省级项目平台

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.04.039

基于鲜地黄不同入药形式探究糖类和环烯醚萜苷类成分含量变化

冯志毅[1,2],张威[3],李运法[1,2],段浩瀚[1,2],李莹莹[1,2],谢彩侠[1,2],张娟[1,2],雷敬卫[1,2]
(1.河南中医药大学药学院,河南 郑州 450046;2.河南省中药质量控制与评价工程技术研究中心,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 对地黄不同入药形式(地黄汁煎液、鲜干地黄汤剂、生地黄汤剂)进行质量分析研究,测定成分含量并建立了地黄不同处理形式的指纹图谱,为地黄不同入药形式的临床应用提供依据。方法 使用HPLC法测量地黄不同处理形式的3种环烯醚萜苷及5种糖类成分的含量并比较其含量差异,建立不同处理形式的HPLC指纹图谱。结果 地黄样品中3种环烯醚萜苷类成分含量顺序为鲜干地黄汤剂>地黄汁煎液>生地黄汤剂,5种糖类成分含量总值顺序为地黄汁煎液>鲜干地黄汤剂>生地黄汤剂,地黄不同处理形式的指纹图谱共标定12个共有峰,通过对照品比对,指认6个共有峰,分别是梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷、毛蕊花糖苷。相似度结果显示,30批地黄不同处理形式的相似度范围在0.835~0.994,表明建立的指纹图谱相似度良好。主成分分析(PCA)与正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)显示不同处理形式地黄质量存在差异,并筛选出区分不同处理形式地黄产生差异的主要标志性成分为峰1、2、11、12、3(梓醇)、10、5。结论 对地黄不同入药形式(生地黄汤剂、鲜干地黄汤剂和地黄汁煎液)的含量进行测定,建立了地黄不同处理形式的指纹图谱,为鲜地黄的产地初加工、地黄汁的临床使用提供研究基础和理论依据。

关键词:地黄;指纹图谱;质量分析;处理形式;含量测定
中图分类号:R284.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2026)04-0201-10

Variation of Sugars and Cyclic Enol Ether Terpene Glycosides Based on Different Forms of Fresh Xiandihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea)

FENG Zhiyi[1,2],ZHANG Wei[3],LI Yunfa[1,2],DUAN Haohan[1,2],LI Yingying[1,2],
XIE Caixia[1,2],ZHANG Juan[1,2],LEI Jingwei[1,2]
(1. School of Pharmacy,Henan University of Chinese Medicine,Zhengzhou 450046,Henan,China;
2. Henan Engineering Research Center for Quality Control and Evaluation of Traditional Chinese Medicines,Zhengzhou 450046,Henan,China;
3. Zhengzhou College of Health Care Professions,Zhengzhou 450046,Henan,China)

Abstract:*Objective* To analyze the quality of different forms of Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea)(juice decoction,fresh dried decoction,decoction),to determine the contents of ingredients and establish the fingerprint map of different forms of Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea),so as to provide a basis for the clinical application of different forms. *Methods* High Performance Liquid Chromatography(HPLC) measured the contents of three glycosides and five glycosides of Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) and established the HPLC fingerprint of different treatment forms. *Results* The content order of three kinds of cyclic terpenoid components was fresh dried Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) decoction > Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) juice decoction > Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) decoction;the content order of 5 kinds of sugar was Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) juice decoction > fresh dried Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) decoction > Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) decoction. Twelve common peaks were calibrated in the fingerprint spectrum of different processing forms of Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea). Through the control comparison,six total peaks were identified,which were peach leaf coridin,reflavin D,reflavin A,motherthidin and hair flower glycoside. The similarity results showed that the similarity of different treatment forms of 30 batches ranged from 0.835 to 0.994,indicating a good similarity of the established fingerprint. Principal component analysis(PCA) and orthogonal least squares discriminant analysis(OPLS-DA) analysis showed differences in the

基金项目:河南省中医药科学研究专项(2023ZY3037)
作者简介:冯志毅(1973-),男,河南林州人,副教授,博士,研究方向:中药性-药物质基础。
通讯作者:张娟(1982-),女,河南郑州人,副教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:中药质量分析。E-mail:zj9820305@163.com。
雷敬卫(1972-),男,河南郑州人,教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:中药质量分析。E-mail:925390812@qq.com。

quality of different treatment forms, and the main landmark components that differentiated different treatment forms were peaks 1, 2, 11, 12, 3(catalpol), 10 and 5. *Conclusion* In this study, the contents of different forms of Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea)(decoction, fresh dried decoction and decoction) were determined, and the fingerprint of different forms of Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) was established, which provided the research basis and theoretical basis for the primary processing of fresh Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea) and the clinical use of the juice.

Keywords: Dihuang(Radix et Rhizoma Dioscorea); fingerprinting; quality analysis; processing form; content determination

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根[1]，始载于神农本草经，列为上品，是我国常用大宗中药材[2]，主产于河南、河北、山西、陕西等地[3]，以旧称“怀庆府”的河南省焦作地区为道地产区，习称为“怀地黄”[4-5]。地黄在药材上分为鲜地黄、生地黄、熟地黄[1]，地黄中主要含有糖类、环烯醚萜苷类、苯乙醇苷类成分[6-8]。地黄中环烯醚萜苷类成分主要具有抗氧化、保肝降糖等多种药理作用，主要以梓醇为代表[9-11]，以水苏糖为代表的地黄寡糖是继苷类、地黄多糖后发现的地黄活性组分[12-13]，具有降低糖尿病大鼠血糖及调节肠道菌群功能[14]。

中药具有不同的处理形式，有以粉末直接入药，如散剂、丸剂等，有以提取物的形式入药，不同处理形式对中药发挥药效具有影响[15]；在临床上较多使用生地黄和熟地黄煎汤服用，该处理形式为提取物形式。地黄鲜用，由来已久，地黄汁是鲜地黄的全根茎榨汁所得，该处理形式与提取物形式不同[16-17]。在对文献的考证研究中发现鲜地黄、生地黄的成分及药效作用具有差异。鲜干地黄由鲜地黄快速烘干而得，可保留鲜地黄中的大量化学成分，但目前研究较少[18]。因此本实验内容对地黄的不同处理形式(地黄汁煎液、生地黄汤剂、鲜干地黄汤剂)进行化学成分研究，建立指纹图谱，为地黄不同处理形式的临床应用提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)；Waters 2695－2998 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)；Alltech 2000ES 蒸发光检测器；Venusil XBP C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；Agilent Zorbax NH_2 色谱柱；101－3 AB 型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司)；HQ－700DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)；BSA224S－CW 型万分之一天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)；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)。

1.2 试剂

梓醇(批号 MUST－21041120，纯度≥99.56%)；益母草苷(批号 MUST－21121010，纯度≥98.69%)；地黄苷 D(批号 MUST－20101311，纯度≥98.15%)均购自成都曼斯特生物科技有限公司；D－无水葡萄糖(批号 Y19F11J108781，纯度≥98%)；水苏糖(批号 J04D10R104841，纯度≥98%)购自上海源叶生物科技有限公司；果糖(批号 AF21021653，纯度≥98%)；蔗糖(批号 AF20110803，纯度≥98%)；棉子糖(批号 AF21081854，纯度≥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)；乙腈(色谱纯，美国 Tedia 公司)。

1.3 药材

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地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜根茎。

地黄汁煎液：取经原汁机榨 500 g 鲜地黄制备 250 mL 地黄汁，用200目滤网过滤，放入－40 ℃冰箱冷冻 48 h；取鲜地黄汁 250 mL 从沸腾开始计时文火(300 W)煎煮 5 min，调整体积至 500 mL。

生地黄汤剂、鲜干地黄汤剂参考王敏等[19]和陈士林等[20]的汤剂方法并稍作修改。

标准汤剂冻干粉制备参考田瀚举等[21]方法并稍作修改样品编号见表1。

表1 地黄不同处理形式样品信息

样品名称	样品编号	样品名称	样品编号	样品名称	样品编号	药材采收地
地黄汁煎液	Z1	鲜干地黄汤剂	T1	生地黄汤剂	S1	武陟古樊村
地黄汁煎液	Z2	鲜干地黄汤剂	T2	生地黄汤剂	S2	武陟古樊村
地黄汁煎液	Z3	鲜干地黄汤剂	T3	生地黄汤剂	S3	武陟古樊村
地黄汁煎液	Z4	鲜干地黄汤剂	T4	生地黄汤剂	S4	武陟古樊村
地黄汁煎液	Z5	鲜干地黄汤剂	T5	生地黄汤剂	S5	武陟张武村
地黄汁煎液	Z6	鲜干地黄汤剂	T6	生地黄汤剂	S6	武陟张武村
地黄汁煎液	Z7	鲜干地黄汤剂	T7	生地黄汤剂	S7	武陟张武村
地黄汁煎液	Z8	鲜干地黄汤剂	T8	生地黄汤剂	S8	武陟张武村
地黄汁煎液	Z9	鲜干地黄汤剂	T9	生地黄汤剂	S9	武陟东安村
地黄汁煎液	Z10	鲜干地黄汤剂	T10	生地黄汤剂	S10	温县东留村

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 取1.3项下Z1基准样品冻干粉1支于100 mL锥形瓶中，加25%色谱甲醇25 mL，称定重量，超声处理60 min(700 W，40 kHz)，放冷，称定重量，补足减失重量，摇匀，4000 r·min^{-1}离心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。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取梓醇、地黄苷D、益母草苷对照品适量，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，得到浓度依次为6.036、0.566、0.408 mg·mL^{-1}的混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 色谱柱：Venusil XBP C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相：乙腈(A)－0.1%磷酸水(B)，梯度洗脱：梯度洗脱(0～8 min，0%→3% A；8～20 min，3%→4% A)，流速：1 mL·min^{-1}；柱温：30 ℃；PDA检测器检测波长203 nm；进样量：10 μL。混合对照品及不同地黄样品色谱图见插页XXII图1。

2.2 方法学考察

2.2.1 精密度试验 取Z1样品的供试品溶液，按照2.1.3项下色谱条件连续进样6次，计算得梓醇、地黄苷D、益母草苷、峰面积的RSD分别为0.29%、1.00%、0.41%，表明仪器精密度良好。

2.2.2 稳定性试验 取Z1样品的供试品，4 ℃条件下保存，

按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 按 2.1.3 项下的色谱条件进样，计算得梓醇、地黄苷 D、益母草苷峰面积的 RSD 分别为 0.27%、0.98%、0.35%、1.44%、0.28%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

2.2.3 重复性试验 精密称取地黄汁煎液样品 6 份，按 2.1.1 项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按 2.1.3 项下的色谱条件进样，计算得到梓醇、地黄苷 D、益母草苷含量的 RSD 分别为 0.31%、1.10%、0.19%，表明该方法重复性较好。

2.2.4 加样回收率 取已知含量的地黄样品，每份精密称定 0.5 g，分 3 组，分别按地黄样品中梓醇、地黄苷 D、益母草苷含量的 50%、100%、150% 加入对照品，按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液，按 2.1.3 项下色谱条件进样，测得地黄样品中 5 种成分平均回收率及 RSD 值，得平均回收率分别为 98.83%、98.55%、98.75%，RSD 分别为 1.48%、1.43%、1.09%。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取 2.1.2 项下混合对照品溶液 0.1、0.5、1.0、1.25、2.5 mL 于 5 mL 容量瓶中，加甲醇定容至刻度，按 2.1.3 项下色谱条件进样，分别以梓醇、地黄苷 D、益母草苷浓度为横坐标，以对应的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。线性考察结果见表 2。

表 2 线性关系考察结果

对照品	回归方程	r	线性范围/(mg·mL^{-1})
梓醇	Y = 5 824 114.14X + 765 755.81	0.999 0	0.120 7 ~ 3.018 0
地黄苷 D	Y = 6 246 786.44X + 59 506.44	0.999 3	0.011 3 ~ 0.283 0
益母草苷	Y = 5 671 921.68X + 25 485.19	0.999 1	0.008 2 ~ 0.204 0

2.3 成分含量测定结果

按 2.1.1 供试品溶液制备方法制备各供试品溶液，按照 2.1.3 项下的色谱条件进样，混合对照品图谱及样品图谱见插页XXXII图 1，平行测定 2 次，计算各样品中 3 种环烯醚萜苷类成分含量，测定结果见表 3、表 4。

地黄样品中 3 种环烯醚萜苷类成分含量顺序为鲜干地黄汤剂 > 地黄汁煎液 > 生地黄汤剂，表示环烯醚萜苷类成分在鲜干片汤剂中最多，因为环烯醚萜苷类成分不稳定，因此在地黄汁煎液煎煮过程中存在损失，生地黄由鲜地黄缓慢烘干而得，查阅文献发现在缓慢烘干过程中环烯醚萜苷类成分大量损失[22]，是生地黄汤剂中梓醇等环烯醚萜苷类成分较少的重要原因。

2.4 地黄糖类含量测定

2.4.1 供试品溶液的制备 取 1.3 项下基准样品 1 冻干粉 1 支于 100 mL 锥形瓶中，加 60% 色谱甲醇 25 mL，称定重量，超声处理 45 min(500 W，40 kHz)，放冷，称定重量，补足减失重量，过滤，取续滤液 2 mL，用 0.22 μm 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 容量瓶中，加甲醇定容至刻度，得到浓度依次为 1.586、2.71、11.15、7.44、54.98 mg·mL^{-1} 的混合对照品溶液。

2.4.3 色谱条件 Agilent Zorbax NH_2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm，5 μm)；流动相：水 - 乙腈(32∶68)，流速 0.8 mL·min^{-1}；柱温 30 ℃；进样量 5 μL。ELSD 参数：气体流量 2.8 L·min^{-1}；漂移管温度 85.0 ℃；增益 1。对照品和地黄样品色谱图见插页XXXII图 2。

表 3 3 种环烯醚萜苷类成分含量测定结果(n = 2)

单位：mg·g^{-1}

样品编号	梓醇	地黄苷 D	益母草苷
Z1	18.466 8	1.357 8	1.620 6
Z2	18.177 2	1.402 7	1.747 4
Z3	17.014 0	1.358 5	1.319 0
Z4	15.788 3	1.339 3	1.385 0
Z5	20.281 5	1.525 3	1.642 6
Z6	17.908 4	1.558 3	1.678 7
Z7	18.558 7	1.501 1	1.691 9
Z8	18.867 4	1.512 9	1.784 7
Z9	16.562 5	1.222 1	1.498 2
Z10	16.298 5	1.361 8	1.270 2
T1	23.346 4	1.511 0	1.912 2
T2	22.558 5	1.483 5	1.648 8
T3	19.458 9	1.321 2	1.725 6
T4	23.870 0	1.416 0	1.667 9
T5	23.802 4	1.421 4	1.462 6
T6	23.768 9	1.205 5	1.444 7
T7	22.483 1	1.257 1	1.783 1
T8	22.271 7	1.348 5	1.792 1
T9	21.270 4	1.226 9	1.505 7
T10	17.491 0	1.210 5	1.640 7
S1	8.067 3	0.605 6	0.849 0
S2	7.929 4	0.605 5	0.810 0
S3	8.711 2	0.631 1	0.860 3
S4	8.567 2	0.598 2	0.963 7
S5	10.611 9	0.653 2	0.844 0
S6	10.272 6	0.638 8	0.855 6
S7	10.841 4	0.605 5	0.888 7
S8	9.391 7	0.972 5	0.932 4
S9	9.898 1	0.856 9	0.890 7
S10	9.150 6	0.927 7	0.934 6

表 4 3 种环烯醚萜苷类成分含量测定均值

单位：mg·g^{-1}

样品信息	梓醇	地黄苷 D	益母草苷
地黄汁煎液	17.792 3	1.414 0	1.563 8
鲜干地黄汤剂	22.032 1	1.340 2	1.658 3
生地黄汤剂	9.344 1	0.709 5	0.882 9

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 精密吸取 2.4.2 项下混合对照品溶液 0.1、0.5、1.0、1.25、2.5 mL 于 10 mL 容量瓶中，加甲醇定容至刻度，按 2.4.3 项下色谱条件进样，分别以果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖浓度的对数为横坐标，以对应的峰面积的对数为纵坐标，绘制标准曲线。线性考察结果见表 5。

表 5 线性关系考察结果

对照品	回归方程	r	线性范围/(mg·mL^{-1})
果糖	Y = 0.766 7X + 2.740	0.999 3	0.015 9 ~ 0.237 9
葡萄糖	Y = 0.854X + 2.895	0.999 2	0.027 1 ~ 0.406 5
蔗糖	Y = 1.062X + 1.641	0.999 5	0.111 5 ~ 1.672 5
棉子糖	Y = 1.101X + 1.278	0.999 9	0.074 4 ~ 1.116 0
水苏糖	Y = 3.078X - 12.002	0.999 2	0.549 8 ~ 8.247 0

2.5.2 精密度试验 取供试品溶液，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%，表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 精密称取样品6份，按2.4.1项下方法平行制备6份供试品溶液，按2.4.3项下的色谱条件进样，计算得果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖含量的RSD分别为3.44%、2.15%、0.22%、1.85%、0.42%，表明该方法重复性较好。

2.5.4 稳定性试验 取同一地黄样品(S1)的供试品溶液，分别在0、2、4、8、12、24 h按2.4.3项下的色谱条件进样，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%，表明供试品溶液在24 h内稳定性较好。

2.5.5 加样回收率试验 取同一个已知含量的样品(S1)9份，每份精密称定0.1 g，分3组，分别按地黄样品中果糖、葡萄糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖含量的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，测得地黄样品中5种成分平均回收率及RSD值，得平均回收率分别为98.76%、98.87%、99.32%、98.57%、99.40%，RSD分别为1.56%、1.37%、0.80%、1.53%、0.87%。

2.6 糖类含量测定结果

按供试品溶液制备方法制备各供试品，按照2.4.3项下的色谱条件进样，混合对照品图谱及样品图谱见插页XXⅦ图2，平行测定2次，计算各样品中5种糖类成分含量，测定结果见表6、表7。

5种糖类成分含量总值顺序为地黄汁煎液>鲜干地黄汤剂>生地黄汤剂。生地黄汤剂中葡萄糖含量均值高于地黄汁煎液和鲜干地黄汤剂，生地黄汤剂果糖含量均值略低于地黄汁煎液，大于鲜干地黄汤剂，经查阅文献可能与生地黄制备过程中糖类成分及糖苷类成分分解转化有关。

2.7 聚类分析

以不同处理形式地黄样品的8个成分含量为原始数据，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Euclidean距离为分类依据，结果见图3。当Euclidean距离为7时，地黄样品被分为3类，Z1～Z10、T1～T10、S1～S10分别聚为一类，表明地黄不同处理形式内在质量存在差别；当平方Euclidean距离为10时，地黄样品被分为2类，Z1～Z10、T1～T10聚为一类，S1～S10单独聚为一类，表明两个样品组之间存在明显差异。因此以环烯醚萜苷类成分及糖类成分为指标时生地黄汤剂单独聚为一类，与地黄汁煎液和鲜干片汤剂的组间差异较大。

2.8 地黄不同处理形式的HPLC指纹图谱研究

2.8.1 供试品溶液的制备 取1.3项下基准样品2冻干粉1支，置具塞锥形瓶中，精密加入80%分析甲醇50 mL，超声提取30 min，过滤，取滤液20 mL于蒸发皿中，65 ℃水浴蒸干，用20%色谱甲醇定容至10 mL容量瓶内，过0.22 μm的微孔滤膜，即得供试品溶液。

2.8.2 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、毛蕊花糖苷对照品适量，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，得到浓度依次为6.036、0.322、0.566、0.032、0.408、0.519 mg·mL^{-1}的混合对照品溶液。

2.8.3 色谱条件 色谱柱：Venusil XBP C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相乙腈(A)－0.05%磷酸水(B)；梯度洗脱(0～5 min，1%→3% A；5～20 min，3%→5% A；20～35 min，5%→12% A；35～50 min，12%→15% A；50～80 min，15%→30% A；80～90 min，30%→1% A)；流速：1 mL·min^{-1}；柱温：30 ℃；PDA检测器检测波长203 nm；进样量：10 μL。

表6 地黄中5种糖类成分含量测定结果(n=2)

单位：mg·g^{-1}

样品编号	果糖	葡萄糖	蔗糖	棉子糖	水苏糖
Z1	13.939 4	8.496 7	41.304 2	28.513 6	162.894 9
Z2	13.384 0	8.644 2	40.504 1	29.612 0	163.022 9
Z3	13.343 7	8.111 3	39.974 8	28.902 2	161.776 9
Z4	14.043 8	8.217 8	41.037 6	28.942 5	162.604 4
Z5	13.273 1	8.379 8	38.751 9	29.354 8	162.289 5
Z6	12.853 4	8.665 3	36.250 3	29.760 8	161.776 8
Z7	13.085 7	8.337 2	37.178 0	29.130 1	162.684 9
Z8	12.817 8	8.525 7	36.864 6	29.132 9	162.882 5
Z9	12.690 1	8.021 4	37.723 9	29.314 9	158.129 8
Z10	13.247 9	8.176 8	38.625 3	29.919 8	159.395 3
T1	11.022 5	7.610 8	37.992 7	25.537 3	150.486 6
T2	9.859 7	7.742 8	38.973 8	25.256 5	150.288 6
T3	9.772 4	8.115 0	38.996 2	24.847 4	150.101 8
T4	10.268 2	8.068 9	39.547 6	25.747 6	152.603 7
T5	10.305 0	8.182 8	41.797 9	25.782 7	149.680 0
T6	10.735 5	8.095 0	42.000 5	25.055 6	150.242 8
T7	9.447 5	7.994 6	41.765 3	25.789 0	151.045 8
T8	9.339 3	8.229 7	42.348 0	25.608 1	149.568 9
T9	9.118 2	7.870 2	38.193 9	25.485 8	147.449 5
T10	8.971 1	6.511 6	30.769 0	25.387 6	148.031 0
S1	12.588 0	11.654 1	28.924 0	20.414 6	116.035 7
S2	12.840 5	10.921 9	28.450 7	20.414 6	118.326 8
S3	13.129 3	10.632 6	27.797 1	20.376 7	117.298 3
S4	12.871 3	11.446 6	28.586 4	19.806 7	111.981 0
S5	12.966 1	11.568 7	29.253 5	19.431 4	113.957 2
S6	13.507 8	11.723 2	29.604 0	20.020 4	112.991 3
S7	13.229 3	11.786 9	29.071 0	20.490 4	116.568 1
S8	13.026 6	11.350 4	28.818 1	19.397 2	115.622 0
S9	13.042 2	10.898 5	27.052 3	20.101 4	115.983 0
S10	12.670 0	11.139 7	25.657 6	20.005 3	111.259 3

表7 地黄中5种糖类成分含量测定均值

单位：mg·g^{-1}

样品信息	果糖	葡萄糖	蔗糖	棉子糖	水苏糖
地黄汁煎液	13.267 9	8.357 6	38.821 5	29.258 4	161.745 8
鲜干地黄汤剂	9.883 9	161.745 8	39.238 5	25.449 8	149.949 9
生地黄汤剂	12.987 1	11.312 3	28.312 5	20.045 9	115.002 3

2.8.4 地黄不同处理形式指纹图谱采集 按照2.8.1项下方法制备供试品溶液，按照2.8.3项下色谱条件进样，采集混合对照品溶液、地黄汁煎液、鲜干地黄汤剂、生地黄汤剂样品的HPLC指纹图谱，结果见插页XXⅦ图4－图5。

2.8.5 相似度分析 将样品HPLC指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2012A版)”，以Z1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12个共有峰，经对照品指认，

其中 3、6、7、8 号共有峰分别为梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷。相似度结果见表 8，样品间具有较高相似度。对 HPLC 图谱进行差异分析，见插页XXXⅡ图 5 可知，地黄汁煎液中 1 号峰峰高较鲜干地黄汤剂和生地黄汤剂低，地黄汁煎液中 2 号峰明显高于鲜干地黄汤剂和生地黄汤剂；在鲜干地黄汤剂和地黄汁煎液图谱中指认峰 A（桃叶珊瑚苷），在鲜干地黄汤剂和生地黄汤剂指认峰 B（毛蕊花糖苷）。

表 8 地黄不同处理形式指纹图谱相似度

样品编号	相似度	样品编号	相似度	样品编号	相似度
Z1	0.974	T1	0.945	S1	0.935
Z2	0.973	T2	0.994	S2	0.867
Z3	0.975	T3	0.994	S3	0.865
Z4	0.974	T4	0.992	S4	0.869
Z5	0.970	T5	0.963	S5	0.904
Z6	0.971	T6	0.989	S6	0.903
Z7	0.968	T7	0.983	S7	0.902
Z8	0.967	T8	0.981	S8	0.911
Z9	0.969	T9	0.984	S9	0.871
Z10	0.970	T10	0.987	S10	0.835

2.8.6 聚类分析 以地黄样品的 12 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 Ward 法，以平方 Euclidean 距离为分类依据，结果见图 6。除 T6 样品离群外，当平方 Euclidean 距离为 4 时，样品被分为 3 类，地黄汁煎液、鲜干地黄汤剂、生地黄汤剂分别聚为一类，表明其内在质量存在差别；当平方 Euclidean 距离为 6 时，地黄样品被分为 2 类，地黄汁煎液和鲜干地黄汤剂聚为一类，生地黄汤剂单独聚为一类，表明两个样品组之间存在明显差异，与汤剂含量测定的聚类结果基本一致。

2.8.7 主成分分析 以不同处理形式地黄的 12 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 0.676 > 0.6，Bartlett 的球形度检验统计量为 0.000，表示各因子间关联性好表明，适合主成分分析。特征值和方差贡献率见表 9、表 10。

以特征值 > 1 为标准，提取出 4 个主成分，方差贡献率分别为 38.822%、15.820%、9.652%、8.602%，累计方差贡献率为 72.896% > 60.000%，认为能比较全面地表征样品的化学成分特征，由表 10 可知，峰 11、12、1 在第一主成分上有较高载荷，5、3、8 号峰在第二主成分上有较高载荷，表明第二主成分主要反映峰 5、3（梓醇）、8（益母草苷）的信息；6（地黄苷 D）、7（地黄苷 A）号峰在第三主成分上有较高载荷，表明第三主成分主要反映地黄苷 D 和地黄苷 A 的信息；峰 4 第四主成分上有较高载荷，表明第四主成分主要反映峰 4 的信息。根据方差贡献率，计算不同地黄样品的综合得分，并绘制主成分得分图，见插页XXXⅢ图 7。

2.8.8 正交偏最小二乘法判别分析（OPLS-DA） 以不同处

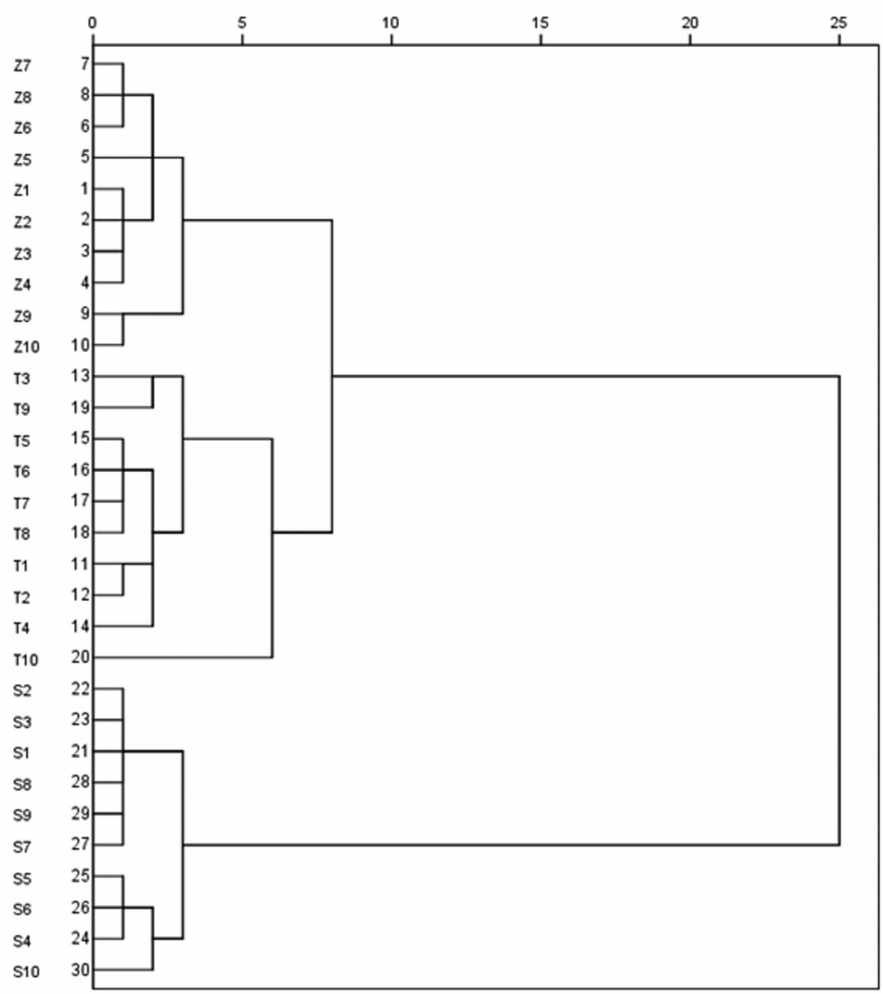


图 3 地黄不同处理形式含量聚类分析树状图

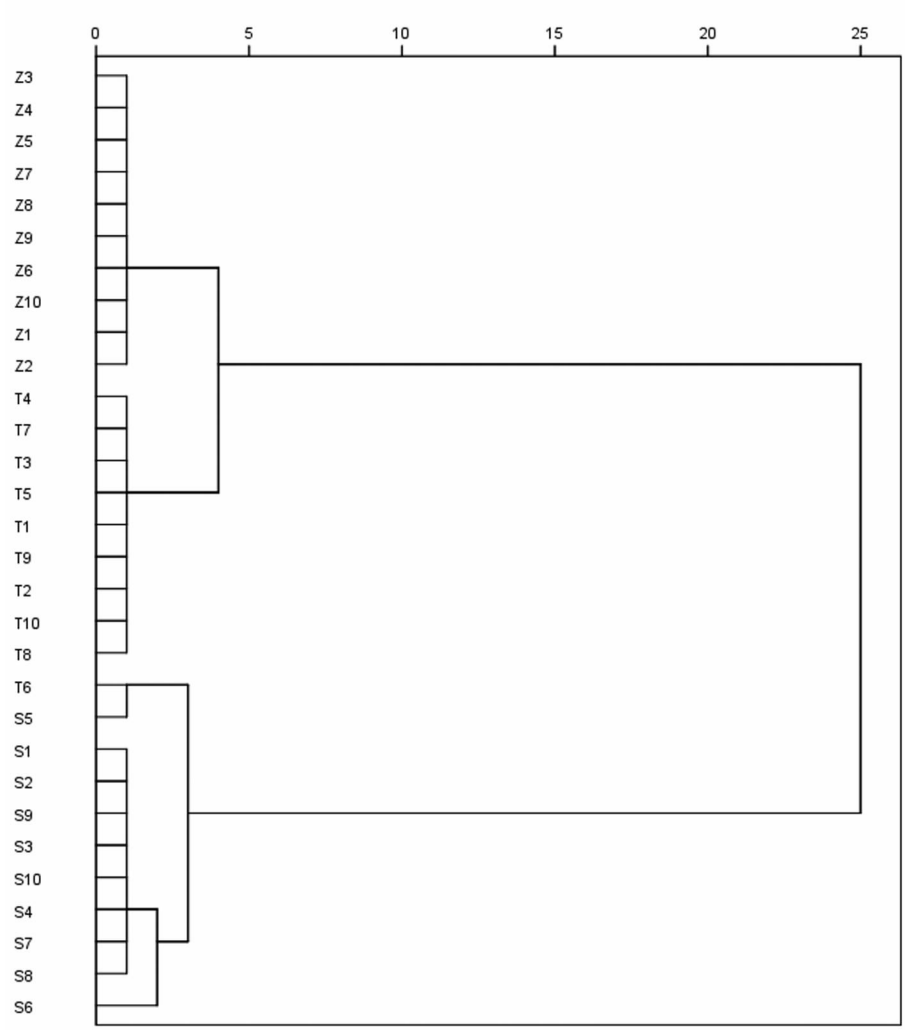


图 6 地黄不同处理形式指纹图谱聚类分析树状图

表 9 地黄不同处理形式主成分分析特征值及方差贡献率

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差的/(%)	累积/(%)	合计	方差的/(%)	累积/(%)
1	4.659	38.822	38.822	4.659	38.822	38.822
2	1.898	15.820	54.642	1.898	15.820	54.642
3	1.158	9.652	64.293	1.158	9.652	64.293
4	1.032	8.602	72.896	1.032	8.602	72.896
5	0.936	7.796	80.692			
6	0.745	6.212	86.903			
7	0.628	5.234	92.137			
8	0.449	3.745	95.883			
9	0.272	2.266	98.149			
10	0.126	1.054	99.203			
11	0.069	0.577	99.780			
12	0.026	0.220	100.000			

理形式地黄的 12 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 对样品进行分析，散点得分图见插页ⅩⅩⅩⅢ图 8，由图可知，除 T8 样品离群外，不同处理形式地黄聚类结果与聚类分析和主成分分析结果基本一致，表明不同处理形式样品内部化学特征信息存在明显差异。对变量重要性投影值(VIP)参数进行分析，VIP 的得分见插页ⅩⅩⅩⅢ图 9，以 VIP > 1 筛选出对样品分类贡献较大的成分，该 VIP > 1 为峰 1、峰 2、峰 11、峰 12、峰 3、峰 10、峰 5，这 7 个色谱峰对整体模型的贡献度高于平均水平，是产生差异的主要标志峰。

表 10 地黄不同处理形式初始因子载荷矩阵

峰号	主成分			
	1	2	3	4
1	0.754	0.478	0.076	-0.090
2	-0.929	-0.188	0.071	0.076
3	-0.747	0.357	0.181	0.147
4	0.364	0.074	0.070	0.646
5	-0.215	0.774	-0.140	-0.018
6	0.092	0.110	0.739	-0.539
7	0.290	0.247	0.635	0.455
8	-0.702	0.159	0.115	-0.113
9	-0.377	0.424	-0.178	-0.197
10	0.093	0.785	-0.233	0.020
11	0.935	-0.076	-0.194	-0.130
12	0.938	0.064	0.056	-0.115

3 讨论

目前地黄在市场流通及临床使用的主要为生地黄和熟地

黄,而《本草正义》记载“生地黄一条,云大寒,则以新采得者而言,捣饮其自然汁也”[17],此处生地黄即指鲜地黄,鲜地黄的处理形式为鲜地黄汁;鲜干地黄是由鲜地黄切片再快速烘干制备而得,是河南武陟西陶镇四大怀药基地自制工艺,前期研究发现鲜干地黄片中梓醇及糖类成分含量较高,是否可以入药有待研究。生地黄在临床使用中以水煎服为主,因此,本部分内容将生地黄和鲜干地黄制成标准汤剂,将鲜地黄榨汁的鲜地黄汁制备为地黄汁煎液,通过糖类及苷类成分的含量测定研究三者的质量差异。因鲜地黄性大寒,考虑到直接服用或具有泄下之力,因此本实验根据临床使用的一般原则,制备地黄汁煎液,并对鲜地黄汁的加热时间进行考察(5、10、15、20 min),最后选定沸腾后再煮 5 min。

以梓醇为代表的环烯醚萜苷类成分是地黄中的主要活性成分,具有保肝、降糖、抗抑郁等药理作用[23-24],生地黄在炮制过程中经过热烘干,发汗,再烘干的长期加热过程,苷类成分如梓醇、益母草苷等可分解成葡萄糖和相应的苷元[25-26],这是导致生地黄汤剂中葡萄糖含量升高,而苷类成分降低的主要原因。本研究对生地黄汤剂、鲜干片汤剂和地黄汁煎液的含量进行测定,为鲜地黄的产地初加工、地黄汁的临床使用提供研究依据。建立了地黄不同处理形式的指纹图谱,共标定 12 个共有峰,通过对照品比对,指认 4 个共有峰,分别是梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷。相似度结果显示,30 批地黄不同处理形式的相似度范围在 0.835 ~ 0.994,表明建立的指纹图谱相似度良好。图谱对比分析发现地黄汁煎液中 1 号峰峰高较鲜干地黄汤剂和生地黄汤剂低,地黄汁煎液中 2 号峰明显高于鲜干地黄汤剂和生地黄汤剂;在鲜干地黄汤剂和地黄汁煎液图谱中指认峰 A(桃叶珊瑚苷),在鲜干地黄汤剂和生地黄汤剂指认峰 B(毛蕊花糖苷)。

聚类分析结果显示不同处理形式地黄质量存在差异,与主成分得分图及 OPLS-DA 得分图基本一致,并利用有监督下的 OPLS-DA 筛选出区分不同处理形式地黄产生差异的主要标志性成分为峰 1、2、11、12、3(梓醇)、10、5,表明鲜地黄与生地黄的药效差别在成分图谱中的体现可能与峰 1、2、11、12、3(梓醇)、10、5 有关;本实验建立 30 批地黄不同处理形式的指纹图谱,通过聚类分析、主成分分析、OPLS-DA 分析,最终筛选出峰 1、2、11、12、3、10、5 为差异质量标志物其中峰 3 为梓醇。综上所述,本实验所建立的地黄 HPLC 指纹图谱方法简单、准确度高,可以对临床选用地黄不同入药形式提供参考依据。

参考文献

[1] SASAKI H, NISHIMURA H, MOROTA T, et al. Norcarotenoid glycosides of Rehmannia glutinosa var. Purpurea[J]. Phytochemistry, 1991, 30(5): 1639-1644.
[2] LEE S Y, KIM J S, CHOI R J, et al. A new polyoxygenated triterpene and two new aeginetic acid quinovosides from the roots of Rehmannia glutinosa[J]. Chem Pharm Bull, 2011, 59(6): 742-746.
[3] 刘彦飞, 赵宇, 武卫红, 等. 地黄的化学成分及其在加工炮制过程中的变化[J]. 国外医药·植物药分册, 2007, 22(3): 102-108.
[4] LI M M, JIANG H J, HAO Y L, et al. A systematic review on botany, processing, application, phytochemistry and pharmacological action of Radix Rehmnniae [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 285: 114820.
[5] ZHANG Z M, YANG L, WAN Y, et al. The synergic renoprotective effect of Rehmanniae Radix Preparata and Corni Fructus on adenine-induced chronic kidney disease rats based on integrated plasma metabolomics and network pharmacology approach[J]. Life Sci, 2021, 278: 119545.
[6] 李孟. 生地黄化学成分研究[D]. 郑州: 河南中医学院, 2014.
[7] 高映, 彭财英, 陈祥云, 等. 鲜地黄中苯乙醇类化合物分离与鉴定[J]. 中药材, 2017, 40(9): 2073-2076.
[8] 王宏洁, 刘婷, 梁爱华, 等. 鲜地黄化学成分的分离鉴定及活性作用初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(1): 15-16.
[9] 陈琪, 孙满强, 李世超, 等. 地黄水提物对雷公藤甲素致肝损伤的减毒作用及抗氧化机制[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(4): 47-52, 108.
[10] 梁爱华, 薛宝云, 王金华, 等. 鲜地黄与干地黄止血和免疫作用比较研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(11): 663-666.
[11] 张汝学, 贾正平, 刘景龙, 等. 地黄寡糖对 2 型糖尿病大鼠肝脏糖代谢关键酶活性及基因表达的影响[J]. 中草药, 2012, 43(2): 316-320.
[12] 李询, 董诚明, 齐大明, 等. HPLC 多成分测定及主成分分析法对不同产地鲜地黄质量评价[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(19): 225-229.
[13] 李雯霞, 王秀真, 裴圆圆, 等. 红外光谱法分析中药地黄三种不同炮制品[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(12): 36-39.
[14] 翟彦峰. 地黄叶化学成分的研究[D]. 开封: 河南大学, 2010.
[15] 李斐, 董嘉皓, 魏飞亭, 等. 吴茱萸不同入药形式的成分差异[J]. 中成药, 2019, 41(10): 2410-2414.
[16] 赵新梅, 张威, 李莹莹, 等. 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[J]. 中草药, 2024, 55(12): 4020-4031.
[17] 张春亚, 张威, 李莹莹, 等. 基于指纹图谱和含量测定评价地黄不同入药形式制千金黄连丸质量[J]. 中草药, 2024, 55(7): 2227-2236.
[18] 张金英,茆志国,郭琳,等. 常用鲜干中药差异化学成分及药理作用研究特点分析[J]. 中药药理与临床,2025,41(11):116-120.
[19] 王敏, 刘欢欢, 张婷, 等. 基于化学特征和核心功效的经典名方清胃散中地黄炮制品研究[J]. 中草药, 2022, 53(13): 3940-3952.
[20] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.
[21] 田瀚举, 张维方, 贾豪, 等. 经典名方一贯煎汤剂指标成分含量测定及量值传递分析[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(1): 113-118.
[22] 吴贻谷. 中华本草——精选本[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
[23] 张月月,龙冰玉,王君明,等. 盐制炮制对地黄凉血止血功效的增效作用探索[J]. 中华中医药学刊,2026,44(1):77-81.
[24] 张月月, 王君明, 巫晓慧. 基于以梓醇为主要成分的地黄环烯醚萜苷生物活性研究[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(12): 75-77.
[25] 曹建军, 梁宗锁, 杨东风, 等. 地黄 HPLC-DAD 多波长指纹图谱的建立及其在熟地黄炮制中的应用[J]. 中草药, 2014, 45(2): 265-270.
[26] 薛淑娟, 陈随清. 基于代谢组学分析不同蒸制次数熟地黄中糖类成分的变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(22): 1-5.