

引用:李思颖,金晨,刘均正,童猛辉,何颖,朱洁,谭闽怀,黄慧莲.基于灰色关联度的保元汤基准样品抗氧化作用的谱效关系研究[J].中医药导报,2025,31(2):41-46,56.

基于灰色关联度的保元汤基准样品 抗氧化作用的谱效关系研究^{*}

李思颖¹,金晨¹,刘均正²,童猛辉²,何颖¹,朱洁¹,谭闽怀²,黄慧莲¹

(1.江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室,江西南昌330004;

2.江西和盈药业有限公司,江西上饶335101)

[摘要] 目的:建立经典名方保元汤基准样品的HPLC指纹图谱,并分析其与体外抗氧化活性的关联性,建立谱效关系,筛选与抗氧化活性相关的成分。方法:采集16批次保元汤基准样品的指纹图谱,在对照图谱相似度评价均大于0.9的基础上建立多波长切换指纹图谱,结合聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析对指纹图谱数据进行化学计量研究;以1,1-二苯基-2-苦肼基自由基(DPPH)清除法评价保元汤基准样品的抗氧化活性,通过灰色关联度法对16批次保元汤基准样品多波长切换指纹图谱共有峰与其抗氧化活性进行关联性分析,综合评价筛选抗氧化活性成分。结果:建立保元汤基准样品HPLC双波长指纹图谱中,在203 nm下确定15个共有峰,254 nm下确定3个共有峰,通过对照品指认出其中8个化合物;建立的多波长切换指纹图谱含有18个共有峰,聚类分析等结果显示,样品大致可分为2类,共有峰F6、F3、F1、F2和F15所对应的化合物为主要差异成分;抗氧化实验结果表明各批次基准样品均显示出较好的抗氧化活性且与浓度呈正相关,其中批次S8的抗氧化活性最强;综合灰色关联分析和综合评分结果,共有峰F15、F7、F9、F4和F5所对应的化合物可能是表征保元汤抗氧化活性的重要成分。结论:建立的保元汤基准样品HPLC指纹图谱可用于其质量评价,谱效关系研究对于保元汤质量标志物筛选及质量控制具有重要的参考价值。

[关键词] 保元汤;经典名方;指纹图谱;谱效关系;抗氧化;灰色关联分析

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)02-0041-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.02.008

Study on Spectrum-Effect Relationship of Anti-Inflammation of Baoyuan Decoction (保元汤) Based on Gray Correlation Analysis

LI Singying¹, JIN Chen¹, LIU Junzheng², TONG Menghui², HE Ying¹, ZHU Jie¹,
TAN Minhuai², HUANG Huilian¹

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang Jiangxi 330004, China;

2. Jiangxi Heying Pharmaceutical Co., Ltd., Shangrao Jiangxi 330029, China)

[Abstract] Objective: A spectrum-activity relationship is established with the high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of the famous classical formula Baoyuan Decoction (BYD) and the *in vitro* antioxidant activity, to screen the components related to antioxidant activity by combining them with spectral effect relationship analysis. Methods: The HPLC method was used to establish the fingerprints of 16 batches of BYD benchmark samples, and the multi-wavelength switching fingerprints were established based on the similarity evaluations of the control fingerprints, which were all greater than 0.9. And the fingerprint data were combined with the cluster analysis, principal component analysis, and least-square two analysis to conduct the stoichiometric study. The antioxidant activities of BYD were evaluated by the DPPH radical scavenging methods. The correlation analysis of the 16 batches of BYD common peaks with their antioxidant capacity indexes was carried out by the gray correlation method to comprehensively evaluate the screened active ingredients. Results: In the dual-wavelength fingerprints of BYD, 15 peaks were identified at 203 nm, and 3 peaks were identified at 254 nm. A total of 8 compounds were recognized by the control, and the multi-wavelength switching fingerprints of BYD contained 18 peaks. The results of the cluster analysis showed that the samples could be roughly divided

*基金项目:江西中医药大学校级科技创新团队发展计划(CXTD22002)

通信作者:黄慧莲,女,教授,研究方向为中药分析学

into 2 groups, and that the compounds corresponding to the common peaks F6, F3, F1, F2 and F15 were the main difference components. The results of the antioxidant experiment showed that all batches of benchmark samples exhibited good antioxidant activity and that the antioxidant activity was positively correlated with concentration. In particular S8 showed the strongest antioxidant activity. Combining the results of gray correlation analysis and comprehensive scoring, the compounds corresponding to the common peaks F15, F7, F9, F4, and F5 may be the most important components in characterizing the antioxidant activity of BYD. Conclusion: The HPLC fingerprints of BYD can be used for the quality evaluation of the formula, and the study of the spectral effect relationship to its antioxidant activity provides a reference for the Q-marker screening and quality control of BYD.

[Keywords] Baoyuan decoction; famous classical formula; fingerprinting; spectrum-effect relationship; antioxidant; gray correlation analysis

保元汤方剂出自明朝孙志宏所著《简明医彀》^[1],由人参、黄芪、甘草、肉桂和生姜五味药材组成,可大补元气,治疗元气虚弱证。保元汤收录于国家中医药管理局第一批公布的古代经典名方中^[2]。目前对保元汤的研究主要集中于临床^[3-4]、药理活性^[5-9]及化学分析^[10]等领域。在中医理论体系中,气是生命动力^[11]。温扶元气通脑络,充养脑神运神机,可以达到延缓或防止衰老的目的。现代药理研究表明,保元汤所含人参皂苷^[12]、黄芪多糖^[13]、甘草黄酮^[14]、肉桂^[15]及生姜提取物^[16]等化学成分均具强抗氧化作用,能够对抗自由基损害,有效预防由氧化应激导致的氧化损伤,从而延缓衰老。已有研究者运用体外实验证明,保元汤可降低自由基引起的脂质过氧化,对大鼠海马神经元氧化应激损伤具有保护作用^[17],表现出一定的抗氧化活性,但整方发挥抗氧化作用的物质基础尚不明确。

中药指纹图谱能较为全面地表达中药复方中复杂的化学成分信息,但其表征的化学成分不全是有效成分,且未与药效相关联,具有一定的局限性^[18]。谱效关系是将中药指纹特征峰与药效学数据相关联,阐明各成分对药效的贡献率,从而探究与药效相关的有效物质,筛选有效活性成分群。从“整体观念”阐明中药的质量标志物^[19],有助于深入阐明HPLC指纹图谱特征与药效之间的相关性。本研究建立保元汤的HPLC指纹图谱,以期为保元汤的整体质量评价提供参考方法;通过DPPH清除法,对16批次保元汤基准样品的抗氧化性进行评价,应用灰色关联度法开展基准样品谱效相关性研究,以期发掘保元汤中抗氧化活性的有效成分,为后续质控标准的确定及药效物质研究奠定基础。

1 材 料

1.1 主要仪器 Agilent 1260高效液相色谱仪(美国Agilent公司);BSA224S型万分之一电子天平(德国赛多利斯公司);XS3DU型百万分之一电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);酶标仪(瑞士Tecan公司);TD4型低速离心机(上海卢湘仪器有限公司);LGJ-30FD型真空冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司);ProElut C₁₈-U 500 mg/6 mL 30/pk C₁₈型固相萃取小柱(中国迪马科技有限公司)。

1.2 试剂 1,1-二苯基-2-苦肼基自由基(DPPH,上海源叶生物科技有限公司,批号:S30629);抗坏血酸VC(西陇化工股份有限公司,批号:2308012)。对照品信息:人参皂苷Rg1(批号:110703-201832)、人参皂苷Rb1(批号:110704-201827)、

人参皂苷Re(批号:110754-202129)、甘草苷(批号:111610-201607)、甘草酸铵(批号:110731-201720)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号:111920-201606)、6-姜辣素(批号:111833-201806)、肉桂酸(批号:110786-201604)、桂皮醛(批号:110710-201821)、人参皂苷Rf(批号:111719-201806)均购自中国食品药品检定研究院,以上对照品含量均>92%。甲醇为色谱纯,购自美国默克,其他试剂均为分析纯。

1.3 样品信息 保元汤基准样品制备所用药材均购自道地产区或主产区,由江西和盈药业有限公司提供。(见表1)

表 1 16 批保元汤基准样品药材配伍产地来源

编号	人参		黄芪		甘草		肉桂	
	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号
S1	吉林	A0725-21	内蒙古	20181202	内蒙古	180725-4	广西	180702
S2	吉林	A0725-19	甘肃	20171204	内蒙古	180725-4	广西	180704
S3	吉林	A0725-19	内蒙古	20181202	内蒙古	180725-15	广西	180701
S4	吉林	A0725-4	内蒙古	20181201	内蒙古	180725-4	广西	180705
S5	黑龙江	A0725-14	内蒙古	20181201	内蒙古	180725-15	广西	180704
S6	吉林	A0725-4	甘肃	20171204	内蒙古	180725-15	广西	180702
S7	吉林	A0725-21	内蒙古	20181201	宁夏	180725-8	广西	180701
S8	黑龙江	A0725-14	甘肃	20171204	宁夏	180725-8	广西	180702
S9	吉林	A0725-21	甘肃	20171204	宁夏	180725-7	广西	180704
S10	吉林	A0725-19	甘肃	20171204	宁夏	180725-8	广西	180705
S11	吉林	A0725-4	甘肃	20171204	宁夏	180725-7	广西	180701
S12	吉林	A0725-21	甘肃	20171204	内蒙古	180725-15	广西	180705
S13	吉林	A0725-4	内蒙古	20181202	宁夏	180725-8	广西	180704
S14	吉林	A0725-19	内蒙古	20181201	宁夏	180725-7	广西	180702
S15	黑龙江	A0725-14	甘肃	20171204	内蒙古	180725-4	广西	180701
S16	黑龙江	A0725-14	内蒙古	20181202	宁夏	180725-7	广西	180705

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX-C₁₈ (250.0 mm×4.6 mm, 5.0 μ m);流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱程序为:0~5 min, 14%→17% A; 5~12 min, 17%→19% A; 12~59 min, 19%→25% A; 59~75 min, 25%→30% A; 75~120 min, 30%→47% A。流速:1 mL/min;进样量:10 μ L;柱温:25 $^{\circ}$ C;检测波长:203 nm、254 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 基准样品制备 称取人参3.73 g,黄芪7.46 g,甘草1.87 g,

肉桂0.75 g,生姜3.00 g,置于陶罐中。(1)一煎:加水300 mL浸泡30 min,电磁炉加热,先武火煎煮约6 min,再文火煎煮约12 min,用两层200目尼龙布过滤;(2)二煎:加水225 mL,武火煎煮约3 min,再文火煎煮约8 min,过滤;(3)制备:合并两次煎液,70 ℃减压浓缩后得稠膏,-50 ℃冷冻真空干燥72 h,收集粉末,即得保元汤基准样品。

2.2.2 供试品溶液制备^[20] 取基准样品约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇10 mL,超声45 min,4 000 r/min离心10 min。吸取上清液加载于C18固相萃取小柱上,依次用10 mL双蒸水、15%甲醇洗脱杂质,最后用甲醇洗脱收集并定容至5 mL,摇匀过滤,即得。

2.2.3 对照品溶液制备 分别取人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rf、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、6-姜辣素对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成质量浓度分别为66.0、356.0、580.0、354.0、332.0、404.8、402.8、223.2 μg/mL的混合对照品溶液。

2.3 方法学考察 精密度实验:取基准样品,按“2.2.2”项下制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,各共有峰相对保留时间(RRT)和相对峰面积(RPA)的RSD值均<3.0%,表明仪器精密度良好。

重复性考察:取同一批次基准样品,按“2.2.2”项下制备6份样品溶液,按“2.1”项下条件进样,各共有峰RRT、RPA的RSD值均<3.0%,表明该方法重复性良好。

稳定性考察:取基准样品,按“2.2.2”方法制备样品溶液,按“2.1”项下条件,分别于0、6、12、18、24、30 h进样测定,各共有峰RRT、RPA的RSD值均<3.0%,表明样品的稳定性良好。

2.4 HPLC指纹图谱建立及共有峰的指认 取保元汤基准样品(S1~16),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件进样。将结果图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),以样品S1的色谱图为参照,构建203 nm和254 nm双波长的保元汤物质基准叠加指纹图谱及生成的对照图谱。(见图1~3)结果在203 nm下共标定15个共有峰,254 nm下共标定4个共有峰。经与混合对照品溶液比对,指认其中8个成分。(见图4)以6号色谱峰为参照峰,计算各共有峰的RRT与RPA及RSD值,并对16批保元汤基准样品的指纹图谱进行相似度计算。结果各共有峰RRT的RSD值为0.102%~0.392%,表明不同产地药材共有峰出峰时间较稳定,各批样品的指纹图谱与对照指纹图谱两个波长下的相似度均>0.9,表明各产地药材的质量相对稳定。而各共有峰RPA的RSD值为28.19%~67.06%,说明不同产地药材指纹图谱中的相对峰面积存在差异,各化学成分含量有一定差异。

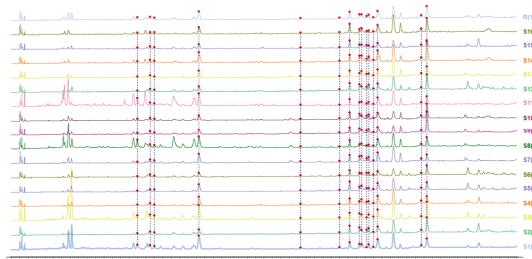


图1 16批保元汤基准样品HPLC指纹图谱(203 nm)

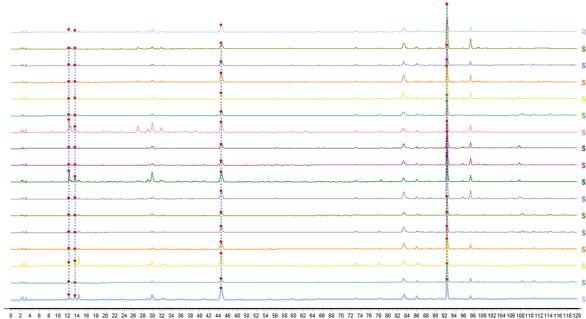


图2 16批保元汤基准样品HPLC指纹图谱(254 nm)

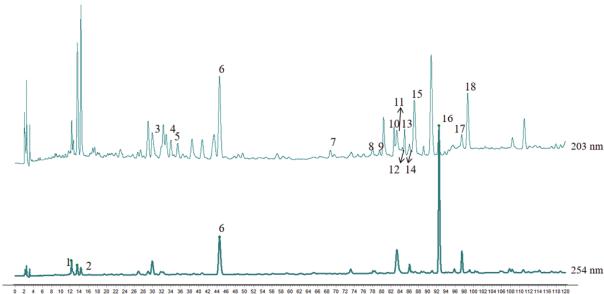
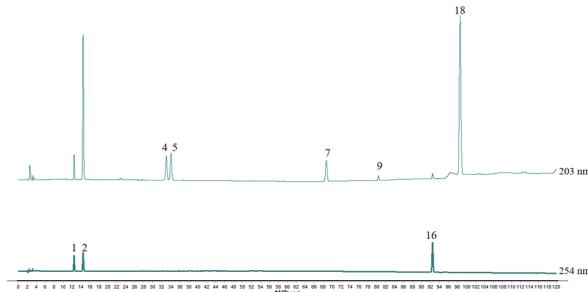


图3 保元汤基准样品对照指纹共有模式图



注:1.毛蕊异黄酮葡萄糖苷;2.甘草苷;4.人参皂苷Rg₁;5.人参皂苷Re;7.人参皂苷Rf;9.人参皂苷Rb₁;16.甘草酸铵;18.6-姜辣素。

图4 混合对照品溶液色谱图

2.5 化学模式识别分析

2.5.1 多波长切换指纹图谱的建立 根据“2.4”项下结果,选取0~20 min,254 nm;20~88 min,203 nm;88~93 min,254 nm;93~120 min,203 nm作为多波长切换指纹图谱的分析条件,在该条件下确立18个共有峰。

2.5.2 聚类分析 将16批保元汤基准样品多波长切换指纹图谱的18个共有峰峰面积导入SIMCA14.1软件进行聚类分析,横坐标为样品编号、纵坐标为样品点间距离。结果显示距离为40时,16批样品可分为2类,表明16批保元汤基准样品的成分特征存在一定差异。(见图5)

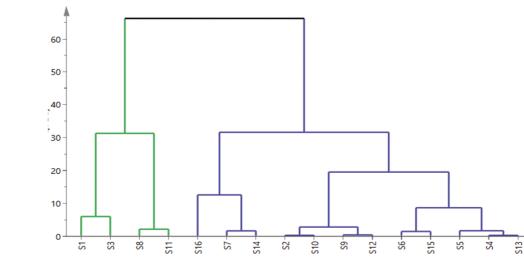


图5 16批保元汤基准样品聚类树状图

2.5.3 主成分分析(principal component analysis,PCA) 以16批保元汤基准样品多波长切换指纹图谱的18个共有峰峰面积作为变量,导入SPSS Statistics 23进行主成分分析,分析相关信息及碎石图,提取特征值>1的5类主成分,累积方差贡献率为82.767%,表明提取的前5类主成分能够代表保元汤基准样品指纹图谱共有峰中的绝大多数信息,可作为评价保元汤基准样品的依据之一。(见表2~3、图6)以绝对值为依据,主成分因子载荷矩阵反映了各变量对主成分的贡献大小,结果显示,F4、F6、F5、F2、F8、F15在主成分1上有较高的载荷,F3、F6、F1、F2在主成分2上的载荷量最大,F11、F5代表主成分3的主要信息,F17在主成分4上的贡献最大,F9在主成分5上的贡献最大。

将以上变量导入SIMCA14.0软件进行主成分分析,从得分图可知,样品可大致分为2类,与聚类分析结果一致。说明不同批次的保元汤基准样品在化学成分含量上存在一定差异。(见图7)

表2 主成分特征值及方差贡献率

主成分类	初始特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
I	5.127	28.482	28.482
II	4.330	24.055	52.537
III	2.869	15.936	68.473
IV	1.375	7.639	76.112
V	1.198	6.655	82.767

表3 因子载荷矩阵

项目	成分				
	1	2	3	4	5
F4	0.865	0.185	-0.340	-0.080	-0.179
F6	0.848	-0.428	0.190	0.061	-0.127
F5	0.835	0.121	-0.048	0.327	0.112
F2	0.830	-0.356	-0.246	0.062	-0.041
F8	0.524	0.359	-0.357	0.443	-0.068
F13	0.463	0.800	-0.016	-0.235	0.117
F10	0.48	0.795	0.006	-0.032	0.178
F1	0.368	-0.783	-0.028	-0.318	0.155
F12	-0.358	0.772	0.091	-0.203	-0.19
F3	0.574	-0.719	0.005	-0.236	0.181
F7	0.534	0.688	-0.154	-0.242	-0.154
F18	0.339	0.481	0.196	-0.106	0.440
F11	0.129	0.168	0.770	0.119	-0.544
F15	0.590	0.016	0.712	-0.011	-0.135
F14	0.372	-0.186	0.697	0.046	0.237
F17	-0.193	0.246	0.654	-0.149	0.513
F16	0.021	-0.107	0.609	-0.158	-0.318
F9	-0.148	0.052	0.266	0.819	0.201

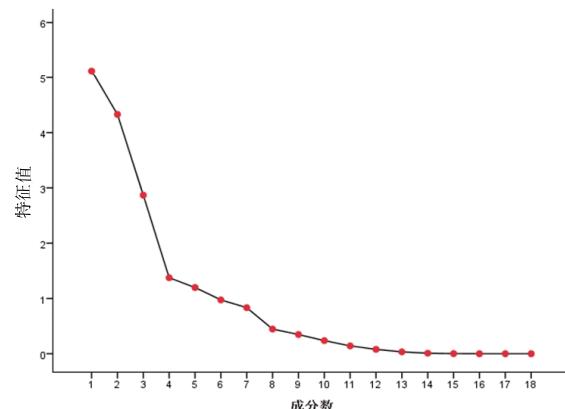


图6 碎石图

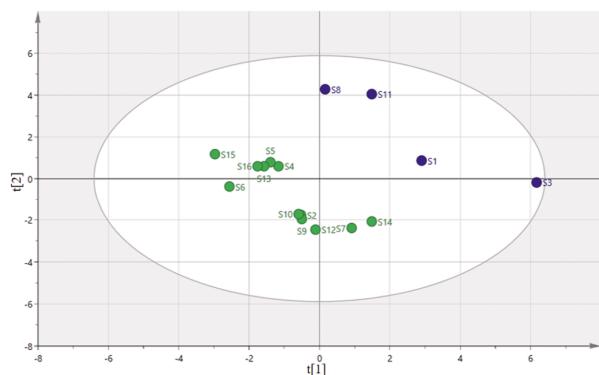


图7 16批保元汤基准样品的PCA得分图

2.5.4 正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA) 为进一步寻找不同批次保元汤对质量影响的差异性变量,采用OPLS-DA模型进行分析。将16批保元汤基准样品的18个共有峰的峰面积导入SIMCA14.1进行OPLS-DA处理,结果表明样品差异明显,分布在轴两侧,16批样品共分为2类,与聚类分析结果吻合。(见图8)在该模型下 R^2X 为0.521, R^2Y 为0.955,模型预测指数 Q^2 为0.912,均大于0.5表明该模型具有较好预测能力。经过200次置换检验,如图9所示, Q^2 回归线与纵轴的相交点小于0,表明该稳定有效,不存在过拟合现象^[21],可用于保元汤基准样品差异标志物的筛选。为进一步筛选出导致16批保元汤基准样品产生差异的成分,通过提取OPLS-DA模型中18个变量的重要值,以VIP>1为标准,筛选差异组分。(见图10)结果共找到5个差异标志物,分别为6号峰、3号峰、1号峰(毛蕊异黄酮葡萄糖苷)、2号峰(甘草苷)、15号峰。这5个峰是引起不同批次样品之间产生差异的主要变量。

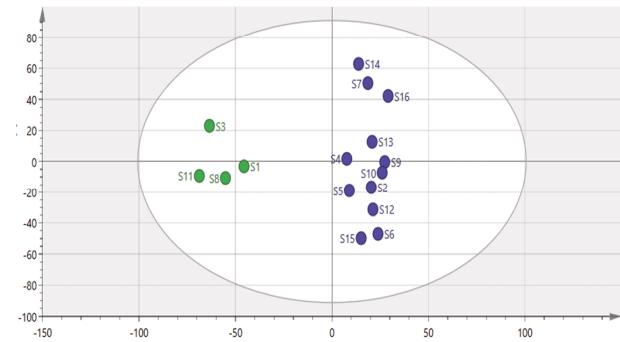


图8 16批保元汤基准样品OPLS-DA得分图

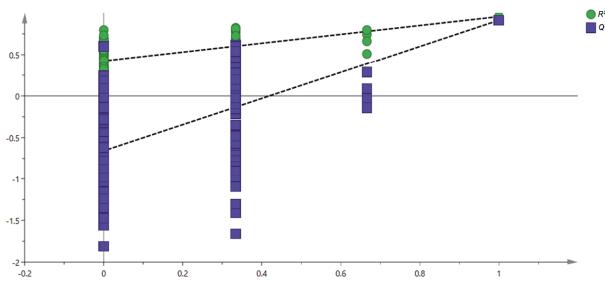


图 9 OPLS-DA 模型的置换检验图

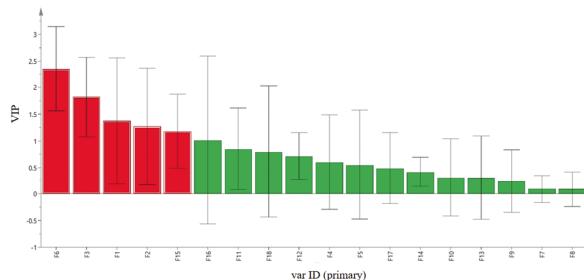


图 10 保元汤基准样品的 OPLS-DA 的 VIP 值

2.6 抗氧化活性考察

2.6.1 供试品制备 按照“2.2.2”项下方法制备样品溶液, 分别吸取0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 移至5 mL量瓶中, 用甲醇稀释并定容, 摆匀, 制成不同质量浓度的待测样品溶液。

2.6.2 DPPH溶液制备 精密称取DPPH 3.95 mg, 用无水乙醇将其溶解并定容至50 mL, 摆匀, 即得DPPH溶液。

2.6.3 DPPH清除率的测定 参照文献[22], 按以下方法进行测定: 分别吸取100 μ L不同浓度的待测液与等体积DPPH乙醇溶液混合, 100 μ L不同浓度的待测液与等体积无水乙醇混合, 100 μ L无水乙醇与等体积DPPH乙醇溶液混合。混匀并室温

避光静置30 min后, 检测517 nm处的吸光度(A 值), 其值分别为 A_1 、 A_2 、 A_0 。以VC作阳性对照, 按公式计算DPPH清除率= $1 - \frac{(A_1 - A_2)}{A_0}$ 。并通过SPSS Statistics20处理后计算半数抑制浓度(IC_{50})。(见图11、表4)

表 4 抗氧化活性测定结果

样品	IC_{50} /(mg/mL)	样品	IC_{50} /(mg/mL)
VC	0.012	S9	14.540
S1	12.482	S10	13.045
S2	14.656	S11	16.146
S3	16.452	S12	11.055
S4	16.157	S13	13.735
S5	12.255	S14	16.421
S6	11.484	S15	14.548
S7	12.946	S16	14.958
S8	10.491		

DPPH清除实验显示, 保元汤基准样品均展现出一定的抗氧化活性, 随着样品浓度的增加, 其对DPPH自由基的清除能力也逐渐上升。其中, 样品S8清除DPPH的 IC_{50} 为10.941 mg/mL, 该样品浓度为20 mg/mL时清除率与阳性对照物VC0.02 mg/mL浓度下的效果相当; 样品S3清除DPPH的 IC_{50} 为16.452 mg/mL, 其清除率相对较低。通过对不同批次的保元汤基准样品DPPH的 IC_{50} 值排序, 其抗氧化作用大小依次为S8>S12>S6>S5>S1>S7>S10>S13>S9>S15>S2>S16>S11>S4>S14>S3。

2.7 保元汤指纹图谱与抗氧化活性间的灰色关联度分析 为消除各变量之间单位不同的影响, 用均值化法对原始数据进行无量纲化处理, 将16批保元汤基准样品清除DPPH的 IC_{50} 值作为母序列, 记为 $\{X_0(t)\}$ 。16批保元汤基准样品多波长切换图谱

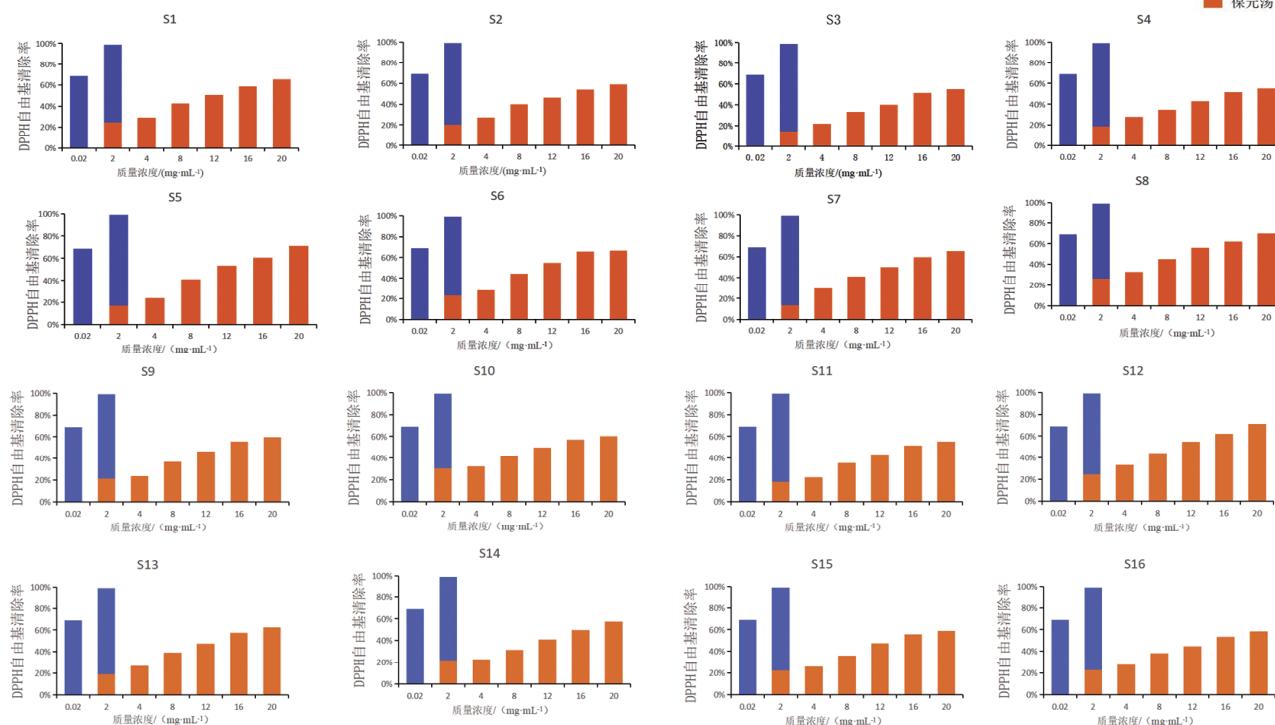


图 11 16 批次保元汤基准样品清除 DPPH 自由基活性

下的共有峰峰面积作为子序列,记为 $\{X_i(t)\}$ 。在 $t=k$ 时(k 为峰号),计算母序列与子序列的关联系数 $\eta(k)$ ^[23]。

$$\Delta_k(k) = |X_o(k)| - |X_i(k)| (1 \leq i \leq m)$$

$$\eta(k) = \frac{\Delta_{\min} + \rho \Delta_{\max}}{\Delta_k(k) + \rho \Delta_{\max}} (\Delta_{\min} = 0, \rho = 0.5)$$

将关联系数结果按照大小排序,则为关联度。若色谱峰的关联度 >0.6 ,则认为其与药效有相关性;若关联度 >0.8 ,则视为与药效呈高度相关^[24]。

2.8 谱效相关性分析 依据关联度的大小,保元汤基准样品多波长切换指纹图谱中18个共有峰,清除DPPH的顺序为F15>F7>F9>F4>F14>F11>F17>F16>F10>F5>F13>F8>F6>F18>F12>F3>F2>F1,关联度在0.700~0.917。(见表5)此外,通过结果可知F15、F7、F9、F4和F5等5个共有峰排序靠前,与主成分分析中主成分1所包含的主要峰信息基本一致,表明这些共有峰是反映其药效的重要特征峰,对抗氧化活性有着显著贡献。

表 5 16 批保元汤基准样品共有峰与抗氧化活性的关联度

共有峰	关联度	关联序	共有峰	关联度	关联序
F1	0.700	18	F10	0.877	9
F2	0.716	17	F11	0.895	6
F3	0.738	16	F12	0.850	15
F4	0.911	4	F13	0.857	11
F5	0.872	10	F14	0.896	5
F6	0.853	13	F15	0.926	1
F7	0.917	2	F16	0.882	8
F8	0.857	16	F17	0.890	7
F9	0.916	3	F18	0.853	14

3 讨 论

3.1 指纹图谱研究 保元汤化学成分复杂,紫外吸收特征各异,使用单一检测波长很难完全反映其整体成分。君药人参的主要成分为人参皂苷,其吸收波长为203 nm,故选择203 nm作为第一检测波长;其他成分如毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、6-姜辣素,在254 nm波长下具有较高响应值,且基线较平稳,因此补充254 nm作为第二检测波长,建立双波长指纹图谱。在双波长指纹图谱的基础上,根据对照品的出峰时间建立多波长切换指纹图谱,确定18个共有峰进行化学模式识别分析。16批保元汤基准样品可聚为2类;主成分分析得到5个主成分,累积方差贡献率为82.767%;OPLS-DA筛选出5个主要差异贡献峰,分别为6号峰、3号峰、1号峰(毛蕊异黄酮葡萄糖苷)、2号峰(甘草苷)、15号峰,提示在后期研究中应重点关注这5个主要差异成分的含量变化。处方中肉桂用量小,仅有0.75 g,其主要成分在煎煮和浓缩过程中受热挥发,通过对比桂皮醛、肉桂酸、肉桂醇的对照品图谱,在保元汤基准样品色谱图中均未发现相关峰,故未能在指纹图谱中指认到。

3.2 抗氧化活性评价及谱效相关性分析 本研究采用体外自由基清除法评价保元汤基准样品抗氧化活性。实验结果显示,16批保元汤清除DPPH的效果较好,且呈一定的浓度依赖性,其中S8的抗氧化活性最强。

本研究采用灰色关联度分析法,深入探讨保元汤HPLC指

纹图谱与其抗氧化作用之间的相关性,并以关联度作为评价指标,通过对其大小进行排序与分析,确定各特征峰对抗氧化药效的贡献大小。研究结果表明,保元汤基准样品的抗氧化活性与多波长切换图谱中共有峰的关联度大部分都达到0.8以上,充分说明保元汤发挥抗氧化活性是多成分共同作用的效果。综合分析关联度和主成分分析结果,F15、F4(人参皂苷Rg₁)、F7(人参皂苷Rf)、F9(人参皂苷Rb₁)和F5(人参皂苷Re)可能是反映其抗氧化活性的重要特征色谱峰,表明保元汤中抗氧化活性的成分主要集中在君药人参中,与文献关于其具有抗氧化作用的报道一致^[25]。本研究将保元汤的指纹图谱与抗氧化活性进行关联分析,通过筛选与药效相关的色谱峰,可为保元汤质量标志物的筛选、确定质控指标及后续药效研究奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 孙志宏.简明医彀[M].余瀛鳌,点校.北京:人民卫生出版社,1984.
- [2] 国家中医药管理局关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知[EB/OL].(2018-04-13)https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2018-12/31/content_5429153.htm
- [3] 张雄.保元汤对婴幼儿室间隔缺损修补术后细胞免疫及肺感染的影响[J].黑龙江医药科学,2019,42(5):234,236.
- [4] 段丽鑫.保元汤治疗老年冠心病慢性心力衰竭临床观察[J].中国中医药现代远程教育,2021,19(16):84-86.
- [5] WANG X P, MENG H, WANG Q X, et al. Baoyuan decoction ameliorates apoptosis via AT1-CARP signaling pathway in H9C2 cells and heart failure post-acute myocardial infarction rats[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 252: 112536.
- [6] 万彦军,廖理曦,刘瑜琦,等.保元汤心肌保护作用靶点群的鉴定与功能分析[J].中国中药杂志,2017,42(19):3650-3655.
- [7] 张定宝,张蕴慧,张进进.保元汤治疗心血管疾病研究进展[J].中国中医药现代远程教育,2015,13(13):158-159.
- [8] 刘漫,杨颖,嵇晶,等.保元咀嚼片的制备及其抗疲劳作用评价[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(22):128-135.
- [9] 杨茜,黄荣清,肖炳坤,等.基于气质联用的保元汤抗缺氧作用代谢组学研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2018,20(8):1453-1458.
- [10] 李淑慧,王雅,田军,等.古代经典名方保元汤的药效物质基础及其分子水平机制的研究[J].中草药,2023,54(21):6971-6987.
- [11] 许巧.元气与衰老关系的探讨及大补元煎延缓线虫衰老作用的研究[D].武汉:湖北中医药大学,2015.
- [12] 孙仁爽,赵敏婧,隋艳艳,等.人参药材抗氧化活性的研究[J].人参研究,2023,35(3):28-31.
- [13] 梁丽英,陈晶,张永琴,等.黄芪甲苷抑制缺氧复氧心肌细胞损伤的机制[J].医药导报,2021,40(12):1626-1632.
- [14] 蔡可珍,郑琴,魏韶锋,等.四君子汤的研究进展及质量标志物预测[J].中华中医药学刊,2023,41(11):(下转第56页)

- [21] MAO Q, BAI M, XU J D, et al. Discrimination of leaves of *Panax ginseng* and *P. quinquefolius* by ultra high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry based metabolomics approach[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 97: 129–140.
- [22] QI L W, WANG C Z, YUAN C S. Ginsenosides from American ginseng: Chemical and pharmacological diversity[J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(8): 689–699.
- [23] YANG W Z, YE M, QIAO X, et al. A strategy for efficient discovery of new natural compounds by integrating orthogonal column chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry analysis: Its application in *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and *Panax notoginseng* to characterize 437 potential new ginsenosides[J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 739: 56–66.
- [24] CHU C, XU S J, LI X N, et al. Profiling the ginsenosides of three ginseng products by LC-Q-TOF/MS[J]. *J Food Sci*, 2013, 78(5): C653–C659.
- [25] 王秋颖,吴冬雪,赵幻希,等.人参中达玛烷型皂苷的化学转化产物结构和转化途径研究[J].分析测试学报,2020, 39(1):99–107.
- [26] 王红,崔议方,姜慧桢,等.基于UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术分析不同干燥方法对人参皂苷类成分的影响[J].中国中药杂志,2022,47(19):5246–5255.
- [27] 崔议方,王红,张稳稳,等.基于UHPLC-HRMS/MS的鲜人参不同部位中皂苷类成分差异分析[J].中国现代应用药学,2023,40(10):1367–1376.
- [28] 王和宇,黄仁嵩,焦传新,等.UPLC-MS法分析红参中人参皂苷及在2型糖尿病大鼠体内代谢研究[J].质谱学报,2021,42(6):1091–1099.
- [29] 张琰,李方彤,韩铭鑫,等.通过RRLC-Q-TOF MS和UPLC-QQQ MS分析原人参三醇型皂苷在人肠道菌群中的代谢产物[J].质谱学报,2020,41(1):66–75.
- [30] LIU J B, ZHANG X Y, YANG S S, et al. Rapid identification of characteristic chemical constituents of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius*, and *Panax japonicus* using UPLC-Q-TOF/MS[J]. *J Anal Methods Chem*, 2022, 2022: 6463770.
- [31] 杨秀伟,张雷.人参水煎煮的科学性探索:水煎煮引发人参皂苷化学结构的转化[J].中国现代中药,2019,21(8): 1009–1015.
- [32] CHUANG W C, WU H K, SHEU S J, et al. A comparative study on commercial samples of ginseng Radix [J]. *Planta Med*, 1995, 61(5): 459–465.
- [33] WANG D S, WANG J M, ZHANG F R, et al. Ameliorative effects of malonyl ginsenoside from *Panax ginseng* on glucose-lipid metabolism and insulin resistance via IRS1/PI3K/Akt and AMPK signaling pathways in type 2 diabetic mice[J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(3): 863–882.
- [34] LIU Z, QU C Y, LI J X, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of malonyl ginsenosides from American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) on type 2 diabetic mice[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(49): 33652–33664.
- [35] 张留记,周志敏,屠万倩.人参的提取工艺和人参皂苷的转化研究[J].中医临床研究,2016,8(34):5–10.
- [36] 王茹,王培利,王承龙.基于网络药理学研究人参调节能量代谢的作用机制[J].中华中医药学刊,2021,39(10):90–93,273–274.
- [37] 张子龙,谢月,梁奇,等.煮散与饮片、散剂和中药配方颗粒的比较及其现代化研究进展[J].中药材,2018,41(10): 2475–2479.

(收稿日期:2024-07-04 编辑:蒋凯彪)

(上接第46页) 161–168.

- [15] 黄梦,刘宏炳,杨珍,等.肉桂子化学成分鉴定、总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].化学试剂,2024,46(3):56–65.
- [16] 孙洋洋,赵宁,柏冬.生姜两种提取物的药效物质基础研究[J].中华中医药学刊,2024,42(3):36–41.
- [17] WU Z, JIN F Y, WANG L X, et al. Antioxidant effects of Baoyuan decoction on dysfunctional erythrocytes in high-fat diet-induced hyperlipidemic ApoE^{-/-} mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 5172480.
- [18] 孔德暄,陈运中,朱映睿,等.虎杖HPLC指纹图谱及抗痛风性关节炎活性谱效关系研究[J].中草药,2022,53(2): 569–574.
- [19] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志物(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J].中草药,2016,47(9): 1443–1457.
- [20] 刘毅,刘均正,金晨,等.保元汤颗粒剂制备工艺和质量控制[J].医药导报,2023,42(2):235–242.
- [21] 邵淑贤,徐梦婷,林燕萍,等.基于电子鼻与HS-SPME-GC-MS技术对不同产地黄观音乌龙茶香气差异分析[J].食品科学,2023,44(4):232–239.
- [22] 何江,尚芳红,李隆云,等.佛手指纹图谱的建立及抗氧化谱效关系研究[J].中草药,2023,54(23):7841–7852.
- [23] 皇立卫,李达,王静,等.基于谱-效关系的大皂角药材指纹图谱及其抗氧化活性研究[J].现代中药研究与实践,2023,37(6):51–57.
- [24] 朱芊芊,汪诗沁,周旭香,等.嫡权逼近理想排序法结合谱效分析辨识菊花抗氧化功能的物质基础[J].医药导报,2024,43(6):956–964.
- [25] 石洪洋,董慧,刘嘉,等.人参皂苷Rg1对心肌细胞氧化应激损伤的抑制作用[J].中草药,2023,54(24):8117–8126.

(收稿日期:2024-09-18 编辑:时格格)