

基于性状-化学-活性的黑西洋参炮制过程分析

杨紫琪¹, 徐梦丹¹, 张雪晶¹, 刘小康¹, 杨玉婷¹, 梁淑芸¹, 郭云龙², 蔡广知^{1*}, 贡济宇¹

1. 长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

2. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 吉林 长春 130117

摘要: 目的 研究黑西洋参 *Panacis Quinquefolii Radix* 炮制过程中外观颜色和皂苷成分的变化, 结合西洋参不同蒸烘样品的心脏保护活性, 确定黑西洋参最佳蒸烘次数, 为其炮制及质量评价提供参考。方法 制备西洋参不同蒸烘次数样品, 使用色差仪测定西洋参生晒及不同蒸烘样品的色度值; 采用 HPLC 法建立西洋参生晒及不同蒸烘样品 HPLC 指纹图谱, 测定样品中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 和 5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF) 及苯并芘 9 种指标成分含量; 参照《中国药典》2020 年版方法测定醇浸出物; 利用 Origin 2022 软件对上述成分含量与色度值进行相关性分析; 运用聚类分析确定黑西洋参的炮制节点; 并基于斑马鱼模型评价西洋参不同蒸烘次数样品的心脏保护活性, 确定黑西洋参最佳蒸烘次数。结果 黑西洋参炮制过程中, 不同蒸烘次数所得样品粉末的色度 L^* 、 b^* 和 E_{ab}^* 值总体呈下降趋势, a^* 值呈先上升后下降趋势, ΔE_{ab}^* 值呈上升趋势; 人参皂苷 Rg₁、Re 含量呈先上升后下降的趋势; 人参皂苷 Rb₁ 含量在第 2 次蒸制后有所下降, 随后呈先上升后下降的趋势; 人参皂苷 20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 和 5-HMF 含量前 6 次蒸烘过程呈上升趋势, 第 7 次蒸烘后略有下降, 随后再次上升; 浸出物含量变化较为波动, 主要呈下降趋势; 西洋参蒸烘样品的色度 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 、 ΔE_{ab}^* 值与人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 和 5-HMF 8 种成分含量均具显著相关性 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中 ΔE_{ab}^* 值与人参皂苷 20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 和 5-HMF 含量均呈显著正相关 ($P < 0.01$)。聚类结果显示, 五蒸五烘可作为黑西洋参的炮制节点, 活性实验结果显示五蒸五烘样品对斑马鱼的心脏保护活性最显著, 且心脏修复率最高, 为 96.04%, 黑西洋参最佳蒸烘次数为五蒸五烘。结论 性状-化学-活性相结合可作为研究黑西洋参炮制过程、筛选及验证工艺的新模式, 色度结合人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 含量测定可用于控制黑西洋参的质量。

关键词: 西洋参; 黑西洋参; 性状-化学-活性; 心脏保护活性; 炮制过程; 颜色; 皂苷; HPLC; 指纹图谱; 人参皂苷; 5-羟甲基糠醛; 苯并芘

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)19-6566-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.19.011

Processing of black *Panacis Quinquefolii Radix* based on characters, chemicals and bioactivities

YANG Ziqi¹, XU Mengdan¹, ZHANG Xuejing¹, LIU Xiaokang¹, YANG Yuting¹, LIANG Shuyun¹, GUO Yunlong², CAI Guangzhi¹, GONG Jiyu¹

1. College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

2. Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To study the changes in appearance and chemical composition during the processing in nine steaming and nine drying of black Xiyangshen (*Panacis Quinquefolii Radix*, PQR) (bPQR), and to research the heart protective effect of different repeated steaming and oven-drying samples of PQR, to determine the best times of repeated steaming and oven-drying, and to provide reference for the processing process of bPQR. **Methods** To prepare the different repeat steaming and oven-drying samples of PQR. The chromaticity values of raw and different repeated steaming and oven-drying samples of PQR were measured by the colorimeter. The HPLC fingerprint of above samples were established and the contents of nine components were determined by HPLC including

收稿日期: 2024-04-17

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (20240305014YY)

作者简介: 杨紫琪 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药品质鉴定、质量标准及开发利用研究。E-mail: yzq131456@163.com

*通信作者: 蔡广知, 副教授, 主要从事中药品质鉴定、质量标准及开发利用研究。E-mail: caigz@ccucm.edu.cn

ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁, 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃, Rk₁, Rg₅, 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and benzo(α)pyrene. The content of alcohol extract was determined according to the *Chinese Pharmacopoeia* 2020; The correlation analysis between the above components and the colorimetric values were conducted using Origin 2022 software; To determine the processing node of bPQR using cluster analysis. To choose the optimal time for bPQR by evaluating the heart protection activity of PQR during nine repeating steaming and oven-drying based on Zebra fish model. **Results** With the increase times of repeating steaming and oven-drying, the values of L^* , b^* and E_{ab}^* showed an overall downward trend, the a^* value showed an upward trend and then a downward trend, and the ΔE_{ab}^* value showed an upward trend. The contents of ginsenoside Rg₁, Re first increased and then decreased. The content of ginsenoside Rb₁ showed a downward trend at the second repeating steaming and oven-drying, and then showed a trend of first rising and then falling. The contents of ginsenoside 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃, Rk₁, Rg₅ and 5-HMF increased at first and at the seventh repeating steaming and oven-drying showed a downward trend and then again. The content of alcohol extract is fluctuating and mainly showed a downward trend. There were significant correlation between the values of L^* , a^* , b^* , E_{ab}^* , ΔE_{ab}^* and the contents of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁, 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃, Rk₁, Rg₅ and 5-HMF ($P < 0.05$, 0.01); The values of ΔE_{ab}^* were significantly positively correlated with the contents of ginsenoside 20(S)-Rg₃, 20(R)-Rg₃, Rk₁, Rg₅ and 5-HMF ($P < 0.01$). The fifth repeating steaming and oven-drying could be used as processing nodes for bPQR, and its heart repair rate was 96.04%. The fifth repeating steaming and oven-drying was the optimal time for bPQR. **Conclusion** Character-chemicals-bioactivities analysis can be used as a new model for studying the processing of bPQR, and the combination of chroma values and saponins content can be used to control the quality of bPQR.

Key words: *Panax quinquefolii Radix*; black *Panax quinquefolii Radix*; characters-chemicals-bioactivities; heart protective; processing process; color; saponins; HPLC; fingerprint; ginsenoside; 5-hydroxymethylfurfural; benzo(α)pyrene

西洋参为五加科人参属西洋参 *Panax quinquefolium* L.的干燥根,自康熙年间传入中国^[1]。乾隆初期医书《药性切用》对其有所论述^[2]:“苦寒微甘,补气清肺,气味浓浓,功在珠参之上。胃虚不耐寒凉者,宜久制用”,西洋参的蒸制和姜炙品也最早出现于此时,西洋参经蒸制后可改变其寒凉药性,扩大用药范围^[3]。《沈氏女科辑要笺正》中曾记载西洋参的“九蒸九晒”制法^[4]。“九蒸九晒”指中药经反复蒸制和晒干的加工过程,所谓“九”具有多重含义,可指九次,也可指代多次,具体次数常结合药材的色泽和形态进行判断^[5]。但传统蒸晒工艺,在晾晒过程中所受影响因素较多,时间成本较高,且易产生霉变,现代研究和实际生产过程常以“九蒸九烘”工艺代替“九蒸九晒”的传统工艺^[6]。

课题组前期通过单因素实验,确定了西洋参单次蒸、烘的实验条件,但具体蒸烘次数尚未确定。西洋参经多次蒸烘加工,炮制过程类似以鲜人参为原料加工制备黑参,故命名为“黑西洋参”,其皂苷类、多糖类和氨基酸类等成分的组成和含量会随之改变,进而影响其药理活性^[7-9]。黑西洋参炮制过程中,其颜色逐渐加深,可转化生成人参皂苷 Rg₃、Rk₁、Rg₅等多种稀有皂苷成分。此外文献报道,黑西洋参的蒸烘加工过程可产生 5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF)、苯并芘等有害物质,应控制该类成分以保证用药安全^[7,9]。西洋参对心脏损伤具有治疗和改善作用^[10-11],其蒸制品改善

心肌损伤的作用优于生品^[12]。本研究分析西洋参在九蒸九烘过程中色度和化学成分的变化趋势,探讨该过程中色度值与主要化学成分的相关性,以色度值结合化学成分组成变化确定黑西洋参的炮制节点,利用斑马鱼心脏损伤模型评价不同蒸烘次数所得西洋参炮制品的心脏保护作用,确定及验证黑西洋参的最佳蒸烘次数,将为黑西洋参的炮制及质量控制提供参考和依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

AL204 型万分之一电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司; LC-2030 型高效液相色谱仪,日本岛津公司; NR200 型电脑色差仪,深圳三恩时科技有限公司; R-201 型旋转蒸发器,上海申顺生物科技有限公司; CXZ 型智能光照培养箱,宁波江南仪器制造厂; ASV0870-3M830F 型体视显微镜,深圳市奥斯微光学仪器有限公司; CKX41SF 型倒置荧光显微镜,日本奥林巴斯公司。

1.2 材料

人参皂苷 Rg₁ (Rg₁)、人参皂苷 Re (Re)、人参皂苷 Rb₁ (Rb₁)、人参皂苷 20(S)-Rg₃ [20(S)-Rg₃]、人参皂苷 20(R)-Rg₃ [20(R)-Rg₃]、5-HMF、人参皂苷 Rk₁ (Rk₁)、人参皂苷 Rg₅ (Rg₅)、苯并芘、白藜芦醇(批号分别为 C27N11Q132589、J25GB152733、N18GB163839、D05HB203161、A29GB144936、S23HB195905、O04HB196590、R13M10G88090、

A03HB190570、M17HB178543, 质量分数均≥98%) 及亚甲基蓝 (批号 M06GS147305, 质量分数≥97%), 购自上海源叶生物科技有限公司; 特非那定 (批号 A607A024, 质量分数≥98%), 购自北京索莱宝科技有限公司; 甲醇、乙腈为色谱纯, 购自赛默飞世尔科技有限公司; 其他试剂为分析纯。

新鲜西洋参药材采集于吉林省通化市, 经长春中医药大学药学院中药鉴定教研室蔡广知副教授鉴定, 为五加科人参属植物西洋参 *P. quinquefolium* L. 的新鲜根。鲜西洋参采挖后, 表面携带少量泥土, 低温 (2~4 °C) 保存。

1.3 动物

野生型 AB 品系斑马鱼, 购自南京一树梨花生物科技有限公司。斑马鱼饲养于 (28.0±0.5) °C 环境中, 光照周期为 14 h 照明/10 h 黑暗, 每天投喂活体丰年虾 2 次。

2 方法与结果

2.1 西洋参生晒及不同蒸烘样品的制备

取西洋参鲜品 (含水量约为 65%) 洗净, 蒸制 3 h, 60 °C 烘制 14 h, 干燥后即得一蒸一烘样品, 如此反复 9 次, 即得西洋参蒸烘 1~9 次样品, 记为 S1~S9, 分别平行制备 3 份。参照《中国药典》2020 年版项下方法, 取西洋参, 低温干燥, 制得西洋参生晒样品, 记为 S0。取各样品适量, 粉碎, 过四号筛, 备用。

2.2 西洋参生晒及不同蒸烘样品色度值测定

参照文献方法^[13], 依次对各样品 (S0~S9) 的色度值 a^* 、 b^* 、 L^* 进行测定, 通过公式 $E_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2} + L^{*2})^{1/2}$, 计算出各样品的总色值 (E_{ab}^*), 并根据生晒与不同蒸烘样品 a^* 、 b^* 、 L^* 之间的差值, 通过公式 $\Delta E_{ab}^* = (\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2})^{1/2}$ 计算色差值 (ΔE_{ab}^*), 结果见表 1。

通过外观性状观察西洋参生晒及不同蒸烘样品粉末 (图 1), 可见随着蒸烘次数的增加颜色逐渐加深, 由黄白色变为棕褐色, 其中 S1 至 S3 变化最为明显。色度值结果显示, 随着蒸烘次数的增加, L^* 、 b^* 和 E_{ab}^* 值总体呈下降趋势, a^* 值呈先上升后下降趋势, ΔE_{ab}^* 值呈上升趋势。

2.3 西洋参生晒及不同蒸烘样品指纹图谱建立

2.3.1 色谱条件 色谱柱为依利特 Supersil ODS2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~42 min, 19%~25%乙腈; 42~55 min, 25%~36%乙腈; 55~64 min, 36%~50%乙腈; 64~

表 1 西洋参生晒及不同蒸烘样品粉末色度测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Color measured values of raw and different steaming and oven-drying samples of PQR (S0—S9) ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

编号	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*	ΔE_{ab}^*
S0	87.67±0.35	1.92±0.03	10.54±0.11	88.32±0.32	-
S1	70.57±0.05	10.35±0.01	21.80±0.11	74.58±0.07	22.14±0.05
S2	64.39±0.28	10.62±0.03	19.66±0.05	68.16±0.25	26.47±0.28
S3	60.74±0.75	11.16±0.16	19.13±0.45	64.65±0.52	29.74±0.83
S4	56.89±0.61	11.01±0.66	15.04±0.33	59.87±0.51	32.41±0.64
S5	52.73±0.02	10.34±0.01	12.49±0.03	55.17±0.02	35.99±0.02
S6	49.51±0.32	8.34±0.02	9.47±0.08	51.09±0.31	38.71±0.29
S7	46.78±0.56	6.59±0.05	6.56±0.13	47.70±0.52	41.35±0.51
S8	44.58±0.27	4.95±0.04	4.16±0.09	45.05±0.25	43.67±0.24
S9	43.90±0.37	5.04±0.05	4.21±0.09	44.39±0.35	44.34±0.33

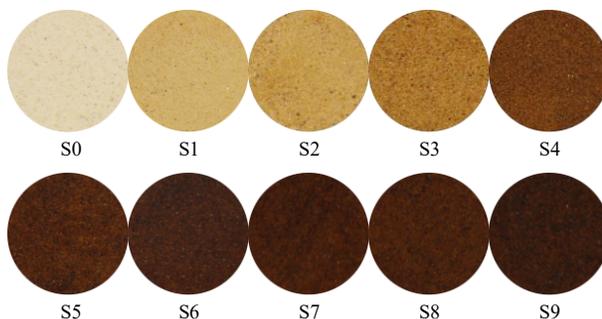


图 1 西洋参生晒及不同蒸烘样品粉末图 (S0—S9)

Fig. 1 Raw and different steaming and oven-drying samples of PQR (S0—S9)

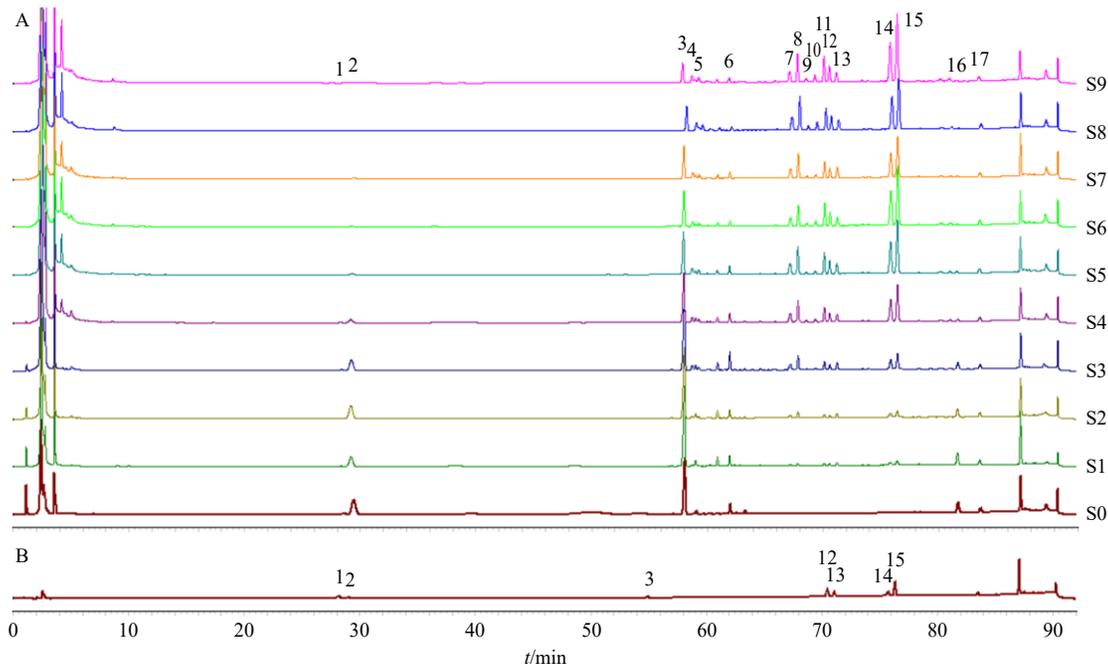
73 min, 50%~68%乙腈; 73~80 min, 68%~75%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长为 203 nm; 进样量 10 μL^[14]。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量, 加甲醇制成含 Rg₁、Re、Rb₁、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 质量浓度分别为 0.05、0.73、2.73、0.42、0.31、0.24、0.89 mg/mL 的混合对照品储备液, 备用。精密吸取各对照品储备液, 加甲醇稀释, 制得含 Rg₁、Re、Rb₁、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅ 质量浓度分别为 0.03、0.36、1.37、0.21、0.16、0.12、0.45 mg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取 S0~S9 样品粉末各 0.5 g, 加入 40 mL 甲醇, 超声 (200 W、40 Hz) 提取 30 min, 放冷, 补足减失的质量, 滤过, 取滤液 25 mL, 蒸干, 以甲醇定容至 5 mL, 0.22 μm 滤膜滤过, 即得。

2.3.4 指纹图谱的建立 取“2.3.3”项下供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样分析，利用“中药指纹图谱相似度评价系统（2012版）”软件，对西洋参生晒及不同蒸烘样品的指纹图谱进行分析，以S1样品的色谱图为参照图谱，进行多点校正和

色谱峰匹配，根据匹配结果最终确定有17个共有峰（图2-A）。通过与混合对照品（图2-B）比对，共指认其中7个共有峰，其中峰1~3、11、12、14、15分别为Rg₁、Re、Rb₁、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、Rk₁、Rg₅。



1-人参皂苷 Rg₁; 2-人参皂苷 Re; 3-人参皂苷 Rb₁; 11-人参皂苷 20(S)-Rg₃; 12-人参皂苷 20(R)-Rg₃; 14-人参皂苷 Rk₁; 15-人参皂苷 Rg₅。
1-ginsenoside Rg₁; 2-ginsenoside Re; 3-ginsenoside Rb₁; 11-ginsenoside 20(S)-Rg₃; 12-ginsenoside 20(R)-Rg₃; 14-ginsenoside Rk₁; 15-ginsenoside Rg₅。

图2 西洋参生晒及不同蒸烘样品(S0~S9, A)及混合对照品溶液(B)的HPLC图

Fig. 2 HPLC chromatogram of raw and different steaming and oven-drying samples of PQR (S0—S9, A) and mix reference solution (B)

2.3.5 精密度考察 取S4样品粉末，按照“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.3.1”项下色谱条件连续进样6次，以Rb₁为参照峰，分别计算各共有峰与参照峰的相对峰面积RSD均小于2.46%，相对保留时间均小于0.38%，结果表明仪器的精密度良好。

2.3.6 重复性考察 取S4样品粉末，按照“2.3.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，按照“2.3.1”项下色谱条件分别进样，以Rb₁为参照峰，分别计算各共有峰与参照峰的相对峰面积RSD均小于2.87%，相对保留时间均小于0.44%，表明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性考察 取S4供试品溶液，按照“2.3.1”项下色谱条件分别于制备后0、4、6、8、12、24 h进样，以Rb₁为参照峰，分别计算各共有峰与参照峰的相对峰面积RSD均小于2.75%，相对保留时间均小于0.68%，表明供试品溶液在室温下

24 h内稳定。

2.4 西洋参生晒及不同蒸烘样品中7种皂苷类成分含量测定

2.4.1 线性关系考察 精密移取“2.3.2”项下对照品储备液适量，稀释成系列不同质量浓度的对照品溶液，按照“2.3.1”项下色谱条件进行测定，以对照品峰面积为纵坐标(Y)，质量浓度为横坐标(X)，进行线性回归，得到7种皂苷类成分的回归方程分别为Rg₁ $Y=43\ 453\ 723.545 X-19\ 990.083$, $R^2=0.999\ 2$, 线性范围0.003~0.050 mg/mL; Re $Y=4\ 708\ 445.960 X-76\ 227.248$, $R^2=0.999\ 3$, 线性范围0.018~0.730 mg/mL; Rb₁ $Y=28\ 486\ 730.952\ 4 X-267\ 525.4250$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围0.173~2.730 mg/mL; 20(S)-Rg₃ $Y=4\ 564\ 610.147 X+18\ 236.168$, $R^2=0.999\ 3$, 线性范围0.021~0.420 mg/mL; 20(R)-Rg₃ $Y=4\ 490\ 810.123 X+11\ 242.489$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围0.016~0.310 mg/mL; Rk₁ $Y=18\ 778\ 392.170$

$X+721\ 270.447$, $R^2=0.999\ 1$, 线性范围 $0.012\sim 0.240$ mg/mL; Rg_5 $Y=15\ 331\ 767.670X+246\ 681.723$, $R^2=0.999\ 7$, 线性范围 $0.045\sim 0.890$ mg/mL。

2.4.2 精密度试验 取“2.3.2”项下混合对照品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样6次,计算 Rg_1 、Re、 Rb_1 、 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 峰面积 RSD 值,分别为 0.42%、0.38%、0.43%、2.25%、2.49%、1.58%、2.65%,表明仪器的精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取 S4 样品粉末,按“2.3.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件分别进样分析,计算样品中 Rg_1 、Re、 Rb_1 、 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 质量分数的 RSD 值,分别为 2.89%、2.87%、2.21%、2.06%、2.79%、2.01%、2.16%,表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取 S4 供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件分别于制备后 0、4、6、8、12、24 h 进样分析,计算样品中 Rg_1 、Re、 Rb_1 、 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 峰面积 RSD 值,分别为 0.93%、1.14%、1.27%、1.17%、2.57%、1.03%、2.13%,表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率试验 取已测成分含量的 S4 样品,精密称定 0.25 g,平行 6 份,按各成分含量 1:1 的比例加入对照品溶液,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件分别进样分析,计算加样回收率。样品中 Rg_1 、Re、 Rb_1 、 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 的平均加样回收率分别为 98.47%、98.1%、97.51%、99.74%、98.41%、99.56%、97.64%,RSD 值分别为 1.98%、1.65%、1.54%、2.47%、2.20%、1.63%、1.74%,表明该方法准确度良好。

2.4.6 检出限和定量限 以信噪比 ≥ 3 为检出限,测得该方法中 Rg_1 、Re、 Rb_1 、 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 的检出限分别为 0.190、0.213、0.215、0.206、0.171、0.152、0.155 $\mu\text{g/mL}$ 。以信噪比 ≥ 10 为定量限,测得该方法中 Rg_1 、Re、 Rb_1 、 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 的定量限分别为 0.567、0.638、0.752、0.893、0.681、0.593、0.620 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.7 含量测定结果分析 西洋参(S0~S9)九蒸九烘炮制过程中,7种人参皂苷的质量分数及变化趋势见表2和图3、4。 Rg_1 、Re 质量分数呈先上升后下降的趋势,Re 在第7次蒸烘后略有上升,随后质量分数再次下降; Rb_1 质量分数在第2次蒸制后有所下降,随后呈先上升后下降的趋势;稀有人参

表2 西洋参生晒及不同蒸烘样品(S0~S9)中7种皂苷成分质量分数

Table 2 Contents of seven saponins in raw and different steaming and oven-drying samples of PQR (S0—S9)

样品	质量分数/%						
	Rg_1	Re	Rb_1	$20(S)-Rg_3$	$20(R)-Rg_3$	Rk_1	Rg_5
S0	0.13	1.26	2.82	0.00	0.05	0.02	0.00
S1	0.03	0.80	4.18	0.11	0.11	0.05	0.11
S2	0.05	1.09	3.54	0.13	0.14	0.08	0.16
S3	0.07	0.95	4.17	0.23	0.20	0.13	0.20
S4	0.02	0.29	2.40	0.33	0.22	0.19	0.38
S5	0.01	0.13	1.94	0.51	0.37	0.27	1.07
S6	0.01	0.09	1.58	0.55	0.40	0.28	1.13
S7	0.01	0.14	1.49	0.40	0.32	0.21	0.97
S8	0.01	0.07	1.14	0.55	0.43	0.28	1.16
S9	0.01	0.03	0.93	0.64	0.47	0.32	1.21

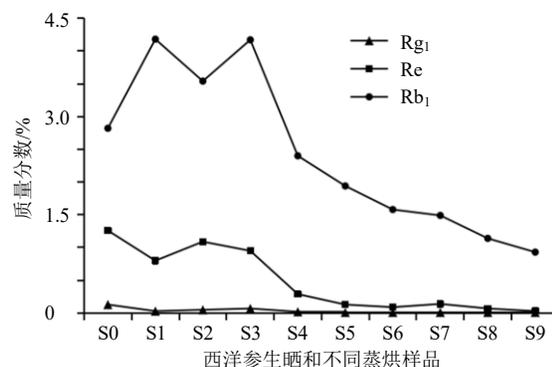


图3 Rg_1 、Re、 Rb_1 质量分数变化

Fig. 3 Changes in contents of Rg_1 , Re, Rb_1

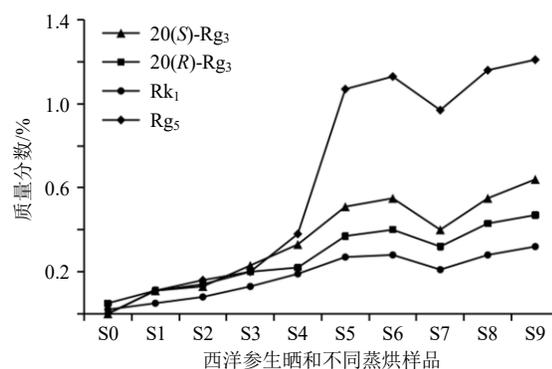


图4 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 质量分数变化

Fig. 4 Changes in contents of $20(S)-Rg_3$, $20(R)-Rg_3$, Rk_1 , and Rg_5

皂苷 $20(S)-Rg_3$ 、 $20(R)-Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 质量分数先呈上升趋势,第7次蒸烘后略有下降,随后再次上升。其中,稀有人参皂苷 Rg_5 质量分数变化最明显,在第5次蒸烘后质量分数明显增加。

2.5 西洋参生晒及不同蒸烘样品中 5-HMF 含量测定

参照李英华^[15]建立的方法进行含量测定, 西洋参九蒸九烘 (S0~S9) 炮制过程中, 5-HMF 含量结果见表 3, 色谱图见图 5。生晒和第 1 次蒸烘后样品, 未检测到 5-HMF, 第 6 次蒸烘后, 5-HMF 含量显著上升。

表 3 西洋参生晒及不同蒸烘样品中 5-HMF、苯并芘及浸出物测定结果

Table 3 Determination results of 5-HMF, benzo(a)pyrene and alcohol extract in raw and different steaming and oven-drying samples of PQR (S0—S9)

编号	5-HMF/ %	苯并芘/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	浸出 物/%	编号	5-HMF/ %	苯并芘/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	浸出 物/%
S0	0.00	0.00	56.42	S5	0.04	3.19	55.87
S1	0.00	2.37	52.06	S6	0.22	2.77	53.41
S2	0.01	2.07	52.77	S7	0.21	2.42	43.88
S3	0.01	2.89	51.78	S8	0.29	3.21	52.43
S4	0.02	2.74	52.16	S9	0.31	2.94	41.30

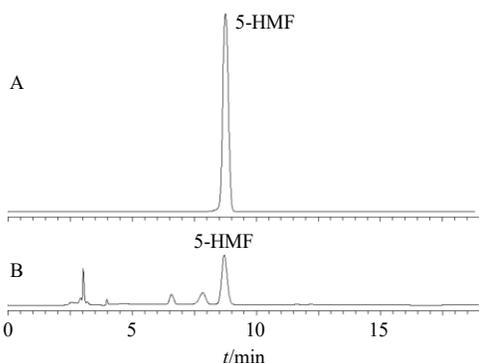


图 5 5-HMF 对照品 (A) 及西洋参蒸烘样品 (S6, B) 的 HPLC 图

Fig. 5 HPLC chromatogram of 5-HMF reference substance (A) and bPQR (S6, B)

2.6 西洋参生晒及不同蒸烘样品中苯并芘含量测定

参照张丹等^[16]和 Oh 等^[17]方法, 测定西洋参生晒及不同蒸烘样品 (S0~S9) 中苯并芘含量, 结果见表 3, 色谱图见图 6。西洋参生晒样品中未检测到苯并芘, 在九蒸九烘炮制过程中, 其苯并芘含量呈波动性上升趋势, 但整体范围在 2.07~3.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 远低于食品国家标准苯并芘 $<5 \text{ mg}/\text{kg}$ ^[18]。

2.7 西洋参生晒及不同蒸烘样品醇浸出物测定

参照《中国药典》2020 年版四部通则 2201 项西洋参醇溶性浸出物方法进行测定^[19], 结果见表 3。随着蒸烘次数增加, 醇浸出物含量变化较为波动,

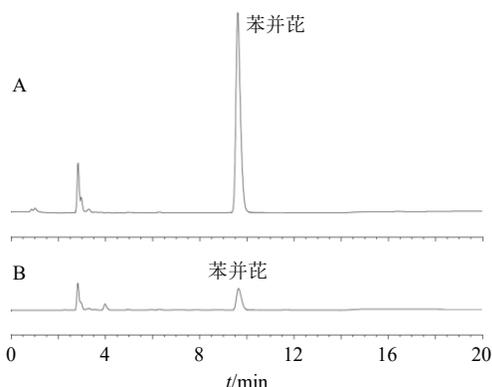


图 6 苯并芘对照品 (A) 及西洋参蒸烘样品 (S5, B) 的 HPLC 图

Fig. 6 HPLC chromatogram of benzo(a)pyrene standard (A) and bPQR (S5, B)

主要呈下降趋势, 以第 5 次蒸烘后浸出物最高, 第 9 次蒸烘后最低。

2.8 西洋参不同蒸烘样品中 10 种指标含量与颜色变化的相关性分析

应用 IBM SPSS Statistics 20 软件, 对色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 、 ΔE_{ab}^* 与 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 、 $20(S)-R_{g3}$ 、 $20(R)-R_{g3}$ 、 R_{k1} 、 R_{g5} 、5-HMF、苯并芘和浸出物 10 种指标进行正态性检验, 结果显示 R_{g1} 、 R_e 、 R_{g5} 、5-HMF 与浸出物的数据不符合正态分布, 故各样品色度值与以上各成分采用 Spearman 进行相关性分析, 色度值与人参皂苷 R_{b1} 、 $20(S)-R_{g3}$ 、 $20(R)-R_{g3}$ 、 R_{k1} 和苯并芘 5 种成分采用 Pearson 进行相关性分析, 并用 Origin 2022 软件制作相关性热图, 结果见图 7。西洋参九蒸九烘炮制过程中, 样品色度值与人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 、 $20(S)-R_{g3}$ 、 $20(R)-R_{g3}$ 、 R_{k1} 、 R_{g5} 、5-HMF 8 种成分含量均具有显著相关性 ($P < 0.05$ 、 0.01)。其中 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 值与 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 含量均呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 与人参皂苷 $20(S)-R_{g3}$ 、 $20(R)-R_{g3}$ 、 R_{k1} 、 R_{g5} 、5-HMF 含量均呈显著负相关 ($P < 0.05$); ΔE_{ab}^* 值与 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 均呈极显著负相关 ($P < 0.01$), 与人参皂苷 $20(S)-R_{g3}$ 、 $20(R)-R_{g3}$ 、 R_{k1} 、 R_{g5} 、5-HMF 含量均呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。

综上所述, 西洋参九蒸九烘炮制过程中, 样品粉末色度值与 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 、 $20(S)-R_{g3}$ 、 $20(R)-R_{g3}$ 、 R_{k1} 、 R_{g5} 、5-HMF 8 种成分含量变化具有显著相关性, 色度参数可作为初步确定黑西洋参炮制程度及开展质量评价的辅助指标。

2.9 黑西洋参炮制节点确定

分别以西洋参生晒及不同蒸烘样品的色度值和

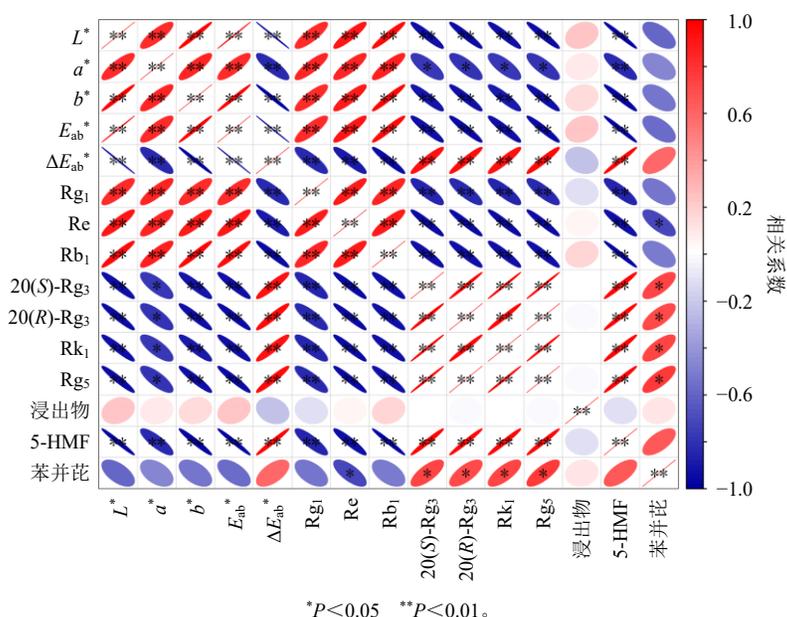


图 7 不同蒸烘次数西洋参成分与颜色相关性分析

Fig. 7 Correlation analysis of components and chroma of different steaming and oven-drying samples of PQR

指纹图谱峰面积为原始数据作为变量，使用 IBM SPSS Statistics 20 软件，采用组间相关连接法计算方式，以平方欧氏距离为度量标准进行聚类分析，结果见图 8。

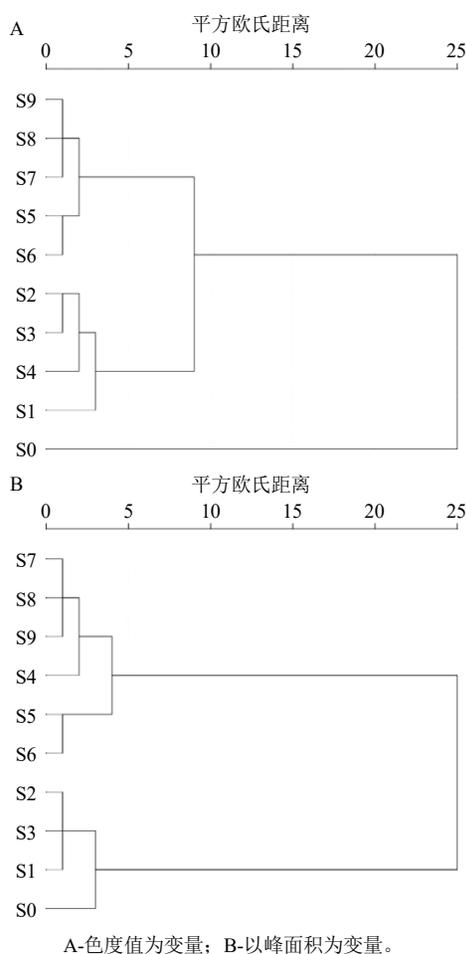
以色度值为变量，当平方欧氏距离为 15 时，不同蒸烘次数样品被聚为 3 类，分别为 S0 一类，S1~S4 一类，S5~S9 一类；以指纹图谱峰面积为变量，当平方欧氏距离为 15 时，不同蒸烘次数样品被明显聚为 2 类，分别为 S0~S3 一类，S4~S9 一类。综合考虑色度和化学成分聚类结果初步确定西洋参经反复蒸烘 5 次后，即可制成黑西洋参。

2.10 西洋参生晒及不同蒸烘样品的心脏保护活性

2.10.1 特非那定溶液的制备 精密称取特非那定 6 mg，加蒸馏水 100 mL，超声溶解，制成含特非那定 60 μg/mL 的母液。给药前以 E3 培养液稀释为 3 μg/mL 的药液。

2.10.2 白藜芦醇溶液的制备 精密称取白藜芦醇 1.5 mg，加入 3 μg/mL 特非那定溶液 50 mL，超声溶解，制成含白藜芦醇 30 μg/mL 的溶液。

2.10.3 西洋参生晒样品和不同蒸烘次数样品给药组溶液制备 依次精密称取西洋参生晒样品和不同蒸烘次数样品粉末 5 g，加入 100 mL 70% 甲醇溶液，超声提取 30 min，回收甲醇，水溶液冻干，即得西洋参生晒样品和不同蒸烘次数样品醇提物。精密称取醇提物，加 E3 培养液制成含醇提物 5 mg/mL (以生药量计) 的母液，-20 °C 保存备用。给药前以 E3



A-色度值为变量；B-以峰面积为变量。
A-chroma value as a variable; B-peak area as a variable.

图 8 西洋参生晒及不同蒸烘样品聚类结果

Fig. 8 Clustering results of raw and different steaming and oven-drying samples of PQR (S0—S9)

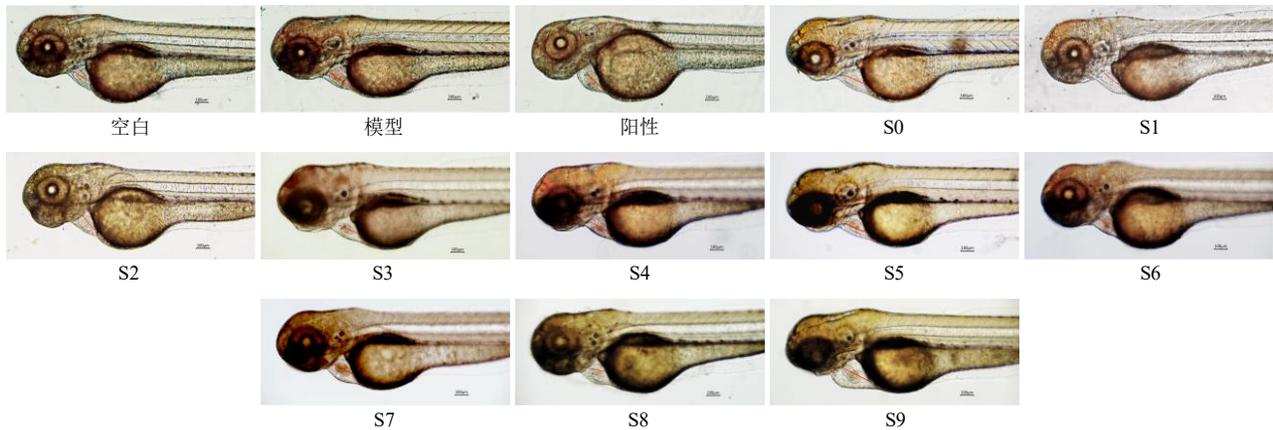
培养液稀释，得所需质量浓度的药液。

2.10.4 胚胎收集 试验前挑选健康斑马鱼(雌雄比为 1:1) 放置产卵缸内，雌雄隔开避光 1 夜，次日抽离隔板给予自然光照使斑马鱼自由受精。收集胚胎置于 28 °C 恒温培养箱中孵育至 24 hpf，在体视显微镜下手动脱去外层绒毛膜，用于后续试验。

2.10.5 分组及给药 将受精 24 hpf 的斑马鱼置于 24 孔板中，分为空白组、模型组、阳性组和给药组，每组 8 条，每组均设 3 个平行。空白组给予 E3 培养液，阳性组给予白藜芦醇溶液 (30 μg/mL)，给药组分别给予西洋参生晒样品及不同蒸烘次数样品醇提物培养液；模型组、阳性组和给药组特非那定质量浓度均为 3 μg/mL。各组斑马鱼 28 °C 恒温培养 48 h，48 hpf 时更换一次药液，倒置显微镜下观察各组斑马鱼 72 hpf 心脏部位变化，记录心率，用 ImageView 软件测量斑马鱼心脏 SV-BA 间距，并按下列公式计算心脏相对修复率。

$$\text{心脏相对修复率} = (\text{各给药组 SV-BA 间距} - \text{模型组 SV-BA 间距}) / (\text{空白组 SV-BA 间距} - \text{模型组 SV-BA 间距})$$

2.10.6 结果分析 各实验组对斑马鱼心脏的保护作用结果见图 9。结果显示，模型组斑马鱼出现了明显的心脏损伤，主要表现为心跳减慢、心率不齐、血流速度减缓、心脏形态改变、血细胞在心房心室堆积等现象；阳性组、生晒组和不同蒸烘次数所得西洋参醇提物给药组，斑马鱼心脏损伤均得到了一定改善，心率趋近整齐，血流速度加快、心脏形态恢复。随着蒸烘次数的增加，西洋参对心脏损伤斑马鱼心率的影响，呈先上升后下降的趋势，其中 S5 和 S6 组心率恢复活性最显著 ($P < 0.01$)，结果见表 4。模型组斑马鱼 SV-BA 间距较空白组显著增大，各给药组斑马鱼 SV-BA 间距较模型组均有所缩短；各给药组的心脏修复率在 8.59%~96.04%，其中 S9 组修复率最低，为 8.59%；S5 组修复率最高，为 96.04%。



A-空白组; B-模型组; C-阳性组; 图中线段表示斑马鱼心脏 SV-BA 间距。

A-control group; B-model group; C-positive group; Line segment in graph means SV-BA interval of Zebra fish heart.

图 9 各组斑马鱼心脏保护作用 (×10 倍)

Fig. 9 Heart protective effect of Zebra fish in each group (× 10)

表 4 各组斑马鱼心率及 SV-BA 间距测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Heart rate and SV-BA interval results of Zebra fish in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	心率/min	SV-BA 间距/μm	心脏修复率/%	组别	心率/min	SV-BA 间距/μm	心脏修复率/%
空白	160.50 ± 9.87	148.53 ± 16.71	-	S4	139.15 ± 11.13*	163.04 ± 23.15	50.00
模型	58.00 ± 5.25##	183.24 ± 4.81#	-	S5	149.45 ± 16.20**	144.44 ± 23.73**	96.04
阳性	115.20 ± 6.22	151.16 ± 13.51*	79.41	S6	150.50 ± 5.82**	168.28 ± 31.74	37.03
S0	127.33 ± 8.23	157.55 ± 27.07*	63.59	S7	148.20 ± 10.08*	152.56 ± 14.81*	75.94
S1	115.00 ± 35.68	159.62 ± 33.42*	58.47	S8	139.33 ± 27.50*	169.87 ± 17.48	33.09
S2	132.00 ± 4.24	155.90 ± 8.52	67.67	S9	72.50 ± 17.84	179.77 ± 21.82	8.59
S3	138.27 ± 6.07	167.80 ± 16.72	38.22				

与空白组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

2.11 黑西洋参蒸烘次数最佳工艺确定

结合斑马鱼心脏状态、心率、SV-BA 间距指标,综合评价西洋参生晒和不同蒸烘次数炮制品的心脏保护作用,以 S5 组活性最显著,且心脏保护作用优于阳性对照白藜芦醇组及西洋参生晒组。基于色度值、化学成分所筛选黑西洋参炮制节点和不同蒸烘次数心脏保护生物活性结果,最终确定五蒸五烘为黑西洋参的最佳蒸烘次数。

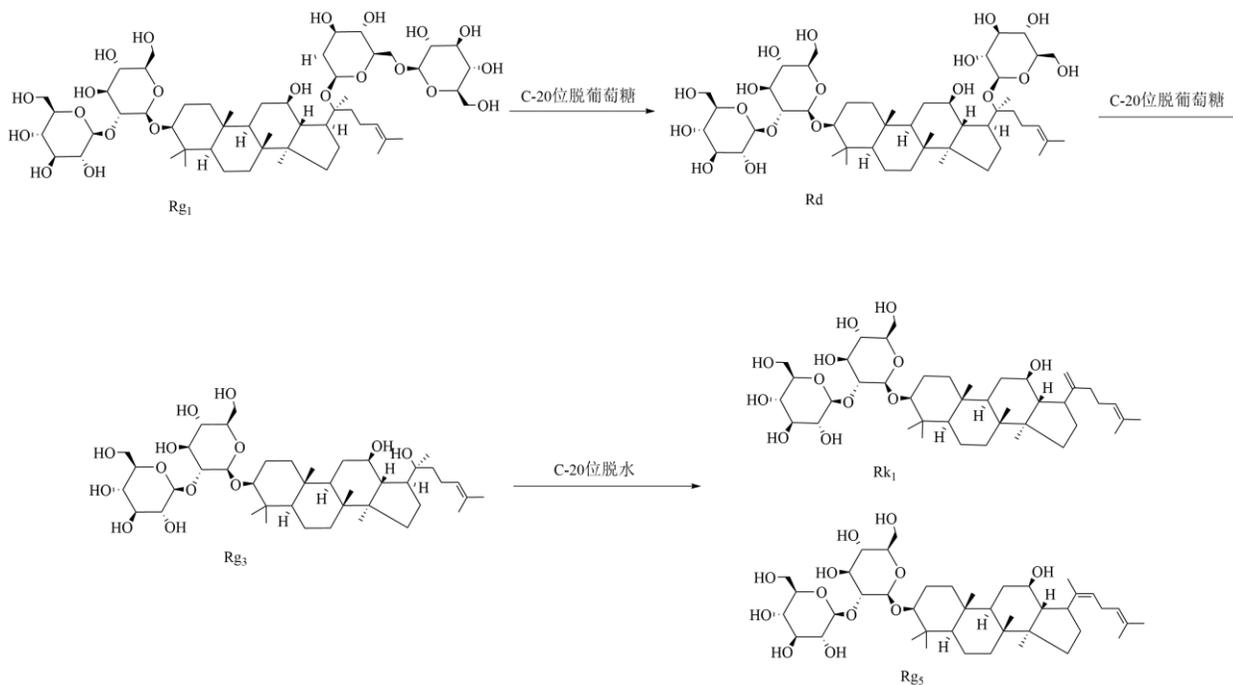


图 10 Rg_1 在蒸烘过程中的转化规律

Fig. 10 Transformation of Rg_1 during steaming and oven-drying processing

干燥过程的产物^[18-19], 5-HMF 由西洋参中原有或皂苷脱下的葡萄糖等单糖类化合物直接降解或脱水产生, 且其含量随着温度的升高和加热时间的延长逐渐增加^[20]; 苯并芘主要由蛋白质、脂肪和碳水化合物在高温条件下产生。

黑西洋参中的稀有人参皂苷 Rg_3 具有保护心血管系统活性^[24], Rk_1 、 Rg_5 具有抗心肌损伤活性^[25]; 5-HMF 具有刺激性, 对人体横纹肌和内脏有毒副作用, 且有潜在的遗传及生殖毒性^[26]; 苯并芘属于 I 类致癌物, 苯并芘暴露会造成慢性中毒, 诱发肺癌、结肠癌等, 严重影响人体健康和生命安全^[27]。因此, 本研究对以上成分在黑西洋参炮制过程中的变化趋势进行分析, 以期为黑西洋参的生产加工提供理论依据。

本研究分析了西洋参九蒸九烘炮制过程中, 外观色度与内部化学成分的相关性, 发现在反复蒸烘

3 讨论

在九蒸九烘的过程中, 西洋参中各皂苷类成分会发生 C-20 位脱糖、脱水、水合及 C-6 位脱糖等转化, 使极性皂苷逐渐向非极性转变^[17]。如在反复蒸烘的过程中, Rg_1 通过脱去 C-20 位 1 分子葡萄糖生成 Rd , Rd 的 C-20 位继续脱水水解得到 Rg_3 , Rg_3 在 C-20 位脱水可得到 Rg_5 或 Rk_1 (图 10)。

5-HMF 和苯并芘均为黑西洋参在不断蒸制和

过程中, 随着 L^* 、 b^* 和 E_{ab}^* 值的下降和 ΔE_{ab}^* 值的上升, 样品粉末颜色逐渐加深, Rg_1 、 Re 、 Rb_1 含量逐渐下降, $20(S)\text{-}Rg_3$ 、 $20(R)\text{-}Rg_3$ 、 Rk_1 、 Rg_5 和 5-HMF 含量逐渐增加。表明通过观察黑西洋参的颜色变化, 测定色度值, 能够判断黑西洋参蒸制过程中上述 8 种成分的含量变化, 在黑西洋参的生产及质量控制过程中, 可将样品粉末的色度值作为初步控制黑西洋参生产工艺的参数。

斑马鱼的心率指斑马鱼每分钟心脏跳动的次数, 其变化是评价心功能的重要指标, 能够间接反映心脏的泵血能力^[28]。SV-BA 间距指斑马鱼心脏静脉窦和动脉球之间的距离, 该距离能够评价心脏的环化程度, 通过测量 SV-BA 间距能够量化药物对斑马鱼心脏形态的影响^[29]。故本实验选择心率和 SV-BA 间距作为评价不同蒸烘次数西洋参对斑马鱼心脏保护作用的活性指标, 优选和验证黑西洋参最佳

蒸烘次数。

西洋参经五蒸五烘后心脏保护活性最强，确定为黑西洋参的最佳蒸烘次数。黑西洋参除心脏保护活性外，还具有抗氧化、抗肿瘤、抗癌、改善神经功能等药理活性，后续可分别针对其他单一活性或综合各活性，进行炮制工艺优选，以便达到黑西洋参的精准用药。

近年来，在对中药的质量评价研究中引入“性状-质量标志物-生物效应”“经验-成分-活性-电子感官”“谱-效-型”^[30-32]等研究思路，基于多学科融合将性状评价、化学评价和生物评价相结合开展中药质量综合评价^[33]，可使中药质量评价体系更加完善。在中药炮制工艺的研究中，随着色度测定技术发展，诸多学者已将颜色量化作为中药炮制程度和质量控制的参考依据^[34]，如大黄炭炮制工艺的优选、续断炮制时间的确定等^[35-36]，但以生物活性参与指导工艺研究和验证的报道较少，本实验在综合色度、化学评价确定黑西洋参蒸烘次数炮制节点的基础上，引入了心脏保护活性试验确定最佳炮制次数，实现了“性状-化学-活性”相结合的黑西洋参工艺筛选和验证研究新模式，使研究结果更具有有效性和全面性，为后期其他中药炮制工艺研究和验证提供了新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 郭卫东. 西洋参: 中美早期贸易中的重要货品 [J]. 广东社会科学, 2013(2): 122-132.

[2] 滕德永. 清朝中晚期外来参与内府参的变价困境 [J]. 地域文化研究, 2021(4): 32-42.

[3] 清·龙柏撰. 苏颖等校注. 脉药联珠药性食物考 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 356.

[4] 沈尧封. 沈氏女科辑要笺正 [M]. 上海: 上海科技卫生出版社, 1959: 21.

[5] 彭星星, 王德群, 彭华胜. 历代本草中“九蒸九晒”药材加工的沿革与变迁浅谈 [J]. 皖西学院学报, 2018, 34(2): 92-99.

[6] 姜誉弘, 刘史佳, 任娟, 等. 九蒸九晒和九蒸九烘干燥工艺对何首乌化学成分的影响 [J]. 中国药业, 2023, 32(17): 39-44.

[7] 杜培霞. 不同制备工艺对西洋参黑参品质特性及成分变化的影响研究 [D]. 济南: 山东师范大学, 2020.

[8] 王文水, 蒋胜, 王琳. 一种黑参加工工艺及其在增强免疫力和抗肿瘤领域的应用: 中国, CN106074647A [P]. 2016-11-09.

[9] Lee M R, Yun B S, Sung C K. Comparative study of white

and steamed black *Panax ginseng*, *P. quinquefolium*, and *P. notoginseng* on cholinesterase inhibitory and antioxidative activity [J]. *J Ginseng Res*, 2012, 36(1): 93-101.

[10] Xu H L, Yu X F, Qu S C, et al. In vive and in vitro cardioprotective effects of *Panax quinquefolium* 20(S)-protopanaxadiol saponins (PQDS), isolated from *Panax quinquefolium* [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(4): 287-292.

[11] 吕婧, 李晨, 杨龙飞, 等. 基于斑马鱼模型的西洋参提取物心脏保护作用研究 [J]. 中国药房, 2020, 31(3): 308-313.

[12] 黄宝泰. 西洋参蒸制前后皂苷类成分变化和心肌损伤保护作用研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.

[13] 蔡广知, 赵凌, 王莎莎, 等. 甘草药材等级标准分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 148-153.

[14] 曾露露, 赵婷, 李莹, 等. 高效液相色谱法同时测定黑参中 4 种稀有人参皂苷的含量 [J]. 中国药学杂志, 2017, 52(12): 1069-1072.

[15] 李英华. 生脉饮中 5-HMF 来源机制及炮制对五味子中化学成分影响的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.

[16] 张丹, 余保, 赵胜萍, 等. 高效液相色谱-荧光法快速测定黄连药材中苯并(α)芘的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(4): 890-892.

[17] Oh H B, Lee J W, Lee D E, et al. Characteristics of black ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mayer) production using ginseng stored at low temperature after harvest [J]. *Metabolites*, 2021, 11(2): 98.

[18] 蒋常鹏. 黑参炮制关键技术及体外抗氧化活性研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.

[19] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 136-137.

[20] 周君, 高亚杰, 徐亚琦, 等. 黑参的炮制、化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(3): 29-31.

[21] Sun B S, Gu L J, Fang Z M, et al. Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC-ELSD [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(1): 15-22.

[22] 王军, 李慧芸, 张宝善, 等. 热处理对红枣汁 5-HMF 变化的影响 [J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 39(6): 91-95.

[23] 刘振丽, 李林福, 宋志前, 等. 何首乌炮制后新产生成分的分离和结构鉴定 [J]. 中药材, 2007, 30(12): 1505-1507.

[24] 杨乾方, 王帆, 潘立民, 等. 人参皂苷 Rg₃ 提取制备、化学结构及其药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(12): 196-202.

[25] 张竣杰. 西洋参花化学组分及心肌细胞损伤保护作用研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.

- [26] 傅紫琴, 王明艳, 蔡宝昌. 5-羟甲基糠醛(5-HMF)在中药中的研究现状探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(3): 508-510.
- [27] 代文娟, 黄海燕, 胡恭华. 苯并芘致肺癌的研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2018, 32(6): 489-493.
- [28] 冉凯凯, 郑瑞芳, 夏青, 等. 模式生物斑马鱼在心功能评价中的应用 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(8): 1581-1587.
- [29] Antkiewicz D S, Burns C G, Carney S A, *et al.* Heart malformation is an early response to TCDD in embryonic zebrafish [J]. *Toxicol Sci*, 2005, 84(2): 368-377.
- [30] 秦宇雯, 费程浩, 毛春芹, 等. 基于“性状-质量标志物-生物效应”的饮片质量整体识别研究思路 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1294-1302.
- [31] 李明利, 高文雅, 王宏洁, 等. 基于“经验-成分-活性-电子感官”的中药饮片质量综合评价体系的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 1995-2007.
- [32] 赵胜男, 王梦丽, 李艳荣, 等. 刺玫果提取物“谱-效-型”质量评价体系研究 [J]. 中成药, 2023, 45(8): 2686-2690.
- [33] 陈佳, 程显隆, 李明华, 等. 中药材及饮片质量等级标准研究思路和方法 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(9): 1847-1852.
- [34] 宋金菊, 钟凌云, 薛晓, 等. 炆远志炮制工艺优化及其成分与色泽相关性分析 [J]. 中成药, 2023, 45(12): 4085-4090.
- [35] 肖井雷, 刘玉翠, 刘媛媛, 等. 熟大黄炮制工艺优选及判定标准量化研究 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1571-1576.
- [36] 张雪兰, 罗毓, 钟志奎, 等. 续断炮制时间、饮片色度值及指纹图谱的相关性研究 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2231-2236.

[责任编辑 郑礼胜]