保元颗粒分时段多波长融合指纹图谱及7个指标性成分含量测定

牛艺鸽[1]，孙 科[2]，王燕萍[3]，杨惠妮[3]，葛雯蓉[4]，柴国林[2*]，胡芳弟[3*]

1 甘肃中医药大学 药学院，甘肃 兰州 730000；2 兰州佛慈制药股份有限公司，甘肃 兰州 730000；
3 兰州大学 药学院，甘肃 兰州 730000；4 南华大学 药学院，湖南 衡阳 421001

摘要：目的 建立保元颗粒高效液相色谱法的分时段多波长融合指纹图谱，构建其主要功效成分的含量测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法-二极管阵列检测法全波长扫描构建10批保元颗粒的指纹图谱，基于该图谱中所包含的主要色谱峰，测定保元颗粒中人参皂苷Rg1、人参皂苷Re、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮苷、甘草苷、6-姜辣素、桂皮醛7个指标性成分的含量。**结果** 指纹图谱测定的色谱条件为色谱柱Spursil C_{18}（250 mm×4.6 mm, 5 μm）；流动相乙腈-水，梯度洗脱；流速0.8 mL/min；柱温25°C；选择203、237、260、280、290 nm共5个波长获得融合指纹图谱。10批样品的融合指纹图谱包含29个共有峰，分别来自保元颗粒组方中的不同药材，其中7个共有峰来自人参，15个共有峰来自黄芪，11个共有峰来自甘草，1个共有峰来自肉桂，8个共有峰来自生姜。10批保元颗粒相似度为0.878~0.985。7个指标成分的标准曲线相关系数R^2均大于0.990 0，线性良好。方法学考察发现，构建的指纹图谱和7个指标成分含量测定方法的精密度、重复性、稳定性相对标准偏差均小于5%，7个指标成分加样回收率为97.21%~103.10%。**结论** 构建的多波长融合指纹图谱能较全面地反映保元颗粒的整体信息，还可用于组方药味的鉴别，为保元颗粒质量标准研究提供了方法学基础。

关键词：保元颗粒；高效液相色谱；指纹图谱；含量测定；多波长融合；组方药

中图分类号：R284.1 **文献标识码：**A DOI：10.13885/j.issn.2097-681X.M20250141

Determination of the multi-wavelength fusion fingerprint and seven marker components in Bao Yuan granules at different time periods

NIU Yige[1], SUN Ke[2], WANG Yanping[3], YANG Huini[3], GE Wenrong[4], CHAI Guolin[2*], HU Fangdi[3*]

1 College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2 Lanzhou Foci Pharmaceutical Co., Ltd, Lanzhou 730000, China; 3 School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 4 School of Pharmacy, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China

Abstract: Objective To establish a multi-wavelength fusion fingerprint of Baoyuan Granules by high performance liquid chromatography at different time periods, and develop a method for determining the content of its main active ingredients. **Methods** The fingerprints of 10 batches of Baoyuan Granules were constructed through high performance liquid chromatography-diode array detector full-wavelength scanning. Based on the identification of the main chromatographic peaks in these fingerprints, the contents of seven indicator compo-

收稿日期：2025-02-14 **修回日期：**2025-03-11 **接受日期：**2025-07-11

基金项目：甘肃省中医药科研课题（GZKZ-2024-30）；兰州市科技计划项目（2024-2-24，2024-8-1）

作者简介：柴国林，男，正高级工程师，研究方向为生物医药产业，e-mail：skyouxiang@126.com，通信作者；
胡芳弟，女，教授，博士研究生导师，研究方向为中药成分分离分析及中药新药开发，e-mail：hufd@lzu.edu.cn，通信作者
*共同通信作者

nents in Baoyuan Granules, namely ginsenoside Rg1, ginsenoside Re, ginsenoside Rb1, calycosin-7-O-β-D- glucoside, liquiritin, 6-gingerol and cinnamaldehyde were determined. **Results** The chromatographic condi- tions for fingerprint determination were that the chromatographic column was Spursil C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-water with gradient elution, the flow rate was 0.8 mL/min and the column temperature was 25 °C. A fusion fingerprint was obtained by selecting five wavelengths (203, 237, 260, 280, and 290 nm). The fusion fingerprints of the 10 batches of samples contained 29 common peaks, which originated from different medicinal materials in the formula of Baoyuan Granules. Specifically, 7 common peaks were from ginseng, 15 from astragalus membranaceus, 11 from licorice, 1 from cinnamon and 8 from ginger. The similarity of the 10 batches of Baoyuan Granules was between 0.878 and 0.985. The correlation coefficients R2 of the standard curves of the seven indicator components were all above 0.990 0, indicating a good linearity. The methodological investigation showed that the relative standard deviations of precision, repeatability, and stability of the constructed fingerprint and the content determination methods of the seven indicator components were all less than 5%. The spiked recoveries of the seven indicator components were between 97.21% and 103.10%. **Conclusion** The multi-wavelength fusion fingerprint constructed could not only comprehensively reflect the overall information of Baoyuan Granules, but also be used to identify the medicinal materials in the formula. This method provides a methodological basis for the research on the quality standard of Baoyuan Granules.

Keywords: Bao Yuan granules; high performance liquid chromatography; fingerprint; content determination; Multi-wavelength fusion; formula

保元颗粒为兰州佛慈制药股份有限公司基于经典名方保元方开发的中成药制剂，具有补气温阳的功效，主治元气不足之证。全方由人参、黄芪、甘草、肉桂、生姜5味中药组成，方中人参可以大补元气，补脾益肺，为君药[1]；黄芪可以补气升阳，固表止汗，为臣药[1]；甘草可以补脾益气、调和诸药，为佐药[1]；肉桂可以补火助阳，温通经脉，为佐药[1]；生姜可以解表散寒，为使药[1]。方中各中药都有一定的免疫调节作用，而人参中人参皂苷Rg1[2-4]、人参皂苷Re[5]、人参皂苷Rb1[6-7]，黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷[8]，甘草中甘草苷[9-10]，肉桂中桂皮醛[11-12]，生姜中6-姜辣素[13-15]均有一定的免疫调节和脏器保护作用。虽然已有基于保元方研发产品的质量控制相关研究[16-17]，如保元饮相关制剂中人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷等成分的含量测定，这在一定程度上体现了对功效成分的质量控制，然而，尚未有保元颗粒所有药味的既能体现鉴别又能体现定量控制的报道，兰州佛慈制药股份有限公司对该制剂的质量控制仅选择药典规定的检查项，因此该制剂质量控制方法的研究迫在眉睫。

中药指纹图谱技术是一种综合的、可量化的鉴别手段，其图谱包含的多种化学成分信息可用于评价产品质量的均一性和稳定性[18]。高效液相色谱法（high performance liquid chromatography, HPLC）是中药指纹图谱技术最常用的分析方法[19]，具有分离效率高，操作自动化、分析范围广等优势[20]，被广泛应用于药品的检验中[21]。本研究选用高效液相色谱-二极管阵列检测法（high performance liquid chromatography-diode array detector, HPLC-DAD）构建全波长保元颗粒指纹图谱，结合融合分析方法，实现对制剂中5味组方药的鉴别，同时测定主要指标成分人参皂苷Rg1、人参皂苷Re、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮苷、甘草苷、6-姜辣素、桂皮醛的含量，以期构建一种多波长融合指纹图谱的方法来实现保元颗粒的鉴别和质量评价。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；FA2004型电子天平（上海度单仪器仪表有限公司）；CPA22D型分析天平（北京赛多利斯科学仪器有限公司）；SK5200H型超声波清洗仪（上海科导超声仪器有限公司）；Eyela N-1100型

旋转蒸发仪（上海爱朗仪器有限公司）。

1.2 药品与试剂

1.2.1 对照品

人参皂苷Rg1（批号：DSTDR000902）、人参皂苷Rb1（批号：DSTDR000603）、毛蕊异黄酮苷（批号：DST200614-063）、甘草苷（批号：DSTDG000902）、桂皮醛（批号：DSTDH001503）、6-姜辣素（批号：DSTDJ002702）均购自成都德思特生物技术有限公司，人参皂苷Re（批号：AZ20190601）购自成都埃法生物科技有限公司，以上质量分数均≥98%。

1.2.2 试剂

甲醇、乙腈均为色谱纯，购自天津欧普森科技有限公司；正丁醇、氨水均为分析纯，购自天津市百世化工有限公司；纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

1.2.3 药品与药材

保元颗粒10批（编号为S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8、S9、S10）。

人参、黄芪、甘草、肉桂、生姜5味药材经鉴定分别为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎、豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao的干燥根、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl的干燥树皮、姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。

以上药品与药材均由兰州佛慈制药股份有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 分时段多波长融合指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件

色谱条件：色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（Spursil C_{18}，250 mm×4.6 mm，5 μm）；流速0.8 mL/min；柱温25°C；进样量10 μL。流动相乙腈（A）-水（B），采用梯度洗脱（0~5 min时5%A，5~8 min时5%→10%A，8~12 min时10%A→24%A，12~42 min时24%A→25%A，42~52 min时25%A→27%A，52~65 min时27%A→40%A，65~95 min时40%A→50%A，95~125 min时50%A→70%A，125~130 min时70%A→80%A）。

2.1.2 样品准备

精密称定保元颗粒1.00 g，置250 mL锥形瓶中，加入甲醇50 mL，称定重量，超声60 min（250 W），冷却至室温，补足重量。摇匀，滤过，滤液浓缩至干燥。加蒸馏水30 mL微热使其溶解；用30 mL水饱和的正丁醇溶液震摇提取，共4次；合并正丁醇溶液，用氨试液充分洗涤2次，每次40 mL；弃去氨试液，正丁醇层蒸干后加甲醇溶解，转移至2 mL容量瓶中，加甲醇定容，摇匀，即得。经0.22 μm微孔滤膜滤过至进样瓶中，备用。

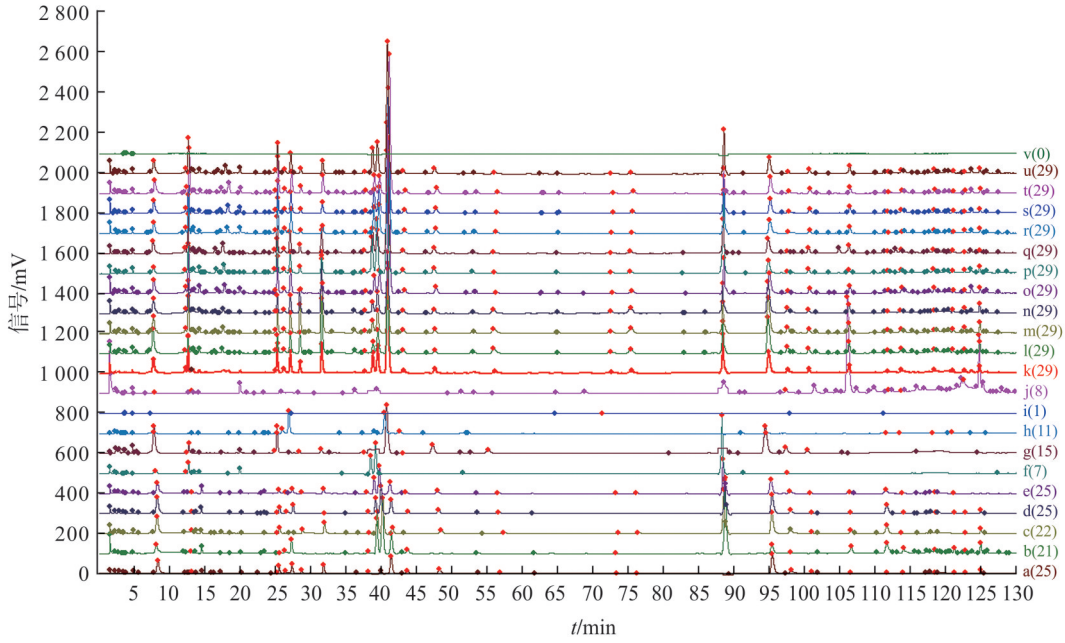
按上述方法制备10批保元颗粒样品，平行制备3份样品。

按上述方法分别制备人参、黄芪、甘草、肉桂、生姜单味药材样品和缺单味药材样品。

2.1.3 分时段多波长融合方法建立及相似度评价

根据紫外全波长扫描结果，确定237、260、280、290 nm下基线较为平稳，色谱峰较多且响应较好，各波长下色谱峰可相互补充，考虑到人参皂苷在203 nm波长吸收，因此选此5个波长进行融合。得到融合后的色谱图（图1）。分时段多波长融合法获得指纹图谱，峰个数较单一波长指纹图谱提升了10%~21%，即单一波长237、260、280、290 nm下分别出现25、25、26、23个共有色谱峰，融合后提升为29个共有色谱峰。分时段多波长融合法获得指纹图谱峰峰容量较单一波长指纹图谱提升了41%~109%，且标定的色谱峰均为最大吸收波长下的峰。因此分时段多波长融合指纹图谱既可实现对制剂处方药味的鉴别，也可直接用于指标成分含量测定。

制备10批保元颗粒样品后进行测定，取平行3批样品分时段融合指纹图谱的中位数峰面积和峰保留时间。将融合后的色谱图导入“中药指纹图谱相似度评价系统软件（2012 A版）”，得出10批保元颗粒的指纹图谱。10批保元颗粒指纹图谱共有29个共有峰，如图1，各样品共有峰峰面积占各色谱峰总面积均在80%以上。通过对比保留时间与UV光谱图，对29个共有峰进行药味归属。其中人参中有7个共有峰，分别是1、2、3、11、12、19、21号峰；黄芪共有15个共有峰，分别是1、2、3、4、5、8、9、10、13、14、15、16、20、21、22号峰；甘草共有11个共有峰，分别是1、5、6、7、13、14、20、24、25、26、27



a 缺人参；b 缺黄芪；c 缺甘草；d 缺肉桂；e 缺生姜；f 人参；g 黄芪；h 甘草；i 肉桂；j 生姜；k 融合对照指纹图谱；l S1；m S2；n S3；o S4；p S5；q S6；r S7；s S8；t S9；u S10；v 空白溶剂。

图1 分时段多波长融合指纹图谱

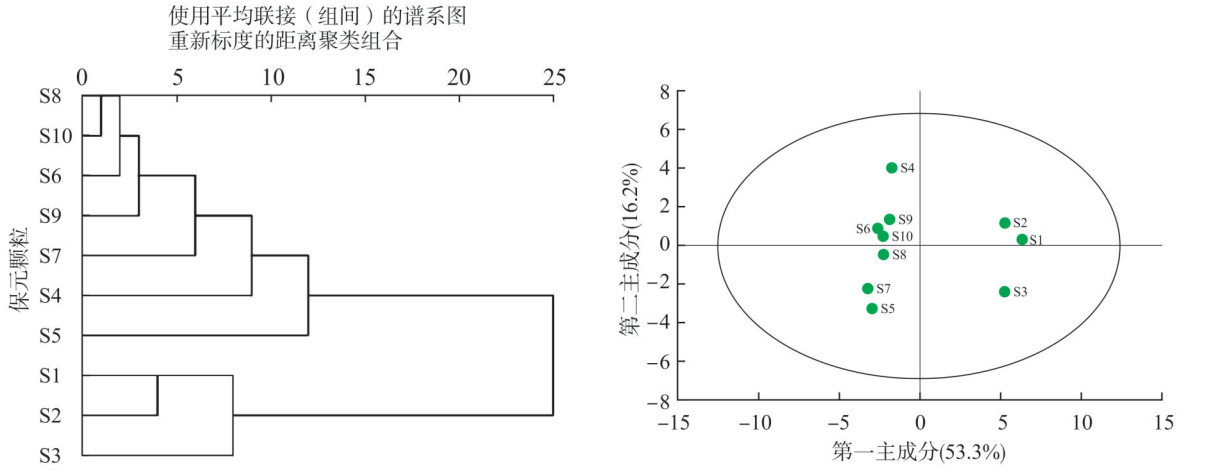
号峰；肉桂有1个共有峰，为17号峰；生姜有8个共有峰，分别是1、3、21、23、24、25、28、29号峰。其中有部分峰归属于多味药，18号峰未找到归属。通过各单味药的归属可以看出对于黄芪、甘草指纹图谱贡献较大。

10批保元颗粒根据中药指纹图谱相似度软件的计算结果可以发现，与融合对照指纹图谱（R）相比，S1~S3的相似度为0.878~0.903，而S4~S10的相似度为0.953~0.985，10批保元颗粒相似度结果见表1。将10批保元颗粒指纹图谱的共有峰的峰面积导入SPSS 26.0软件，选择组间联接，以平方欧氏距离法进行聚类分析，聚类分析结果显示，分类距离为15时，10批保元颗粒可分成2类，S1、S2、S3为一类；其余样品为一类。通过SMICA 14.1软件进行主成分分析，主成分分析的结果与聚类分析的结果一致，具体见图2。以上结果均表明，10批保元颗粒样品分为2类，即S1~S3为一类；S4~S10为一类，而S1~S3样品均为2023年样品，S4~S10均为2024年样品，提示不同批次样品可能具有差异性。与R相比，10批保元颗

表1 10批保元颗粒相似度

相似度	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000										
S2	0.985	1.000									
S3	0.986	0.998	1.000								
S4	0.760	0.764	0.795	1.000							
S5	0.779	0.773	0.805	0.931	1.000						
S6	0.796	0.804	0.832	0.993	0.944	1.000					
S7	0.773	0.771	0.808	0.990	0.969	0.991	1.000				
S8	0.770	0.772	0.804	0.996	0.956	0.996	0.998	1.000			
S9	0.887	0.888	0.903	0.894	0.890	0.918	0.917	0.910	1.000		
S10	0.783	0.783	0.814	0.993	0.965	0.995	0.998	0.999	0.908	1.000	
R	0.878	0.880	0.903	0.972	0.958	0.985	0.981	0.980	0.953	0.984	1.000

S1~S10 10批保元颗粒；R 融合对照指纹图谱。



S1~S10　10批保元颗粒。

A　保元颗粒聚类分析图

图中椭圆表示95%霍特林 T^2 置信区域；S1~S10　10批保元颗粒。

B　保元颗粒主成分分析图

图2　10批保元颗粒聚类分析图与主成分分析图

粒的相似度为0.878~0.985，说明10批保元颗粒虽有批间差异，但整体相似度较高。

2.1.4　方法学考察

按“2.1.2”项制备样品，按“2.1.1”项下色谱条件进行测定，记录各色谱图。以16号峰（分离度良好，峰面积适中，处于整个色谱图的中间位置）作为参照峰，计算其他峰的相对保留时间和相对峰面积进行方法学考察。

2.1.4.1　精密度考察

按“2.1.2”项制备方法制备供试品溶液（S1样品）连续进样6次，记录指纹图谱并进行分时段多波长融合。以16号峰为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果表明，29个共有峰的相对保留时间的相对标准偏差（relative standard deviation, *RSD*）均小于0.32%，相对峰面积的*RSD*均小于4.05%，表明仪器精密度良好。

2.1.4.2　重复性考察

以16号峰为参照峰，计算各个共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明，29个共有峰的相对保留时间的*RSD*均小于0.62%，相对峰面积的*RSD*均小于3.56%，表明方法重复性良好。

2.1.4.3　稳定性考察

按“2.1.2”项制备方法制备同一供试品溶液（S1样品），分别于室温下放置0、4、8、12、24、48 h时，按“2.1.1”项色谱条件进行测定，记录指纹图谱并进行分时段多波长融合。以16号峰为参照峰，计算各个共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明，29个共有峰的相对保留时间的*RSD*均小于0.51%，相对峰面积的*RSD*均小于2.89%，表明样品在室温下放置48 h内基本稳定。

由于个别峰的相对峰面积较小（如24号峰，相对峰面积0.22），在其精密度实验中呈现较高的*RSD*，但保元方所有色谱峰的*RSD*峰面积均低于4.05%。赵伟等[22]在对精天颗粒的质量评价中采用指纹图谱结合化学模式识别的方式评价其不同批次的质量差异方法学考察的*RSD*值均≤4.4%，与本研究结果一致。

2.2　指标性成分含量测定

2.2.1　样品准备

2.2.1.1　供试品制备

同“2.1.2”项进行供试品样品制备。

2.2.1.2　对照品溶液制备

精密称定人参皂苷Rg1对照品、人参皂苷Re对照品、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品、甘草苷对照品、桂皮醛对照品、6-姜辣素对照品各4.53、6.94、6.44、4.35、4.09、15.86、19.00 mg，分别加甲醇配制为2.220、3.401、3.156、2.132、2.004、1.943、2.328 mg/mL的对照品母液。

2.2.2　色谱条件

同“2.1.1”项下色谱条件。因7种指标成分包含在融合指纹图谱的29个共有峰中，其中毛蕊异

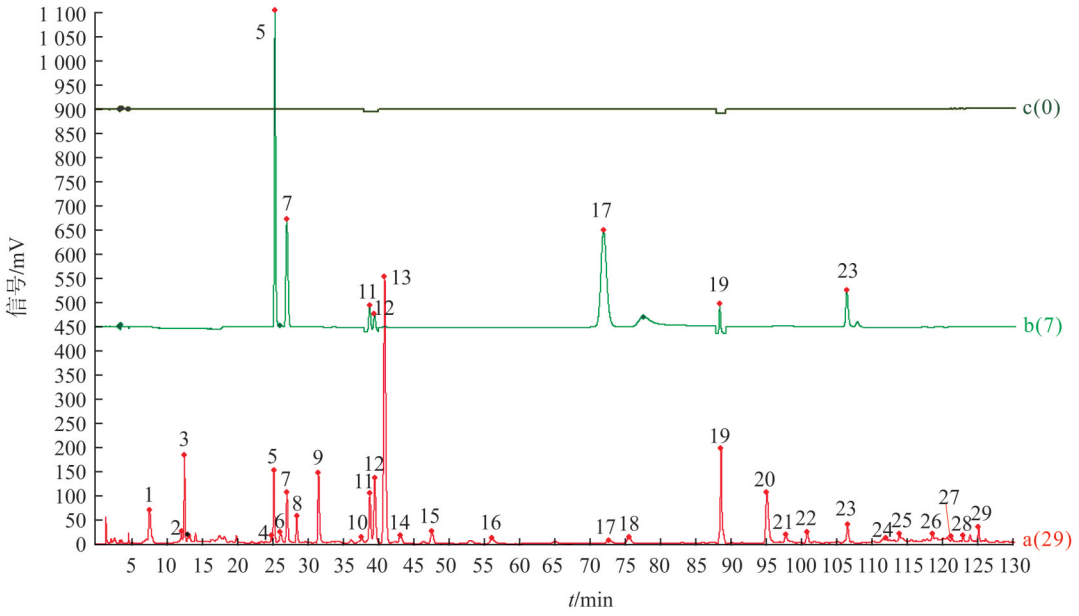
黄酮苷、甘草苷、人参皂苷Rg1、人参皂苷Re、桂皮醛、人参皂苷Rb1、6-姜辣素分别对应融合指纹图谱中5、7、11、12、17、19、23号峰。图3为融合对照指纹图谱和混合对照品的融合指纹图谱。

2.2.3 方法学考察

2.2.3.1 线性关系考察

取7种对照品母液，加甲醇制成系列对照品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件进行测定。以对照品浓度（x, μg·mL^{-1}）为横坐标、对照品峰面积（y, mAU）为纵坐标，以决定系数（coefficient of determination, R^2）大于0.990 0进行线性回归（表2）。

定量限考察：取7种对照品母液，分别用甲醇进行逐级稀释，以信噪比为10∶1时的质量浓度作为定量限（表2）。



a 融合对照指纹图谱；b 混合对照品的融合指纹图谱；c 空白溶剂图谱；
5 毛蕊异黄酮苷；7 甘草苷；11 人参皂苷Rg1；12 人参皂苷Re；17 桂皮醛；19 人参皂苷Rb1；23 6-姜辣素。

图3 融合对照指纹图谱和混合对照品的融合指纹图谱

表2 指标性成分线性关系

成分	回归方程	范围/(μg·mL^{-1})	R^2	定量限/(μg·mL^{-1})
人参皂苷Rg1	y=7 553.7x−356.5	53.7～859.4	0.992 8	53.7
人参皂苷Re	y=2 888.4x+209.7	53.1～3 155.6	0.999 3	5.1
人参皂苷Rb1	y=3 018.1x+248.7	49.3～3 400.6	0.997 2	6.3
毛蕊异黄酮苷	y=43 820.0x−63.3	5.3～341.0	0.999 3	1.1
甘草苷	y=22 330.0x+202.3	5.3～844.8	0.999 7	2.1
桂皮醛	y=115 986.0x+57.4	0.6～19.4	0.998 9	0.2
6-姜辣素	y=9 315.9x+113.1	14.5～465.5	0.998 0	2.9

2.2.3.2 精密度、稳定性、重复性试验考察

同“2.1.4”项的方法学考察。精密度、稳定性、重复性试验考察中相对保留时间（t）和相对峰面积（A）的RSD均小于2.57%，表明仪器精密度良好、方法重复性良好、样品稳定性良好（表3）。

2.2.3.3 加样回收考察

取保元颗粒0.50 g，置250 mL锥形瓶中，分别加入7种对照品适量，平行6份，其他步骤同“2.1.2”项制备方法。按“2.1.1”项色谱条件进样，计算其含量。加样回收考察结果见表4。人参皂苷Rg1、人参皂苷Re、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、桂皮醛、6-姜辣素平均加样回收率分别为98.82%、101.3%、103.1%、101.6%、97.21%、100.0%、101.9%，*RSD*分别

表3　精密度、稳定性、重复性试验考察

成分	精密度相对标准偏差/%		重复性相对标准偏差/%		稳定性相对标准偏差/%	
	t	*A*	*t*	*A*	*t*	*A*
人参皂苷Rg1	0.28	1.51	0.13	2.02	0.15	1.46
人参皂苷Re	0.21	2.14	0.15	1.91	0.17	2.31
人参皂苷Rb1	0.06	1.16	0.07	1.93	0.06	1.90
毛蕊异黄酮苷	0.12	0.92	0.11	0.77	0.12	0.35
甘草苷	0.14	1.26	0.11	0.98	0.12	0.91
桂皮醛	0.05	1.16	0.04	2.57	0.04	1.48
6-姜辣素	0.12	1.08	0.13	1.45	0.13	0.60

t　相对保留时间；*A*　相对峰面积。

表4　加样回收考察

成分	已知含量/μg	对照品加入量/μg	测得量/μg	加样回收率/%	平均值/%	相对标准偏差/%
人参皂苷Rg1	181.7	177.6	359.1	99.87	98.82	2.02
			357.8	99.13		
			352.3	96.09		
			362.8	101.90		
			355.5	97.84		
			358.9	98.07		
人参皂苷Re	668.3	680.0	1 333	97.80	101.30	2.47
			1 380	104.70		
			1 360	101.80		
			1 372	103.50		
			1 347	99.82		
			1 351	100.50		
人参皂苷Rb1	839.9	883.5	1 758	103.90	103.10	1.42
			1 749	102.90		
			1 753	103.40		
			1 771	105.40		
			1 736	101.40		
			1 739	101.80		
毛蕊异黄酮苷	29.08	31.37	61.08	102.00	101.60	1.77
			60.93	101.50		
			59.91	98.29		
			61.20	102.40		
			60.90	101.40		
			61.61	103.70		
甘草苷	63.06	66.23	128.2	98.35	97.21	1.53
			127.8	97.78		
			126.1	95.22		
			126.6	96.01		
			128.7	99.16		
			127.1	96.75		
6-姜辣素	83.20	83.70	166.9	99.98	100.00	1.96
			166.8	99.84		
			165.1	97.82		
			169.6	103.30		
			165.5	98.35		
			167.8	101.00		
桂皮醛	3.272	3.420	6.633	98.28	100.90	2.06
			6.662	99.13		
			6.722	100.90		
			6.829	104.00		
			6.715	100.70		
			6.771	102.30		

为 2.02%、 2.47%、 1.42%、 1.77%、 1.53%、1.96%、2.06%，表明方法的准确度良好。

2.2.4 各指标性成分含量测定

取10批保元颗粒样品，按“2.1.3”项制备方法进行样品制备，按“2.1.1”项色谱条件进行进样，计算其含量，见表5。10批保元颗粒含量测定的结果差异较大，可能是由于不同批次间存在差异。由于保元颗粒处于研发阶段，推测可能是与原药材的均一性和不同批次间的制备工艺有关。

表5 指标性成分含量

$\mu g \cdot g^{-1}$

批次	人参皂苷Rg1	人参皂苷Re	人参皂苷Rb1	毛蕊异黄酮苷	甘草苷	6-姜辣素	桂皮醛
S1	363.4	1 337	1 680	58.16	126.10	166.40	6.544
S2	412.1	1 321	1 777	56.97	116.00	191.60	5.436
S3	392.1	1 251	1 525	55.52	97.70	161.00	6.788
S4	509.2	1 464	1 709	109.60	151.90	131.00	3.284
S5	894.5	3 348	4 375	96.32	127.90	39.72	2.704
S6	664.9	1 431	1 594	99.89	116.70	157.60	3.274
S7	720.1	1 373	1 943	88.17	125.30	105.80	1.560
S8	705.1	1 473	1 749	81.79	116.60	109.90	2.177
S9	583.3	769.5	1 104	94.93	108.70	99.40	2.523
S10	730.0	1 571	2 157	80.77	100.40	132.70	1.782

3 讨论

3.1 指标成分选择

保元颗粒中人参皂苷Rg1[2-4]、人参皂苷Re[5]、人参皂苷Rb1[6-7]、黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷[8]、甘草中甘草苷[9-10]、肉桂中桂皮醛[11-12]、生姜中6-姜辣素[13-15]均有一定的免疫调节和脏器保护作用。根据2020年版《中华人民共和国药典》[1]（以下简称《中国药典》）中对这五味中药的质量标准控制，本研究选择人参皂苷Rg1、人参皂苷Re、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、桂皮醛、6-姜辣素作为保元颗粒的含量测定指标成分。现行保元颗粒质量控制研究[16-17]多聚焦于人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及甘草苷等标志物定量分析。基于工业化生产可行性分析，本研究发现处方佐药肉桂（占比4.462%）所含桂皮醛在10批次样品中批间差异显著且含量较低。经综合评估含量测定及检测成本等因素，建议可将人参皂苷Rb1、毛蕊异黄酮葡萄糖苷与甘草苷作为保元颗粒的质量控制的指标。

3.2 分时段多波长融合指纹图谱的选择

保元颗粒全方由人参、黄芪、甘草、肉桂生姜五味中药组成，所含化学成分较为复杂，这些成分的紫外吸收波长各不相同，单一波长检测难以全面反映其整体信息，多波长因其具有全面、综合的特点，能较为全面地反映中药复方的多成分信息，因此用多波长融合建立保元颗粒的指纹图谱[23]。本实验在200~400 nm波长下进行全波长扫描，选择29个共有峰的最大吸收波长，确定237、260 、280、290 nm为各峰最大吸收波长，考虑到人参皂苷在203 nm波长吸收，因此选此5个波长进行融合。分时段多波长融合法获得指纹图谱峰的个数较单一波长指纹图谱提升了10%~21%，峰面积提升了41%~109%。本研究选择各峰的最大吸收波长进行融合图谱的建立，不仅可以全面反映29个共有峰的信息，还能反映保元颗粒的整体信息，全面、综合地对其特征性鉴别和质量评价。

3.3 提取方法考察

本研究考察了保元颗粒超声-萃取和回流-萃取两种提取方式，结果表明两种提取方式的总峰个数和各峰的响应强度差别不大。因超声-萃取操作方式更为简便，提取时间更短，故选用超声-萃取的方式进行保元颗粒样品制备。研究中对提取溶剂甲醇和乙醇分别进行考察，结果表明甲醇超声-萃取的总峰个数和各峰的响应强度优于乙醇超声-萃取。因此，最终选择甲醇超声-萃取的方式进行保元颗粒样品制备。

3.4 色谱条件考察

本研究分别考察了乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.05%甲酸水溶液等作为不同流动相系统进行梯度洗脱，结果表明乙腈-水溶液的洗脱能力优于甲醇-水溶液和乙腈-0.05%甲酸水溶液，指纹图谱共有峰洗脱较完全，各共有峰分离度较好。因此，选择乙腈-水溶液为流动相进行梯度洗脱。通过二极管阵列检测器对保元颗粒供试品溶液进行全波长扫描，结果发现保元颗粒各成分在所选波长203、237、260、280、290 nm下有最大吸收，因此选择该5个波长进行保元颗粒的全时段多波长融合指纹图谱构建。且《中国药典》[1]中对人参的HPLC含量测定中采用梯度洗脱，洗脱程序为100 min，整个洗脱程序时间较长，在构建保元颗粒的融合指纹图谱过程中，发现本方法可以在130 min内完成保元颗粒的融合指纹图谱构建并同时测定其7个成分的含量，该方法简单易行。

4　结论

构建的分时段多波长融合指纹图谱较单一波长指纹图谱的色谱峰容量显著提升，且方法简便，稳定，不仅能较为全面地反映保元颗粒的整体信息，并且可用于组方药味的鉴别，指纹图谱中指认的主要指标成分含量测定准确可靠，该方法为保元颗粒质量标准研究提供了方法学基础。

利益冲突声明　所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明　牛艺鸽：设计研究思路、设计研究方案、研究方案可行性调查分析、实施研究过程，进行实验、实验分析、数据处理；撰写论文；孙　科：设计研究思路、设计研究方案、实验分析、数据处理；王燕萍：研究方案可行性调查分析、实验指导、论文排版；杨惠妮：文献调研与整理、修改论文；葛雯蓉：绘制图表；柴国林：提出论文基本框架、提出研究方向、设计论文框架、审核论文；胡芳弟：提出论文基本框架、提出研究方向、设计论文框架、审核论文。

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部：2020年版[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：8-316.

[2] SILVESTRINI P, BECCARIA C, RENNA M S, et al. In vitro evaluation of ginsenoside Rg1 immunostimulating effect in bovine mononuclear cells[J]. Research in veterinary science, 2023, 158: 1-12.

[3] YOUSUF S, LIU H, ZHANG Y S, et al. Ginsenoside Rg1 modulates intestinal microbiota and supports regeneration of immune cells in dexamethasone-treated mice[J]. Acta microbiologica et immunologica hungarica, 2022, 69(4): 259-269。

[4] 陈思聪，张雁斌，马扬杰. 人参皂苷Rg1对脓毒症所致心肌损伤大鼠HMGB1/NF-κB通路的影响[J]. 中国免疫学杂志，2023，39(8)：1671-1677.

[5] OH J, KWON T W, CHOI J H, et al. Ginsenoside-Re inhibits experimental autoimmune encephalomyelitis as a mouse model of multiple sclerosis by downregulating TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathways[J]. Phytomedicine, 2024, 122: 155065.

[6] 刘曦，罗晓松，孙涛. 人参皂苷Rb1对过敏性哮喘大鼠炎症反应、免疫功能及JAK2/STAT3信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志，2024，44(2)：367-371.

[7] WAN C Q, LU R F, ZHU C, et al. Ginsenoside Rb1 enhanced immunity and altered the gut microflora in mice immunized by H1N1 influenza vaccine[J]. PeerJ, 2023, 11: e16226.

[8] TSAI C C, WU H H, CHANG C P, et al. Calycosin-7-O-β-D-glucoside reduces myocardial injury in heat stroke rats [J]. Journal of the Formosan medical association, 2019, 118(3): 730-738.

[9] 付楠，周惠芬，何昱，等. 次乌头碱、甘草苷及甘草次酸配伍对慢性心力衰竭大鼠的心肾保护作用研究[J]. 中国中西医结合杂志，2018，38(8)：974-978.

[10] 兰春燕，杨小兰，贺雪峰，等. 甘草苷对胃癌荷瘤小鼠免疫功能的调节作用及机制研究[J]. 中国药房，2024，35(15)：1862-1867.

[11] HARIKRISHNAN R, DEVI G, BALASUNDARAM C, et al. Impact of cinnamaldehyde on innate immunity and immune gene expression in *Channa* striatus against Aphanomyces invadans[J]. Fish & shellfish immunology, 2021, 117: 1-16.

[12] 康琳琳. 桂皮醛对代谢综合征大鼠心脏损伤的保护作用及其机制研究[D]. 南京：南京大学，2015.

[13] AMRI M, TOUIL-BOUKOFFA C. In vitro anti-hydatic and immunomodulatory effects of ginger and [6]-gingerol [J]. Asian Pacific journal of tropical medicine, 2016, 9(8): 749-756.

[14] JU S A, NGUYEN Q T, NGUYEN T T, et al. Pretreatment with 6-gingerol ameliorates sepsis-induced immune dysfunction by regulating the cytokine balance and reducing lymphocyte apoptosis[J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2021, 2021: 5427153.

[15] HOSSEINI A, ALAVI M S, GHANE NIKOOKAR TOOS M, et al. 6-Gingerol, an ingredient of Zingiber officinale, abrogates lipopolysaccharide-induced cardiomyocyte injury by reducing oxidative stress and inflammation[J]. Journal of agriculture and food research, 2024, 15: 101034.

[16] 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.

[17] 李钠, 刁元元, 刘伟朋, 等. 基于特征图谱和量值传递评价经典名方保元汤颗粒剂的关键生产工艺[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(14): 1472-1481.

[18] 连益纯, 林静, 李知瑾, 等. HPLC特征图谱技术在中药制剂质量控制中的应用进展[J]. 海峡药学, 2024, 36(2): 1-5.

[19] 王明明, 刘春辉, 朱莉, 等. 中药指纹图谱技术在中药材质量控制中的应用研究[J]. 质量与市场, 2024, (9): 30-32.

[20] 范鑫玉, 吉田, 笔雪艳, 等. 中药指纹图谱分类及评价概述[J]. 黑龙江医药, 2023, 36(6): 1254-1258.

[21] 刘素如. 高效液相色谱法在药品检验中的应用[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(8): 173-175.

[22] 赵伟, 陈树和, 闫斌, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别的精天颗粒质量评价[J]. 中国药房, 2025, 36(3): 300-305.

[23] 高燕, 马玉玲, 祝秀梅, 等. 土木香、总状土木香药材醇提部分的分时段多波长融合指纹图谱鉴别[J]. 兰州大学学报(医学版), 2021, 47(5): 37-41.

(责任编辑: 李晓炜)