

基于指纹图谱与化学计量学的桑叶蜜炙前后差异性标志物研究[△]

闫蓓蓓^{1*}, 张晓平², 秦焕云², 赵祥君², 邵冰梅², 田景振¹, 马大龙^{3#}(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东中医药大学青岛中医药科学院, 山东 青岛 266000; 3. 青岛大学附属医院药品调剂科, 山东 青岛 266005)

中图分类号 R284;R917

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2024)10-1198-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.10.08



摘要 **目的** 比较桑叶蜜炙前后化学成分的变化,筛选差异性标志物并进行含量测定,为蜜炙桑叶的质量控制提供参考。**方法** 采用高效液相色谱(HPLC)法建立桑叶蜜炙前后指纹图谱,标定共有峰并进行相似度评价;以生桑叶、蜜炙桑叶共有峰峰面积为指标,运用主成分分析和正交偏最小二乘-判别分析筛选桑叶蜜炙前后差异性标志物,并进行定量分析。**结果** 从10批生桑叶、10批蜜炙桑叶HPLC指纹图谱中分别标定出23、24个共有峰,2类样品图谱的相似度均大于0.97;主成分分析结果显示,生桑叶和蜜炙桑叶分为2类,正交偏最小二乘-判别分析结果显示,峰2、峰H(5-羟甲基糠醛)、峰1、峰17(异绿原酸C)、峰16的变量重要性投影值均大于1;生桑叶、蜜炙桑叶中差异性标志物异绿原酸C的平均含量分别为0.093 6、0.127 8 mg/g,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 筛选得到异绿原酸C等5种差异性标志物;桑叶蜜炙后异绿原酸C含量显著升高。**关键词** 桑叶;蜜炙桑叶;指纹图谱;化学计量学;差异性标志物

Study on the differential markers of *Morus alba* leaves before and after baked with honey based on fingerprint and chemometrics

YAN Beibei¹, ZHANG Xiaoping², QIN Huanyun², ZHAO Xiangjun², SHAO Bingmei², TIAN Jingzhen¹, MA Dalong³(1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Qingdao Academy of Chinese Medical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Qingdao 266000, China; 3. Dept. of Drug Dispensing, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Shandong Qingdao 266005, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To compare the changes of chemical components of *Morus alba* leaves, screen differential markers, and determine their contents, so as to provide reference for quality control of *M. alba* leaves before and after baked with honey. **METHODS** The fingerprints of *M. alba* leaves before and after baked with honey were established by high-performance liquid chromatography (HPLC). The common peaks of the fingerprints were identified and the similarity was evaluated. The differential markers of *M. alba* leaves before and after baked with honey were screened by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) using common peak are of raw material and product baked with honey of *M. alba* leaves as index. The quantitative analysis was carried out. **RESULTS** Twenty-three and twenty-four common peaks were identified from the HPLC fingerprint spectra of ten batches of raw material and ten batches of product baked with honey of *M. alba* leaves, respectively. The similarities of HPLC fingerprints for raw material and product baked with honey of *M. alba* leaves were all greater than 0.97. The results of PCA showed that raw material and product baked with honey of *M. alba* leaves could be divided into two categories. The results of OPLS-DA showed that the variable importance in projection of peak 2, peak H (5-hydroxymethylfurfural), peak 1, peak 17 (isochlorogenic acid C) and peak 16 were all greater than 1. The average contents of differential marker of isochlorogenic acid C in raw material and product baked with honey of *M. alba* leaves were 0.093 6 and 0.127 8 mg/g, respectively; there was statistical significance ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Five differential markers such as isochlorogenic acid C are obtained. The content of isochlorogenic acid C in *M. alba* leaves is significantly increased after baked with honey.

KEYWORDS *Morus alba* leaves; honey-baked *Morus alba* leaves; fingerprint; chemometrics; differential marker

[△]基金项目 山东省重点研发计划(重大科技创新工程项目)(No. 2021CXGC010511);山东省中医药科技项目(No.M-2023078);青岛市科技惠民示范专项(No.24-1-8-smjk-20-nsh)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药新药研发与炮制原理。
E-mail:yanbeibei0518@163.com

通信作者 主管药师,硕士。研究方向:中药制剂。E-mail: madalong_1988@163.com

桑叶为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶,其性寒、味甘苦,主要含黄酮、生物碱、氨基酸、多糖类等化学成分^[1]。桑叶生品长于疏散风热,清肝明目^[2];桑叶蜜炙后清燥润肺,可治外感燥热之身热头痛、口渴、干咳无痰,可用于缓解气逆而喘、咽喉干燥等症状。目前,对桑

叶的研究多集中在不同加工方式与药材品质之间的关系,以及对不同基原桑叶的质量评价^[9],对于其炮制机制及蜜炙前后化学成分与药效变化的研究尚不充分。由于桑叶蜜炙前后的药理作用存在差异,为了准确寻找两者的差异性标志物和药效物质基础,有必要对桑叶炮制前后的化学成分进行系统分析。为此,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法建立桑叶蜜炙前后的指纹图谱,并运用主成分分析(principal component analysis,PCA)、正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA)等化学计量学方法,对指纹图谱中的多个成分信息进行分析,筛选影响其质量的差异性标志物,并对差异性标志物进行定量分析,旨在为蜜炙桑叶的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有 Waters e2695 型 HPLC 系统(美国 Waters 公司)、KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、RV8 型旋转蒸发仪[艾卡(广州)仪器设备有限公司]、FA2104 型十万分之一天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

绿原酸对照品(批号 A22GB158446)、新绿原酸 A 对照品(批号 EJ27A029)、隐绿原酸对照品(批号 EJ09A018)、咖啡酸对照品(批号 P04M9F60454)、5-羟甲基糠醛对照品(批号 H12M9Z61023)、芦丁对照品(批号 D13HB202516)、槲皮苷对照品(批号 P17J6F2)、异槲皮苷对照品(批号 X29O11Y128907)、异绿原酸 B 对照品(批号 DH15C231)、异绿原酸 C 对照品(批号 EJ28A046)、黄芩苷对照品(批号 P20A9F59353)均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度均大于 98.0%;乙腈、甲醇均为色谱纯,其余试剂均为分析纯;水为自制超纯水。

10 批生桑叶饮片经青岛大学附属医院药品调剂科马大龙主管药师鉴定均为桑科植物桑 *M.alba* L. 的干燥叶。蜜炙桑叶饮片参考 2020 年版《中国药典》(一部)蜜炙法^[9],由本课题组所在实验室自行炮制,所得炮制品的含水量均小于 14%,符合药典规定。样品来源信息见表 1(编号 S1~S10 为生桑叶饮片,编号 M1~M10 为蜜炙桑叶饮片)。

表 1 样品来源信息

编号	批号	来源	编号	批号	来源
S1	A220803	安徽六安	M1	A220803	安徽六安
S2	221201	四川眉山	M2	221201	四川眉山
S3	C220090301	河北保定	M3	C220090301	河北保定
S4	221202	安徽亳州	M4	221202	安徽亳州
S5	221101551	广东惠州	M5	221101551	广东惠州
S6	220701	广西南宁	M6	220701	广西南宁
S7	220950161	广东普宁	M7	220950161	广东普宁
S8	221201	安徽安庆	M8	221201	安徽安庆
S9	221201	广东广州	M9	221201	广东广州
S10	20221201	河南南阳	M10	20221201	河南南阳

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液

精密称取绿原酸、新绿原酸 A、隐绿原酸、咖啡酸、5-羟甲基糠醛、芦丁、槲皮苷、异槲皮苷、异绿原酸 B、异绿原酸 C、黄芩苷对照品适量,分别置于 10 mL 容量瓶中,以 50% 甲醇溶解并定容,超声(功率 250 W,频率 40 kHz,下同)处理 10 min,并用 50% 甲醇补足减失的质量,制得相应单一对照品溶液。精密吸取上述各单一对照品溶液适量,混合,制得每 1 mL 含 68.18 μg 绿原酸、63.64 μg 新绿原酸 A、63.64 μg 隐绿原酸、72.73 μg 咖啡酸、70.45 μg 5-羟甲基糠醛、68.18 μg 芦丁、75.00 μg 槲皮苷、63.64 μg 异槲皮苷、50.00 μg 异绿原酸 B、56.82 μg 异绿原酸 C、68.18 μg 黄芩苷的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液

分别取各批次生桑叶、蜜炙桑叶 50.0 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,加 15 倍量水,浸泡 30 min,回流提取 40 min;第 2 次加 10 倍量水,回流提取 25 min;合并 2 次滤液,滤过,40 °C 减压浓缩,定容至 1 000 mL,超声处理 10 min,以水补足减失的质量。取上述溶液 25 mL,60 °C 水浴蒸干,以 50% 甲醇溶解并定容,再次超声处理 10 min,经 0.45 μm 微孔滤膜,滤过,即得各供试品溶液。

2.2 色谱条件

采用 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),以乙腈(A)-0.04% 磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~10 min,5%A→7%A;10~60 min,7%A→18%A;60~85 min,18%A→25%A;85~95 min,25%A→37%A;95~105 min,37%A→60%A;105~115 min,60%A→70%A);流速为 1.0 mL/min;进样量为 10 μL;检测波长为 310 nm;柱温为 30 °C。

2.3 桑叶蜜炙前后指纹图谱的建立

2.3.1 精密度试验

取生桑叶(编号 S9),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录色谱图。结果显示,以芦丁为参照峰,计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均不高于 0.07%,相对峰面积的 RSD 均不高于 2.32%(n=6),表明方法精密度良好。

2.3.2 稳定性试验

取生桑叶(编号 S9),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,于室温下放置 0、3、6、9、12、24 h 时按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,以芦丁为参照峰,计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均不高于 0.10%,相对峰面积的 RSD 均不高于 2.74%(n=6),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验

取生桑叶(编号 S9),共 6 份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,以芦丁为参照峰,计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均不高于 0.09%,相对峰面积的

RSD均不高于2.08%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.3.4 指纹图谱的建立及共有峰的标定

分别取10批生桑叶(编号S1~S10)、蜜炙桑叶(编号M1~M10),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将得到的图谱导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,分别以S9和M9样品的图谱为参照图谱,采用平均数法^[5],设定时间宽度为0.1 min,进行多点校正和全谱峰匹配后生成对照色谱图R,最终分别建立生桑叶和蜜炙桑叶的指纹图谱。结果显示,10批生桑叶指纹图谱共标定23个共有峰,蜜炙桑叶指纹图谱共标定24个共有峰,两者共有峰的总面积均占样品总峰面积的80%以上。结果见图1。

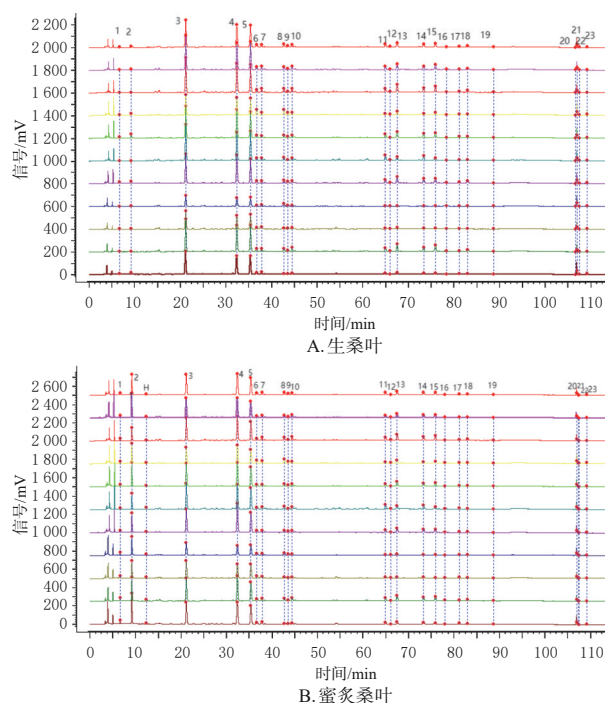


图1 10批生桑叶和蜜炙桑叶的HPLC指纹图谱及其对照指纹图谱R

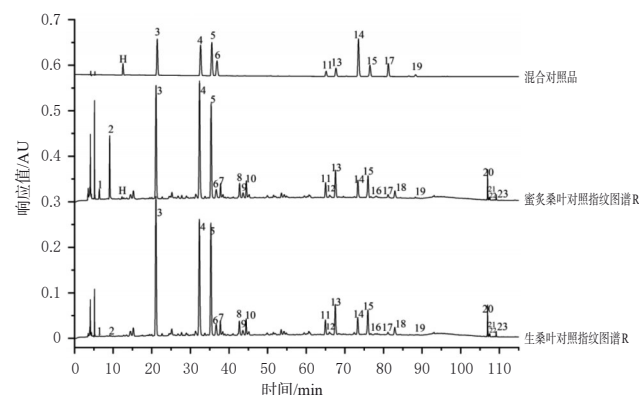
2.3.5 相似度评价

分别以生桑叶、蜜炙桑叶的对照指纹图谱R为参照,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》计算生桑叶和蜜炙桑叶的相似度。结果显示,10批生桑叶的相似度分别为0.995、0.997、0.994、0.974、0.996、0.996、0.998、0.982、0.998、0.999,10批蜜炙桑叶的相似度分别为0.990、0.996、0.990、0.971、0.993、0.991、0.999、0.991、0.988、0.997,表明生桑叶和蜜炙桑叶各批次间质量差异较小,整体质量相对稳定。

2.3.6 共有峰指认及峰面积差异分析

将生桑叶、蜜炙桑叶的对照指纹图谱R与混合对照品色谱图中各色谱峰的保留时间进行比对,指认出生桑叶和蜜炙桑叶指纹图谱中的11个共有峰,分别为新绿原酸A(峰3)、绿原酸(峰4)、隐绿原酸(峰5)、咖啡酸(峰6)、芦丁(峰11)、异槲皮苷(峰13)、异绿原酸B(峰14)、

槲皮苷(峰15)、异绿原酸C(峰17)、黄芩苷(峰19)、5-羟甲基糠醛(峰H)。结果见图2。



3:新绿原酸A;4:绿原酸;5:隐绿原酸;6:咖啡酸;11:芦丁;13:异槲皮苷;14:异绿原酸B;15:槲皮苷;17:异绿原酸C;19:黄芩苷;H:5-羟甲基糠醛。

图2 混合对照品和蜜炙桑叶、生桑叶的对照指纹图谱R的叠加图

将生桑叶、蜜炙桑叶指纹图谱中11个共有峰峰面积导入Graph Pad Prism 8软件进行比较。结果显示,桑叶蜜炙后峰4、14、17呈现出不同程度的增加趋势;峰H为桑叶蜜炙后的新成分,其峰面积增长率为100%;其余各共有峰峰面积变化不明显或有不同程度减少。结果见图3。

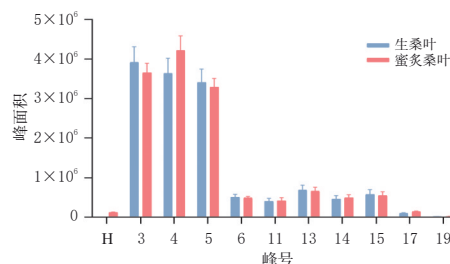


图3 桑叶蜜炙前后11个共有峰峰面积比较

2.4 桑叶蜜炙前后化学计量学分析

2.4.1 PCA

以生桑叶、蜜炙桑叶中标定的共有峰峰面积为变量,应用SIMCA 14.1软件进行PCA,计算主成分特征值、方差贡献率及相关系数矩阵,并绘制PCA三维得分图(图4)。结果显示,当提取到第4个主成分时,累计方差贡献率达到85.15%(第1主成分的方差贡献率为37.45%,第2主成分的方差贡献率为23.50%,第3主成分的方差贡献率为15.32%,第4主成分的方差贡献率为8.88%),且特征值 >1 ,表明前4个主成分可以反映生桑叶、蜜炙桑叶中的大部分成分信息。相关系数矩阵结果显示,峰13(异槲皮苷)、14(异绿原酸B)、15(槲皮苷)对第1主成分的贡献较大,峰12、22、21对第2主成分的贡献较大,峰2、1、H(5-羟甲基糠醛)对第3主成分的贡献较大,峰17(异绿原酸C)、20、3(新绿原酸A)对第4主成分的贡献较大。PCA三维得分图显示,生桑叶和蜜炙桑

叶分别聚在一起,表明提取的主成分能反映出桑叶炮制前后的主要特征。

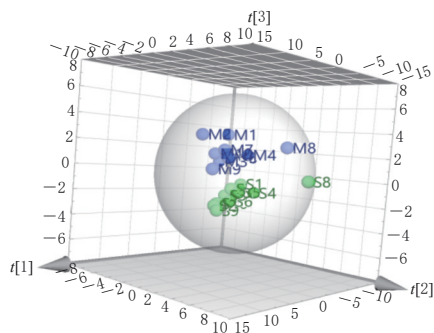


图4 PCA 三维得分图

2.4.2 OPLS-DA

将生桑叶、蜜炙桑叶中标定的共有峰峰面积导入SIMCA 14.1 软件进行OPLS-DA。由OPLS-DA 模型得分图(图5)可知,生桑叶位于得分图的左侧,蜜炙桑叶位于得分图的右侧,与PCA 结果较为一致,表明其化学成分具有差异性。得分图中 X 、 Y 矩阵解释参数 $R^2=0.855$ 、 $RY^2=0.968$, 预测能力参数 $Q^2=0.841$, 均大于0.5,表明所建模型稳定且预测能力较强。修改假设检验的次数为200 次,得到矩阵解释参数 R^2 和预测能力参数 Q^2 的截距值分别为0.536 和-1.530,表明建立的OPLS-DA 模型没有出现拟合现象,可以用于生桑叶和蜜炙桑叶的差异性标志物分析。

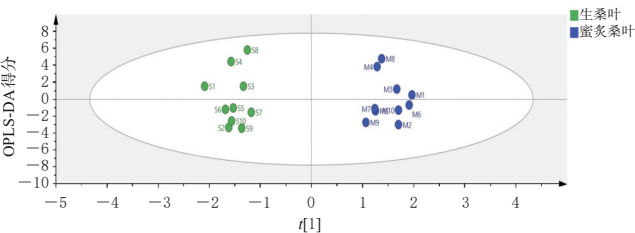


图5 OPLS-DA 得分图

结合变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值分析(图6),以VIP 值 >1 为标准筛选桑叶蜜炙前后的差异性标志物^[6]。结果显示,峰2(VIP=1.947 45)、H(5-羟甲基糠醛, VIP=1.915 01)、1(VIP=1.914 45)、17(异绿原酸C, VIP=1.215 93)、16(VIP=1.014 39)为桑叶蜜炙前后的差异性标志物。

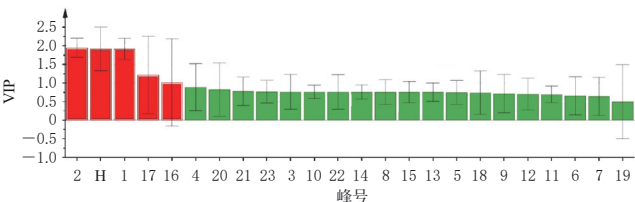


图6 OPLS-DA 的VIP 得分图

2.5 桑叶蜜炙前后差异性标志物的含量测定

综合上述分析,筛选得到桑叶蜜炙前后5 种差异性标志物,并指认出了其中2 种差异性标志物,分别为5-羟甲基糠醛、异绿原酸C。由于5-羟甲基糠醛的结构不稳

定、性质活泼、易受环境因素影响,可能由加入的炼蜜(外源性物质)产生热降解反应生成^[7],并非桑叶原有成分,因此,本研究后续仅对异绿原酸C 进行定量分析。

2.5.1 线性关系考察

精密吸取“2.1.1”项下异绿原酸C 对照品溶液适量,以50% 甲醇稀释成质量浓度分别约为0.02、0.04、0.08、0.10、0.20 mg/mL 的对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以异绿原酸C 的质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归。结果显示,异绿原酸C 的回归方程 $Y=16\ 469\ 883.934\ 4X-49\ 854.327\ 9(R^2=0.999\ 0)$ 。结果表明,异绿原酸C 检测质量浓度在0.02~0.20 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.5.2 精密度的试验

取“2.5.1”项下质量浓度为0.08 mg/mL 的异绿原酸C 对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,异绿原酸C 峰面积的RSD 为1.95%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5.3 稳定性试验

取蜜炙桑叶(编号M1),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在室温下放置0、3、6、9、12、24 h 时按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,异绿原酸C 峰面积的RSD 为2.70%($n=6$),表明该溶液在室温下放置24 h 内稳定性良好。

2.5.4 重复性试验

取蜜炙桑叶(编号M1),共6 份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并采用标准曲线法计算异绿原酸C 的含量。结果显示,异绿原酸C 含量的RSD 为1.00%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.5.5 加样回收率试验

取已知异绿原酸C 含量的蜜炙桑叶(编号M1),共6 份,按质量比1:1 加入异绿原酸C 对照品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,异绿原酸C 的平均加样回收率为102.62%(RSD=1.74%, $n=6$),表明方法准确度良好。

2.5.6 样品含量测定

分别取生桑叶、蜜炙桑叶各10 批,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,采用标准曲线法计算异绿原酸C 的含量。每批样品平行测定3 次,取平均值。结果显示,生桑叶中异绿原酸C 含量分别为0.115 2、0.095 4、0.081 7、0.049 9、0.112 0、0.110 1、0.091 3、0.067 0、0.114 1、0.098 9 mg/g,平均为0.093 6 mg/g;蜜炙桑叶中异绿原酸C 含量分别为0.161 3、0.114 4、0.099 1、0.081 0、0.191 6、0.149 2、0.140 4、0.096 5、0.115 1、0.129 9 mg/g,平均为0.127 8 mg/g。将含量测定结果导入SPSS 24.0 软件进行独立样本 t 检验分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。结果显示,蜜炙桑叶中异绿原酸C 平均含量较生桑叶显著升高($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 色谱条件的考察

本研究前期考察了乙腈-0.04%磷酸溶液、甲醇-0.04%磷酸溶液、乙腈-水等流动相体系对色谱峰的影响,结果发现,以乙腈-0.04%磷酸溶液为流动相时,各色谱峰分离度、峰形良好,故最终选择乙腈-0.04%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱。此外,本研究前期还考察了不同检测波长下色谱峰的吸收情况,结果显示,在310 nm波长下所得色谱峰信息较为全面,且基线平稳,故本研究选择检测波长为310 nm。

3.2 HPLC 指纹图谱及化学计量学分析

本研究建立了10批生桑叶、10批蜜炙桑叶的HPLC指纹图谱,分别标定了23、24个共有峰,其共有峰总面积均达到图谱总面积的80%以上,能够充分反映生桑叶、蜜炙桑叶的质量特征,并且各样品色谱图与其对照指纹图谱的相似度均大于0.97。通过PCA、OPLS-DA,可将生桑叶、蜜炙桑叶分为两类,以VIP值>1为标准筛选得到了异绿原酸C、5-羟甲基糠醛及峰1、2、16共5种差异性标志物。

3.3 差异性标志物含量分析

10批生桑叶、10批蜜炙桑叶中异绿原酸C的平均含量分别为0.093 6、0.127 8 mg/g,桑叶蜜炙后异绿原酸C的平均含量显著升高。这可能是由于生桑叶中含量较高的隐绿原酸、异绿原酸A在炮制过程中受热发生了同分异构体间的裂解、重排,转化成了异绿原酸C^[8]。新增的成分5-羟甲基糠醛是美拉德反应的副产物,由葡萄糖或果糖脱水转化而来^[9],笔者推测其与炮制辅料炼蜜中糖类成分的渗入及热降解反应有关。差异性标志物峰1、2、16的出峰时间较早,可能为极性较大的成分;炮制后其峰面积的变化可能与相关成分的转化、糖苷类成分的受热水解相关^[10]。

综上所述,本研究成功建立了生桑叶、蜜炙桑叶的HPLC指纹图谱,结合PCA、OPLS-DA筛选得到异绿原酸C等5种差异性标志物,且桑叶蜜炙后异绿原酸C含量显著升高。这可为蜜炙桑叶的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 林闪闪,王梦娇,许金国,等.桑叶化学成分与药理作用研究进展及其质量标志物预测分析[J].中草药,2023,54(15):5112-5127.
- LIN S S, WANG M J, XU J G, et al. Predictive studies of quality markers in Mori Folium based on chemical constituents and pharmacological mechanism[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(15): 5112-5127.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:310.
- National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: part I [M]. 2020 edition. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 310.

- [3] 史锐,刘苗苗,丛龙娇,等.基于HPLC指纹图谱评价同属不同种桑叶的药材质量[J].中华中医药学刊,2022,40(7):207-212,280-281.
- SHI R, LIU M M, CONG L J, et al. Herbal quality of sangye (Mori Folium) of same genus and different species based on HPLC fingerprinting[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(7): 207-212, 280-281.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[M].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:31.
- National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: part IV [M]. 2020 edition. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 31.
- [5] 张涛,张青,易海燕,等.基于指纹图谱结合化学计量法对何首乌不同炮制品多指标成分分析[J].中草药,2022,53(15):4653-4662.
- ZHANG T, ZHANG Q, YI H Y, et al. Analysis on multi-index components of Polygoni Multiflori Radix and its processed products based on fingerprints and chemometrics[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(15): 4653-4662.
- [6] 何文媛,李妍,王康宇,等.正交偏最小二乘判别分析法研究赤芍标准汤剂指纹图谱[J].中药材,2022,45(3):664-667.
- HE W Y, LI Y, WANG K Y, et al. Study on fingerprint of Paeonia Radix Rubra standard decoction by orthogonal partial least squares discriminant analysis[J]. J Chin Med Mater, 2022, 45(3): 664-667.
- [7] 曾林燕,曾鸿莲,谭淑仪,等.基于5-HMF的产生机理、代谢、生物活性及其在中药加工过程变化的研究概述[J].中国中医基础医学杂志,2023,29(3):507-514.
- ZENG L Y, ZENG H L, TAN S Y, et al. Overview of study on production mechanism, metabolism, biological activity of 5-HMF and its changes in Chinese medicine processing[J]. J Basic Chin Med, 2023, 29(3): 507-514.
- [8] 朱鹏,苗潇磊,陈勇.绿原酸、隐绿原酸和新绿原酸在中性和碱性pH条件下的降解动力学[J].药学报,2016,51(1):122-126.
- ZHU P, MIAO X L, CHEN Y. Degradation kinetics of chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, and neochlorogenic acid at neutral and alkaline pH values[J]. Acta Pharm Sin, 2016, 51(1): 122-126.
- [9] LU Y, GUO Y Q, ZHANG Y J, et al. Identification and characterization of forced degradation products of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF) by HPLC, LC-LTQ/orbitrap and NMR studies[J]. J Pharm Biomed Anal, 2023, 233: 115470.
- [10] YANG B, ZHANG Z B, SONG J J, et al. Interpreting the efficacy enhancement mechanism of Chinese medicine processing from a biopharmaceutic perspective[J]. Chin Med, 2024, 19(1): 14.

(收稿日期:2023-11-02 修回日期:2024-03-19)

(编辑:林 静)