

菟丝子提取物UPLC指纹图谱建立及抗氧化谱效关系研究

吴晓英, 张雪兰, 莫秋怡, 黄贵发, 文 珊, 张 正, 林伟雄, 陈清怡

广东一方制药有限公司/广东省中药配方颗粒企业重点实验室(广东佛山 528244)

【摘要】目的 建立菟丝子提取物的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱, 分析其与抗氧化活性的谱效关系。**方法** 采用UPLC法测定11批菟丝子提取物的指纹图谱, 以1,1-二苯基-2-苦基肼自由基、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐法测定菟丝子体外抗氧化活性, 结合正交偏最小二乘法(OPLS)以及灰色关联度法分析指纹图谱与抗氧化活性的关联度, 筛选出对抗氧化活性贡献较大的关键物质。**结果** 菟丝子提取物相似度均在0.97以上, 共有21个共有峰, 通过与对照品对比, 指认了10个峰, 其中峰5为新绿原酸, 峰8为绿原酸, 峰9为隐绿原酸, 峰10为咖啡酸, 峰12为对香豆酸, 峰15为金丝桃苷, 峰16为异槲皮苷, 峰17为紫云英苷, 峰20为槲皮素, 峰21为山奈素。灰色关联度以及OPLS结果表明, 峰8、15、16、18与抗氧化活性呈现正相关, 为主要药效成分。**结论** 菟丝子抗氧化活性是多组分联合效应的结果, 通过指纹图谱与抗氧化谱效分析, 可为后面菟丝子的进一步研究提供数据参考。

【关键词】 菟丝子提取物; 超高效液相色谱法; 谱效关系; 灰色关联度; 正交偏最小二乘法

UPLC fingerprint establishment of extract of Cuscutae Semen and study on the relationship between antioxidant spectrum and effect

Xiao-Ying WU, Xue-Lan ZHANG, Qiu-Yi MO, Gui-Fa HUANG, Shan WEN, Zheng ZHANG, Wei-Xiong LIN, Qing-Yi CHEN

Guangdong E-fong Pharmaceutical Co., Ltd, Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Foshan 528244, Guangdong Province, China

Corresponding author: Wei-Xiong LIN, Email: linwx2020@163.com

【Abstract】Objective To establish a ultra performance liquid chromatography (UPLC) fingerprint of extract of Cuscutae Semen, and analyze the relationship between the UPLC fingerprint and antioxidant activity. **Methods** The fingerprint of 11 batches of extract of Cuscutae Semen were determined by UPLC method, the antioxidant activity of Cuscutae Semen *in vitro* was determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine radical, 2,2-diazo-bis (3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid) diamine salt, and the correlation between the fingerprints and antioxidant activity was analyzed by orthogonal partial least squares (OPLS) and gray correlation method. The key substances that contributed greatly to the antioxidant activity were selected. **Results** The extract of Cuscutae Semen contains 21 common peaks, all

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202306054

通信作者: 林伟雄, 硕士, 主管中药师, Email: linwx2020@163.com

<https://zgys.whuzhmedj.com>

of which exhibited a similarity of more than 0.97. By comparing with the reference sample, 10 peaks were identified, of which peak 5 was neochlorogenic acid, peak 8 was chlorogenic acid, peak 9 was cryptochlorogenic acid, peak 10 was caffeic acid, peak 12 was coumaric acid, peak 15 was hyperin, peak 16 was isoquercitrin, peak 17 was astragaloside, peak 20 was quercetin, and peak 21 was kaempferol. According to the grey correlation degree and OPLS results, the peaks 8, 15, 16 and 18 were positively correlated with the antioxidant activity, and were thus considered to be main effective components. **Conclusion** The antioxidant activity of *Cuscutae Semen* is the result of the combined effect of multiple components. The fingerprint and antioxidant spectrum analysis can provide evidential reference for further research of *Cuscutae Semen*.

【Keywords】 Extract of *Cuscutae Semen*; Ultra performance liquid chromatography; Spectral effect relationship; Grey correlation degree; Orthogonal partial least square method

菟丝子为旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta australis* R. Br. 或菟丝子 *Cuscutae Semen* Lam. 的干燥成熟种子, 其性辛、甘、平, 归肝、肾、脾经, 可补益肝肾, 固精缩尿, 安胎, 明目, 止泻, 主治肝肾不足、腰膝酸软、阳痿遗精、遗尿尿频、肾虚胎漏、胎动不安、目昏耳鸣、脾肾虚泻等症^[1-2]。现代药理研究表明, 菟丝子含有丰富的黄酮类成分、酚酸类以及多糖等活性物质, 其中黄酮类以及酚酸类物质种类较多且含量较高, 对心血管、免疫系统以及生殖系统等方面有一定的调节作用^[3]。中药配方颗粒是在中医药理论的指导下, 结合现代技术对药材采取提取、浓缩、喷干等一系列操作加工制备而成的颗粒剂^[4]。提取物作为直接影响配方颗粒成品最终质量的产物, 目前针对其谱效关系的研究较少^[5]。本试验从菟丝子提取物的指纹图谱入手, 研究其图谱中各共有峰与抗氧化活性之间的谱效关系, 筛选出贡献较大的活性物质, 以期菟丝子的进一步质量控制研究提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 型超高效液相色谱仪 [沃特世科技 (上海) 有限公司]; MiliQ Direct 8 型超纯水机 (德国 Merck 有限公司); KQ-500DE 型数控超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); B-290 型喷雾干燥仪 (瑞士步琪有限公司); XP26 百万分之一天平、ME204E 型万分之一天平 (瑞士梅特勒 - 托利多公司); UV-2600i 型紫外 - 可见分光光度计 (日本岛津公司); YRE-501 型旋转蒸

发仪 (巩义市予华仪器有限责任公司); DLSB-5/20 型低温冷却液循环水泵 (郑州长城科工贸有限公司)。

1.2 材料

对照品: 新绿原酸 (批号: DSTDX001503, 纯度 98.0%)、隐绿原酸 (批号: DST2104027-035, 纯度 98.0%)、对香豆酸 (批号: DST210508-057, 纯度 99.94%)、紫云英苷 (批号: DSTDZ000101, 纯度 99.19%) 均购自成都乐美天医药有限公司; 绿原酸 (批号: 110753-202018, 纯度 96.1%)、咖啡酸 (批号: 110885-201703, 纯度 99.7%)、金丝桃苷 (批号: 111521-201809, 纯度 94.9%)、山奈素 (批号: 110861-202013, 纯度 93.2%)、异槲皮苷 (批号: 111809-201804, 纯度 97.2%)、槲皮素 (批号: 100081-201610, 纯度 99.1%)、维生素 C (批号: 100425-202105, 纯度 98.0%) 均购自中国食品药品检定研究院; 1,1- 二苯基 -2- 苦基肼自由基 (DPPH) 清除能力试剂盒 (批号: G20220621YG)、2,2- 联氮 - 二 (3- 乙基 - 苯并噻唑 -6- 磺酸) 二铵盐 (ABTS) 清除能力试剂盒 (批号: G20220621YG) 均购自苏州格锐思生物科技有限公司。

11 批菟丝子饮片均为市售样品 (编号: S1~S11), 产自内蒙古, 经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定为菟丝子 *Cuscutae Semen* Lam. 的干燥成熟种子; 取菟丝子饮片加入适量的纯化水煎煮提取, 冷却过滤, 提取液全部转移至真空浓缩, 清膏加入适量的糊精搅拌均匀后喷雾干燥, 得到菟丝子提取物。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 UPLC 法, 色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 以乙腈 (A) - 0.2% 甲酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~4 min, 7% → 9%A; 4~6 min, 9% → 11%A; 6~18 min, 11% → 12%A; 18~23 min, 12% → 14%A; 23~34 min, 14% → 15%A; 34~44 min, 15% → 24%A; 44~49 min, 24% → 30%A; 49~55 min, 30% → 31%A); 检测波长: 0~20 min 为 325 nm, 20~55 min 为 360 nm; 流速: 0.3 mL · min⁻¹; 进样量: 1 μL; 柱温: 30℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液

分别取新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、金丝桃苷、山奈素、槲皮素、异槲皮苷、紫云英苷、对香豆酸、咖啡酸适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 制成浓度分别为 0.018 9, 0.010 2, 0.010 0, 0.018 7, 0.009 8, 0.010 0, 0.099 5, 0.010 3, 0.097 5, 0.011 2 mg · mL⁻¹ 的对照品混合溶液。

2.2.2 供试品溶液

取菟丝子提取物 0.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理 (功率: 300 W, 频率: 40 kHz) 30 min 后取出, 放冷, 再称定重量, 以 80% 甲醇补足减失重量, 摇匀, 经 0.22 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 稳定性试验

取编号为 S6 的菟丝子提取物, 精密称定, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h 时, 按“2.1”项下色谱条件进样检测, 以金丝桃苷为参照 (S) 峰, 计算得各共有峰与 S 峰之间相对保留时间的 RSD 为 0.1%~0.92% (n=7), 相对峰面积的 RSD 为 0.59%~3.79% (n=7), 说明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.2 重复性试验

取编号为 S6 的菟丝子提取物, 精密称定, 按照“2.2.2”项下方法分别制备 6 份供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样检测, 计算得各共有峰与 S 峰之间相对保留时间的 RSD

为 0.15%~1.0% (n=6), 相对峰面积的 RSD 为 0.58%~4.01% (n=6), 说明方法重复性良好。

2.3.3 精密度试验

取编号为 S6 的菟丝子提取物, 精密称定, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下的色谱条件连续进样 6 次, 计算得各共有峰与 S 峰之间相对保留时间的 RSD 为 0.05%~0.93% (n=6), 相对峰面积的 RSD 为 0.12%~3.16% (n=6), 说明仪器精密度良好。

2.4 菟丝子提取物指纹图谱的建立及相似度评价

2.4.1 指纹图谱的建立

分别取 11 批菟丝子提取物, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样检测, 标记色谱图基本信息。将色谱图文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版), 以 S6 样品为参照, 采取平均数法进行标记峰匹配, 得到 11 批菟丝子提取物的叠加指纹图谱以及对照图谱 (图 1)。结果显示, 指纹图谱中含 20 个共有峰, 与对照图谱对比, 指认峰 5 为新绿原酸, 峰 8 为绿原酸, 峰 9 为隐绿原酸, 峰 10 为咖啡酸, 峰 12 为对香豆酸, 峰 15 为金丝桃苷, 峰 16 为异槲皮苷, 峰 17 为紫云英苷, 峰 20 为槲皮素, 峰 21 为山奈素。

2.4.2 相似度评价

以对照图谱为参照, 结合《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版) 分析各样品之间的差异性。结果各共有峰之间的相似度在 0.972~0.999 之间, 均大于 0.97, 表明不同批次的样品整体较为稳定。

2.5 体外抗氧化活性

2.5.1 供试品溶液的制备

按照“2.2.2”项下方法, 用 80% 甲醇分别稀释制备成浓度为 0.05, 0.50, 1.00, 5.00, 1.00 mg · mL⁻¹ 的供试品溶液。

2.5.2 阳性对照溶液的制备

取维生素 C 适量, 精密称定, 加 80% 甲醇溶解, 制成浓度为 0.300 mg · mL⁻¹ 的维生素 C 母液。取维生素 C 母液分别稀释, 制备成浓度为 0.012, 0.030, 0.060, 0.300 mg · mL⁻¹ 的 DPPH 法阳性对照溶液; 取维生素 C 母液分别稀释制备成浓度为 0.006, 0.012, 0.075, 0.150 mg · mL⁻¹ 的 ABTS 法阳性对照溶液。

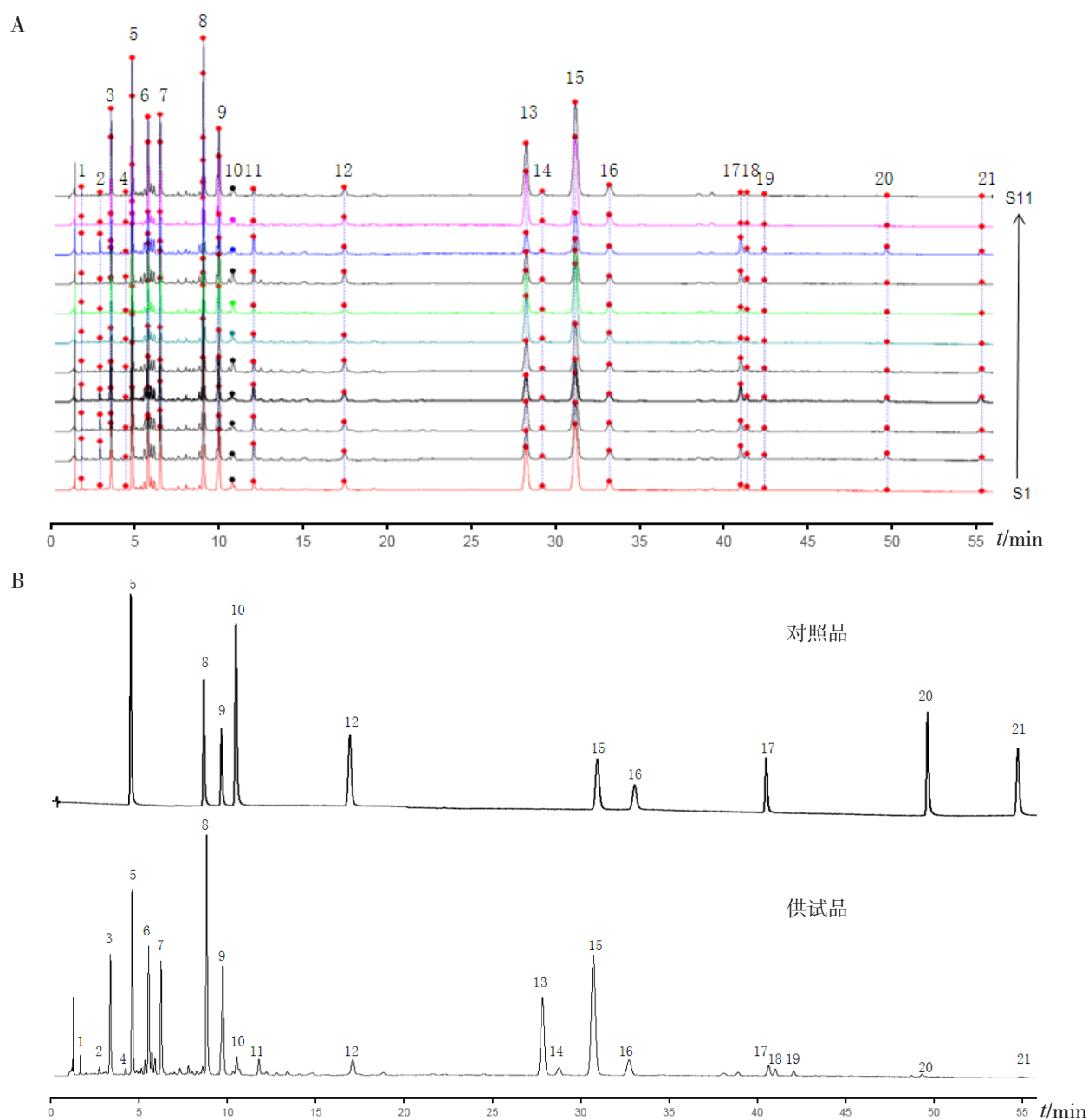


图1 11批菟丝子提取物叠加图谱 (A) 及对照图谱 (B)

Figure 1. Overlapping atlas (A) and control atlas (B) of 11 batches of Cuscutae Semen extract

注: 5: 新绿原酸; 8: 绿原酸; 9: 隐绿原酸; 10: 咖啡酸; 12: 对香豆酸; 15: 金丝桃苷; 16: 异槲皮苷; 17: 紫云英苷; 20: 槲皮素; 21: 山奈素

2.5.3 DPPH自由基清除率试验

称取 DPPH 粉末适量, 溶于无水乙醇中, 超声混匀, 得 DPPH 工作液。取“2.5.1”项下不同浓度供试品溶液各 0.4 mL, 加入 0.6 mL 的 DPPH 工作液, 混匀, 记为测定管; 取“2.5.1”项下不同浓度供试品溶液各 0.4 mL, 加入 0.6 mL 无水乙醇稀释, 混匀, 记为对照管; 取无水乙醇 0.4 mL, 加入 DPPH 工作液 0.6 mL, 混匀, 记为空白管。以上试液于室温 25℃避光静置 30 min, 精密量取

试液 0.8 mL 至玻璃比色皿中, 于紫外分光光度计 517 nm 处测定吸光度 (A) 值。取“2.5.2”项下的 DPPH 阳性对照溶液, 按以上方式测得阳性对照溶液的 A 值。每个样品平行测定 3 次, 按照公式 $[(1 - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / A_{\text{空白}}) \times 100\%]$ 计算不同浓度供试品溶液以及阳性对照溶液的清除率, 根据清除率以及供试品溶液 (维生素 C) 浓度拟合曲线计算得半抑制浓度 (IC_{50}), 结果见表 1。

表1 11批菟丝子提取物的IC₅₀ (mg · mL⁻¹)
Table 1. IC₅₀ of 11 batches of Cuscutae Semen
seed extract (mg · mL⁻¹)

样品	DPPH	ABTS
S1	0.296 6	0.975 6
S2	0.356 0	0.988 5
S3	0.394 0	0.945 5
S4	0.394 4	0.958 4
S5	0.422 3	1.107 5
S6	0.450 9	1.373 2
S7	0.495 7	1.145 6
S8	0.500 7	1.236 5
S9	0.506 4	1.172 1
S11	0.579 0	1.153 3
维生素C	0.019 7	0.247 5

2.5.4 ABTS自由基清除率试验

取硫酸钾粉末适量，溶于 1.47 mL 蒸馏水中，振荡混匀，得储备液 1；取 ABTS 粉末适量，溶于 2.86 mL 蒸馏水中，振荡混匀，得储备液 2；临用前将蒸馏水溶解后的储备液 1 与储备液 2 按照比例 1 : 1 混合，避光反应 12 h 后，再用无水乙醇稀释 30 倍，得 ABTS 工作液。取“2.5.1”项下不同浓度供试品溶液各 0.05 mL，加入 0.95 mL 的 ABTS 工作液，混匀，记为测定管；取“2.5.1”项下不同浓度供试品溶液各 0.05 mL，加入 0.95 mL 无水乙醇稀释，混匀，记为对照管；取无水乙醇 0.05 mL，加入 ABTS 工作液 0.95 mL，混匀，记为空白管。以上试液于室温 25℃ 避光静置，全部移取至玻璃比色皿中，于紫外分光光度计 734 nm 处测定 A 值。取“2.5.2”项下的 ABTS 阳性对照溶液，按以上方式测得阳性对照溶液的 A 值。每个样品平行测定 3 次，按照“2.5.3”项下公式计算不同浓度下的供试品溶液以及阳性对照溶液的清除率，根据清除率以及供试品溶液（维生素 C）浓度拟合曲线计算得 IC₅₀，结果见表 1。

2.6 灰色关联度分析

2.6.1 数据标准化

基于原始数据的单位以及量纲不同，采用 SPSS 20.0 软件对其进行 Z 分数标准化处理，变换后的参考序列记为 X₀(t)，比较序列记为 X_i(t)。以标准化后的抗氧化指标 IC₅₀ 作为参考序列，各共有峰面积为比较序列，分析对抗氧化活性贡献较大的物质基础^[6]。

2.6.2 关联系数的计算

根据以下公式计算灰色关联系数：

$$\eta_i(k) = \frac{\min\min|\theta_0(k) - \theta_i(k)| + \rho \cdot \max\max|\theta_0(k) - \theta_i(k)|}{|\theta_0(k) - \theta_i(k)| + \rho \cdot \max\max|\theta_0(k) - \theta_i(k)|}$$

式中：η_i(k) 是第 k 个样品的第 i 个峰面积与 IC₅₀ 的关联系数，θ₀(k) 为菟丝子的抗氧化指标 IC₅₀ 相反数；θ_i(k) 为菟丝子各共有峰峰面积；ρ 为分辨系数 0.5；minmin|θ₀(k)-θ_i(k)|、maxmax|θ₀(k)-θ_i(k)| 分别表示参考序列与比较序列差的第二级最小差值和最大差值。

2.6.3 关联度计算

根据以下公式计算关联度（r）：

$$r = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n \eta_i(k)$$

关联度的范围在 0~1 内，随着关联度的增加，则表示参考序列与比较序列的关联度较大。结果显示，所有峰与抗氧化指标的关联度均大于 0.57，说明各个共有峰对 ABTS 以及 DPPH 清除率有一定的贡献，且菟丝子的抗氧化功能是综合多组分的共同效应。ABTS 关联系数 ≥ 0.7 时，有 11 个共有峰，关联度由大到小排列依次是 14 > 13 > 9 > 3 > 7 > 8 > 6 > 5 > 16 > 15 > 18。DPPH 关联系数大于 0.68 时，有 11 个共有峰，由大到小排序分别是 18 > 20 > 5 > 2 > 10 > 8 > 1 > 4 > 15 > 16 > 19。综合分析，5、8、15、16、18 这几个峰与抗氧化能力关联较为密切，可初步将这几个关联度较大的共有峰作为指纹图谱的药效控制点，具体见表 2。

2.7 正交偏最小二乘积法分析

灰色关联度较为直观地反映不同峰与抗氧化作用的关联度大小，但无法呈现两者的正负相关性，故需结合偏最小二乘积法（optimized potentials for liquid simulation, OPLS）综合分析。将 Z 分数标准化后的数据，导入 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS 分析，以菟丝子不同批次的共有峰峰面积为自变量，抗氧化指标 IC₅₀ 为因变量，根据模型拟合得到变量投影重要性指标（variable importance in projection, VIP）值以及回归系数。图 2 结果显示，与 DPPH 清除率呈现正相关的有 13 个峰，贡献度由大到小排列分别为 13 > 14 > 15（金丝桃苷）> 8（绿原酸）> 11 > 9（隐绿原酸）> 16（异槲皮苷）> 7 > 5 > 6（新绿原酸）> 3 > 4 > 18，其余的峰与 DPPH 呈现负相关，依次为 21（山奈素）

> 20 (槲皮素) > 17 (紫云英苷) > 2 > 1 > 10 (咖啡酸) > 19 > 12 (对香豆酸), 方程 $y = -0.026_{x1} - 0.029_{x2} + 0.023_{x3} + 0.012_{x4} + 0.026_{x5} + 0.024_{x6} + 0.028_{x7} + 0.032_{x8} + 0.030_{x9} - 0.026_{x10} - 0.032_{x11} - 0.011_{x12} + 0.03_{x13} + 0.033_{x14} + 0.033_{x15} - 0.030_{x16} - 0.031_{x17} - 0.012_{x18} - 0.024_{x19} - 0.032_{x20} - 0.036_{x21}$, 其中 x 代表各共有峰, y 代表抗氧化清除率, 回归系数绝对值越大则表示自变量的贡献度越大。结合图 3 分析, 与 ABTS 清除率呈现正相关的有 12 个峰, 贡献度由大到小分别为 $18 > 4 > 8 > 14 > 17 > 19 > 16 > 15 > 13 > 21 > 5 > 9$, 其余的峰与 ABTS 呈现负相关, 依次为 $12 > 20 > 2 > 3 > 6 > 11 > 1 > 10 > 7$, 回归方程为 $y = -0.046_{x1} - 0.150_{x2} - 0.116_{x3} + 0.234_{x4} + 0.084_{x5} - 0.109_{x6} - 0.002_{x7} + 0.207_{x8} + 0.001_{x9} - 0.025_{x10} - 0.056_{x11} - 0.382_{x12} - 0.105_{x13} + 0.205_{x14} - 0.120_{x15} - 0.153_{x16} + 0.170_{x17} - 0.595_{x18} - 0.160_{x19} - 0.211_{x20} + 0.087_{x21}$ 。VIP 值是反映自变量对因变量解释能力的重要指标之一, VIP 值 > 1, 则说明该自变量在解释因变量时具有显著重要性^[7]。在以 DPPH 清除率为指标时, VIP > 1 的共有峰从大到小依次为 13、9、17、10、7、6、19、3、14、15、21、2, 具体见图 4。在以 ABTS 清除率为指标时, VIP > 1 的共有峰从大到小依次为 18、8、16、14、15、1、13, 具体见图 5。综上所述, 结合各共有峰对 DPPH 以及 ABTS 清除率的作用分析, 8、9、13、14、15、16、18 是影响菟丝子抗氧化能力较为重要的物质基础, 与其呈现正相关。综合以上两种分析手段, 筛选出峰 8、15、16、18 对菟丝子抗氧化能力具有较大的贡献度。整体来看, OPLS 与灰色关联度的结果较为一致。

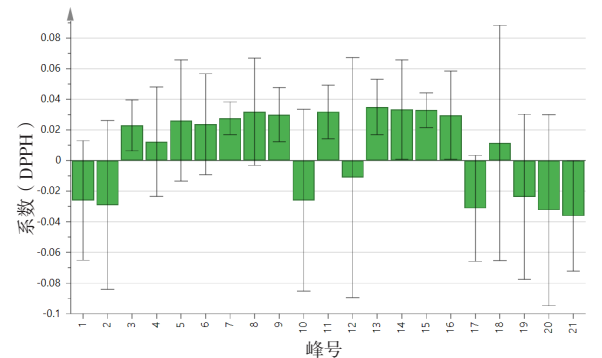


图2 菟丝子提取物各共有峰与DPPH的 OPLS回归系数
Figure 2. OPLS regression coefficient of common peaks of Cuscutae Semen extract and DPPH

表2 11批菟丝子提取物与IC₅₀的灰色关联度
Table 2. Grey correlation between 11 batches of Cuscutae Semen extract and IC₅₀

峰序号	灰色关联度	
	IC ₅₀ (DPPH)	IC ₅₀ (ABTS)
1	0.703	0.633
2	0.710	0.641
3	0.649	0.754
4	0.697	0.624
5	0.712	0.728
6	0.653	0.732
7	0.657	0.751
8	0.705	0.740
9	0.652	0.757
10	0.709	0.624
11	0.623	0.671
12	0.657	0.601
13	0.679	0.758
14	0.668	0.761
15	0.685	0.715
16	0.683	0.720
17	0.662	0.595
18	0.784	0.700
19	0.681	0.601
20	0.714	0.614
21	0.663	0.579

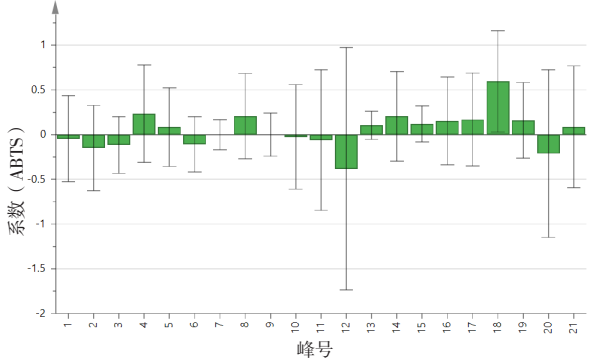


图3 菟丝子提取物各共有峰与ABTS的 OPLS回归系数
Figure 3. OPLS regression coefficient of common peaks of Cuscutae Semen extract and ABTS

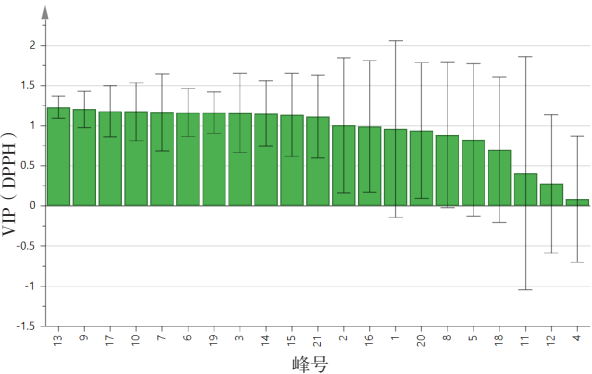


图4 菟丝子提取物各共有峰的VIP值 (DPPH)
Figure 4. VIP (DPPH) of common peaks of Cuscutae Semen extract

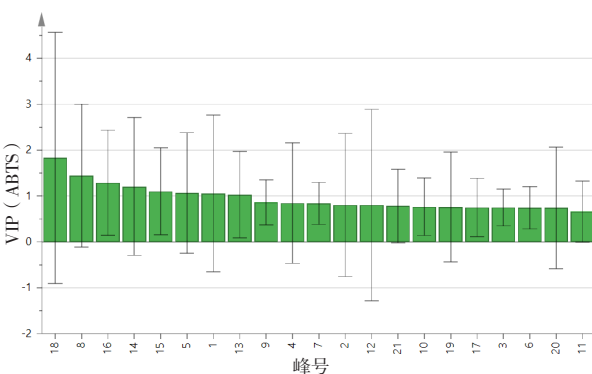


图5 菟丝提取物各共有峰的VIP值 (ABTS)
Figure 5. VIP (ABTS) of common peaks of Cuscutae Semen extract

3 讨论

本文通过比较不同的制样方式对其特征图谱的影响，其中溶剂为 80% 甲醇，超声时间为 30 min，功率为 300 W 方法较优。在何广铭等^[8]的研究基础上，考察不同的流动相体系对色谱峰的分离效果，结果乙腈 -0.2% 甲酸体系较优。文献^[9-10]报道，菟丝子中含有的酚酸类以及黄酮类物质分别在波长为 325 nm 和 360 nm 处响应值较高，采取分段波长融合更有利于样品分析。

研究表明，菟丝子提取物能够降低老年秀丽隐杆线虫细胞内活性氧的水平，在预防衰老方面具有一定的临床研究价值^[11-12]。11 批菟丝子提取物中 DPPH 所对应 IC₅₀ 的浓度范围为 0.296 6~0.579 0 mg · mL⁻¹，ABTS 对应 IC₅₀ 的浓度范围为 0.945 5~1.373 2 mg · mL⁻¹，说明不同批次间的菟丝子提取物存在一定的差异，可能与采收季节、贮存环境等因素有关。抗氧化能力与物质浓度成反比，在同等清除率的情况下，所需浓度越高，则抗氧化能力越低；维生素 C 常作为抗氧化能力研究的阳性对照药物，在清除率为 50% 时，菟丝子喷干粉两种抗氧化自由基 IC₅₀ 均高于维生素 C，有一定的差异，但都具有较明显的抗氧化效果。

以灰色关联度作为化学评价手段，菟丝子提取物中各共有峰与 DPPH 以及 ABTS 的关联度均大于 0.57，表明各共有峰与抗氧化指标具有较大的相关性，揭示菟丝子中抗氧化活性为多组分联合效应，并非单一物质主导。为进一步反映共有峰与抗氧化能力的正负相关性，结合 OPLS 分析，其中 1、2、10、20 与抗氧化呈现负相关，4、5、8、9、13、14、15、16、18 则呈现正相关。

结合 VIP > 1 的结果，峰 8（绿原酸）、9（隐绿原酸）、13、14、15（金丝桃苷）、16（异槲皮苷）、18 对抗氧化指标 IC₅₀ 有显著影响，为主要的药效基础。物质药效往往与化学结构息息相关，据报道，酚羟基的位置以及数量可影响抗氧化的活性大小^[13]。在绿原酸、隐绿原酸、金丝桃苷以及异槲皮苷化学结构中，均含有两个及以上的酚羟基，这可能为其抗氧化贡献度较大的原因之一。在指纹图谱中，峰 8、9、15 含量较高，而峰 13、14、16、18 含量偏低，说明指纹图谱能较为直观地体现药材内在化学成分的种类与数量，但无法阐述药材成分与药理活性存在绝对的内在关联^[14]。本研究仅指认一部分有效峰，具有一定的局限性，以期后面从质谱等高分辨手段入手，结合药效分析各化学成分结构骨架，进一步确定抗氧化的活性物质。

参考文献

- 1 中国药典 2020 年版 . 一部 [S]. 2020: 190.
- 2 赵唯年, 潘新波, 赵丽娟, 等 . 不同炮制方法对菟丝子醇提物中总黄酮、总多糖及 7 种成分的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(11): 97-103. [Zhao WN, Pan XB, Zhao LJ, et al. Effects of different processing methods on total flavonoids, total polysaccharides and seven components in the alcohol extract of Cuscutae semen[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2022, 29 (11): 97-103.] DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202201308.
- 3 徐长丽, 石芸, 梁裕莎, 等 . 菟丝子的研究进展及质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中南药学, 2022, 20(7): 1610-1616. [Xu CL, Shi Y, Liang YS, et

- al. Research status of Cuscuta semen and the prediction of quality markers[J]. Central South Pharmacy, 2022, 20(7): 1610–1616.] DOI: 10.7539/j.issn.1672–2981.2022.07.023.
- 4 张伟, 孙叶芬, 金传山, 等. 中药配方颗粒研究现状与展望[J]. 中草药, 2022, 53(22): 7221–7233. [Zhang W, Sun YF, Jin CS, et al. Research status and prospect of traditional Chinese medicine formula granules[J]. Chinese herbal medicine, 2022, 53(22): 7221–7233.] DOI: 10.7501/j.issn.0253–2670.2022.22.027.
- 5 姚晓璇, 王瑜婷, 邱彩月, 等. 菟丝子饮片、水煎液和配方颗粒的 HPLC 指纹图谱相关性研究[J]. 广东药科大学学报, 2022, 38(2): 24–30. [Yao XX, Wang YT, Qiu CY, et al. Study on the correlation of HPLC fingerprint of Cuscutae semen pieces, water decoction and formula granules[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2022, 38(2): 24–30.] DOI: 10.16809/j.cnki.2096–3653.2021111702.
- 6 瞿领航, 曹国胜, 涂济源, 等. 基于灰色关联度与正交偏最小二乘法分析的苍术挥发油燥性谱效关系研究[J]. 中草药, 2019, 50(1): 150–156. [Qu LH, Cao GS, Tu JY, et al. Spectrum–effect relationship of dryness of Atractylodis Rhizoma volatile oil based on grey relational grade and orthogonal partial least squares analysis[J]. Chinese Herbal Medicine, 2019, 50(1): 150–156.] DOI: 10.7501/j.issn.0253–2670.2019.01.023.
- 7 Zhu CS, Lin ZJ, Xiao ML, et al. The spectrum–effect relationship—a rational approach to screening effective compounds, reflecting the internal quality of Chinese herbal medicine[J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(3): 177–184. DOI: 10.1016/S1875–5364(16)30014–0.
- 8 何广铭, 曹斯琼, 周湘媛, 等. 菟丝子盐炙前后 HPLC 指纹图谱的变化研究[J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(1): 23–29. [He GM, Cao SQ, Zhou XY, et al. Study on the HPLC fingerprint of Cuscutae Semen and its processed products strified with salt[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2021, 37 (1): 23–29.] DOI: 10.16809/j.cnki.2096 - 3653.2020082202.
- 9 王亚楠, 包永睿, 王帅, 等. 基于多波长融合的菟丝子多成分定量方法研究[J]. 中南药学, 2021, 19(3): 517–521. [Wang YN, Bao YR, Wang S, et al. Multi–component quantitative method for Cuscutae semen based on multi–wavelength fusion [J]. Central South Pharmacy, 2021, 37 (1): 23–29.] DOI: 10.7539/j.issn.1672–2981.2021.03.025.
- 10 陈蕾, 赵陆华, 谭喜莹. HPLC 法同时测定菟丝子药材中酚酸和黄酮类成分含量[J]. 药学与临床研究, 2018, 26(2): 101–103. [Chen L, Zhao LH, Tan XY, et al. Simultaneous determination of flavonoid active components and phenolic acids in Semen cuscuteae by HPLC[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2018, 26 (2): 101–103.] DOI: 10.13664/j.cnki.pcr.2018.02.007.
- 11 金衡宇, 张谨莹, 丁洛阳, 等. 性情影响动物应激及抗氧化性能机制的研究进展[J]. 生命科学研究, 2022, 26(6): 487–494. [Jin HY, Zhang JY, Ding LY, et al. Research progress on the mechanism of temperament affecting stress and antioxidant performance in animals[J]. Life Science Research, 2022, 26(06): 487–494.] DOI: 10.16605/j.cnki.1007–7847.2021.06.0161.
- 12 Sayed SMA, Alseekh S, Siems K, et al. Identification of a hydroxygallic acid derivative, zingibroside R1 and a sterol lipid as potential active ingredients of Cuscutae Semen extract that has neuroprotective and antioxidant effects in aged Caenorhabditis elegans[J]. Nutrients, 2022, 14(19): 4199. DOI: 10.3390/nu14194199.
- 13 杨恬, 张忠, 秦潇潇, 等. 基于新型互作模型的多酚不同羟基的抗氧化性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(22): 7422–7430. [Yang T, Zhang Z, Qin XX, et al. Antioxidative evaluation of different hydroxyl groups of polyphenols based on a novel interaction model[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2022, 13 (22): 7422–7430.] DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11–5956/ts.2022.22.050.
- 14 马悦, 胡相卡, 赵艳丹, 等. 基于 COX–2 酶活性的柴胡生物质量评价研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(3): 91–95. [Ma Y, Hu XK, Zhao YD, et al. Study on bio–quality evaluation of Bupleuru chinensis based on COX–2 enzyme activity[J]. Pharmacology and Clinical Studies of Traditional Chinese Medicine, 2019, 35(3): 91–95] DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.2019.03.020.

收稿日期: 2023 年 06 月 16 日 修回日期: 2023 年 09 月 27 日
本文编辑: 周璐敏 钟巧妮