怀中1号地黄不同炮制品中脂溶性成分比较及体外抗氧化活性研究Δ

李　孟[1,2*]，杨　颖[1,2]，邓晓颜[1,2]，张靖柯[1,2]，王胜超[1,2]，孙孝亚[1,2]，郑晓珂[1,2]，冯卫生[1,2#]（1.河南中医药大学药学院，郑州　450046；2.河南省中药开发工程技术研究中心，郑州　450046）

中图分类号　R284；R285　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2022）05-0563-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2022.05.09

摘　要　目的 比较怀中1号地黄不同炮制品（鲜地黄、生地黄和熟地黄）中脂溶性成分的差异，并初步评价其体外抗氧化活性。**方法** 采用索氏提取法获得地黄3种炮制品的脂溶性提取物，采用气相色谱-串联质谱法对其进行成分分析。采用NIST98系统谱库自动检索组分的质谱信息，结合有关文献和与八峰索引、EPA/NIH库对照对化合物进行结构鉴定，并使用Hewlett Packard软件按峰面积归一化法计算各化合物的相对含量。采用1，1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）自由基清除法考察3种地黄炮制品中脂溶性成分的抗氧化活性。**结果** 从地黄不同炮制品中共鉴定出79个脂溶性成分，从鲜地黄、生地黄和熟地黄中分别鉴定出48、52和37个脂溶性成分，其相对含量分别占总成分的92.69%、86.29%、92.89%；三者中共有脂溶性成分20个，其相对含量分别占各炮制品中脂溶性成分含量的88.73%、80.89%、85.87%，且均以亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、油酸甲酯等脂肪酸类成分为主。另外，鲜地黄中独有的脂溶性成分有18个，多为萜类化合物；生地黄和熟地黄中独有的脂溶性成分分别有17、6个，多为烷烃类化合物。抗氧化实验结果显示，三者中脂溶性成分对DPPH自由基的半数清除浓度分别为0.756、0.660、0.758 mg/mL。**结论** 不同地黄炮制品中的共有脂溶性成分多为脂肪酸类化合物，鲜地黄中独有的脂溶性成分多为萜类化合物，生地黄和熟地黄中独有的脂溶性成分多为烷烃类化合物；其脂溶性成分均具有一定的体外抗氧化活性。

关键词　怀中1号地黄；鲜地黄；生地黄；熟地黄；脂溶性成分；气相色谱-串联质谱法；抗氧化

Comparison of liposoluble constituents and study on *in vitro* antioxidant activities of different processed products of Huaizhong No.1 *Rehmannia glutionsa*

LI Meng[1,2], YANG Ying[1,2], DENG Xiaoyan[1,2], ZHANG Jingke[1,2], WANG Shengchao[1,2], SUN Xiaoya[1,2], ZHENG Xiaoke[1,2], FENG Weisheng[1,2]（1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To compare the difference of liposoluble constituents in different processed products of Huaizhong No.1 *Rehmannia glutionsa*（fresh *R. glutionsa*, *R. glutionsa* and prepared *R. glutionsa*）, and to evaluate its *in vitro* antioxidant activity preliminarily. **METHODS** Liposoluble extracts were extracted from 3 processed products of *R. glutionsa* by Soxhlet extraction. Their constituents were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The spectral library of NIST98 system was used to automatically retrieve the mass spectrum information of components, and the structures of compounds were identified in combination with relevant literature and by comparing with eight peak index and EPA/NIH library. Relative contents of the components were calculated by using peak area normalization method with Hewlett Packard software. The antioxidant activities of liposoluble constituents in 3 processed products of *R. glutionsa* were investigated by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl（DPPH）free radical scavenging. **RESULTS** A total of 79 liposoluble components were identified from different processed products of *R. glutionsa*, and 48, 52 and 37 liposoluble compounds were identified from fresh *R. glutionsa*, *R. glutionsa* and prepared *R. glutionsa*, respectively; their relative contents accounted for 92.69%, 86.29%, 92.89% of the total components respectively. Among them, there were 20 liposoluble compounds totally, and their relative contents accounted for 88.73%, 80.89% and 85.87% of liposoluble components in each processed product respectively; they were mainly composed of fatty acids such as methyl linoleate, methyl palmitate and methyl oleate. In addition, there were 18 unique liposoluble components in fresh *R. glutionsa*, mostly terpenoids; there were 17 and 6 unique liposoluble components in *R. glutionsa* and prepared *R. glutionsa*, mostly alkanes. The results of antioxidant experiment showed that median scavenging concentrations of liposoluble components to DPPH free radical were 0.756, 0.660, 0.758 mg/mL, respectively. **CONCLUSIONS** The common liposoluble components in different processed products of *R. glutionsa* are mostly fatty acids; the unique liposoluble components in fresh *R. glutionsa*

Δ 基金项目：国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项（No.2017YFC1702800）

＊讲师，博士。研究方向：中药药效物质基础。E-mail：limeng31716@163.com

＃通信作者：教授，博士。研究方向：中药药效物质基础。E-mail：fwsh@hactcm.edu.cn

are mostly terpenoids, and those of *R. glutionsa* and prepared *R. glutionsa* are mostly alkanes; the liposoluble constituents possess *in vitro* antioxidant activities.

KEYWORDS Huaizhong No.1 *Rehmannia glutionsa*; fresh *Rehmannia glutionsa*; *Rehmannia glutionsa*; prepared *Rehmannia glutionsa*; liposoluble constituents; gas chromatography-mass spectrometry; antioxidant activities

地黄为四大怀药之一，是玄参科植物地黄*Rehmannia glutinosa* Libosch.的新鲜或干燥块根，始载于《神农本草经》，被列为上品。地黄在我国具有悠久的用药历史，是我国中药材及中药饮片出口前十大品种之一[1-2]。自明代以来，公认以古怀庆府（今河南焦作、温县、沁阳、武陟、孟县等地）一带为地黄的道地产区[3]。目前已有大量文献对地黄的形态、采收、产地、加工、配伍、成分、药效等进行了报道[4-5]。现代药理学研究表明，地黄具有降血糖、降血脂、调节免疫、保肝等作用，且这些药理作用可能与地黄的抗氧化活性相关[6-9]。地黄中的化学成分主要包括环烯醚萜类、紫罗兰酮类、苯乙醇苷类、酚酸类、三萜类、糖类、氨基酸等[10-12]。按照炮制方法的不同，地黄分为鲜地黄、生地黄和熟地黄。其中，鲜地黄清热生津、凉血、止血；生地黄清热凉血、养阴生津；熟地黄补血滋阴、益精填髓[13]。目前，关于地黄不同炮制品化学成分差异的评价，主要涉及梓醇、毛蕊花糖苷、糠醛等特征性化合物以及无机物[14-15]，但是针对极性小的脂溶性成分还缺乏系统研究。

在地黄的栽培、生产中，因长期无性繁殖造成地黄品种退化、品质下降，以及存在品种利用多年一贯制和病虫害严重等问题，使得地黄的产量和质量下降，原有的地黄品种已经难以适应中药材企业和市场的需求[16]。河南中医药大学研发的地黄新品种怀中1号（于2018年12月获得《河南省中药材品种鉴定书》）对轮纹病和斑枯病有较高的抗病性能，具有出苗整齐、块根集中、生长健壮的优势，并且相比现有品种其平均亩产提高了10.5%左右。本课题组前期对怀中1号鲜地黄的化学成分进行了分离和鉴定，从中分离得2个新的紫罗兰酮类、1个新的酚酸类及1个新的含氮类化合物[17-19]。本研究以怀中1号地黄为研究对象，采用气相色谱-串联质谱（GC-MS）法对其不同炮制品中脂溶性成分的组成和相对含量进行分析和比较，并初步评价这些脂溶性成分的体外抗氧化活性，以期弥补地黄脂溶性成分研究的不足，并为进一步明确地黄的炮制机理、阐释地黄炮制与药性/药效之间的内在联系提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有7890/7000B型三重串联四极杆GC-MS仪（美国Agilent公司）；BT-25S型十万分之一电子天平（德国Sartorius公司）；AB204-N型万分之一电子天平（德国Mettler-Toledo公司）；N1100VWD型旋转蒸发器、EYELA PDU-2110型冷冻干燥机（上海爱朗仪器有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

怀中1号地黄药材于2020年11月采自河南焦作，经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄*R. glutinosa* Libosch.的新鲜块根。黄酒（酒精的体积分数为14%）购自浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司；维生素C（批号B21293，纯度≥99%）购自上海源叶生物科技有限公司；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）购自美国Sigma公司；石油醚（沸程60～90 ℃）、无水乙醇、甲醇、正己烷、无水硫酸钠、三氟化硼均为分析纯，水为超纯水。

2 方法

2.1 地黄饮片及其脂溶性提取物的制备

鲜地黄饮片的制备：取新鲜地黄药材洗净，切片，冷冻干燥，即得。生地黄饮片的制备：取鲜地黄药材1 000 g，置于烘箱中75 ℃干燥48 h，取出，稍闷，放凉，切厚片，即得。熟地黄饮片的制备：取上述生地黄饮片100 g，加35 g黄酒，拌匀，闷润至黄酒被吸尽，以100 ℃蒸32 h，切厚片，即得。

地黄脂溶性提取物的制备：分别称取各饮片20 g，切小块，以石油醚为溶剂，80 ℃索氏提取6 h，将提取液减压浓缩，得黄色油状提取物，即脂溶性成分（鲜地黄、生地黄、熟地黄得率分别为0.058%、0.056%、0.050%）。在上述提取物中，加入0.5 mol/L氢氧化钾甲醇溶液4 mL，60 ℃恒温水浴30 min；冷却后加入三氟化硼甲醇溶液5 mL，于60 ℃水浴加热回流5 min；冷却后加正己烷和饱和氯化钠水溶液各2 mL，静置，分层，取上清液加无水Na_2SO_4干燥，过0.22 μm微孔滤膜，即得待测样品[20]。

2.2 GC-MS分析条件

2.2.1 GC条件 色谱柱为HP-FFAP型石英毛细管柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）；载气为高纯氦气（99.999%），流速为1.0 mL/min；进样口温度为240 ℃；进样量为10 μL，分流进样；升温程序为80 ℃保持2 min，按10 ℃/min升温至190 ℃并保持2 min，然后再以2 ℃/min升温至230 ℃并保持15 min；气化室温度为280 ℃；接口温度为240 ℃。

2.2.2 MS条件 离子源为电子轰击源，离子源温度为230 ℃，电子能量为70 eV；扫描范围为质荷比（*m/z*）30～600；溶剂延迟时间为4.5 min；GC-MS接口温度为240 ℃。

2.3 GC-MS分析及数据处理

取“2.1”项下待测样品，按“2.2”项下GC-MS条件进样分析。采用NIST98系统谱库自动检索组分的质谱信息，结合有关文献，分别与八峰索引和EPA/NIH库对照，选出匹配度均在80%以上的化合物。用Hewlett Packard软件按峰面积归一化法计算各化合物的相对含量[21]。

2.4 地黄不同炮制品中脂溶性成分的体外抗氧化能力测定

采用DPPH自由基清除法测定地黄不同炮制品中脂溶性成分的抗氧化活性[22]。精密称取7.88 mg DPPH溶于100 mL无水乙醇中，制备成终浓度为0.2 mmol/L的DPPH溶液；精密称取15 mg鲜地黄、生地黄、熟地黄的脂溶性成分（样品）及维生素C（阳性对照），分别加入无水乙醇5 mL制备成母液，然后以无水乙醇将样品溶液和对照品溶液均稀释成1.5、1、0.5、0.1、0.05、0.01 mg/mL的溶液，备用。分别取无水乙醇100 μL+DPPH溶液100 μL（记为“空白组”）、不同质量浓度的维生素C溶液100 μL+DPPH溶液100 μL（记为“阳性对照组”）、不同质量浓度的样品溶液100 μL+DPPH溶液100 μL（记为“样品组”）于96孔板中，在室温下反应30 min。采用酶标仪测定各孔在517 nm波长处的吸光度（A）值，并计算DPPH自由基清除率：DPPH自由基清除率（%）=[(A_0-A_i)/A_0]×100%。式中，A_0表示空白组的A，A_i为药物组的A。重复测定3次，取平均值。利用SPSS 25.0统计软件计算各样品对DPPH自由基的半数清除浓度（IC_{50}）。

3 结果

3.1 地黄不同炮制品中脂溶性成分的GC-MS分析结果

依照上述GC-MS条件对地黄不同炮制品的脂溶性成分进行分析，得出的总离子流图见图1，GC-MS分析结果见表1。

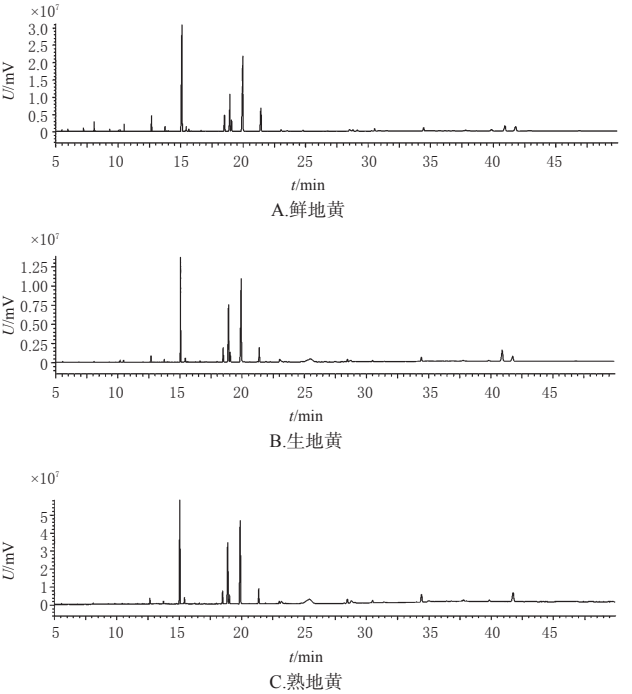

图1 地黄不同炮制品中脂溶性成分的总离子流图

表1 地黄不同炮制品中脂溶性成分的GC-MS分析结果

编号	保留时间/min	化学名称	英文名	分子式	分子量	相对含量/%		
						鲜地黄	生地黄	熟地黄
1	5.018	2,6,10,14-四甲基-十六烷	2,6,10,14-tetramethyl hexadecane	$C_{20}H_{42}$	282	−	0.01	−
2	5.481	辛酸甲酯	octanoic acid methyl ester	$C_9H_{18}O_2$	158	0.24	0.03	−
3	5.563	十四烷	tetradecane	$C_{14}H_{30}$	198	0.05	0.18	0.15
4	6.085	十六烷	hexadecane	$C_{16}H_{34}$	226	−	0.04	0.04
5	6.180	1,2,4,5-四甲苯	1,2,4,5-tetramethyl benzene	$C_{10}H_{14}$	134	0.01	−	−
6	6.449	壬醛二甲缩醛	nonanal dimethyl acetal	$C_{11}H_{24}O_2$	188	0.02	−	−
7	6.777	壬酸甲酯	nonanoic acid methyl ester	$C_{10}H_{20}O_2$	172	0.03	0.04	−
8	6.844	十五烷	pentadecane	$C_{15}H_{32}$	212	−	0.07	−
9	7.208	(+)-2-樟脑	(+)-2-bornanone	$C_{10}H_{16}O$	152	0.49	−	−
10	7.414	1-十五烯	1-pentadecene	$C_{15}H_{30}$	210	−	0.03	−
11	8.056	癸酸甲酯	decanoic acid methyl ester	$C_{11}H_{22}O_2$	186	1.18	0.09	0.08
12	8.095	十八烷	octadecane	$C_{18}H_{38}$	254	−	0.01	0.18
13	8.095	十七烷	heptadecane	$C_{17}H_{36}$	240	−	0.13	0.09
14	8.144	L-石竹烯	L-caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204	0.15	−	−
15	8.895	(*E*)-*β*-金合欢烯	(*E*)-*β*-famesene	$C_{15}H_{24}$	204	0.10	−	−
16	9.019	*α*-石竹烯	humulene	$C_{15}H_{24}$	204	0.03	−	−
17	9.313	乙酸松油酯	terpinyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	196	0.35	−	−
18	9.350	环十五烷	decylcyclopentane	$C_{15}H_{30}$	210	−	−	0.04
19	9.486	别香橙烯	alloaromadendrene	$C_{15}H_{24}$	204	0.03	−	−
20	9.631	*β*-甜没药烯	*β*-bisabolene	$C_{15}H_{24}$	204	−	0.01	−
21	9.829	1-十七烯	1-heptadecene	$C_{17}H_{34}$	238	−	0.04	−
22	10.008	(−)-*β*-荜澄茄烯	(−)-*β*-cubenene	$C_{15}H_{24}$	204	0.17	−	−
23	10.131	癸醛缩二甲醇	decanal dimethyl acetal	$C_{12}H_{26}O_2$	202	0.24	0.14	−
24	10.185	十二硫醇	dodecanethiol	$C_{12}H_{26S}$	202	0.15	0.29	−

−：未检测出

续表 1

编号	保留时间/min	化学名称	英文名	分子式	分子量	相对含量/%		
						鲜地黄	生地黄	熟地黄
25	10.462	月桂酸甲酯	dodecanoic acid methyl ester	$C_{13}H_{26}O_2$	214	0.94	0.24	0.12
26	10.625	正十一烷基环已烷	undecylcyclohexane	$C_{17}H_{34}$	238	–	0.01	–
27	11.217	1-甲基萘	1-methyl-naphthalene	$C_{11}H_{10}$	142	0.04	–	–
28	11.608	2-甲基萘	2-methyl-naphthalene	$C_{11}H_{10}$	142	0.03	–	–
29	11.670	二十一烷基环戊烷	heneicosylcyclopentane	$C_{26}H_{52}$	364	–	0.03	0.07
30	12.022	1-十九烯	1-nonadecene	$C_{19}H_{38}$	266	–	0.07	0.08
31	12.652	肉豆蔻酸甲酯	methyl tetradecanoate	$C_{15}H_{30}O_2$	242	1.97	0.82	0.74
32	12.786	1,3-二甲基萘	1,3-dimethyl-naphthalene	$C_{12}H_{12}$	156	0.05	–	–
33	12.865	环已基十九烷	nonadecylcyclohexane	$C_{25}H_{50}$	350	–	0.03	–
34	13.359	三十酸甲酯	triacontanoic acid methyl ester	$C_{31}H_{62}O_2$	466	–	0.04	–
35	13.361	12-甲基十四烷酸甲酯	12-methyl-tetradecanoic acid methyl ester	$C_{16}H_{32}O_2$	256	0.05	–	0.05
36	13.729	十五碳酸甲酯	pentadecanoic acid methyl ester	$C_{16}H_{32}O_2$	256	0.70	0.41	0.44
37	14.005	(Z)-9-十八碳烯酸甲酯	(Z)-9-octadecenoic acid methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	296	0.12	–	0.07
38	14.075	壬二酸二甲酯	nonanedioic acid dimethyl ester	$C_{11}H_{20}O_4$	216	0.03	–	–
39	14.151	1-十八烷烯	1-octadecene	$C_{18}H_{36}$	252	–	–	0.08
40	14.155	二十八烷醇	octacosanol	$C_{28}H_{58}O$	410	–	0.07	–
41	15.037	棕榈酸甲酯	hexadecanoic acid methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	270	26.23	21.16	20.87
42	15.357	(Z)-6-十八碳烯酸甲酯	(Z)-6-octadecenoic acid methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	296	0.28	0.17	–
43	15.431	(Z)-9-十六烯酸甲酯	(Z)-9-hexadecenoic acid methyl ester	$C_{17}H_{32}O_2$	268	0.93	0.82	1.22
44	15.618	芥酸甲酯	erucic acid methyl ester	$C_{23}H_{44}O_2$	352	0.44	–	0.15
45	16.244	二十五烷	pentacosane	$C_{25}H_{52}$	352	–	0.09	0.20
46	16.264	二十一烷	heneicosane	$C_{21}H_{44}$	296	0.06	–	–
47	16.380	(9*E*,12*E*)-9,12-十八烯酸甲酯	(9*E*,12*E*)-9,12-octadecadienoic acid methyl ester	$C_{19}H_{34}O_2$	294	0.06	–	–
48	16.605	十七酸甲酯	heptadecanoic acid, methyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	284	0.27	0.27	0.29
49	17.986	二十六烷	hexacosane	$C_{26}H_{54}$	366	–	0.18	0.20
50	18.004	反式-2-十一烯醇	trans-2-undecen-1-ol	$C_{11}H_{22}O$	170	0.12	–	–
51	18.468	硬脂酸甲酯	methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	298	4.18	3.62	3.26
52	18.901	油酸甲酯	methyl elaidate	$C_{19}H_{36}O_2$	296	10.57	15.73	15.62
53	19.032	11-硬脂酸甲酯	11-octadecenoic acid methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	296	2.74	2.44	2.27
54	19.892	亚油酸甲酯	methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	294	26.45	23.61	24.21
55	19.991	叶绿醇	phytol	$C_{20}H_{40}O$	296	–	0.33	–
56	19.995	二十八烷	octacosane	$C_{28}H_{58}$	394	–	–	0.17
57	20.603	十九酸甲酯	nonadecanoic acid methyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$	312	–	0.08	–
58	21.221	亚麻酰氯	(Z,Z)-9,12-octadecadienoyl chloride	$C_{18}H_{31}C_lO$	298	–	0.10	–
59	21.375	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八烷三烯酸甲酯	(Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoic acid, methyl ester	$C_{19}H_{32}O_2$	292	6.54	4.08	4.50
60	21.915	3-(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸甲酯	3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-benzenepropanoic acid methyl ester	$C_{18}H_{28}O_3$	292	0.09	0.24	0.25
61	22.258	二十四烷	tetracosane	$C_{24}H_{50}$	338	–	0.13	–
62	23.016	二十酸甲酯	eicosanoic acid methyl ester	$C_{21}H_{42}O_2$	326	0.61	1.02	0.83
63	23.125	1-十五醇	1-pentadecanol	$C_{15}H_{32}O$	228	–	0.46	–
64	23.182	十八醇	octadecanol	$C_{18}H_{38}O$	270	–	–	1.12
65	23.374	2-羟基-十六酸甲酯	2-hydroxy-hexadecanoic acid methyl ester	$C_{17}H_{34}O_3$	286	0.09	–	–
66	23.522	2-已基-环丙烷辛酸甲酯	2-hexyl-cyclopropaneoctanoic acid methyl ester	$C_{18}H_{34}O_2$	282	0.08	0.26	0.14
67	24.782	1,2-环氧十六烷	1,2-epoxyhexadecane	$C_{16}H_{32}O$	240	–	0.28	–
68	24.784	2-氧代十八烷酸甲酯	2-oxo-octadecanoic acid methyl ester	$C_{19}H_{36}O_3$	312	0.36	–	–
69	25.429	二十八烷酸甲酯	octacosanoic acid methyl ester	$C_{29}H_{58}O_2$	438	–	–	2.88
70	25.640	二十一碳烷酸甲酯	heneicosanoic acid methyl ester	$C_{22}H_{44}O_2$	340	0.06	0.95	–
71	28.473	二十二烷酸甲酯	docosanoic acid methyl ester	$C_{23}H_{46}O_2$	354	0.72	0.92	1.65
72	28.753	顺式-9-二十三烯	(Z)-9-tricosene	$C_{23}H_{46}$	322	–	1.03	–
73	28.788	山嵛醇	behenic alcohol	$C_{22}H_{46}O$	326	–	–	1.20
74	30.261	二十二烷	docosane	$C_{22}H_{46}$	310	–	0.12	–
75	30.271	二十九烷	nonacosane	$C_{29}H_{60}$	408	0.16	0.09	–
76	31.410	二十三烷酸甲酯	tricosanoic acid methyl ester	$C_{24}H_{48}O_2$	368	0.19	0.15	0.20
77	34.419	木蜡酸甲酯	tetracosanoic acid methyl ester	$C_{25}H_{50}O_2$	382	1.45	1.71	3.31
78	41.752	蜡酸甲酯	hexacosanoic acid methyl ester	$C_{27}H_{54}O_2$	410	2.84	3.12	5.72
79	46.874	二十七烷酸甲酯	heptacosanoic acid methyl ester	$C_{28}H_{56}O_2$	424	–	0.30	0.40

结果显示，从地黄不同炮制品中共鉴定出79个脂溶性成分。其中，在鲜地黄脂溶性成分中（图1A），共鉴定出48个成分，检出成分的相对含量占总成分的92.69%；在生地黄脂溶性成分中（图1B），共鉴定出52个成分，检出成分的相对含量占总成分的86.29%；在熟地黄脂溶性成分中（图1C），共鉴定出37个成分，检出成分的相对含量占总成分的92.89%。鉴定出的这些成分主要为脂肪酸类和萜类化合物，另外还有烷烃、烯烃等脂肪族化合物。脂肪酸是地黄中脂溶性成分的主要组成部分，其相对含量在鲜地黄、生地黄和熟地黄中分别占脂溶性成分的90.44%、82.28%和89.27%，其中饱和脂肪酸占45.05%、37.87%、43.50%，不饱和脂肪酸占45.39%、44.41%、45.77%。以上结果说明，地黄不同炮制品中脂肪酸的构成有一定差异。

在地黄的不同炮制品中，共有的脂溶性成分有20个，这20个共有成分含量分别占各炮制品脂溶性成分含量的88.73%、80.89%、85.87%。其中，亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、油酸甲酯是3种地黄炮制品中共有且相对含量较高的成分（含量均在10%以上），合计相对含量分别占鲜地黄、生地黄和熟地黄中脂溶性成分的63.25%、60.50%、60.70%。除上述3种炮制品中共有的20种成分外，鲜地黄和生地黄中共有的脂溶性成分有7个，鲜地黄和熟地黄中共有的脂溶性成分有3个，生地黄和熟地黄中共有的脂溶性成分有8个。以上结果说明，地黄不同炮制品中脂溶性成分具有一定相似性。

另外，鲜地黄中独有的脂溶性成分有18个，相对含量较高（在0.10%以上）的有：(+)-2-樟脑（0.49%）、2-氧代十八烷酸甲酯（0.36%）、乙酸松油酯（0.35%）、(－)-β-荜澄茄烯（0.17%）、L-石竹烯（0.15%）、反式-2-十一烯醇（0.12%）、(*E*)-β-金合欢烯（0.10%）等，多为萜类成分，占鲜地黄脂溶性成分含量的2.19%。生地黄中独有的脂溶性成分有17个，相对含量较高（在0.10%以上）的有：顺式-9-二十三烯（1.03%）、1-十五醇（0.46%）、叶绿醇（0.33%）、1,2-环氧十六烷（0.28%）、二十四烷（0.13%）、二十二烷（0.12%）、亚麻酰氯（0.10%）等，多为烷烃类化合物，占生地黄脂溶性成分含量的2.84%。熟地黄中独有的脂溶性成分有6个，相对含量较高（在0.10%以上）的有：二十八烷酸甲酯（2.88%）、山嵛醇（1.20%）、十八醇（1.12%）、二十八烷（0.17%）等，多为烷烃类化合物，占熟地黄脂溶性成分含量的5.49%。以上结果说明，地黄不同炮制品中脂溶性成分存在一定的差异。

3.2 地黄不同炮制品中脂溶性成分的体外抗氧化活性考察结果

鲜地黄、生地黄、熟地黄中脂溶性成分均具有一定的体外抗氧化活性，在测定的质量浓度范围内，其对DPPH自由基的清除能力均随着试样质量浓度的增加而逐渐增强，但均弱于维生素C。鲜地黄、生地黄、熟地黄中脂溶性成分对DPPH自由基的清除率分别为69.70%、61.47%、69.26%，对DPPH自由基的IC_{50}分别为0.756、0.660、0.758 mg/mL。地黄不同炮制品中脂溶性成分、维生素C对DPPH自由基的清除率测定结果见图2。

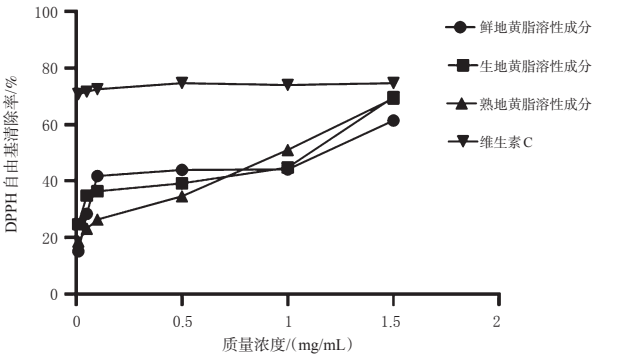

图2 地黄不同炮制品中脂溶性成分、维生素C对DPPH自由基的清除率测定结果

4 讨论

本研究运用GC-MS法对鲜地黄、生地黄和熟地黄中的脂溶性成分进行分析，共鉴定出79个脂溶性成分，其中以脂肪酸类化合物为主。三者中主要脂溶性成分均为亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、油酸甲酯等。有报道指出，亚油酸具有抗癌、降低胆固醇、抗氧化等多种药理活性，棕榈酸甲酯、油酸甲酯具有降血脂、抗动脉粥样硬化、抗血小板聚集及血栓形成等作用[23－26]。而地黄同样具有降血脂作用，那么，这些脂肪酸类成分是否是地黄发挥降血脂等作用的药效物质基础有待进一步验证。

本研究通过对地黄不同炮制品中脂溶性成分的分析，发现其共有成分20个，但是在不同地黄炮制品中，其相对含量各不相同：如从鲜地黄炮制成生地黄、再到熟地黄的过程中，棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、11-硬脂酸甲酯、肉豆蔻酸甲酯、癸酸甲酯、月桂酸甲酯的含量逐渐减少，而蜡酸甲酯、木蜡酸甲酯、二十二烷酸甲酯的含量逐渐增加；另外，油酸甲酯和(*Z*,*Z*,*Z*)-9,12,15-十八烷三烯酸甲酯在三者中的含量也有明显差异。孙瑞霞等[27]采用GC-MS法测定地黄乙醇提取物和二氯甲烷提取物中的有机成分，发现主要为棕榈酸甲酯和亚油酸甲酯等，与本研究中所列出的主要成分类似，但在文献[27]中仅注明了“怀地黄样品”，并未标明所用地黄的饮片种类，无法确定是鲜地黄还是生地黄。边宝林等[28]采用GC-MS法对生地黄和熟地黄中的11个脂肪酸类化合物进行对比，发现其相对含量变化不明显。本研究对鲜地黄、生地黄和熟地黄中脂溶性成分的种类和含量进行分析，发现地黄不同炮制品中上述11个脂肪酸类化合物的含量有所变化，且发现生地黄和熟地黄中上述11个成分的含量较为接近，但其含量与鲜地黄差异较大。

另外，除了以上共有成分外，鲜地黄中独有的脂溶性成分有18个，多为萜类成分，占鲜地黄脂溶性成分含

量的2.19%；生地黄中独有的脂溶性成分有17个，多为烷烃类化合物，占生地黄脂溶性成分含量的2.84%；熟地黄中独有的脂溶性成分有6个，占熟地黄脂溶性成分含量的5.49%。该结果说明，地黄不同炮制品中脂溶性成分存在一定差异。而这种差异的产生，可能是地黄加工炮制过程中，脂溶性成分发生了裂解、氧化、聚合等反应。这些成分的变化，是否可以用来指导地黄的炮制过程，有待于进一步深入研究。

地黄具有抗衰老、降血糖、抗肿瘤、调节免疫功能等多种药理作用，上述药理作用均与其抗氧化活性密切相关[29]。沈华旦等[30]采用在线高效液相色谱-紫外-二苯基三硝基苯肼分析技术对生地黄和熟地黄中抗氧化活性成分进行筛查，发现地黄不同炮制品中抗氧化活性成分明显不同，对抗氧化活性贡献率较高的成分分别为玉叶金花苷酸、海胆苷、焦地黄苯乙醇苷A_1/A_2、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷。耿晓桐等[31]采用HPLC指纹图谱技术对鲜地黄块根不同组织的抗氧化活性谱效关系进行研究，发现地黄块根菊花心（木质部）、非菊花心（韧皮部）和整体块根的不同极性（氯仿、正丁醇和乙酸乙酯）部位均有较强的抗氧化活性，且以乙酸乙酯部位的抗氧化活性最强。本研究采用石油醚提取地黄不同炮制品中的脂溶性成分，并采用DPPH自由基清除法对其体外抗氧化活性进行评价。结果显示，不同地黄炮制品中脂溶性成分均显示出了一定的抗氧化活性，但三者间无明显差异。

本研究用NIST98系统谱库自动检索组分的质谱信息，选取匹配度均在80%以上的化合物。在鲜地黄和生地黄中，在保留时间为40.915 min处，匹配质谱库后给出的化合物为2-氧代十八烷酸甲酯或硬脂基碘，但相似度仅为77%，无法准确判断其结构。这一成分在鲜地黄和生地黄中含量较高（分别为3.10%、6.57%），而在熟地黄中并未检测到，故笔者推测其可能为地黄不同炮制品的指标性成分，后期可结合中药化学相关手段对其进行分离、鉴定。另外，本研究对地黄不同炮制品中脂溶性成分的分析存在一定的局限性，后期笔者将以亚油酸甲酯、棕榈酸甲酯、油酸甲酯等含量较高的化合物作为指标性成分，并采集更多的地黄样本进行相关研究，弥补本研究的不足。

综上所述，本研究从地黄不同炮制品中共鉴定出79个脂溶性成分，共有脂溶性成分20个，其中脂肪酸是地黄脂溶性成分的主要组成部分，鲜地黄中独有的脂溶性成分多为萜类化合物，生地黄和熟地中独有的脂溶性成分多为烷烃类化合物。本研究为进一步丰富和完善地黄的化学成分、揭示地黄不同炮制品药效变化的物质基础提供了一定参考。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[S]. 2020年版.北京：中国医药科技出版社，2020：129.

[2] 盛秋双，杜润宝，卢娜，等.地黄HPLC指纹图谱及梓醇含量测定的研究[J].中草药，2019，50(20)：5060-5063.

[3] 司南，杨柳，王宏洁，等.近红外光谱法鉴别怀地黄药材道地性的研究[J].现代药物与临床，2013，28(4)：542-546.

[4] 王丰青，谢彩侠，孙瑞斌，等.地黄种质创新与品种选育研究进展[J].中国中药杂志，2018，43(21)：4203-4209.

[5] 周丽，徐金娣，毛茜，等.地黄加工炮制研究新进展及展望[J].中药材，2016，39(5)：1184-1190.

[6] 郑晓珂，刘朝妍，蒋赟，等.怀地黄雌激素样活性筛选的实验研究[J].中国药学杂志，2013，48(21)：1831-1836.

[7] CHEN Y，LIU Q P，SHAN Z F，et al. Catalpol ameliorates podocyte injury by stabilizing cytoskeleton and enhancing autophagy in diabetic nephropathy[J]. Front Pharmacol，2019，10：1477.

[8] 赵莹莹，陈燕，韩杜菀，等.地黄苦苷元的雌激素样活性筛选研究[J].药学学报，2019，54(2)：308-312.

[9] LIU Y F，LIANG D，LUO H，et al.Hepatoprotective iridoid glycosides from the roots of *Rehmannia glutinosa*[J]. J Nat Prod，2012，75(9)：1625-1631.

[10] 李红伟，孟祥乐.地黄化学成分及其药理作用研究进展[J].药物评价研究，2015，38(2)：218-228.

[11] 朱俏峭，钟亮，戚进.地黄中环烯醚萜类化学成分的研究进展[J].海峡药学，2015，27(9)：1-5.

[12] LI M，WANG X L，ZHENG X K，et al. A new ionone glycoside and three new rhemaneolignans from the roots of *Rehmannia glutinosa*[J]. Molecules，2015，20(8)：15192-15201.

[13] 徐军，傅喆暾.地黄炮制品名历史沿革及功效考辨探讨[J].中成药，2017，39(9)：1913-1916.

[14] 沈丽琴，杨晗，李胜华，等.地黄不同工艺炮制过程中主要活性成分的变化规律研究[J].亚太传统医药，2019，15(10)：75-79.

[15] 张颖，张振凌，杨佳宁，等.地黄不同炮制品中无机元素的ICP-OES法测定[J].时珍国医国药，2019，30(6)：1358-1361.

[16] 吴廷娟，田梦平，罗晓铮，等.不同地黄种质资源的抗逆性研究[J].安徽农业科学，2021，49(5)：175-177，224.

[17] LIU Y L，CAO Y G，KAN Y X，et al. Two new eremophilane-type sesquiterpenes from the fresh roots of *Rehmannia glutinosa*[J]. Phytochem Lett，2021，42：125-128.

[18] LIU Y L，CAO Y G，KAN Y X，et al. Renoprotective activity of a new amide and a new hydroxycinnamic acid derivative from the fresh roots of *Rehmannia glutinosa*[J]. J Asian Nat Prod Res，2022，24(2)：163-169.

[19] 范锡玲，刘晏灵，曹彦刚，等.怀中1号鲜地黄化学成分研究[J].药学学报，2021，56(11)：3097-3103.

[20] 李红伟，李孟，石延榜，等.清炒炮制对北葶苈子中脂肪油的影响[J].中国新药杂志，2016，25(24)：2821-2825.

（下转第574页）