

基于指纹图谱结合多指标化学模式识别的鲜地黄药材质量评价

王慧森¹, 张宏伟², 刘明^{1*}, 葛文静¹, 梁瑞峰¹, 李更生^{1,2,3}, 唐素勤¹, 张迪文¹, 赵家慧³

1. 河南省中西医结合医院(河南省中医药研究院), 河南 郑州 450004

2. 河南大学, 河南 开封 475004

3. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

摘要:目的 建立鲜地黄 *Rehmannia glutinosa* 指纹图谱及多指标定性定量检测方法, 为鲜地黄药材的质量评价提供科学依据。方法 采用 HPLC-PDA 法建立鲜地黄指纹图谱, 烘干法测定水分, 药材横断面图像面积比值采集测定菊花芯指数; 运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)对指纹图谱进行相似度评价, 联合 SIMCA.14.1 软件进行层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least-squares discriminant analysis, OPLS-DA)筛选鲜地黄栽培品和野生品的差异性指标成分, 同时建立其中 4 种苷类成分的含量测定方法和 2 种成分的薄层色谱(TLC)法鉴别。结果 鲜地黄栽培品和野生品环烯醚萜苷部位(iridoid glycoside fraction, IGF)和苯乙醇苷部位(Phenylethanol glycoside fraction, PGF)指纹图谱均确定 10 个共有峰, 分别以梓醇和毛蕊花糖苷为参照峰比较各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 指纹图谱相似度评价结果均大于 0.9。栽培和野生各 15 批次样品水分和菊花芯指数平均值分别为(75.75±0.04)%、(67.98±0.14)%和(37.87±0.19)%、(30.27±0.13)%。HCA 结果显示, 栽培品和野生品被分为 2 类, 通过 OPLS-DA 分析, 其中 VIP 值排名前 10 的指标成分分别为 IGF-1、IGF-3(梓醇)、PGF-4(毛蕊花糖苷)、PGF-1、IGF-6(益母草苷)、IGF-9、IGF-8、PGF-2、IGF-10、IGF-4(地黄苷 D), 对区分二者的差异性贡献较大; 建立了检测梓醇和毛蕊花糖苷的 TLC 鉴别方法, HPLC-PDA 法测定其中 4 种苷类成分(梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷)的含量, 各成分的线性关系良好($r>0.9990$), 精密度、重复性和稳定性良好, 回收率 98.74%~102.51%, RSD 均小于 4%。结论 鲜地黄 HPLC 指纹图谱的构建及化学模式识别可以区分栽培品和野生品; 水分和菊花芯指数栽培品大于野生品; 建立的 TLC 鉴别法、HPLC-PDA 含量测定法用于鲜地黄药材多种化学成分的定性、定量分析, 简便、快速、准确, 为完善鲜地黄药材质量评价体系提供参考。

关键词: 鲜地黄; 指纹图谱; HPLC-PDA; TLC; 化学模式识别; 质量评价; 梓醇; 地黄苷 D; 地黄苷 A; 益母草苷

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)23-8197-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.23.025

Quality evaluation of fresh *Rehmannia Radix* based on fingerprint combined with multi-index chemical pattern recognition

WANG Huisen¹, ZHANG Hongwei², LIU Ming¹, GE Wenjing¹, LIANG Ruifeng¹, LI Gengsheng^{1,2,3}, TANG Suqin¹, ZHANG Diwen¹, ZHAO Jiahui³

1. Henan Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine (Henan Academy of Chinese Medicine), Zhengzhou 450004, China

2. Henan University, Kaifeng 475004, China

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

Abstract: Objective To establish the fingerprint of fresh *Rehmannia Radix* and multi-index qualitative and quantitative detection method, to provide scientific basis for comprehensive quality evaluation of fresh *Rehmannia Radix*. **Methods** HPLC method was used to establish fresh *Rehmannia Radix* fingerprint, content determination method and TLC identification method, and the water content and chrysanthemum core index were determined. The similarity evaluation system of TCM Chromatographic Fingerprint (2012

收稿日期: 2024-05-09

基金项目: 河南省中医药科学研究专项重大课题(20-21ZYZD13); 河南省中医药科学研究专项重点课题(2024ZY1026, 2023ZY1023); 河南省省属科研机构基本科研业务费项目(2404024, 2204966)

作者简介: 王慧森, 女, 副研究员, 主要从事中药药效物质基础及中药新药开发研究。Tel: (0371)66331718 E-mail: whs_zz@126.com

*通信作者: 刘明, 男, 副研究员, 主要从事中药药效物质基础及中药分析研究。Tel: (0371)66331718 E-mail: ming_liu_001@126.com

edition) was used to evaluate the corresponding chromatographic similarity. Hierarchical cluster analysis (HCA) and orthogonal Partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were performed in conjunction with SIMCA.14.1 software. **Results** The fingerprints of each of Iridoid glycoside fraction (IGF) and Phenylethanol glycoside fraction (PGF) of fresh *Rehmannia glutinosa* contain ten common peaks. The relative retention time and relative peak area of common peaks were compared with catalpol and verminoside as reference peaks respectively. The similarity evaluation results of fingerprints were all greater than 0.9 except for a few of samples. The HCA results showed that cultivated products and wild products were divided into 2 categories. Through OPLS-DA analysis, ten peaks with VIP value greater than 0.8 were respectively IGF-1, IGF-3 (catalpol), PGF-4 (verbascoside), PGF-1, IGF-6 (ajugol), IGF-9, IGF-8, PGF-2, IGF-10, IGF-4 (rehmanidin D) peaks, which make great contribution to distinguish the difference between them. A TLC method for the identification of catalpa and verbascoside in fresh *Rehmannia Radix* was established. A HPLC-PDA method for the simultaneous determination of four glycosides in fresh *Rehmannia Radix* (catalpol, rehmancin D, rehmancin A, leonurin) was established. A HPLC-PDA method was established for the simultaneous determination of four glycosides in fresh *Rehmannia Radix* (catalpol, rehmannioside D, rehmannioside A, ajugol). The linear relationship of each component was good ($r > 0.9990$), and the precision, repeatability and stability were good. The recovery rates ranged from 98.74% to 102.51%, and RSD were all lower than 4%. **Conclusion** The construction of HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of fresh *Rehmannia Radix* could distinguish wild and cultivated products. The established TLC identification method and HPLC-PDA content determination method are simple, fast and accurate for the qualitative and quantitative analysis of various chemical components in fresh *Rehmannia Radix*.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch.; fingerprints; HPLC-PDA; TLC; chemical pattern recognition; quality evaluation; catalpol; rehmancin D; rehmancin A; leonurin

鲜地黄来源于玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜块根, 始载于《神农本草经》^[1]。鲜品药材质地新鲜, 保持天然状态和成分结构, 有效成分含量高、疗效优。鲜地黄在传统中医临床应用历史悠久, 如张仲景《金匱要略》百合地黄汤和防己地黄汤^[2]、吴鞠通《温病条辨》清营汤^[3]、孙思邈《千金要方》犀角地黄汤^[4]、陈自明《妇人大全良方》四生丸^[4]等均均以鲜地黄入药。临床中医认为, 鲜地黄甘苦大寒, 具有清热凉血、养阴生津功效, 清热生津凉血功效优于生地黄, 善治血热邪盛高热烦渴及吐血、衄血、咳血等多种血热出血证。现代研究表明, 鲜地黄中梓醇、还原糖、寡糖和多糖的含量高于生地黄^[5-8]; 鲜地黄汁、鲜地黄煎液对诱导小鼠凝血时间的作用明显强于生地黄^[9]。鲜地黄多糖可以通过升高多巴胺 (dopamine, DA) 和 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 的含量, 抑制甲状腺轴和肾上腺轴功能亢进从而起到抗焦虑作用^[10]; 同时能够通过降低血浆黏度, 减轻血热出血的热症, 改善异常的血液流变学, 起到凉血止血的功效^[9]。梓醇不仅具有抗氧化、抗炎、抗细胞凋亡的作用, 通过多种信号通路保护心脑血管系统^[11]; 还对高血糖引起的肾损伤具有显著的保护作用^[12]。地黄鲜品和干品药材的药剂物质基础差异决定了其药理作用和功效的不同。

《中国药典》2020 年版中“鲜地黄”和“生地黄”合并收载于地黄项下^[13], 含量测定项仅有生地黄含量测定方法和标准, 而鲜地黄缺少相应的质量控制方法

和标准; 鲜品药材从野生品经过人工栽培驯化到栽培品的演变是否保持了稳定的性状和化学成分也值得深入研究。故本实验采用 HPLC 法建立指纹图谱同时对鲜地黄的水分、菊花心指数进行测定, 经相似度评价结合聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least-squares discriminant analysis, OPLS-DA) 化学识别模式对鲜地黄栽培品和野生品进行质量评价; 建立鲜地黄薄层色谱 (TLC) 定性鉴别方法, 建立同时测定多种成分含量的 HPLC-PDA 方法, 完善鲜地黄的质量评价体系, 为临床应用和资源开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters Acquity Arc 型高效液相色谱仪, 配置四元溶剂管理系统、FIN-R 样品管理系统、2998 二极管阵列检测器和 Empower III 色谱工作站 (美国 Waters 公司); LIBROR-160DPT 型万分之一分析天平 (日本岛津公司); AE240 型十万分之一分析天平 (瑞士 Mettler 公司); TLC Visualizer 型薄层成像系统 (瑞士 CAMAG 公司); GT-350W 型超声波提取器 (济宁科技超声电子有限公司); DLSB 型低温冷却循环泵 (郑州凯鹏实验仪器有限公司); SHZ-D (III) 型循环水式真空泵 (巩义市英峡仪器厂); CenLee16k 型高速离心机 (湖南湘立科学仪器有限公司); 恒温水浴锅 (北京永光明医疗仪器厂); DHG-9070A 型电热鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限

公司)。

1.2 试剂

乙腈(色谱纯, 美国 Merker 公司); 甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 水(超纯水, 自制), 甲醇(分析纯, 北京化学试剂厂); 乙醇(分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司); 磷酸(分析纯, 天津市凯通化学试剂有限公司); 高效硅胶 G 板(青岛海洋化工有限公司); 聚酰胺薄膜(浙江台州路桥四甲生化塑料厂)。

梓醇(批号 110808-201711, 质量分数 ≥ 99.6%)、地黄苷 D(批号 112063-202102, 质量分数 ≥ 96.9%)、毛蕊花糖苷(批号 111530-201512, 质量分数 ≥ 96.7%) 购自中国食品药品检定研究院; 地黄苷 A(批号 C2408G46475, 质量分数 ≥ 98%)、益母草苷(批号 L10A6Y2298, 质量分数 ≥ 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司。

1.3 药材

鲜地黄药材于 2022 年 11 月至 2023 年 2 月采收季节分别采集于不同地区, 经河南省中医药研究院李更生研究员鉴定均为玄参科植物地黄 *R. glutinosa* Libosch. 的新鲜块根, 其中 C1~C15 为一年生栽培品, W1~W15 为多年生野生品, 来源见表 1。

表 1 鲜地黄药材栽培品和野生品来源信息

Table 1 Information on source of cultivated and wild products of fresh *Rehmannia Radix*

编号	产地	编	产地
C1	河南焦作武陟大虹桥	W1	河南南阳南召县
C2	河南焦作武陟大虹桥	W2	河南南阳南召县
C3	河南焦作武陟大虹桥	W3	河南南阳南召县
C4	河南焦作武陟大虹桥	W4	河南南阳南召县
C5	河南焦作武陟大虹桥	W5	河南南阳南召县
C6	河南焦作武陟大虹桥	W6	河南南阳南召县
C7	河南焦作武陟大虹桥	W7	河南南阳南召县
C8	河南焦作温县招贤乡	W8	北京密云古北口
C9	河南焦作温县招贤乡	W9	北京密云古北口
C1	河南焦作温县招贤乡	W1	北京密云古北口
C1	山西临汾洪洞县梗壁	W1	北京密云古北口
C1	山西临汾洪洞县梗壁	W1	河南南阳伏牛山
C1	山西临汾洪洞县梗壁	W1	山东泰安
C1	河南焦作武陟县	W1	山东枣庄
C1	河南焦作博爱县	W1	河南焦作温县

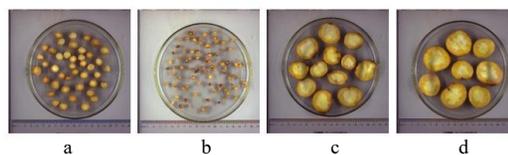
2 方法与结果

2.1 水分和菊花芯指数测定

“菊花芯”是鲜地黄横断面一种性状特征, 皮部淡黄色, 木质部黄白具放射状维管束, 状似菊花, 见图 1。按照《中国药典》2020 版四部通则 0832 水分测定第二法(烘干法)测定水分。分别取不同来源鲜地黄药材适量, 切成 5 mm 左右块状, 每个样品平行取 3 份, 测定水分。结果见表 2。

随机选取大小均匀地黄块根, 横切成片状, 采集横断面图像, 采用 ImageJ 1.8 软件测量内部白色木质部面积和整体块根面积, 计算木质部占比做为菊花芯量化指标“菊花芯指数”(chrysanthemum core index), 计算公式如下。结果见表 2。结果可见, 水分和菊花芯指数平均值栽培品为 75.75%和 37.87%、野生品为 67.98%和 30.27%。

$$\text{菊花芯指数} = \text{木质部面积} / \text{整体块根面积}$$



a, b 为野生品; c, d 为栽培品。
a and b are wild products; c and d are cultivated products.

图 1 鲜地黄药材横切面

Fig. 1 Cross section of fresh *Rehmannia Radix*

2.2 HPLC 指纹图谱建立和分析

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 2.7 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~10 min, 3%~10%乙腈; 10~22 min, 10%~30%乙腈; 22~27 min, 30%~70%乙腈; 27~30 min, 70%~3%乙腈。体积流量 1 mL/min。柱温 40 °C, 检测波长 210、203、330 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷适量, 加甲醇分别制成含 470、49.4、131.56、175.8 μg/mL 的混合对照品溶液; 取毛蕊花糖苷对照品适量, 精密称定, 加流动相制成含 0.05 mg/mL 毛蕊花糖苷的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 分别取不同来源鲜地黄适量, 切薄片, 60 °C 低温干燥 16 h, 粉碎, 取约 1.0 g, 每个样品平行 2 份, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 同一样品分别精密加入 25%和 80%甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 40 min, 放冷, 再次称定质量,

表 2 鲜地黄药材水分和菊花芯指数

Table 2 Water content and chrysanthemum core index of fresh *Rehmannia Radix*

编号	水分/%	菊花芯指数/%	编号	水分/%	菊花心指数/%
C1	75.39±0.48	35.21±6.28	W1	76.01±0.37	33.63±5.60
C2	71.69±0.46	36.04±4.11	W2	72.56±1.40	31.80±8.32
C3	76.81±0.48	31.12±6.12	W3	76.49±0.32	28.67±6.51
C4	75.69±0.97	33.13±3.69	W4	79.82±0.69	27.52±8.76
C5	76.95±0.27	36.40±3.95	W5	76.97±0.51	24.56±4.02
C6	75.92±0.29	37.29±5.27	W6	76.05±0.51	26.34±4.40
C7	77.17±0.59	33.69±4.02	W7	77.80±0.15	28.14±6.84
C8	68.30±2.49	48.54±4.70	W8	53.45±0.95	31.26±10.98
C9	78.22±2.03	45.73±2.89	W9	55.67±1.01	26.08±4.04
C10	77.13±2.06	45.97±3.78	W10	62.15±0.65	38.76±1.99
C11	79.73±0.46	33.84±4.29	W11	56.90±1.38	31.71±5.63
C12	79.01±0.31	33.44±4.19	W12	62.52±1.16	31.28±1.70
C13	79.24±0.28	31.58±2.25	W13	69.52±1.92	27.07±5.47
C14	73.52±1.18	32.12±5.62	W14	69.77±2.67	32.15±3.49
C15	71.44±0.54	53.88±2.64	W15	54.03±1.26	35.07±3.66
平均值	75.75±0.04	37.87±0.19	平均值	67.98±0.14	30.27±0.13

用 25%或 80%甲醇补足减失的质量, 摇匀。静置, 取上清液 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 分别制得环烯醚萜苷部位 (iridoid glycoside fraction, IGF) 供试品溶液和苯乙醇苷部位 (phenylethanol glycoside fraction, PGF) 供试品溶液。

2.2.4 精密度试验 取鲜地黄样品 (C1), 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录高效液相色谱图, 计算各共有峰相对保留时间的 $\text{RSD}<0.22\%$, 相对峰面积的 $\text{RSD}<0.14\%$, 表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取鲜地黄样品 (C1), 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项下色谱条件下, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录高效液相色谱图, 计算各共有峰相对保留时间的 $\text{RSD}<0.47\%$, 相对峰面积的 $\text{RSD}<1.60\%$, 表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

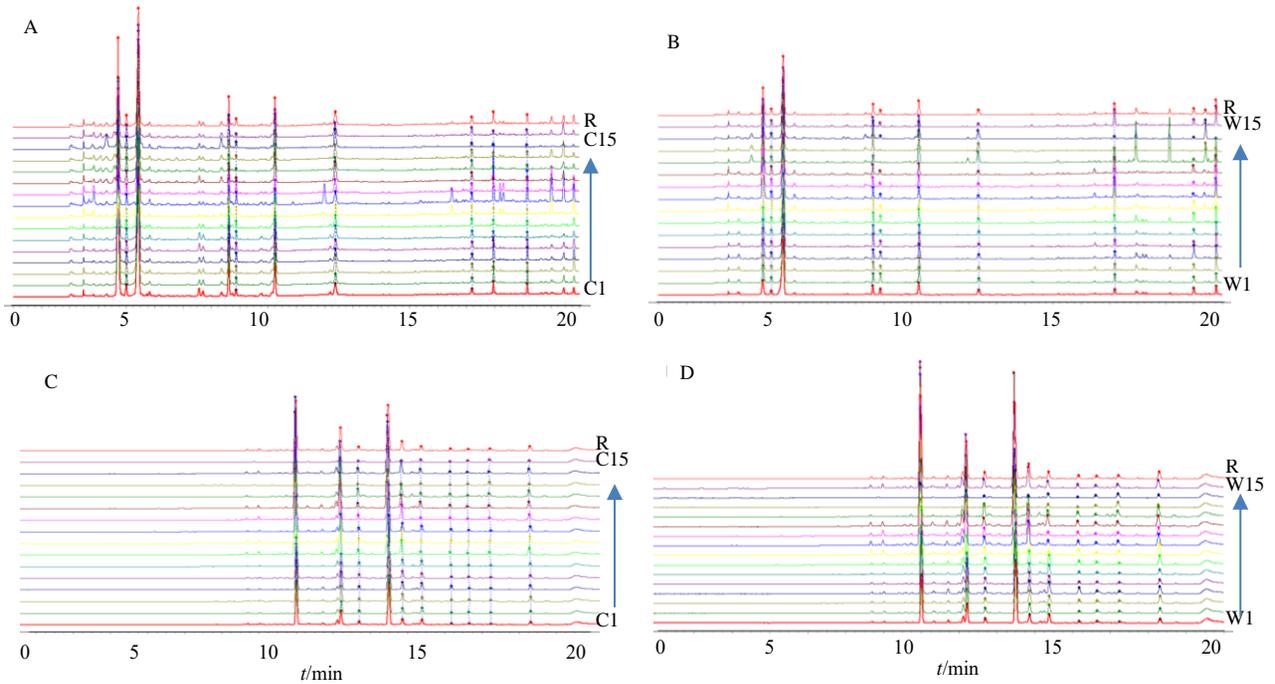
2.2.6 重复性试验 取鲜地黄样品 (C1), 按“2.2.2”项下方法分别平行制备供试品溶液 6 份, 在“2.2.1”项下色谱条件下, 记录高效液相色谱图, 计算各共有峰相对保留时间的 $\text{RSD}<0.64\%$, 相对峰面积的 $\text{RSD}<3.24\%$, 表明本方法重复性良好。

2.2.7 指纹图谱建立 分别精密吸取“2.2.2”和“2.2.3”项下对照品溶液与供试品溶液各 10 μL , 在“2.2.1”项下色谱条件下测定, 采集 HPLC 色谱图。将 HPLC 色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版) 软件, IGF 指纹图谱以 3 号色

峰 (梓醇)、PGF 指纹图谱以 4 号色谱峰 (毛蕊花糖苷) 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积, 进行数据匹配和相似度评价。分别以 C1、W1 为参照图谱, 中位数法, 时间宽度 0.5 s, 进行多点校正和色谱峰匹配, 生成鲜地黄栽培品和野生品 IGF、PGF 不同部位的 HPLC 指纹图谱和对照图谱 (R), 见图 2。IGF、PGF 指纹图谱各有 10 个共有峰。

2.2.8 相似度分析 鲜地黄栽培品和野生品各 15 批次样品, IGF 指纹图谱以 3 号色谱峰 (梓醇)、PGF 指纹图谱以 4 号色谱峰 (毛蕊花糖苷) 为参照峰, 分别标记 10 个共有峰。IGF 指纹图谱 1~10 号峰保留时间分别为 3.71、4.01、4.43、7.61、7.88、9.24、11.37、16.96、18.15、18.99 min, 对照品比对指认 3、4、5、6 号峰分别为梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷; PGF 指纹图谱 1~10 号峰保留时间分别为 16.99、18.19、18.67、19.48、19.85、20.37、21.16、21.63、22.21、23.28 min, 对照品比对指认 4 号峰为毛蕊花糖苷, 见图 3、4。各样品不同部位指纹图谱的相似度评价结果, 见表 3、4。

2.2.9 HCA 将 30 批样品共有峰相对峰面积、水分和菊花芯指数全部导入 SIMCA 14.1 系统软件进行 HCA, 聚类图见图 5。结果显示 30 批鲜地黄可分为 2 大类, C1~C15 聚为第 1 类, W1~W15 聚为第 2 类, 即为栽培品和野生品。结果表明, HCA 可以根据多种活性成分相对峰面积、水分和菊花芯

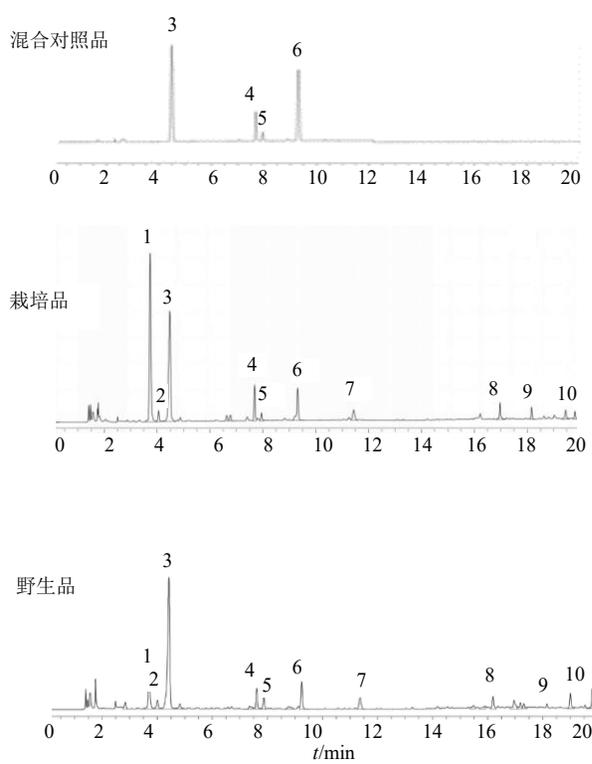


A-栽培品 IGF 指纹图谱; B-野生品 IGF 指纹图谱; C-栽培品 PGF 指纹图谱; D-野生品 PGF 指纹图谱。

A-IGF fingerprint of cultivated products; B-IGF fingerprint of wild products; C-PGF fingerprint of cultivated products; D-PGF fingerprint of wild products.

图 2 鲜地黄栽培品和野生品各部位 HPLC 指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprint of cultivated and wild products of fresh *Rehmannia Radix*

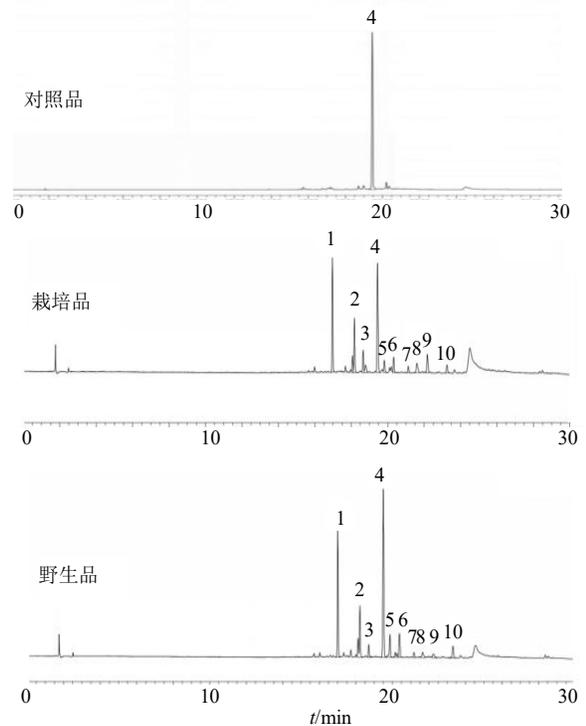


3-梓醇; 4-地黄苷 D; 5-地黄苷 A; 6-益母草苷。

3-catalpol; 4-rehmanosine D; 5-rehmanosine A; 6-ajugol.

图 3 鲜地黄环烯醚萜苷部位 (IGF) HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC chromatogram of IGF of fresh *Rehmannia Radix*



4-毛蕊花糖苷。

4-verbascoside.

图 4 鲜地黄苯乙醇苷部位 (PGF) HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC chromatogram of PGF of fresh *Rehmannia Radix*

表 3 鲜地黄 IGF 指纹图谱相似度评价结果

Table 3 IGF fingerprint similarity evaluation results of fresh *Rehmannia Radix*

编号	相似度															R
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	
C1	1.000	0.997	0.995	0.991	0.972	0.998	0.988	0.805	0.779	0.834	0.894	0.899	0.874	0.831	0.889	0.961
C2	0.997	1.000	0.995	0.992	0.965	0.996	0.988	0.779	0.760	0.812	0.880	0.882	0.857	0.812	0.872	0.951
C3	0.995	0.995	1.000	0.997	0.981	0.999	0.997	0.825	0.802	0.854	0.919	0.918	0.898	0.859	0.911	0.973
C4	0.991	0.992	0.997	1.000	0.988	0.996	0.998	0.845	0.831	0.874	0.929	0.929	0.912	0.876	0.922	0.980
C5	0.972	0.965	0.981	0.988	1.000	0.982	0.991	0.911	0.889	0.931	0.967	0.969	0.958	0.935	0.965	0.997
C6	0.998	0.996	0.999	0.996	0.982	1.000	0.996	0.826	0.799	0.853	0.914	0.917	0.895	0.856	0.908	0.972
C7	0.988	0.988	0.997	0.998	0.991	0.996	1.000	0.850	0.827	0.876	0.936	0.935	0.918	0.886	0.929	0.982
C8	0.805	0.779	0.825	0.845	0.911	0.826	0.850	1.000	0.982	0.997	0.970	0.975	0.982	0.988	0.978	0.933
C9	0.779	0.760	0.802	0.831	0.889	0.799	0.827	0.982	1.000	0.986	0.945	0.950	0.961	0.963	0.955	0.913
C10	0.834	0.812	0.854	0.874	0.931	0.853	0.876	0.997	0.986	1.000	0.979	0.982	0.988	0.988	0.985	0.951
C11	0.894	0.880	0.919	0.929	0.967	0.914	0.936	0.970	0.945	0.979	1.000	0.997	0.997	0.988	0.998	0.981
C12	0.899	0.882	0.918	0.929	0.969	0.917	0.935	0.975	0.950	0.982	0.997	1.000	0.998	0.987	1.000	0.983
C13	0.874	0.857	0.898	0.912	0.958	0.895	0.918	0.982	0.961	0.988	0.997	0.998	1.000	0.994	0.999	0.974
C14	0.831	0.812	0.859	0.876	0.935	0.856	0.886	0.988	0.963	0.988	0.988	0.987	0.994	1.000	0.990	0.951
C15	0.889	0.872	0.911	0.922	0.965	0.908	0.929	0.978	0.955	0.985	0.998	1.000	0.999	0.990	1.000	0.980
R	0.961	0.951	0.973	0.980	0.997	0.972	0.982	0.933	0.913	0.951	0.981	0.983	0.974	0.951	0.980	1.000

编号	相似度															R
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	
W1	1.000	0.998	0.997	0.994	0.993	0.998	0.998	0.940	0.848	0.858	0.848	0.705	0.980	0.968	0.965	0.979
W2	0.998	1.000	0.998	0.995	0.996	0.997	0.998	0.949	0.864	0.873	0.862	0.724	0.979	0.968	0.971	0.984
W3	0.997	0.998	1.000	0.997	0.998	0.999	0.999	0.959	0.874	0.884	0.872	0.736	0.975	0.963	0.979	0.989
W4	0.994	0.995	0.997	1.000	0.996	0.995	0.997	0.962	0.882	0.891	0.881	0.737	0.966	0.957	0.980	0.989
W5	0.993	0.996	0.998	0.996	1.000	0.996	0.995	0.966	0.893	0.902	0.891	0.739	0.974	0.964	0.984	0.994
W6	0.998	0.997	0.999	0.995	0.996	1.000	0.998	0.955	0.868	0.878	0.867	0.707	0.975	0.963	0.976	0.985
W7	0.998	0.998	0.999	0.997	0.995	0.998	1.000	0.952	0.856	0.867	0.854	0.729	0.974	0.961	0.973	0.982
W8	0.940	0.949	0.959	0.962	0.966	0.955	0.952	1.000	0.953	0.959	0.944	0.746	0.905	0.893	0.996	0.984
W9	0.848	0.864	0.874	0.882	0.893	0.868	0.856	0.953	1.000	0.999	0.998	0.658	0.817	0.813	0.944	0.935
W10	0.858	0.873	0.884	0.891	0.902	0.878	0.867	0.959	0.999	1.000	0.997	0.673	0.828	0.822	0.951	0.942
W11	0.848	0.862	0.872	0.881	0.891	0.867	0.854	0.944	0.998	0.997	1.000	0.631	0.815	0.812	0.938	0.931
W12	0.705	0.724	0.736	0.737	0.739	0.707	0.729	0.746	0.658	0.673	0.631	1.000	0.732	0.708	0.744	0.749
W13	0.980	0.979	0.975	0.966	0.974	0.975	0.974	0.905	0.817	0.828	0.815	0.732	1.000	0.994	0.933	0.959
W14	0.968	0.968	0.963	0.957	0.964	0.963	0.961	0.893	0.813	0.822	0.812	0.708	0.994	1.000	0.922	0.950
W15	0.965	0.971	0.979	0.980	0.984	0.976	0.973	0.996	0.944	0.951	0.938	0.744	0.933	0.922	1.000	0.995
R	0.979	0.984	0.989	0.989	0.994	0.985	0.982	0.984	0.935	0.942	0.931	0.749	0.959	0.950	0.995	1.000

指数区分鲜地黄栽培品和野生品。

2.2.10 OPLS-DA^[14-15] 在 HCA 基础上,将鲜地黄的多重活性成分和性状指数等数据导入 SIMCA 14.1 系统软件进行 PLS-DA。OPLS-DA 得分图见图 6,得分图显示,栽培品和野生品各自聚为一类,同一生长方式样品差异较小,质量相对稳定,不同生长方式样品差异显著,与 HCA 得到的结果一致。图中,鲜地黄栽培品分布于坐标轴左侧,野生品样品分布于坐标轴右侧,可见指纹图谱共有峰面积积分值在同一生长方式鲜地黄样品中相似度较高。 R^2 描述模型的拟合程度, Q^2 描述了 X 预测 Y 的能力。本模型中, R^2 为 0.932,

Q^2 为 0.697,二者数值均大于 0.5,差值小于 0.3,说明所建立的模型稳定可靠,具有良好的可重复性和预测性。根据 OPLS-DA 模型得到 22 个变量重要性投影(variable importance for the projection, VIP) 见图 6。结果显示,10 个变量即 IGF-1、IGF-3 (梓醇)、PGF-4 (毛蕊花糖苷)、PGF-1、IGF-6 (益母草苷)、IGF-9、IGF-8、PGF-2、IGF-10、IGF-4 (地黄苷 D) 号峰峰面积积分值 VIP 值大于 0.8, VIP 值分别 2.582 3、1.736 2、1.521 3、1.380 0、1.102 9、1.017 4、0.987 9、0.944 0、0.865 6、0.838 1,其中前 6 个 VIP 值大于 1,对区分鲜地黄栽培品和野生品作用较大。

表 4 鲜地黄 PGF 指纹图谱相似度评价结果

Table 4 PGF fingerprint similarity evaluation results of fresh *Rehmannia Radix*

编号	相似度															R
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	
C1	1.000	0.997	0.995	0.994	0.991	0.989	0.931	0.925	0.902	0.906	0.814	0.837	0.798	0.920	0.748	0.953
C2	0.997	1.000	0.997	0.996	0.982	0.981	0.949	0.903	0.874	0.880	0.783	0.808	0.765	0.917	0.744	0.935
C3	0.995	0.997	1.000	0.998	0.979	0.975	0.952	0.895	0.867	0.873	0.769	0.796	0.752	0.915	0.748	0.928
C4	0.994	0.996	0.998	1.000	0.971	0.968	0.959	0.881	0.854	0.857	0.745	0.774	0.729	0.897	0.726	0.915
C5	0.991	0.982	0.979	0.971	1.000	0.999	0.884	0.961	0.939	0.946	0.881	0.900	0.867	0.943	0.777	0.982
C6	0.989	0.981	0.975	0.968	0.999	1.000	0.883	0.960	0.938	0.945	0.884	0.901	0.868	0.944	0.776	0.981
C7	0.931	0.949	0.952	0.959	0.884	0.883	1.000	0.725	0.685	0.692	0.567	0.597	0.535	0.856	0.728	0.782
C8	0.925	0.903	0.895	0.881	0.961	0.960	0.725	1.000	0.995	0.998	0.963	0.976	0.964	0.876	0.695	0.995
C9	0.902	0.874	0.867	0.854	0.939	0.938	0.685	0.995	1.000	0.999	0.963	0.975	0.967	0.842	0.657	0.986
C10	0.906	0.880	0.873	0.857	0.946	0.945	0.692	0.998	0.999	1.000	0.971	0.982	0.973	0.860	0.682	0.990
C11	0.814	0.783	0.769	0.745	0.881	0.884	0.567	0.963	0.963	0.971	1.000	0.998	0.996	0.839	0.701	0.948
C12	0.837	0.808	0.796	0.774	0.900	0.901	0.597	0.976	0.975	0.982	0.998	1.000	0.996	0.850	0.704	0.962
C13	0.798	0.765	0.752	0.729	0.867	0.868	0.535	0.964	0.967	0.973	0.996	0.996	1.000	0.803	0.650	0.942
C14	0.920	0.917	0.915	0.897	0.943	0.944	0.856	0.876	0.842	0.860	0.839	0.850	0.803	1.000	0.920	0.910
C15	0.748	0.744	0.748	0.726	0.777	0.776	0.728	0.695	0.657	0.682	0.701	0.704	0.650	0.920	1.000	0.738
R	0.953	0.935	0.928	0.915	0.982	0.981	0.782	0.995	0.986	0.990	0.948	0.962	0.942	0.910	0.738	1.000

编号	相似度															R
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11	W12	W13	W14	W15	
W1	1.000	0.990	0.999	0.980	0.994	0.990	0.998	0.927	0.918	0.897	0.988	0.877	0.939	0.934	0.952	0.984
W2	0.990	1.000	0.992	0.948	0.996	0.990	0.986	0.967	0.961	0.940	0.999	0.886	0.895	0.884	0.982	0.996
W3	0.999	0.992	1.000	0.975	0.996	0.991	0.999	0.938	0.928	0.909	0.991	0.887	0.937	0.926	0.960	0.988
W4	0.980	0.948	0.975	1.000	0.955	0.945	0.977	0.843	0.829	0.799	0.948	0.799	0.961	0.983	0.878	0.933
W5	0.994	0.996	0.996	0.955	1.000	0.998	0.994	0.959	0.952	0.939	0.994	0.914	0.917	0.894	0.978	0.997
W6	0.990	0.990	0.991	0.945	0.998	1.000	0.992	0.957	0.951	0.942	0.987	0.930	0.914	0.881	0.976	0.994
W7	0.998	0.986	0.999	0.977	0.994	0.992	1.000	0.928	0.919	0.903	0.985	0.896	0.943	0.929	0.953	0.985
W8	0.927	0.967	0.938	0.843	0.959	0.957	0.928	1.000	1.000	0.992	0.969	0.913	0.789	0.745	0.997	0.978
W9	0.918	0.961	0.928	0.829	0.952	0.951	0.919	1.000	1.000	0.994	0.963	0.911	0.774	0.728	0.995	0.973
W10	0.897	0.940	0.909	0.799	0.939	0.942	0.903	0.992	0.994	1.000	0.942	0.941	0.756	0.691	0.987	0.961
W11	0.988	0.999	0.991	0.948	0.994	0.987	0.985	0.969	0.963	0.942	1.000	0.885	0.893	0.883	0.983	0.996
W12	0.877	0.886	0.887	0.799	0.914	0.930	0.896	0.913	0.911	0.941	0.885	1.000	0.811	0.711	0.926	0.922
W13	0.939	0.895	0.937	0.961	0.917	0.914	0.943	0.789	0.774	0.756	0.893	0.811	1.000	0.970	0.828	0.890
W14	0.934	0.884	0.926	0.983	0.894	0.881	0.929	0.745	0.728	0.691	0.883	0.711	0.970	1.000	0.788	0.862
W15	0.952	0.982	0.960	0.878	0.978	0.976	0.953	0.997	0.995	0.987	0.983	0.926	0.828	0.788	1.000	0.991
R	0.984	0.996	0.988	0.933	0.997	0.994	0.985	0.978	0.973	0.961	0.996	0.922	0.890	0.862	0.991	1.000

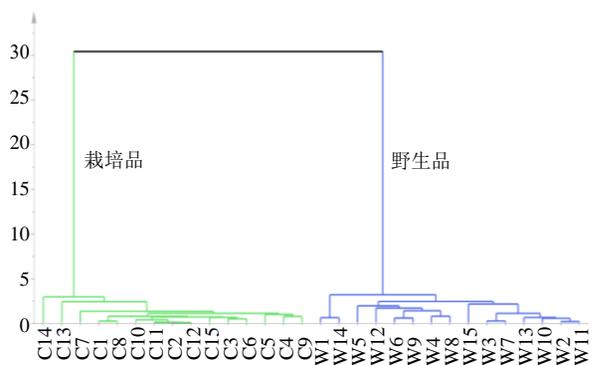


图 5 鲜地黄栽培品和野生品的聚类图

Fig. 5 Cluster map of cultivated and wild products of fresh *Rehmannia Radix*

2.3 鲜地黄药材 TLC 鉴别

2.3.1 梓醇 TLC 鉴别 分别称取不同来源鲜地黄干燥粉末 1.0 g, 置于具塞锥形瓶中, 加入 20 mL 甲醇, 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤液浓缩至 2 mL, 作为供试品溶液。取梓醇对照品适量于 2 mL 量瓶中, 甲醇溶解并定容, 制成含 0.5 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 2 种溶液各 2 μL, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以三氯甲烷-甲醇-水 (14 : 6 : 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以茴香醛浓硫酸试液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显现相同颜色的斑点。结果见图 7。

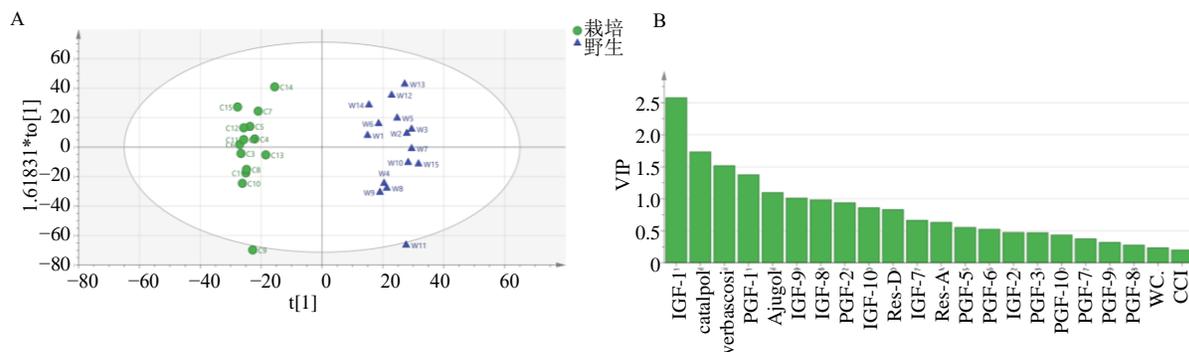
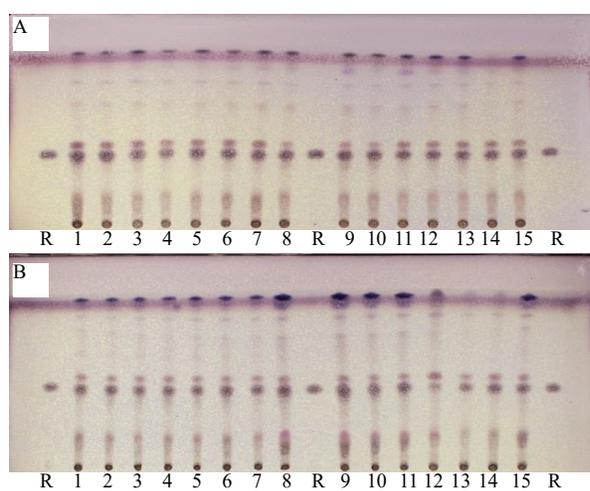


图 6 鲜地黄栽培品和野生品 OPLS-DA 散点图 (A) 和 22 个变量 VIP 得分图 (B)

Fig. 6 OPLS-DA plot (A) and VIP score (B) chart of 22 variables of cultivated and wild fresh *Rehmannia Radix*



A-栽培品色谱图; B-野生品色谱图; R-梓醇; 1~15-鲜地黄样品。
A-chromatogram of cultivated products; B-chromatogram of Wild products; R-catalpol; 1—15- samples of fresh *Rehmannia Radix*.

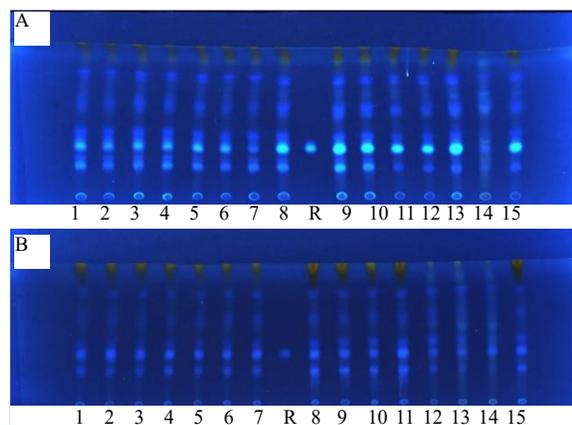
图 7 鲜地黄中梓醇 TLC 色谱图

Fig. 7 TLC chromatogram of catalpol in fresh *Rehmannia Radix*

结果可见, 此 TLC 鉴别方法简便、快速, 斑点清晰, Rf 值适中, 可用于鲜地黄中梓醇的定性鉴别。

2.3.2 毛蕊花糖苷 TLC 鉴别 分别取不同来源鲜地黄干燥粉末 1 g, 加 80% 甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 5 mL 使溶解, 用水饱和的正丁醇振荡提取 4 次, 每次 10 mL, 合并正丁醇溶液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取毛蕊花糖苷对照品加甲醇制成含 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述供试品溶液 2 μ L, 对照品溶液 1 μ L, 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以醋酸乙酯-甲醇-甲酸 (14 : 1 : 2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液, 晾干, 在紫

外灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上显现相同颜色荧光斑点。结果见图 8。



A-栽培品色谱图; B-野生品色谱图; R-毛蕊花糖苷; 1~15-鲜地黄样品。
A-chromatogram of cultivated products; B-chromatogram of Wild products; R-verbascoside; 1—15-samples of fresh *Rehmannia Radix*.

图 8 鲜地黄中毛蕊花糖苷 TLC 色谱图

Fig. 8 TLC chromatogram of verbascoside in fresh *Rehmannia Radix*

本 TLC 鉴别方法 将《中国药典》方法^[13]做了改进, 以聚酰胺薄膜代替硅胶 G 薄层板, 显色剂以“喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液”代替“0.1% 的 2,2-二苯基-1-苦肼基无水乙醇溶液浸板”, 显色剂用量少, 毒性低, 操作简便。结果可见, 此方法用于鲜地黄中毛蕊花糖苷的定性鉴别, 简便、快速, 荧光斑点清晰, Rf 值适中, 可用于鲜地黄中毛蕊花糖苷的定性鉴别。

2.4 HPLC-PDA 含量测定方法建立

本课题组前期研究发现地黄环烯醚萜苷类中梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A 和益母草苷这 4 种成分稳

定且含量较高^[14]。根据“2.2.10”项结果，梓醇、地黄苷 D、益母草苷峰面积积分值 VIP 值大于 0.8，而地黄苷 A 的 VIP 值稍低，但地黄苷 A 具有滋阴作用，并可以增强小鼠体液免疫和细胞免疫功能^[15]，是地黄功效成分之一，故在建立含量测定质控方法时选择这 4 种成分作为指标成分。

2.4.1 色谱条件 同“2.2.1”项色谱条件，检测波长 210、203 nm。理论板数按梓醇峰计算应不低于 4 000。色谱图见图 9。

2.4.2 对照品溶液的制备 分别精密称取梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷适量，加甲醇分别制成含 470、49.4、131.56、175.8 μg/mL 的混合对照品溶液，即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 分别取不同来源鲜地黄样品 60 °C 低温干燥，粉碎，取约 1.0 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入 25% 甲醇 50 mL，称定质量，超声处理 40 min，放冷，再次称定质量，用 25% 甲醇补足减失的质量，摇匀。静置，取上清液 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得。

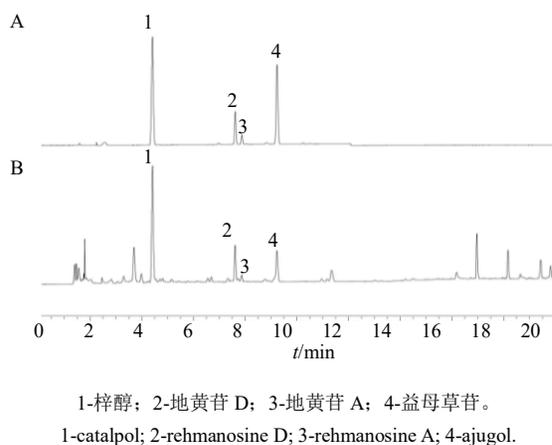


图 9 混合对照品 (A) 和鲜地黄样品 (B) HPLC 图
Fig. 9 HPLC chromatogram of mixed control (A) and fresh *Rehmannia Radix* (B)

2.4.4 线性关系考察 将“2.4.2”项下各对照品配成系列混合对照品溶液，质量浓度分别为梓醇 0.047、0.094、0.188、0.282、0.376 mg/mL；地黄苷 D 4.94、9.88、19.76、29.64、39.52 μg/mL；地黄苷 A 1.316、2.631、5.262、7.894、10.525 μg/mL；益母草苷 17.58、35.16、70.32、105.48、140.64 μg/mL。按“2.4.1”项下色谱条件各进样 10 μL，测定各指标成分峰面积。将所得峰面积 (Y) 与各对照品的质量浓度 (X) 进行线性回归，得回归方程、相关系数和线性范围，梓醇为 $Y=3.00 \times 10^5 X+5.23 \times$

10^3 , $r=0.9999$, 0.047~0.376 mg/mL；地黄苷 D 为 $Y=6.69 \times 10^5 X+6.46 \times 10^3$, $r=0.9998$, 4.94~39.52 μg/mL；地黄苷 A 为 $Y=7.48 \times 10^5 X+6.46 \times 10^3$, $r=0.9998$, 1.316~10.525 μg/mL；益母草苷为 $Y=5.77 \times 10^5 X+2.37 \times 10^3$, $r=0.9996$, 17.58~140.64 μg/mL。

2.4.5 精密度考察 取同一鲜地黄供试品溶液 C3 号，按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.4.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录高效液相色谱图，计算各色谱峰积分面积，梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷的 RSD 分别为 0.1%、0.3%、0.6%、0.2%，表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性考察 取 C3 号鲜地黄供试品溶液，按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.4.1”项色谱条件下，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定，记录高效液相色谱图，计算各色谱峰积分面积，梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷的 RSD 分别为 0.3%、0.4%、0.7%、0.2%，表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.4.7 重复性考察 平行取 C3 号鲜地黄样品 6 份，按“2.4.3”项下方法分别制备供试品溶液，在“2.4.1”项下色谱条件，记录高效液相色谱图，记录各色谱峰积分面积，分别计算各成分质量分数，梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷的 RSD 分别为 2.0%、1.1%、1.3%、1.6%，表明本方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 平行精密称取 C7 号鲜地黄样品干燥粉末 6 份，按各成分含量约 1:1 精密加入对照品溶液，制备加样回收率样品，按“2.4.1”项下色谱条件测定各成分质量分数。计算回收率和 RSD 值分别为梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷的平均回收率分别为 99.84%、98.74%、102.51%、99.93%，RSD 值分别为 1.95%、1.46%、1.94%、1.51%。

2.4.9 含量测定 按照“2.4.1”测定方法测定各样品化学成分峰面积积分值，计算样品中梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷的质量分数。结果见表 5。结果可见，鲜地黄药材 30 个样品中 4 种成分含量梓醇不低于 1.0%、地黄苷 D 不低于 0.10%、地黄苷 A 不低于 0.02%、益母草苷不低于 0.12%。

3 讨论

3.1 HPLC 条件筛选

采用不同厂家和不同规格的色谱柱 Hypersil GOLD (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX

表 5 鲜地黄 4 种成分含量测定结果

Table 5 Results of content determination of four components of fresh *Rehmannia Radix*

样品编号	梓醇/%	地黄苷D/%	地黄苷A/%	益母草苷/%
C1	3.23	0.283	0.024	0.416
C2	4.80	0.344	0.052	0.378
C3	3.36	0.270	0.056	0.415
C4	3.09	0.292	0.073	0.424
C5	3.68	0.362	0.064	0.413
C6	3.89	0.330	0.062	0.450
C7	2.84	0.290	0.058	0.445
C8	3.42	0.214	0.080	0.127
C9	4.16	0.246	0.105	0.178
C10	3.56	0.225	0.103	0.152
C11	3.19	0.159	0.056	0.346
C12	3.45	0.134	0.026	0.352
C13	3.44	0.160	0.035	0.346
C14	3.55	0.279	0.054	0.386
C15	3.33	0.141	0.029	0.355
W1	3.61	0.164	0.094	0.276
W2	3.75	0.162	0.143	0.356
W3	3.15	0.154	0.076	0.292
W4	3.54	0.161	0.107	0.341
W5	3.14	0.219	0.089	0.313
W6	3.36	0.169	0.070	0.223
W7	3.79	0.175	0.103	0.319
W8	3.48	0.204	0.076	0.234
W9	3.32	0.198	0.074	0.279
W10	2.96	0.173	0.065	0.252
W11	3.64	0.181	0.074	0.256
W12	1.13	0.113	0.020	0.728
W13	2.93	0.242	0.032	0.395
W14	3.25	0.297	0.046	0.385
W15	3.19	0.172	0.067	0.249

SB-Aq (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、SB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、InfinityLab Poroshell 120 SB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 2.7 μm) 进行考察, 以不同流动相甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸以不同比例洗脱筛选, 最终确定 Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 2.7 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸为流动相, 0~10 min, 3%~10%乙腈; 10~22 min, 10%~30%乙腈; 22~27 min, 30%~70%乙腈; 27~30 min, 70%~3%乙腈, 梯度洗脱。柱温 40 °C。体积流量 1 mL/min。所选色谱柱填料改良, 粒度细柱体短, 30 min 可以达到普通色谱柱 60 min 的色谱效果, 节省时间降低溶剂耗量。由于环烯醚萜苷类成分多为末端吸收, 以乙腈-0.1%磷酸为流动相改善了甲醇在梯度洗脱时造成的基线漂移, 在选定的色谱条件下各成分峰分离度良好。

梓醇、地黄苷 D、A 和益母草苷等环烯醚萜苷类成分均为末端吸收, 由于梓醇含量高且信号响应灵敏, 为减少吸收峰之间的落差, 参考《中国药典》2020 年版地黄项下检测波长, 在指纹图谱建立和含

量测定中采用定时波长切换: 0~5 min, 210 nm; 5~20 min, 203 nm。苯乙醇苷类以毛蕊花糖苷的最大吸收波长 330 nm 为检测波长建立指纹图谱^[13, 17]。

3.2 指纹图谱建立

现代研究发现, 梓醇可延缓脑衰老, 保护神经损伤, 保护组织细胞损伤; 还可通过下调前列腺素 E₂、环氧合酶 2、白细胞介素 8 和单核细胞趋化蛋白 1 水平展现显著的抗炎效果^[18-21]; 可能通过抑制 NF-κB 通路, 激活核转录相关因子-2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 明显减轻小鼠急性肝损伤^[22]; 通过显著下调经白细胞介素诱导衰老基质酶发挥明显的抗软骨降解活性^[23]。梓醇和毛蕊花糖苷还具有一定的促成骨细胞增殖作用^[24]。研究表明, 毛蕊花糖苷可能是地黄防治糖尿病视网膜病变的的效物质; 在抑制晚期糖化产物 (advanced glycation end products, AGEs) 生成中作用较显著^[25-26]。以梓醇为代表的环烯醚萜苷类 (iridoid glycosides, IG) 和以毛蕊花糖苷为代表的苯乙醇苷类 (phenylethanol glycoside, PG) 是地黄的 2 大类主要活性成分, 其化学结构差异较大导致极性和溶解性差别较大, 在同一色谱图上难以同时呈现, 为了保证各特征峰的有效分离以及基线平稳, 降低杂质峰的干扰, 参照现行版药典地黄项下的提取方法以 25%甲醇和 80%甲醇为溶媒分别提取并建立表征这 2 类成分的特征指纹图谱, 综合分析全面考察评估鲜地黄药材质量^[13, 18]。

3.3 结果分析

OPLS 判别分析通过引入正交滤波器, 增强了 PLS 在处理数据时的能力, 使其能够更有效地识别和提取与响应变量相关的预测变量信息, 同时减少不相关信息的影响, 从而提高模型的解释性和预测准确性^[27]。HCA 和 OPLS-DA 结果显示, 栽培品和野生品被分为 2 类, 其中 VIP 值大于 0.8 的 10 个峰分别为 IGF-1、IGF-3 (梓醇)、PGF-4 (毛蕊花糖苷)、PGF-1、IGF-6 (益母草苷)、IGF-9、IGF-8、PGF-2、IGF-10、IGF-4 (地黄苷 D), 其中前 6 个成分峰 VIP 值大于 1, 提示其对区分鲜地黄栽培品和野生品的差异性贡献较大; 指纹图谱评价和含量测定结果可见, 毛蕊花糖苷类成分含量野生品高于栽培, 梓醇含量栽培品高于野生品, 差异性显著; 水分和菊花芯指数栽培品大于野生品, 差异性不显著。可见, 鲜地黄野生品在人工栽培驯化过程中, 个体膨大、产量提高, 同时化学成分相对含量发生了改变。地黄人工种植的栽培品是春种秋收一年生, 生长于较

肥沃的田间；野生品多生长于山间荒野，为多年生，生长环境恶劣，由于受到生长环境因素及生长时间的影响，可能是导致化学质量指标成分差异的重要原因。这一变化是否产生药效的改变还有待进一步研究。

地黄是著名的豫产道地药材“四大怀药”之一，依据炮制方法的不同分为鲜地黄、生地黄、熟地黄，临床应用功效迥异，有“同源三性”之誉。现行版《中国药典》将“鲜地黄”和“生地黄”合并收载于地黄项下，鲜地黄缺乏含量测定评价标准，本实验建立了同时测定多种环烯醚萜苷类成分的含量测定方法，灵敏、准确。建立的鲜地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的TLC定性鉴别方法，其中毛蕊花糖苷TLC鉴别采用的显色方法较药典方法^[13]更加简便、快捷。鲜地黄和生地黄化学成分和功效差异较大，性味归经、功能主治和用法用量不同，建议鲜地黄单列收载。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 魏·吴普等述·清·孙星衍·清·孙冯翼辑. 神农本草经 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1996: 12.
- [2] 程龙, 朱翠玲, 闫奎坡, 等. 张仲景运用生地黄特点 [J]. 河南中医, 2021, 41(7): 977-980.
- [3] 杨进. 温病条辨 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998: 107.
- [4] 王绵之. 王绵之方剂学讲稿 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 56.
- [5] 李计萍, 马华, 王跃生, 等. 鲜地黄与干地黄中梓醇、糖类成分含量的比较 [J]. 中国药学杂志, 2001, 36(5): 300-302.
- [6] 杨云, 张华锋, 刘炯, 等. 道地产区不同品种怀地黄中梓醇及毛蕊花糖苷的含量比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 97-101.
- [7] 于雷, 李晓坤, 张华锋, 等. RP-HPLC-RID 法同时测定怀地黄中单糖、低聚糖的含量. 药物分析杂志, 2013, 33(6): 977-982.
- [8] 郭楠, 李稳宏, 赵鹏, 等. 不同炮制地黄中水苏糖含量研究 [J]. 中成药, 2008, 30(12): 1812-1814.
- [9] 贾秀梅, 张振凌, 吴瑞环. 鲜地黄及保鲜加工品对血热出血模型大鼠凉血止血药效比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 127-132.
- [10] 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.
- [11] Zhang Z X, Dai Y G, Xiao Y C, *et al.* Protective effects of catalpol on cardio-cerebrovascular diseases: A comprehensive review [J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13(10): 1089-1101.
- [12] Fu Z M, Su X J, Zhou Q, *et al.* Protective effects and possible mechanisms of catalpol against diabetic nephropathy in animal models: A systematic review and meta-analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1192694.
- [13] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 129.
- [14] 王慧森, 刘明, 李更生, 等. 一种地黄环烯醚萜苷类提取物的制备方法: 201810047545.6 [P]. 2021-03-26.
- [15] 王军, 于震, 李更生, 等. 地黄苷 A 对“阴虚”及免疫功能低下小鼠的药理作用 [J]. 中国药理学杂志, 2002, (1): 22-24.
- [16] 汪杰, 刘宇洁, 张静, 等. 基于化学计量法和指纹图谱对生姜不同处理方法的成分差异研究 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 3107-3115.
- [17] 籍学伟, 陈备尧, 白妍, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的暖宫七味丸质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 470-478.
- [18] 张志鹏, 徐杰, 刘佩仪, 等. 基于标准汤剂的鲜地黄配方颗粒质量标准研究 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1127-1137.
- [19] 李玉洁, 韩倩倩, 陈鑫, 等. 地黄花多糖抗衰老作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(14): 3469-3471.
- [20] 张月月, 王君明, 巫晓慧, 等. 地黄梓醇对组织损伤的保护作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(8): 76-79.
- [21] Bhattamisra S K, Koh H M, Lim S Y, *et al.* Molecular and biochemical pathways of catalpol in alleviating diabetes mellitus and its complications [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 323.
- [22] Zhang H G, Jia R C, Wang F J, *et al.* Catalpol protects mice against Lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury through inhibiting inflammatory and oxidative response [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(3): 3887-3894.
- [23] Cai C K, Sun P C, Chen Z H, *et al.* Catalpol protects mouse ATDC5 chondrocytes against interleukin-1 β -induced catabolism [J]. *Histol Histopathol*, 2024, 39(3): 333-344.
- [24] 孙娜, 徐钢, 张丽妍, 等. 中药地黄防治骨质疏松症的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(15): 3603-3607.
- [25] 田梦飞. 地黄叶毛蕊花糖苷提取分离及降血糖活性研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2022.
- [26] 刘思妍, 王芯, 潘奕璇, 等. 基于视网膜 Müller 细胞的地黄调节 AGEs 干预下 HIF-1 α 表达的谱效关系研究 [J]. 中成药, 2020, 42(1): 217-221.
- [27] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理: 主成分分析十个要点问题 [J]. 药学学报, 2018, 53(6): 929-937.

[责任编辑 时圣明]