	4.40~440.00

表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮峰面积 RSD 为 0.59%~1.99%，表明仪器精密度良好。

**2.9.6 重复性试验** 精密称取同一时间发酵品 6 份，按“2.3”项下制备成供试品溶液，按“2.9.3”项色谱条件进样，计算 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮质量分数 RSD 分别为 0.83%~2.84%，表明该方法重复性良好。

**2.9.7 稳定性试验** 精密称取同一供试品溶液，按“2.9.3”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样，计算 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮峰面积 RSD 分别为 0.73%~1.49%，表明该方法制备的供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.9.8 加样回收率试验** 精密称取同一红豆杉发酵品 6 份，每份 0.5 g，加入混合对照品适量，供试品溶液制备按“2.3”项下，测定条件同“2.9.3”项下，根据峰面积计算 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、金松双

黄酮、银杏双黄酮的平均加样回收率分别为 97.85%~104.96%；RSD 分别为 0.14%~0.96%。

### 2.10 不同发酵时间含量测定结果

取不同发酵时间曼地亚红豆杉曲样品，按“2.3”项下制备供试品，“2.9.3”项色谱条件下进样测定，结果见表 7。由表可知曼地亚红豆杉曲的 7 种差异特征成分含量存在差异。发酵前 24 h，不同发酵时间曼地亚红豆杉曲平均含量为金松双黄酮>银杏双黄酮>紫杉醇>巴卡亭III>10-脱乙酰基巴卡亭III>三尖杉宁碱>7-表紫杉醇。发酵 36~96 h，三尖杉宁碱含量高于 10-DAB 含量。对曼地亚红豆杉曲化学成分变化和 0 h 对比进行初值化处理发现，7 种成分含量随发酵时间变化趋势不同。10-脱乙酰基巴卡亭III含量前 24 h 呈增加趋势，36~96 h 持续下降；巴卡亭III、三尖杉宁碱和 7-表紫杉醇含量同未发酵红豆杉曲相比，在 96 h 达到最高；紫杉醇含量和发酵 0 h 相比，变化趋势较为曲折，在发酵 48 h 含量达到最高；银杏双黄酮及金松双黄酮整体同发酵 0 h 相比，含量降低明显，初值化处理结果见表 8。

表 7 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲 7 种成分含量测定结果 (n = 3)

Table 7 Determination of five components of *Taxus × media* fermented materials fermented in different time (n = 3)

发酵时间/h	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )						
	10-脱乙酰基巴卡亭III	巴卡亭III	三尖杉宁碱	紫杉醇	7-表紫杉醇	银杏双黄酮	金松双黄酮
0	0.117 9	0.117 1	0.114 7	0.142 6	0.087 7	1.110 2	1.994 8
12	0.123 7	0.139 2	0.113 5	0.144 7	0.082 5	1.056 1	1.922 8
24	0.124 8	0.134 4	0.108 3	0.139 8	0.078 3	0.991 0	1.775 0
36	0.102 1	0.136 0	0.115 7	0.156 5	0.085 1	1.096 2	1.907 5
48	0.105 6	0.141 6	0.119 4	0.162 7	0.087 1	1.078 9	1.798 5
60	0.102 8	0.138 4	0.126 1	0.162 5	0.088 2	1.067 3	1.792 6
72	0.087 3	0.126 5	0.121 1	0.127 1	0.079 6	0.950 5	1.476 8
84	0.071 5	0.124 5	0.120 5	0.122 5	0.071 0	0.809 1	1.003 1
96	0.093 0	0.167 9	0.156 6	0.157 0	0.089 3	1.022 2	1.261 8

### 3 讨论

本实验首次建立不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的指纹图谱，专属性强，准确可靠。供试品溶液处理简单，并首次指认了曼地亚红豆杉曲的 18 种成分。运用聚类分析、PCA 及 OPLS-DA 等不同计量方法对指纹图谱进行分析，不同发酵程度曼地亚红豆杉曲样品与对照图谱的相似度在 0.947~0.997，说明 45 批样品整体化学组分差异不大，不能用指纹图谱相似度对不同发酵时间曼地亚红豆杉曲进行区分。因此，后续引入聚类分析，将 45 批样品聚类分

成 5 类。又借助 PCA 和 OPLS-DA 分析，对不同发酵程度曼地亚红豆杉曲差异性成分进行筛选。结果表明，不同发酵程度曼地亚红豆杉曲化学成分含量差异明显，主要是峰 4、槲皮素、峰 2、对羟基苯甲酸、峰 13、7-表紫杉醇、山柰酚、峰 3、紫杉醇、10-脱乙酰基巴卡亭III、槲皮苷、巴卡亭III、三尖杉宁碱、金松双黄酮、银杏双黄酮，可用于区分不同发酵时间曼地亚红豆杉曲。后期可以以上成分为质控指标，对各菌种的发酵培养产物进行检测，从而筛选能分解成曼地亚红豆杉曲中紫杉烷类成分的优

表 8 不同发酵时间曼地亚红豆杉曲 7 种成分初值化结果

Table 8 Primary valorization results of seven components of *Taxus × media* fermented materials fermented in different time

发酵时间/h	初值化处理占比/%						
	10-脱乙酰基巴卡亭III	巴卡亭III	三尖杉宁碱	紫杉醇	7-表紫杉醇	银杏双黄酮	金松双黄酮
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
12	104.92	118.95	99.00	101.51	94.11	95.13	96.39
24	105.90	114.83	94.45	98.05	89.26	89.26	88.98
36	86.64	116.18	100.90	109.78	96.99	98.74	95.62
48	89.56	120.95	104.13	114.14	99.32	97.18	90.16
60	87.21	118.24	109.95	113.98	100.62	96.14	89.86
72	74.07	108.06	105.59	89.14	90.82	85.62	74.03
84	60.69	106.34	105.06	85.95	80.94	72.88	50.28
96	78.91	143.40	136.54	110.17	101.88	92.08	63.25

势菌种。峰 4、2、13、3 成分未知，可后期将采用成分分离及结构鉴定等相关技术对 4 个成分进一步研究。

现代研究表明，紫杉醇、三尖杉宁碱、10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、7-表紫杉醇等紫杉烷类成分具有抗癌活性<sup>[19-25]</sup>，金松双黄酮、银杏双黄酮等黄酮类成分具有抗肿瘤、调脂、抗血栓、抗氧化、抗炎、抗骨质疏松病等多种药理作用<sup>[26-28]</sup>。因此，结合 OPLS-DA 结果，筛选 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇、银杏双黄酮、金松双黄酮作为曼地亚红豆杉曲特征性指标成分并进行定量分析，测定不同发酵时间活性成分含量，为曼地亚红豆杉曲质量控制提供数据支持。含量测定结果显示，发酵初期，10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、紫杉醇含量升高，可能是发酵初期，微生物产生的纤维素酶、果胶酶、蛋白酶等破坏了红豆杉细胞壁，提高了细胞壁通透性，使 10-脱乙酰基巴卡亭III、巴卡亭III、紫杉醇等活性物质溢出<sup>[29]</sup>。发酵中期，10-脱乙酰基巴卡亭III含量降低，紫杉醇、巴卡亭III含量持续升高。10-脱乙酰基巴卡亭III是合成紫杉醇的重要前体物<sup>[30]</sup>。紫杉醇、巴卡亭III含量的升高，可能是发酵过程中微生物参与酶促反应，10-脱乙酰基巴卡亭III被用作紫杉醇原料合成或被氧化降解形成其他物质<sup>[31]</sup>。发酵 72~84 h 紫杉醇含量降低，可能与微生物活性降低有关。发酵后期，巴卡亭III、三尖杉宁碱、紫杉醇、7-表紫杉醇含量降低后又升高，可能是部分微生物对 4 种成分的降解达到饱和，4 种活性物质含量在这一阶段进行富集，因此含量提高<sup>[32]</sup>。

大量食用红豆杉会出现抑制骨髓造血功能、白细胞下降、心肌出血等毒副作用<sup>[33]</sup>。活性物质紫杉醇可选择性地抑制微管解聚，抑制肿瘤细胞，也可诱导周围神经病变，具有神经毒性<sup>[34]</sup>。活性物质银

杏双黄酮具有潜在的肝毒性和肾毒性<sup>[35]</sup>，金松双黄酮也可引起严重的肾功能障碍和溶血等并发症<sup>[33]</sup>。中药发酵后，可缓和药性，增加药效或产生新药效，扩大用药范围，也可降低毒性<sup>[37]</sup>。研究发现，天南星发酵后毒性降低，抗高热惊厥作用增强，产生了解热作用<sup>[38]</sup>。后期可通过药理实验，比较曼地亚红豆杉曲不同发酵程度毒性强弱。

本实验研究建立了 45 批不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的 HPLC 指纹图谱，确立了 18 个共有峰，结合化学模式识别评价方法筛选不同发酵程度曼地亚红豆杉曲的差异性成分；同时，采用 HPLC 法测定曼地亚红豆杉曲中 7 个活性成分含量，可以为曼地亚红豆杉曲质量评价提供依据。本方法建立的 HPLC 指纹图谱、化学模式识别方法以及含量测定方法稳定、可靠，为曼地亚红豆杉曲的质量控制和开发的深入研究提供数据支持。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 李艳艳, 王倩倩, 苏圆圆, 等. 响应面法优化提取曼地亚红豆杉总黄酮及抗氧化活性 [J]. 北方园艺, 2021(5): 94-102.
- [2] 唐昌怡, 范伟青, 张小辉, 等. 基质含沙量和移栽时间对曼地亚红豆杉幼苗生长影响 [J]. 林业科技通讯, 2019(12): 66-69.
- [3] 张娜. 栽培曼地亚红豆杉针叶的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.
- [4] 李振麟, 吕旭辉, 王新婕, 等. 曼地亚红豆杉枝叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3226-3231.
- [5] 吕旭辉. 曼地亚红豆杉和亮叶杨桐化学成分研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [6] Hafezi K, Hemmati A A, Abbaszadeh H, et al. Anticancer activity and molecular mechanisms of  $\alpha$ -conidendrin, a polyphenolic compound present in *Taxus yunnanensis*, on human breast cancer cell lines [J]. *Phytother Res*, 2020,

- 34(6): 1397-1408.
- [7] Yang W X, Zhao Z G, Wang L H, *et al.* Control of hypertension in rats using volatile components of leaves of *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1): 309-313.
- [8] 李艳艳, 王倩倩, 苏圆圆, 等. 响应面法优化提取曼地亚红豆杉总黄酮及抗氧化活性 [J]. 北方园艺, 2021(5): 94-102.
- [9] 汤彬. 南方红豆杉枝叶降血糖的物质基础研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [10] 童丽姣, 江月仙, 郭伟娣, 等. 红豆杉茎叶镇痛作用的实验研究 [J]. 浙江临床医学, 2008(4): 439-440.
- [11] 王炯, 陈涵, 王章东, 等. 红豆杉的药理作用及毒性小考 [J]. 西部中医药, 2017, 30(4): 139-142.
- [12] 南淑玲. “曲剂” 名词源流考 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 3949-3951.
- [13] 定财, 王毛毛, 王哲, 等. 补益类中药发酵方面研究进展[J].中成药,
- [14] 刘莹, 郭二燕, 冯锋, 等. 曲类中药发酵炮制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(10): 1371-1381.
- [15] 屈青松, 李智勋, 周晴, 等. 发酵中药的研究进展及其“发酵配伍” 理论探索 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2262-2273.
- [16] 姚晓. 南方红豆杉枝叶紫杉烷类成分的生物转化研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [17] 宋秋焯. 南方红豆杉与引种德国曼地亚红豆杉茎、叶中紫杉醇和 10-脱乙酰巴卡亭III含量的比较 [J]. 西北药学杂志, 2014, 29(2): 129-132.
- [18] 李雪冬, 罗晓敏, 马箬, 等. 毛诃子化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 976-990.
- [19] 陈龙, 方国建, 唐东方, 等. 巴卡亭III对心房纤维化的作用及其机制研究 [J]. 宁波大学学报: 理工版, 2022, 35(5): 107-114.
- [20] 苟晓莉, 金晶, 毕惠嫦, 等. 红豆杉枝叶提取物及紫杉烷类成分对 4 种肿瘤细胞的毒性作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(4): 591-592.
- [21] Bernabeu E, Cagel M, Lagomarsino E, *et al.* Paclitaxel: What has been done and the challenges remain ahead [J]. *Int J Pharm*, 2017, 526(1/2): 474-495.
- [22] Bakrania A K, Variya B C, Patel S S. Novel targets for paclitaxel nano formulations: Hopes and hypes in triple negative breast cancer [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 111: 577-591.
- [23] 刘同祥, 张艳平, 徐羽, 等. 紫杉醇联合三尖杉宁碱诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 115-118.
- [24] 王楠楠, 黄飞华. 红豆杉有效成分及其药理作用研究进展 [J]. 浙江中医杂志, 2018, 53(8): 621-623.
- [25] 赵学梅, 张宏莲, 孔寰宇, 等. 金松双黄酮联合紫杉醇对肺癌 A549 细胞生长及凋亡的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(33): 6432-6434.
- [26] 涂清波, 孙云, 许婷, 等. 银杏双黄酮药理作用的研究进展 [J]. 山东医药, 2018, 58(19): 112-114.
- [27] Mohamed B, Roukia B, Majda K S, *et al.* Free radical scavenging activity and detailed flavonoid profiling of Algerian yew (*Taxus baccata* L.) by LC-ESI-MS/MS[J] *Internat J Pharm Scien Res*, 2021, 12(5): 2613-2619.
- [28] Cao J J, Lu Q, Liu N, *et al.* Sciadopitysin suppresses RANKL-mediated osteoclastogenesis and prevents bone loss in LPS-treated mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 49: 109-117.
- [29] 彭佳丽, 艾黎, 唐湘华, 等. 三七发酵食品的研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2024, 2: 58-63.
- [30] 王玉震, 柯春婷, 仝川, 等. 胸径、构件和季节对南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量的影响 [J]. 生态学报, 2010, 30(8): 1990-1997.
- [31] 彭涛, 林军, 胡海峰, 等. 生物合成紫杉醇的研究进展 [J]. 世界临床药物, 2015, 36(3): 197-203.
- [32] 孙梦梅, 王瑞生, 张振凌, 等. 基于指纹图谱及化学计量学研究不同发酵程度建曲中成分变化 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4340-4349.
- [33] 张静. 植物红豆杉的抗癌药用价值研究 [J]. 中国药业, 2014, 23(1): 1-3.
- [34] 胡嘉芮, 樊捷婷, 何晓华, 等. 紫杉醇致周围神经病变的研究进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2023, 42(10): 616-621.
- [35] Li Y Y, Lu X Y, Sun J L, *et al.* Potential hepatic and renal toxicity induced by the biflavonoids from *Ginkgo biloba* [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(9): 672-681.
- [36] 刘丽娜, 李海亮, 李耀磊, 等. 银杏叶片中 5 种银杏双黄酮类成分同时测定方法的建立 [J]. 中国药房, 2022, 33(10): 1220-1224.
- [37] 张欢, 高胜美, 王跃飞, 等. 中药“曲剂” 发酵的物质和功能变化及机制研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2473-2479.
- [38] 单丽倩, 刘晓峰, 崔亚晨, 等. 天南星炮制成胆南星的“减毒改性” 作用 [J]. 中成药, 2021, 43(6): 1608-1612.

[责任编辑 时圣明]