桂鹏燕, 杨秀霞, 杨兆祥, 等. 基于谱-效关系的青刺尖抗氧化活性成分分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 348−359. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020194

GUI Pengyan, YANG Xiuxia, YANG Zhaoxiang, et al. Screening and Identification of Antioxidative Material Basis from *Prinsepia utilis* Royle Based on the Spectrum-effect Relationship[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 348−359. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020194

· 分析检测 ·

基于谱-效关系的青刺尖抗氧化活性成分分析

桂鹏燕[1,2], 杨秀霞[1,2], 杨兆祥[1,2], 曲丽萍[1,2,*]

（1.云南特色植物提取实验室有限公司, 云南昆明 650106;
2.云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司, 云南昆明 650106）

摘　要: 为探究青刺尖（*Prinsepia utilis* Royle）主要抗氧化活性成分，阐明其药效物质基础，本研究以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基（1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical，DPPH·）清除率为指标，采用高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）建立 11 批青刺尖提取物指纹图谱，并结合皮尔逊、斯皮尔曼和偏最小二乘回归分析探讨了指纹图谱共有峰与抗氧化作用间的谱-效关系，筛选出对抗氧化活性贡献较大的组分进行质谱定性和高效液相色谱定量分析，进一步通过体外 DPPH·、$ABTS^{+}$·、·OH 清除能力和人皮肤成纤维细胞（human foreskin fibroblasts，HFF）抗衰活性检测，评价其抗氧化及抗衰活性。结果从 11 批青刺尖提取物指纹图谱中标定 13 个色谱峰，并识别出其中 6 个化学成分，其中芦丁、水仙苷、碟豆素、夏佛塔苷和香蒲新苷等化合物为青刺尖发挥抗氧化功效的潜在物质成分，定量分析结果表明各化学成分的含量存在一定差异，碟豆素含量最高（738.123 μg/mL），其次是芦丁（538.612 μg/mL）、水仙苷（385.881 μg/mL）和香蒲新苷（337.168 μg/mL），且各单体化合物均表现出较好的自由基清除活性和良好的抗衰效果，其中芦丁和水仙苷能有效清除 DPPH·、$ABTS^{+}$· 及 ·OH，其中芦丁对 DPPH· 和 $ABTS^{+}$· 的清除率分别为 92.84% 和 92.44%，对·OH 清除作用的 IC_{50} 值为 0.45 mg/mL；水仙苷对 DPPH· 和 $ABTS^{+}$· 的清除率为 37.71% 和 82.01%，·OH 清除作用的 IC_{50} 值为 1.01 mg/mL。夏佛塔苷、香蒲新苷（$P<0.01$）及芦丁（$P<0.05$）可显著抑制 SA-β-gal 活性，降低衰老相关 β-半乳糖苷酶阳性细胞比例，显示出良好的抗衰效果；细胞氧化应激模型中，香蒲新苷、蝶豆素、水仙苷及夏佛塔苷、芦丁能显著下调 MMP-1、MMP-3 和 MMP-9 的表达（$P<0.001$），促进皮肤胶原蛋白合成并抑制其降解，具有潜在的抗衰老能力。综上表明青刺尖的抗氧化功效可能是由夏佛塔苷、香蒲新苷、芦丁、水仙苷及碟豆素等多种化学成分共同作用产生的结果。

关键词: 青刺尖, 抗氧化, 谱-效关系, Pearson 相关性, 偏最小二乘回归

中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)04−0348−12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020194　　本文网刊:

Screening and Identification of Antioxidative Material Basis from *Prinsepia utilis* Royle Based on the Spectrum-effect Relationship

GUI Pengyan[1,2], YANG Xiuxia[1,2], YANG Zhaoxiang[1,2], QU Liping[1,2,*]

（1.Yunnan Characteristic Plant Extraction Laboratory Co., Ltd., Kunming 650106, China;
2.Yunnan Botanee Bio-technology Group Co., Ltd., Kunming 650106, China）

Abstract: To investigate the antioxidant chemical constituents of *Prinsepia utilis* Royle and reveal its pharmacodynamic substance basis. HPLC was used to establish the fingerprints of different batches of *Prinsepia utilis* Royle extracts (PRE). The DPPH scavenging activity was used as an indicator of drug efficacy. Pearson correlation, Spearman analysis, and partial least squares regression (PLSR) analysis were used to study the spectral efficiency relationship between the common peaks of the HPLC fingerprint spectra and the antioxidant efficacy substances of PRE. This was followed by LC-MS and HPLC analyses to identify the primary antioxidant substances. We assessed the antioxidant and anti-aging effectiveness of

收稿日期: 2025−02−24

基金项目: 云南特色植物提取实验室自主研究项目（2022YKZY001, 2023YKZY004）。

作者简介: 桂鹏燕（1992−）, 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 天然产物研究及应用开发, E-mail: guipengyan@botanee.com。

*** 通信作者:** 曲丽萍（1976−）, 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功效植物研究与开发应用, E-mail: quliping@botanee.com。

these active substances through various methods: scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH·), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radicals) ($ABTS^{+}$·), OH radicals (·OH), and anti-aging activity in HFF cells. Results showed that thirteen common peaks were identified and six chemical components were identified from the fingerprints of 11 batches of PRE. Among them, rutin, narcissoside, clitorin, shaftoside and typhaneoside may be potential antioxidant substances in the 11 extracts of PRE, and the contents of the above five compounds exhibited significant differences. In which, the content of clitorin was the highest (738.123 μg/mL), followed by rutin (538.612 μg/mL), narcissoside (385.881 μg/mL), and typhaneoside (337.168 μg/mL). Rutin and narcissoside demonstrates significant efficacy in scavenging DPPH·, $ABTS^{+}$·, and ·OH radicals, with the scavenging rates and IC_{50} values recorded at DPPH· 92.84% (Rutin) and 37.71% (narcissoside), $ABTS^{+}$· 92.44% (Rutin) and 82.01% (narcissoside) , ·OH 0.45 mg/mL (Rutin) and 1.01 mg/mL (narcissoside), respectively. Additionally, schaftoside, typhaneoside, and rutin significantly inhibited SA-*β*-gal activity, reduced the proportion of senescence-associated *β*-galactosidase-positive cells, and exhibits notable anti-aging effects (P<0.01). In the hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced cellular oxidative stress model, typhaneoside, clitorin, narcissoside, and shaftoside, along with rutin significantly downregulated the expression of MMP-1, MMP-3, and MMP-9 (P<0.001), promoted skin collagen synthesis, and inhibited its degradation, demonstrating potential anti-aging capabilities. This altogether indicates that the antioxidant effect of *Prinsepia utilis* Royle is the result of the combined effect of multiple chemical components such as shaftoside, typhaneoside, rutin, narcissoside and clitorin.

Key words: *Prinsepia utilis* Royle; antioxidative; spectrum-effect relationship; Pearson correlation; partial least squares regression

青刺尖（*Prinsepia utilis* Royle）属蔷薇科（Rosaceae）扁核木属（*Prinsepia*）植物茎叶，别名炮筒果、阿那斯、蒙自扁核木等，是一种多年生落叶灌木[1]。主要分布于中国西南地区（如：云南、贵州、四川、西藏等）以及巴基斯坦、尼泊尔、不丹和印度北部，云南省内主要分布于丽江、大理和迪庆藏族自治州[2−4]。在云南滇西北少数民族地区具有较长的药食同源使用历史[5]。当地人采摘嫩尖后作新鲜蔬菜凉拌、炖煮炒食或在当地市场售卖，为了四季都能食用，也会将嫩尖制成腌菜长期保存，进一步研究还发现青刺嫩叶提取物的总黄酮含量高于其发酵产物和青刺果提取物[6]。青刺尖嫩尖凉拌、腌制后食用，可开胃消食，清热去火，抑制口腔及肠道炎症，嫩叶作为茶饮可预防口舌生疮、口臭、咽喉肿痛等[7]。青刺尖中还含有类黄酮、维生素 E 以及维生素 C 等营养成分，这些物质是较好的抗氧化剂，具有抗衰老，保护神经系统和骨骼肌的作用[7]。现代研究表明，青刺尖中含有丰富的氨基酸，必需氨基酸含量也较丰富，能够维持机体正常的生长发育。邵金良等[8] 对新鲜及腌制青刺尖中氨基酸组成进行分析研究，证实了青刺尖的营养价值。结果表明新鲜或腌制青刺尖含 17 种氨基酸，必需和半必需氨基酸有 12 种。其中新鲜青刺尖中氨基酸含量为 27.8%，腌制品中氨基酸含量为 27.9%，这为进一步研究开发青刺尖食品具有一定的指导作用。杨立新[9] 通过皮肤化妆品活性筛选研究，HDFa 细胞毒性实验显示，在 100 g/mL 浓度下，青刺根、茎、叶、茎皮的乙醇提取物，细胞存活率均在 80% 以上，说明青刺提取物具有良好的安全性（IC_{50}= 0.242 μg/mL）。青刺尖提取物还具有抑菌[10]、对过敏性炎症和皮肤损伤的改善作用[11−12]。

目前青刺尖开发利用尚处于起步阶段，有关青刺尖抗氧化功效的报道主要聚焦于粗提物的综合分析[13−16]，缺乏对其抗氧化活性成分或单体的全面分析和鉴定。因此，有必要对其功效成分及其活性单体进行深入研究，扩大青刺尖在功能食品、化妆品、医药等相关领域的产品开发和应用。中药谱效学以中药指纹图谱为研究基础，与功效评价相结合，并应用生物信息学方法建立谱-效相关性分析，成为筛选活性成分的新思路[17−19]。

本研究以滇西北迪庆藏族自治州哈巴地区栽培种植的青刺尖为样品，通过 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）自由基清除实验检测各提取物的抗氧化活性，采用皮尔逊（Pearson）、斯皮尔曼（Spearman）相关分析和偏最小二乘回归（PLSR）分析等化学计量学方法，探讨了青刺尖提取物色谱图共有峰与抗氧化效果之间的相关性，从而建立了一种快速筛选并预测青刺尖中抗氧化活性成分群的方法——谱-效关系，并通过 LC-MS、HPLC 和标准品比对法，确定了共有峰中有效成分的化学组成情况。筛选对抗氧化活性贡献较大的组分，以期为青刺尖抗氧化活性物质的阐释及功效作用机制研究提供科学基础，从而提高青刺尖在功能食品、化妆品、医药等相关领域的产品开发和综合利用潜力。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

青刺尖　采自云南省迪庆藏族自治州香格里拉市哈巴雪山扁核木植株的新生嫩尖，中科院昆明植物研究所杨文光教授鉴定为蔷薇科扁核木属扁核木（*Prinsepia utilis* Royle）；乙腈　质谱级，德国 Merck 公司；甲酸　色谱纯，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；纯净水　娃哈哈集团有限公司；V_C　分析纯，上海源叶生物科技有限公司；水仙苷 PS010272（HPLC≥99.67%）、山奈酚-3-O-芸香糖苷 PS012599（HPLC≥99.63%）、香蒲新苷 PS000961（HPLC≥98%）、蝶豆

素 PS012216(HPLC≥98%) 成都普思生物科技股份有限公司; 芦丁 PS012221(HPLC≥98%)、夏佛塔苷 51938-32-0(HPLC≥98%) 维克奇生物科技有限公司; AB-8、D101 大孔吸附树脂 艾美科健(中国)生物医药有限公司; 羟基自由基清除能力测试试剂盒(BC1325)、ABTS$^+$自由基清除能力检测试剂盒(BC4775) 北京索莱宝科技有限公司; HFF(Human Foreskin Fibroblasts)细胞 中国科学院细胞库; 细胞衰老 β-半乳糖苷酶染色试剂盒(Beyotime C0602) 上海碧云天生物技术有限公司; 总 RNA 提取试剂盒(DP430) 天根生化科技(北京)有限公司; SYBR Green qPCR Master Mix(GK10002, Glpbio)、5X PrimeScript™ Master Mix (RR036A, Takara)、D-半乳糖反转录试剂盒(G0750)、Takara 反转录试剂盒(RR036A) 昆明超泰经贸有限公司代购。

Thermo Fisher DIONEX Ultimate 3000-LTQ XL-LTQ Obritrap Discovery 液相色谱质谱联用仪 美国 Thermo Fisher 公司; 高效液相色谱仪 Agilent 1260 Infinity Ⅱ(DAD 检测器) 美国安捷伦公司; SpextraMax® i3x 型多功能酶标仪 美国 Molecular Devices 公司; XPR205 电子分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Milli-Q 纯水系统 美国密理博公司; KQ-800DE 数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; HWS-26 型电热恒温水浴锅 上海一恒科学仪器有限公司; MF03 小型中药打粉机 德国蓝宝公司; BUCHI RotavaporR-300 旋转蒸发仪、Lyovapor™ L-200 冷冻干燥仪 步琦实验室设备贸易(上海)有限公司; QuantStudio™5 实时荧光定量 PCR 仪、VERITIPRO 96W PCR 仪、Sorvall™ Legend™ Micro 17R 高速冷冻离心机 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品溶液制备

1.2.1.1 供试样品溶液制备 迪庆哈巴 5、9 月份山底、山顶, 7 月份山底、山腰、山顶各个区域自然阴干的青刺尖嫩尖, 使用研磨机研磨成细粉, 然后通过筛网(药典 2 号筛, 0.85 mm 孔径)筛分。称取各粉末适量, 以 1∶10(g/mL)的料液比加入超纯水, 在 96 ℃ 下回流提取 2 h, 重复提取 2 次, 合并提取液, 抽滤去杂后, 经真空减压和低温冷冻干燥, 即得相应提取物。所得提取物分别记为 S1(5-山底)、S2(5-山顶)、S3(7-山底)、S4(7-山顶)、S9(7-山腰)、S10(9-山底)、S11(9-山顶)。并采用 AB-8 和 D101 大孔树脂对 S4(7-山顶)样品进行吸附分离, 最终得到 S5(7-山顶-AB-8-非黄酮)、S6(7-山顶-AB-8-黄酮)、S7(7-山顶-D101-黄酮)和 S8(7-山顶-D101-非黄酮)。然后分别称取 10 mg S1~S11 样品, 加水溶解, 制备得到 10 mg/mL 的供试样品溶液, 经 0.22 μm 滤膜过滤后, 进行 HPLC 分析。

1.2.1.2 对照品溶液制备 精确称取适量蝶豆素、夏佛塔苷、香蒲新苷、芦丁、山奈酚-3-O-芸香糖苷、水仙苷样品, 用 60% 乙醇配制成质量浓度分别为 0.564、1.692、0.864、1.260、0.420、2.592 mg/mL 的对照品混合溶液。

1.2.2 指纹图谱建立

1.2.2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-Aq(4.6×250 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~18 min, 10%~17% B; 18~28 min, 17%~19% B; 28~40 min, 19%~28% B; 40~43 min, 28%~100% B; 43~45 min, 100% B); 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 28 ℃; 进样量: 10 μL; 检测波长 360 nm。

1.2.2.2 方法学考察 a.精密度实验: 参照段天华等[20]研究中精密度实验考察方法, 并稍作修改。取同批次青刺尖 S6(7-山顶-AB-8-黄酮)样品, 按 1.2.1.1 方法制备供试品溶液, 并采用 1.2.2.1 色谱条件, 连续进样 6 次, 采集图谱后计算各共有峰的相对保留时间和峰面积 RSD 值。

b.重复性实验: 参照段天华等[20]研究中重复性考察方法, 按 1.2.1.1 方法重复制备 6 份 S6 样品的供试品溶液, 并以 1.2.2.1 色谱条件进样分析, 计算图谱中各共有峰的相对保留时间和峰面积 RSD 值。

c.稳定性实验: 参照段天华等[20]研究中稳定性考察方法, 按 1.2.1.1 方法制备 S6 供试品溶液, 分别于制备后 0、1.5、3、4.5、6、9、12、24 h 时, 按 1.2.2.1 色谱条件进样检测, 计算图谱中各共有峰相对保留时间和峰面积 RSD 值。

1.2.2.3 相似度评价 参照李佳荣等[21]研究中精密度实验考察方法, 并稍作修改, 将 S1~S11 样品 HPLC 色谱图导入 2012 版《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》软件, 以样品 S6 为参照图谱, 采用中位数法, 按 Mark 峰进行多点校正, 自动匹配生成对照指纹图谱, 并进行相似度分析。

1.2.2.4 色谱数据匹配 参考王媛媛等[22]的测试方法, 并稍作修改。标记 S/N>10 的色谱峰, 对峰面积进行积分确定 11 个供试样品的每个积分峰的保留时间和峰面积。建立色谱峰乘以样品数的矩阵, 即按照保留时间由小到大的顺序对所有色谱峰编号、匹配, 记录每个样品各编号的峰面积, 形成色谱峰编号 X 乘以样品数 Y 的矩阵。若某样品无某色谱峰, 则赋值 0。

1.2.3 体外抗氧化活性测定

1.2.3.1 DPPH 自由基清除能力测定 参考 Kawamura 等[23]和彭勃等[24]的方法稍作修改。选用 V_C 作为阳性对照, 样品和阳性对照用 60% 乙醇溶液配成 1 mg/mL 母液, 2 倍稀释得到 7 组不同浓度的供试溶液。将 96 孔板分成样品组、控制组及对照组, 分别加入等体积 0.1 mg/mL 的 DPPH 溶液, 混匀静置, 每组设 3 个复孔, 样品组与控制组均设置空白对照, 室温避光反应 30 min, 在 517 nm 波长下测定吸

光度。以 60% 乙醇代替供试样品作为空白，无水乙醇代替 DPPH 溶液作为本底。每组样品吸光度取平均值，计算各测试样的 DPPH 自由基清除率。清除率公式为：

$$E_{DPPH}(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_{sb}}{A_c - A_{cb}}\right) \times 100$$

式中：E_{DPPH} 表示 DPPH 自由基清除率，%；A_s 表示样品组测定吸光度；A_{sb} 表示样品空白组测定吸光度；A_c 表示对照组测定吸光度；A_{cb} 表示对照空白组测定吸光度。

1.2.3.2　$ABTS^+$自由基清除能力测定　根据 ABTS 清除能力检测试剂盒说明书进行操作。起始浓度为 2 mg/mL，2 倍稀释得到多个梯度。以蒸馏水代替测试样品作为空白组，试剂一代替试剂四和 ABTS 工作液作对照组，V_C 作为阳性对照组。每组样品吸光度取平均值，计算各测试样的羟基自由基清除率。清除率公式为：

$$D_{ABTS}(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_c}{A_b}\right) \times 100$$

式中：D_{ABTS} 表示 $ABTS^+$自由基清除率，%；A_s 表示样品组测定吸光度；A_b 表示样品空白组吸光度；A_c 表示对照组吸光度。

1.2.3.3　羟基自由基清除能力测定　根据制造商的说明，使用 Fenton 反应进行羟基自由基清除试验。供试品采用羟基自由基清除提取液配制成相应浓度作为测试样品组，蒸馏水代替测试样品作为对照组；V_C 作为阳性对照组，蒸馏水代替测试样品和试剂四作为空白组。每组样品吸光度取平均值，计算各测试样的羟基自由基清除率。清除率公式为：

$$D_{OH}(\%) = \left(\frac{A_s - A_c}{A_b - A_c}\right) \times 100$$

式中：D_{OH} 表示羟基自由基清除率，%；A_s 表示样品组测定吸光度；A_b 表示样品空白组吸光度；A_c 表示对照组吸光度。

1.2.4　抗衰老活性测定

1.2.4.1　D-半乳糖（D-Gal）诱导的 HFF 衰老能力测定　参考 Meng 等[25] 和 Pan 等[26] 的测试方法，并稍作修改。选取形态良好，处于对数生长期的 HFF 细胞接种于 24 孔板，4×10^4 细胞/孔，于培养箱中孵育 24 h。设置空白对照组、诱导衰老组及样品组，每组设置 3 个复孔，使用合适浓度的 D-Gal 进行处理诱导衰老组和样品组，样品组加入不同浓度受试物，于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中孵育 48 h。根据细胞衰老 β-半乳糖苷酶染色试剂盒说明书对细胞衰老情况进行检测，并在普通光学显微镜下对染色结果进行观察并拍照，使用软件 Image J 对图片进行分析，统计染色阳性细胞数和总细胞数，计算染色阳性细胞占总细胞比例。

1.2.4.2　过氧化氢（H_2O_2）诱导的 HFF 中衰老相关的氧化应激基因表达水平　参照杨建平等[27] 的检测方法，并稍作修改。选取对数生长期，形态良好的 HFF 细胞接种于 6 孔板，2.5×10^5 细胞/孔，于培养箱中孵育 24 h。设置对照组及样品组，每个浓度设置 3 个重复，给药处理细胞 4 h，加入合适浓度 H_2O_2 诱导处理 2 h，重新给药继续于 37 ℃，5% CO_2 培养箱中孵育 24 h。根据试剂盒说明书提取 RNA，逆转录 cDNA，并通过荧光定量 PCR 分析各组细胞中衰老相关的氧化应激基因（*MMP1*、*MMP3*、*MMP9*）的 mRNA 表达水平，分析 H_2O_2 对目标基因表达的影响。计算方法采用 Comparative Cт（ΔΔCт），设置对照组，内参基因为 β-actin。

1.2.5　谱-效关系研究

1.2.5.1　皮尔逊（Pearson）相关性分析　以表征活性的 $1/IC_{50}$ 和色谱峰面积的相关系数，判断某色谱峰与该活性之间的相关性。并通过相关系数筛选对各活性贡献较大的色谱峰[22]。

1.2.5.2　斯皮尔曼（Spearman）相关性分析　以表征活性的 $1/IC_{50}$ 和色谱峰面积的相关系数，判断某色谱峰与该活性之间的相关性。并通过相关系数筛选对各活性贡献较大的色谱峰。

1.2.5.3　偏最小二乘回归分析法（PLSR）　采用偏最小二乘回归分析法分析样品指纹图谱与功效关系之间的相关性。将青刺尖提取物的量化特征图谱中共有峰面积和青刺尖提取物抗氧化活性结果导入 SIMCA 14.1（Umetrics, Umeå, Switzerland）[17]。以峰面积为自变量（X），样品的抗氧化活性指标 IC_{50} 值因变量（Y），建立偏最小二乘回归方程，筛选出与 DPPH 活性抑制作用有显著相关性的色谱峰。

1.2.6　活性成分定性分析　采用 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 液相质谱法[28]，对上述谱-效筛选结果中抗氧化活性贡献较大的色谱峰进行质谱分析。

1.2.6.1　质谱条件　电喷雾离子源（ESI）；鞘气（N_2）流速 40 arb；辅助气（N_2）流速 10 arb，吹扫气（N_2）流速 0 arb；喷雾电压正离子模式 3.5 kV，负离子模式 3.0 kV；离子传输管温度：325 ℃，离子源温度：常温。扫描模式：正/负离子分别扫描；采集方式：全扫描（Full MS）；扫描范围 m/z：90~950；分辨率：35000。二级质谱采用数据依赖性扫描（data dependent scan, DDS），选取上一级丰度最高的 3 个峰进行碰撞诱导解离（collision induced dissociation, CID）碎片扫描，分辨率 17500，归一化碰撞能量为 40%。

1.2.6.2　质谱数据处理方法　通过和标准品对比确定青刺尖化学成分；检索相关文献和化学数据库确定青刺尖药材的化学成分；将采集的高分辨质谱数据通过 Analysis Base File Converter 软件转换为 .abf 格式，导入 MS-DIAL 软件中进行解卷积、峰提取，将一

级和二级碎片离子和软件内置的 Metabolomics 数据库和 MONA 数据库匹配；通过 MS Convert 软件将原始数据转换为.mz ML 文件格式，导入 Sirius 软件预测化学成分结构，然后上传至 GNPS，建立 GNPS 分子网络；手动检验筛选各软件结果，将各化学成分的实测数据与软件理论的数据匹配度大于 75%，且通过分析质谱碎片裂解过程合理的结构确定为青刺尖化学成分。

1.2.7 活性成分定量分析 取 1.2.1 下混合对照品溶液，用 60% 乙醇稀释成系列浓度的混合对照品溶液，按照 1.2.2.1 色谱条件，分别进样 10 μL，测定不同浓度水平下各色谱峰的峰面积。以相应峰面积为纵坐标(Y)，样品质量浓度为横坐标(X)，绘制标准曲线，计算线性回归方程并测定 S6 中对抗氧化活性实验贡献较大化学成分芦丁(P10)，水仙苷(P13)、碟豆素(P8)、夏佛塔苷(P5)和香蒲新苷(P9)的含量。

1.3 数据处理

每组有至少 3 次重复，数据均以 mean±SEM 表示，试验数据使用软件 GraphPad Prism 8 进行分析，采用双尾 t 检验(two-tailed Student's t-test)和 One-way ANDNA（and nonparametric）Turkey: Compare all pairs of colunms 进行统计分析，$P<0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 方法学考察

2.1.1 精密度试验 同一批次青刺尖 S6 供试品溶液，按 1.2.2.1 项色谱条件，重复进样 6 次，各共有峰的相对保留时间 RSD 和相对峰面积 RSD 分别为 0.06%~0.08% 和 0.11%~0.45%，表明该方法精密度良好[20]。

2.1.2 重复性实验 取同一批次 6 份 S6 供试品溶液，按 1.2.2.1 项色谱条件进样分析，计算得到各共有峰相对保留时间范围为 0.19%~0.28%，相对峰面积 RSD 范围为 1.71%~2.47%，表明该方法重复性良好[20]。

2.1.3 稳定性实验 取同批次 S6 样品制备供试品溶液，分别于 0、1.5、3、4.5、6、9、12、24 h，按 1.2.2.1 项下色谱条件进样分析，计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 范围分别为 0.09%~2.48% 和 0.35%~2.02%，表明该方法稳定性良好[20]。

2.2 HPLC 指纹图谱建立及相似度评价

中药指纹图谱是一种公认的，可以全面反映中药复杂化学成分的质量控制方法，是一种综合反映中药的复杂性和相关性的可量化的鉴定手段[17]。中药具有多成分、多靶点等特性，在疾病治疗过程中，其功效主要取决于多种成分的共同作用[29]。为阐明青刺尖质量与其功效间的关系，本实验建立了青刺尖的指纹图谱。11 批次青刺尖样品按 1.2.1 方法制备得到供试样品溶液(S1~S11)，并采用 1.2.2.1 项下的色谱条件进样测定。将各供试样品 HPLC 图谱数据导入《中药色谱指纹相似度评价系统 2012》，以样品 S6(7-山顶-AB-8-黄酮)的色谱图作为参考光谱，采用中位数法，按 Mark 峰进行多点校正，自动匹配生成如图 1 所示的指纹图谱。并进行相似度分析，结果显示 11 批供试样品相似度为 0.838~0.998(表 1)，表明青刺尖提取物间化学成分间有一定的化学差异性，可为后续探讨青刺尖共有峰与抗氧化作用间的谱-效相关性提供数据基础。

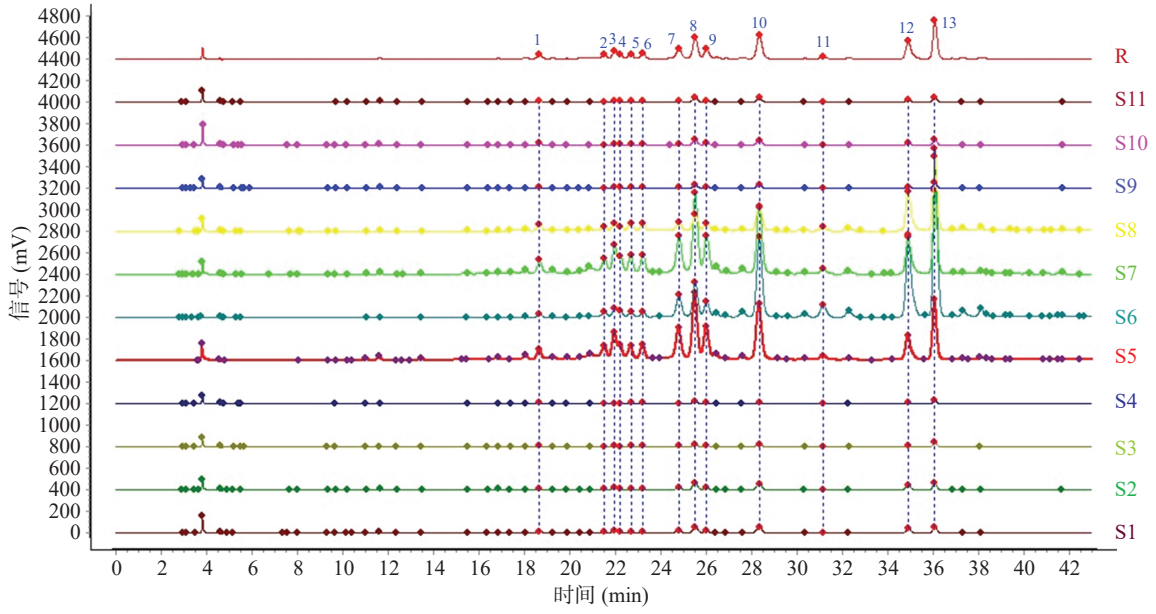


图 1 青刺尖样品的 HPLC 指纹图谱与参比指纹图谱

Fig.1 HPLC fingerprint of *Prinsepia utilis* Royle and its reference fingerprint

注：数字 1~13 为青刺尖提取物 HPLC 指纹图谱中，峰形、分离度、特征性较好的 13 个特征标定共有峰，按保留时间由小到大的顺序分别编号为 P1~P13。

表 1　青刺尖提取物 HPLC 指纹图谱相似度评价结果

Table 1　Similarity evaluation results of HPLC fingerprints of *Prinsepia utilis* Royle

序号	相似度											
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	R
S1	1	0.998	0.97	0.948	0.984	0.858	0.99	0.839	0.966	0.986	0.994	0.968
S2	0.998	1	0.968	0.95	0.98	0.867	0.989	0.853	0.968	0.984	0.991	0.972
S3	0.970	0.968	1	0.988	0.968	0.874	0.979	0.865	0.996	0.99	0.984	0.971
S4	0.948	0.95	0.988	1	0.948	0.853	0.965	0.866	0.99	0.975	0.969	0.955
S5	0.984	0.98	0.968	0.948	1	0.808	0.995	0.785	0.963	0.982	0.981	0.947
S6	0.858	0.867	0.874	0.853	0.808	1	0.855	0.983	0.898	0.85	0.854	0.953
S7	0.99	0.989	0.979	0.965	0.995	0.855	1	0.839	0.98	0.988	0.989	0.972
S8	0.839	0.853	0.865	0.866	0.785	0.983	0.839	1	0.894	0.832	0.838	0.939
S9	0.966	0.968	0.996	0.99	0.963	0.898	0.98	0.894	1	0.985	0.979	0.982
S10	0.986	0.984	0.99	0.975	0.982	0.85	0.988	0.832	0.985	1	0.997	0.964
S11	0.994	0.991	0.984	0.969	0.981	0.854	0.989	0.838	0.979	0.997	1	0.966
R	0.968	0.972	0.971	0.955	0.947	0.953	0.972	0.939	0.982	0.964	0.966	1

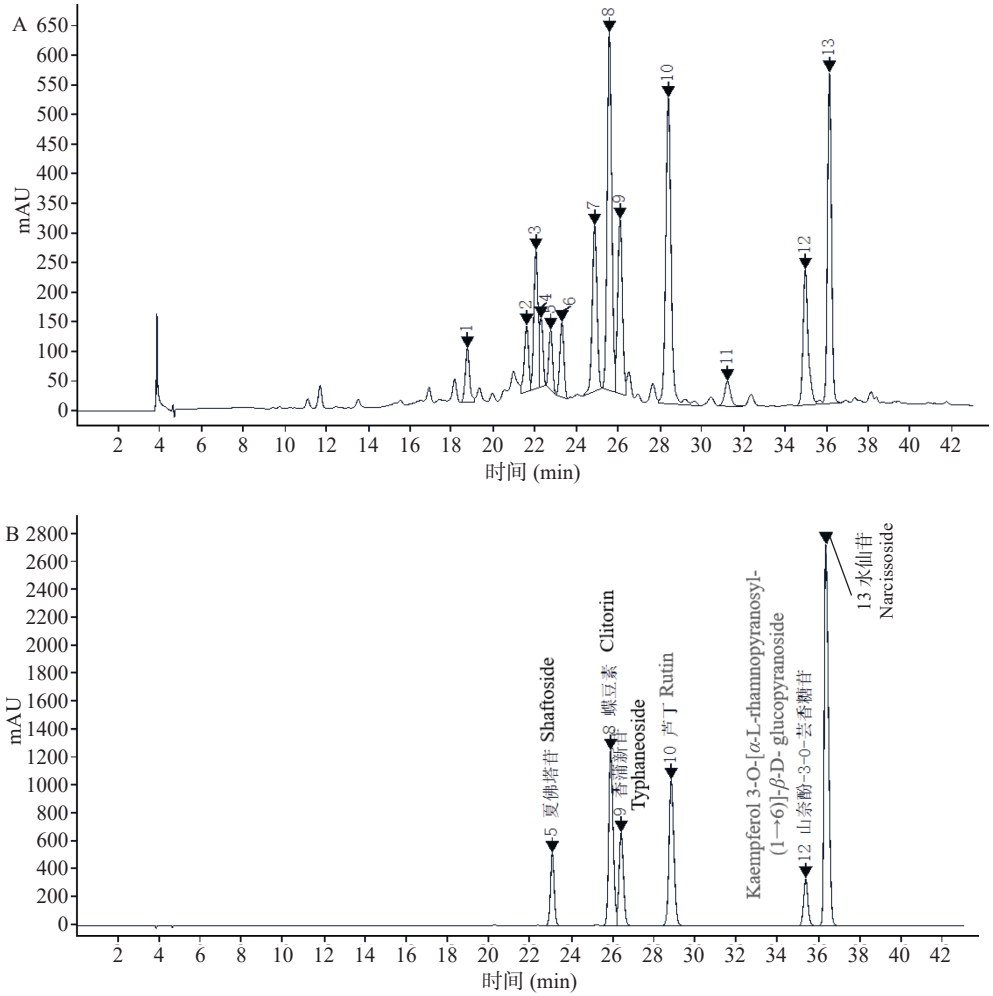


图 2　青刺尖样品 S6 的 HPLC 指纹图谱共有峰(A)及混合对照品溶液 HPLC 图谱(B)

Fig.2　Common peaks in the HPLC fingerprint of the sample S6 from *Prinsepia utilis* Royle (A) and the HPLC chromatogram of mixed reference substance solution (B)

注: 数字 1~13 为青刺尖提取物 HPLC 指纹图谱中, 峰形、分离度、特征性较好的 13 个特征标定共有峰, 按保留时间由小到大的顺序分别编号为 P1~P13。

2.3　共有峰标定

从自动匹配的共有峰中, 选取峰形、分离度、特征性较好的 13 个特征峰(图 2)作为标定共峰, 按保留时间由小到大的顺序分别编号为 P1~P13。并记录 13 个色谱峰的峰面积, 形成 13×11 的矩阵。

2.4　体外抗氧化活性测定

氧化反应是诱导癌症、衰老等多种疾病的主要起因, 天然抗氧化剂可有效克服自由基对机体细胞的氧化攻击[30]。因此, 有必要从天然产物中寻找高效、低毒抗氧化剂。目前可通过体外测定自由基清除率

表 2 青刺尖提取物体外抗氧化(DPPH 自由基清除)活性结果

Table 2 Results of DPPH free radical scavenging activity of *Prinsepia utilis* Royle extract

序号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
IC_{50}(mg/mL)	0.556	0.518	1.061	0.635	0.134	0.082	0.122	0.202	0.510	0.610	0.390

评价抗氧化活性,根据褪色程度与其被清除程度(即吸光度的改变)成定量关系,从而进行抗氧化活性的评价。DPPH 自由基是一种常用的评估抗氧化性能的检测方法,常用于测定天然提取物、食物和药物的抗氧化活性[31]。为阐明青刺尖化学成分与其抗氧化功效间的关系,对 11 批次青刺尖样品进行了 DPPH 自由基清除能力测试。结果如表 2 所示,在 DPPH 体外抗氧化活性实验下,11 批次供试样品均具有一定的 DPPH 自由基清除活性,各样品的体外抗氧化活性存在一定差异。IC_{50} 值是衡量抗氧化活性强弱的一个重要指标,它表示抗氧化能力达到半数清除效果时所需的浓度[32]。如表 2 所示,其中 S6 样品清除 DPPH 自由的 IC_{50} 值最小(0.082 mg/mL),表明其清除 DPPH 自由基能力最强,具有很好的抗氧化活性。其次分别是 S7(IC_{50} 值 0.122 mg/mL),S5(IC_{50} 值 0.134 mg/mL),S8(IC_{50} 值 0.202 mg/mL)。这一结果表明,青刺尖提取物能够有效清除 DPPH 自由基,也揭示了青刺尖中黄酮组分是其发挥抗氧化活性的关键物质。

Zheng 等[14] 也报道了云南昆明来源的青刺尖茎、叶乙醇提取物在 20~100 μg/mL 的浓度范围内,所有样品的 DPPH 自由基清除活性均呈浓度依赖性,其 IC_{50} 值分别为和 71.46±2.85 和 82.08±0.97 μg/mL。Gupta 等 [15] 对青刺尖叶的甲醇提取物进行 DPPH 自由基抗氧化测定,结果显示:IC_{50} 为 62.46 μg/mL。Bagale 等[16] 利用 DPPH 自由基清除活性检测了不同提取溶剂所得青刺尖茎叶提取物的抗氧化活性,结果显示乙酸乙酯提取物在 500 μg/mL 的浓度下表现出最高的 DPPH 自由基抑制率(98.14%),IC_{50} 值为 47.64 μg/mL;其次是甲醇提取物(IC_{50} 值 66.69 μg/mL)。与文献结果对比发现,文中青刺尖提取物 DPPH 自由基清除活性偏低(最强的 S6 样品 IC_{50} 值仅为 0.082 mg/mL),可能与青刺尖样品(新生青刺尖嫩芽)和提取工艺(蒸馏水回流)不同导致所得提取物主要为极性相对较大的多糖和黄酮类成分有关。Huang 等[33] 和 Zhang 等[34] 也曾报道称,青刺尖叶片中的总酚和总黄酮含量高于茎,但茎的乙醇提取物自由基清除能力比叶提取物强。

2.5 谱效关系研究

2.5.1 皮尔逊(Pearson)相关性分析 利用 Pearson 相关系数测定各共有峰对 DPPH 自由基清除的贡献程度。相关系数的正负可以反映色谱峰峰面积与活性指标的相关性,当相关系数为正时,表明其二者之间为正相关;反之,则为负相关;相关系数的绝对值反映了对活度的贡献,绝对值越大,对活性的贡献度越大。如表 3 所示,色谱峰 1~13 与 DPPH 自由基清除活性均呈负相关,表明色谱峰 1~13 对清除羟基自由基具有促进作用,且色谱峰 P13、8、4、9、3、10、7 具有较高的相关性(相关系数分别为 0.779、0.758、0.743、0.736、0.731、0.725、0.723),表明这些成分对 DPPH 自由基清除活性的贡献度较大。

表 3 共有峰与 DPPH 自由基清除活性的皮尔逊和斯皮尔曼相关性分析

Table 3 Pearson and Spearman correlation analysis between shared peaks and DPPH radical scavenging activity

峰编号	皮尔逊相关系数	斯皮尔曼相关系数	峰编号	皮尔逊相关系数	斯皮尔曼相关系数
P1	−0.712	−0.764	P8	−0.758	−0.882
P2	−0.690	−0.791	P9	−0.736	−0.827
P3	−0.731	−0.855	P10	−0.725	−0.845
P4	−0.743	−0.855	P11	−0.701	−0.818
P5	−0.706	−0.800	P12	−0.713	−0.791
P6	−0.714	−0.782	P13	−0.779	−0.818
P7	−0.723	−0.809			

2.5.2 斯皮尔曼(Spearman)相关性分析 斯皮尔曼相关系数(Spearman's rho)通过计算变量排名之间的相关性来评估变量间的关系。通过对排名的分析,它能有效揭示变量间的相关关系,为研究和决策提供有力支持。利用斯皮尔曼相关系数测定各共有峰对 DPPH 自由基清除的贡献程度[30]。相关系数绝对值越大,对活性的贡献度越大。如表 3 所示,色谱峰 1~13 与 DPPH 自由基清除活性均呈负相关,且色谱峰 P8、3、4、10、9、13、11、7 显示出较强的相关性(相关系数分别为 0.882、0.855、0.855、0.845、0.827、0.818、0.818、0.809),表明这些成分对 DPPH 自由基清除活性贡献度较大,被认为是潜在的活性成分。

2.5.3 偏最小二乘回归分析(PLSR) 分别以 11 批青刺尖样品的 DPPH 自由基清除率作为因变量,指纹图谱共有峰峰面积作为自变量,采用 SIMCA 14.1 软件进行偏最小二乘法分析,得到自由基清除率与共有峰峰面积的标准化回归系数和变量投影重要性系数(VIP)。在 PLSR 分析中,变量重要性预测(VIP)值是评价自变量对分类贡献的常用指标。VIP 值越大,表示自变量对分类的贡献越大,自变量 X 的解释能力越强,即相应色谱峰对应的物质成分对活性的影响越强。相关系数的绝对值反映了对活度的贡献,绝对值越大,对活度的贡献越大[17]。相关系数的正负可以反映色谱峰峰面积和药效指标的相关性;当相关系数的符号为正时,表明其二者之间为正相关;反之,为负相关;其中 VIP 值大于 1 且相关系数大于 0,表明该自变量对因变量的解释能力越强,

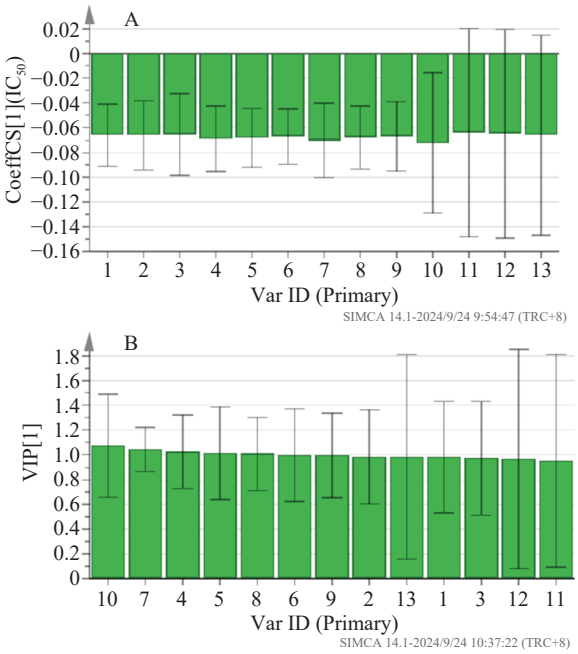


图 3　共有峰的偏最小二乘回归分析结果

Fig.3　OPLS regression coefficient and VIP value of antioxidant activity of common peaks

注: A: 回归系数; B: VIP 值。

对模型具有显著的贡献, 对应物质被认为是潜在有效成分[30]。分析结果如图 3 所示, 所有共有峰均与青刺尖提取物抗氧化指标 IC_{50} 呈负相关。由 VIP 值结果可知, 以 DPPH 自由基清除率为指标时, 峰 P10、7、4、5、8、6、9 的 VIP 值>1, 表明这些成分对 DPPH 自由基清除活性的贡献度最大, 可能是青刺尖主要药效峰。

综合 Pearson、Spearman 和 PLSR 回归分析结果, 推测色谱峰 P3、4、5、7、8、9、10、13 是青刺尖中发挥抗氧化活性的潜在物质成分, 其中色谱峰 P10、13、8、5、9 为青刺尖提取物中主要的 DPPH 自由基清除活性成分。对比上述几种分析, 每种方法得到的相关性结果并不完全一致, 但每种分析方法之间相互补充相互验证[30]。

2.6　抗氧化活性成分分析

2.6.1　抗氧化活性成分定性分析　根据色谱峰匹配结果, 11 个供试样品中均含有 1~13 号峰, 其中参照图谱 S6 中各吸收峰峰面积相对较大, 故以 S6 为例, 采用 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 液相质谱, 对抗氧化活性实验贡献较大的色谱峰 P10、13、7、8、4、5、9 进行定性分析, 并结合标准品比对和文献分析, 最终确定了色谱峰 P10、13、7、8、5、9 分别为芦丁、水仙苷、山奈酚-3-O-鼠李糖苷异构体、碟豆素、夏佛塔苷和香蒲新苷(表 4)。Shen 等[11] 从云南迪庆来源青刺尖中分离鉴定得到芦丁和碟豆素。Zheng 等[14] 通过 UPLC-ESI-HRMS/MS 法从青刺尖醇提物中鉴定出芦丁和水仙苷, 同年曲丽萍等[35] 专利报道称首次从青刺尖茎叶中发现了夏佛塔苷。Peng 等[36] 的研究也报道了青刺尖叶中碟豆素和香蒲新苷的存在, 本研究结果与这些文献数据相吻合, 不同之处仅仅体现在文献中各化合物的名称差异, 如碟豆素(文献中为: 山柰酚 3-O-[α-L-吡喃鼠李糖基-(1→6)-[α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)]]-β-D-吡喃葡萄糖苷或山柰酚 3-O-(2″, 6″- O-α-L-二吡喃鼠李糖基)-β-D-吡喃葡萄糖苷), 香蒲新苷(异鼠李素-3-O-[α-L-吡喃鼠李糖基-(1→6)-[α-L-吡喃鼠李糖基-(1→2)]]-β-D-吡喃葡萄糖苷), 水仙苷(异鼠李素-3-O-芸香糖苷)。

表 4　青刺尖提取物中的化学成分分析结果

Table 4　Results of chemical composition analysis of *Prinsepia utilis* Royle

序号	保留时间 (min)	化合物名称	测量值 (m/z)	碎片离子 (MS /MS) (m/z)
P5	11.75	夏佛塔苷[35]*	563.1418 $[M-H]^-$	545.1313, 473.1100, 443.0995, 353.0676
P7	14.20	山奈酚-3 -O-鼠李糖苷异构体[11]	739.1991 $[M-H]^-$	575.1322, 284.0291
P8	14.52	碟豆素[11,36]*	739.2094 $[M-H]^-$	593.1520, 575.1414, 284.0332
P9	15.03	香蒲新苷[36−37]*	769.2211 $[M-H]^-$	737.1949, 605.1524, 314.0439
P10	15.86	芦丁[14]*	609.1467 $[M-H]^-$	301.0358, 300.0282, 271.0254
P13	20.05	水仙苷[14]*	623.1633 $[M-H]^-$	315.0515, 300.0280

注: *表示该成分由标准品对照确定。

2.6.2　抗氧化活性成分定量分析　按照 1.2.7 进行测定, 测定不同浓度水平下各色谱峰的峰面积。以相应峰面积为纵坐标(Y), 样品质量浓度为横坐标(X), 绘制标准曲线。以 S6 为例, 按照 1.2.2.1 色谱条件进行对 S6 中抗氧化活性实验贡献较大化学成分芦丁(P10), 水仙苷(P13)、碟豆素(P8)、夏佛塔苷(P5)和香蒲新苷(P9)进行定量分析, 结果如表 5 所示: 各化学成分峰面积在相应质量浓度范围内与对照品质量浓度线性关系良好, 且 S6 中各化学成分的含量存在一定差异, 其中碟豆素含量最高(738.123 μg/mL), 其次是芦丁(538.612 μg/mL)、水仙苷(385.881 μg/mL)和香蒲新苷(337.168 μg/mL)。

表 5　样品 S5 中 5 种活性成分含量及线性关系

Table 5　Contents and linear relationships of the five active ingredients in the S5 sample

化合物	含量 (μg/mL)	线性回归方程	*r*值	线性范围 (μg/mL)
芦丁	538.612	Y=16.6582X−26.0138	0.99998	1260~105
水仙苷	385.881	Y=18.1819X+319.4450	0.99983	2590~216
蝶豆素	738.123	Y=13.3445X−12.0118	0.99999	1692~141
夏佛塔苷	104.805	Y=14.0332X−6.3861	0.99999	564~47
香蒲新苷	337.168	Y=14.1490X−16.8989	0.99999	864~72

碟豆素和芦丁是目前发现的青刺尖酚类主要成分, Peng 等[36] 研究发现青刺尖叶抗前列腺增生活性部位中碟豆素的相对含量最高为 13%。Zheng 等[14] 也报道了青刺尖茎、叶提取物中芦丁的含量为 8484.19±424.21 μg/g(叶)和 1801.33±90.07 μg/g(茎), 水仙苷的含量为 1108.94±55.45 μg/g(叶)和 529.00±

26.45 μg/g(茎)。而本研究中这些物质含量与文献报道的差异,可能是因为提取方法的选择及其过程中的参数设置(如温度、时间和溶剂类型)的不同,对目标化合物的溶出度、稳定性及最终提取物总量产生了影响。

2.6.3 抗氧化活性成分验证

2.6.3.1 体外抗氧化活性 为进一步探索青刺尖的抗氧化活性成分,采用 DPPH、$ABTS^+$、OH 自由基清除试验对 2.5.3 中确定相关单体做进一步的研究及验证。分析结果如图 4 所示,DPPH· 清除活性测试中,在 0~1 mg/mL 浓度范围下,随着待测样品浓度的升高,它们对 DPPH· 清除能力均呈现出显著的增强趋势,且其清除率与各自的浓度之间存在着明确的剂量效应关系。其中芦丁和 S6 样品显示出与阳性 V_C 相当或低于 V_C 的清除活性,1 mg/mL 时,芦丁和 S6 的 DPPH· 清除率达到 92.84% 和 84.04%(V_C,90.51%),其次是水仙苷,抑制率为 37.71%。

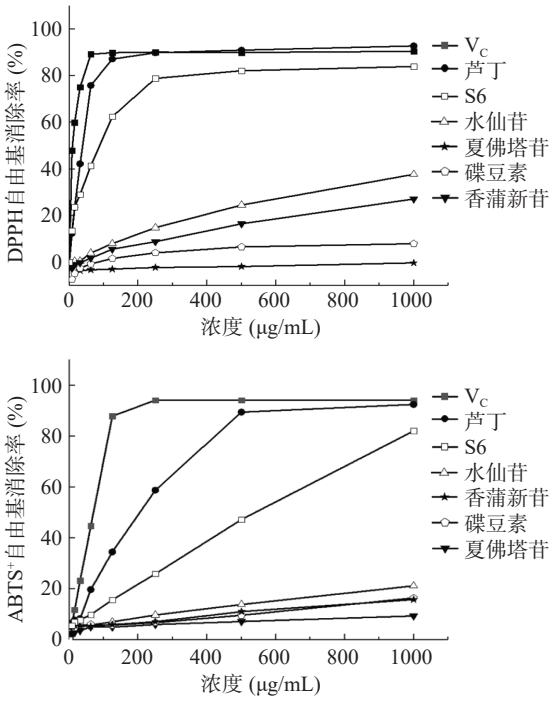


图 4 青刺尖单体化合物 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除活性结果

Fig.4 Results of DPPH and $ABTS^+$ free radical scavenging activity

$ABTS^+$· 清除活性测试中,待测样品在 0~1 mg/mL 的浓度范围内,所有样品 $ABTS^+$· 清除活性均呈浓度依赖性。1 mg/mL 时,芦丁和 S6 样品对 $ABTS^+$ 自由基清除率分别为 92.44% 和 82.01%(V_C,94.05%),其次是水仙苷、香蒲新苷、蝶豆素和夏佛塔苷,清除率为 9.32%~21.14%。Zhang 等[38] 通过分子对接研究了青刺尖果实不同组分的酚类成分和抗氧化特性,所有组分均表现出强大的 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除活性,并从中鉴定了包括芦丁、异鼠李素-3-O-芸香糖苷(水仙苷)等酚类化合物,本实验结果与之相吻合。

·OH 清除活性测试结果如表 6 所示:青刺尖提取物 S6 及各单体化合物均能有效清除 ·OH,且各单体化合物均表现出强于阳性药 V_C 的 ·OH 清除活性,其中芦丁和水仙苷活性最强,IC_{50} 值分别为 0.45 和 1.01 mg/mL(V_C,10.66 mg/mL),其次分别是 S6(1.770 mg/mL)、香蒲新苷(3.33 mg/mL)、夏佛塔苷(4.61 mg/mL)和蝶豆素(5.86 mg/mL)。这一结果表明,青刺尖提取物具有一定的抗氧化活性。

表 6 羟基自由基清除活性结果(IC_{50} 值,mg/mL)

Table 6 Hydroxyl radical scavenging activity results (IC_{50} value, mg/mL)

样品	V_C	S6	芦丁	夏佛塔苷	碟豆素	香蒲新苷	水仙苷
IC_{50}	10.657	1.770	0.450	4.612	5.857	3.325	1.006

基于此,可推测青刺尖样品的总抗氧化活性应该是多种成分协调作用,共同发挥贡献的结果。青刺尖提取物的显著抗氧化效果不仅与其总黄酮含量相关,还与芦丁、水仙苷、香蒲新苷、蝶豆素和夏佛塔苷等成分及含量之间存在一定的关联。而样品在 DPPH·、$ABTS^+$· 和 ·OH 清除测定中的抑制率存在一些差异,可能是由于不同的自由基结构所致。

2.6.3.2 D-Gal 诱导的 HFF 衰老能力测定 SA-β-gal 是体外培养中常用的细胞衰老指标。为了评估细胞衰老状态,本研究中使用了 SA-β-gal 染色试剂盒,对衰老相关的 β-gal 进行了染色分析,并使用标准光学显微镜在 100 倍和 40 倍放大倍数下检查细胞,通过 ImageJ 软件测量每组中染成蓝色的细胞比例。图 5 显示了 β-gal 染色分析的结果,与空白组相比,D-Gal 刺激的衰老 HFF 在染色后颜色强度显著增强,表明衰老细胞产生 β-gal,促进 X-gal 底物转化为蓝色结

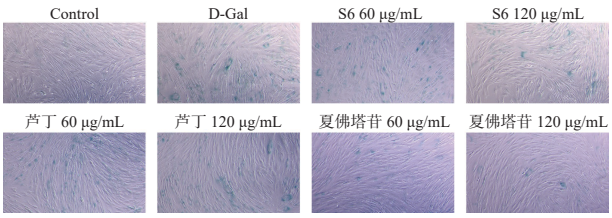


图 5 D-Gal 诱导 HFF 细胞衰老模型及青刺尖、芦丁和夏佛塔苷对 HFF 衰老的延缓作用(200×)

Fig.5 HFF cell aging model induced by D-galactose and the delaying effect of *P. utilis* Royle, rutin and shaftoside (200×)

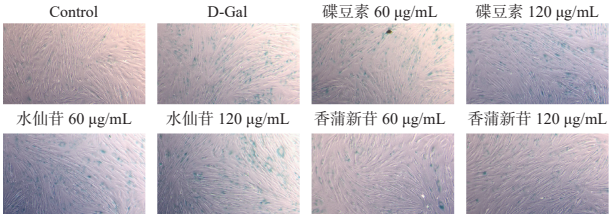


图 6 D-Gal 诱导 HFF 细胞衰老模型及碟豆素、水仙苷和香蒲新苷对 HFF 衰老的延缓作用(200×)

Fig.6 HFF cell aging model induced by D-galactose and the delaying effect of clitorin, narcissoside and typhaneoside (200×)

果，表示衰老模型构建成功。为进一步探索青刺尖的抗氧化活性成分，向衰老模型组给予不同浓度的检测样品，并对阳性染色细胞进行统计分析以评估各检测样品的抗衰能力。结果如图 5、图 6 和图 7 所示，相较于 D-Gal 模型组，60、120 μg/mL 的 S6、夏佛塔苷和香蒲新苷处理明显抑制 SA-*β*-gal 活性，降低了染色阳性细胞所占比例，表明青刺尖样品 S6、夏佛塔苷和香蒲新苷具有较为显著的抗衰效果（*P*<0.01）；120 μg/mL 的芦丁对 D-Gal 诱导 HFF 衰老具有一定的抑制作用（*P*<0.05）。而 60、120 μg/mL 浓度下的碟豆素、水仙苷及 60 μg/mL 的芦丁对 SA-*β*-gal 活性及 HFF 衰老的延缓无明显的抑制作用。

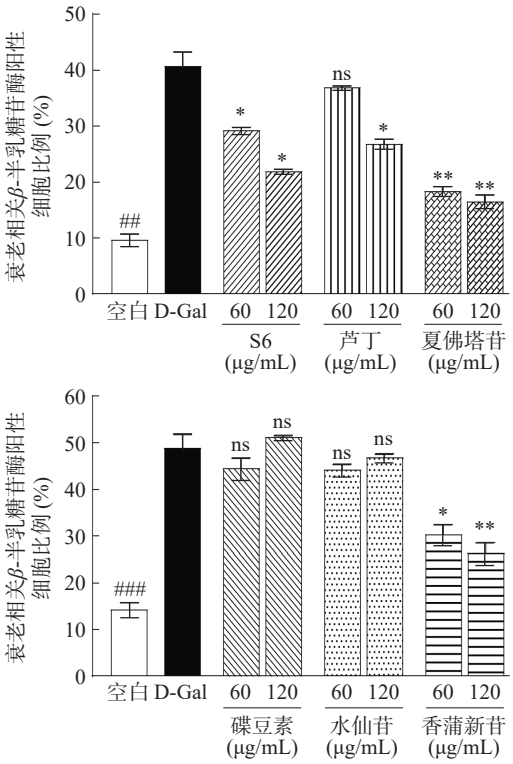


图 7　D-Gal 诱导 HFF 细胞衰老模型染色阳性细胞所占比例

Fig.7　Proportion of positively stained cells in the HFF cell aging model induced by D-galactose

注：###*P*<0.001 表示空白组与模型组对比，差异极显著；***P*<0.001 表示试验组与模型组对比，差异极显著，**P*<0.01 差异显著，**P*<0.05 表示具有统计学意义。

2.6.3.3　H_2O_2 诱导的 HFF 中衰老相关的氧化应激基因表达水平　H_2O_2 作为小分子氧化剂易于穿过细胞膜诱导产生自由基并触发抗氧化酶活力降低，破坏细胞抗氧化防御体系，导致细胞氧化损伤和老化，也是最常用细胞衰老诱导剂[39]。因此，以 H_2O_2 诱导培养的 HFF 细胞为模型，通过检测青刺尖成分对 HFF 细胞基质中衰老相关的氧化应激基因（*MMP-1*、*MMP-3*、*MMP-9*）mRNA 表达水平的影响，分析青刺尖及其化学成分的抗氧化作用。结果如图 8 所示，与空白组相比，H_2O_2 诱导的 HFF 衰老细胞中 *MMP-1*、*MMP-3* 和 *MMP-9* 的 mRNA 相对表达量显著增加（*P*<0.001），表明衰老模型构建成功。经待测样品

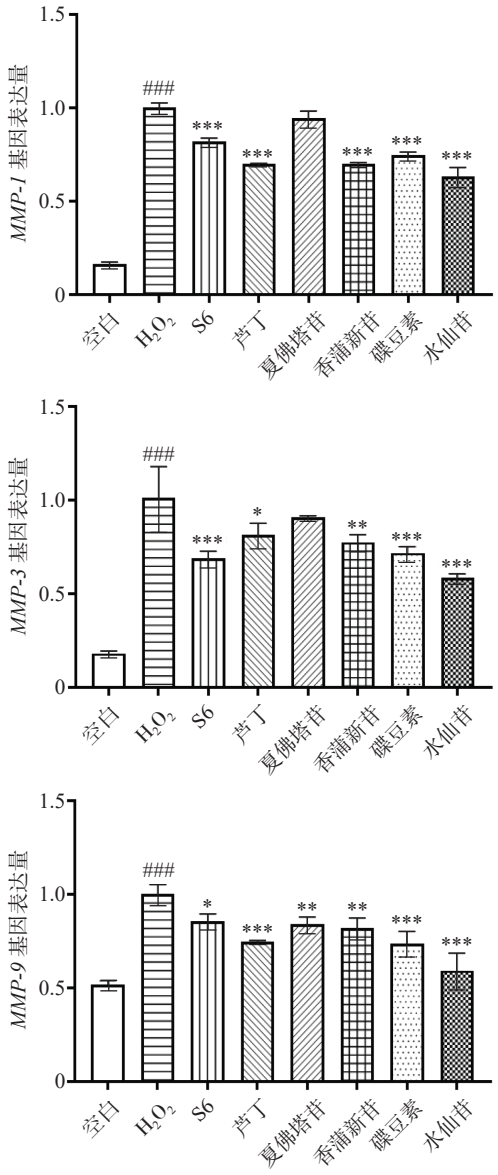


图 8　H_2O_2 诱导下 HFF 中氧化应激基因 *MMP-1*、*MMP-3*、*MMP-9* 的相对表达量

Fig.8　Relative expression levels of *MMP-1*, *MMP-3*, and *MMP-9* in HFF induced by hydrogen peroxide

注：###*P*<0.001 表示与空白组对比，差异极显著；*** *P*<0.001 表示与模型组对比，差异极显著，**P*<0.01，显著差异，**P*<0.05 表示具有统计学意义。

作用后，*MMP-1*、*MMP-3* 和 *MMP-9* 的表达量显著降低。具体情况为：相较于 H_2O_2 模型组，实验浓度 120 μg/mL 下，S6、香蒲新苷、蝶豆素和水仙苷均显著下调了 *MMP-1*、*MMP-3* 表达量（*P*<0.001）；芦丁组中 *MMP-1*、*MMP-9* 和 *MMP-3* 的相对表达量显著下调（*MMP-1*、*MMP-9*：*P*<0.001；*MMP-3*：*P*<0.05）；夏佛塔苷、香蒲新苷、蝶豆素和水仙苷组中 MMP-9 的相对表达量显著下调（*P*<0.001）。表明青刺尖样品及其化学成分（香蒲新苷、蝶豆素、水仙苷、芦丁和夏佛塔苷）可促进皮肤胶原蛋白合成并抑制其降解，具有潜在的抗衰老能力。结合各单体在青刺尖粗提物中含量的差异性，综上可推测青刺尖的抗氧化功效可能是由芦丁、水仙苷、香蒲新苷及碟豆素等多种化

学成分共同作用产生的结果。胡锡昌等[40] 采用异荭草素和水仙苷进行复配，有效降低了光老化 HaCaT 细胞中 *MMP-1* 和 IL-6、TNF-α 的分泌，一定程度上减轻了 I 型胶原蛋白降解并刺激 I 型胶原产生，从而预防或修复紫外线辐射引起的皮肤光老化问题。其他文献报道显示 10、20、40 mg/mL 的香蒲新苷作用于心肌梗死后心力衰竭大鼠，显著降低了 *MMP-2* 和 *MMP-9* 的表达水平，提示香蒲新苷可通过下调 *MMP-2* 和 *MMP-9* 的表达，从而抑制过度自噬[41]。进一步表明青刺尖提取物可能是通过多种成分的协调作用发挥抗氧化作用。

3 结论

本研究采用谱-效研究技术，首次建立青刺尖提取物的指纹图谱与 DPPH 自由基清除体外抗氧化活性之间数学模型，初步筛选出对抗氧化活性贡献较大的有效成分群，并通过 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS、HPLC 技术和标准品对比定性和定量了青刺尖提取物共有峰中的五种关键活性成分，再通过体外生化和细胞抗氧化活性实验验证，证实其具有显著的抗氧化活性，进一步确定初筛有效成分的可靠性。结果显示青刺尖的抗氧化功效可能是由芦丁、夏佛塔苷、香蒲新苷、水仙苷及碟豆素等多种化学成分共同作用产生的结果。该研究不仅为阐明青刺尖抗氧化活性物质基础提供了有效的研究基础和科学依据，还展示了其作为天然抗氧化剂和抗衰成分的潜在应用价值。作为云南的特色植物资源，本研究为青刺尖的深度开发提供了科学依据，并对功能性食品、保健品及药物领域的绿色天然产品开发具有重要参考意义。但由于天然产物组成复杂、成分多变，未来的研究应进一步明确其作用机制，并通过临床数据的积累全面评估其安全性和有效性。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 全国中草药汇编. 全国中草药汇编（第二版下册）[M]. 北京：人民卫生出版社, 1975, 349. [National Compilation of Chinese Herbal Medicines. National compilation of chinese herbal medicines (Second Edition)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1975, 349.]

[2] 韦群辉, 阮志国, 何晓山, 民族药青刺尖的生药学研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2002, 54(1): 51−54. [WEI Q H, RUAN Z G, HE X S. Pharmacognosy research on the ethnic medicine *Prinsepia utilis* Royle[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharma, 2002, 54(1): 51−54.]

[3] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志[M]. 北京：科学出版社, 1986, 38: 004. [Flora of China Editorial Committee of Chinese Academy of Sciences. The Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 1986, 38: 004.]

[4] 和建平, 李燕, 王宇萍, 等. 丽江木本油料青刺果资源调查[J]. 农学学报, 2020, 10(3): 55−63. [HE Jianping, LI Yan, WANG Yuping, et al. Germplasm resources of *Prinsepia utilis* royle in Lijiang[J]. Journal of Agriculture, 2020, 10(3): 55−63.]

[5] 廖汝丹. 民族药青刺尖的化学成分和药理作用研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2014, 35(5): 87−88. [LIAO R D. Research progress on the chemical constituents and pharmacological effects of ethnic medicine *Prinsepia utilis* Royle[J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2014, 35(5): 87−88.]

[6] 赵燕强, 赵颖, 杨立新. 青刺及其护肤相关传统知识的民族植物学研究[J]. 广西植物, 2023, 43(10): 1941−1953. [ZHAO Yanqiang, ZHAO Ying, YANG Lixin. Ethnobotanical study on *Prinsepia utilis* and relatedtraditional knowledge with skin care[J]. Guihaia, 2023, 43(10): 1941−1953.]

[7] 龚薇, 张云蓉, 施忠芬, 等. 药食两用高原蜜源植物—青刺尖[J]. 蜜蜂杂志, 2023, 5: 45−46. [GONG W, ZHANG Y R, SHI Z F, et al. Medicinal and edible plateau nectar plant *Prinsepia utilis* Royle[J]. Journal of Bee, 2023, 5: 45−46.]

[8] 邵金良, 黎其万, 刘家富, 等. 青刺尖中水解氨基酸含量测定分析[J]. 中国食品添加剂, 2007(5): 148−152. [SHAO Jinliang, LI Qiwan, LIU Jiafu, et al. Determination and analysis of hydrolyzed amino acids content in *Prinsepia utilis* poyle[J]. China Food Additives, 2007(5): 148−152.]

[9] 杨立新. 纳西族护肤植物及其传统知识的调查与评价[D]. 北京: 中央民族大学, 2015. [YANG LX. Investigation and evaluation of Naxi skin care plants and their traditional knowledge[D]. Beijing: Minzu University of China, 2015.]

[10] 刘刚, 方玉, 杨妍, 等. 青刺尖茶抑菌作用的初步研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(14): 114−117,122. [LIU Gang, FANG Yu, YANG Yan, et al. Basic study on antimicrobial actions of *Prinsepia utilis* tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(14): 114−117,122.]

[11] SHEN Wei, LI Siyuan, PAN Yuqing, et al. *Prinsepia utilis* Royle leaf extract: Ameliorative effects on allergic inflammation and skin lesions in allergic contact dermatitis and polyphenolic profiling through UPLC–MS/MS coupled to chemometric analysis[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 305: 116093.

[12] 杨天龙, 郑振兴, 张传洋, 等. 青刺尖的体外抑菌作用初步研究[J]. 中药与临床, 2020, 11(4): 21−23. [YANG Tianlong, ZHENG Zhenxing, ZHANG Chuanyang, et al. Preliminary *in vitro* study on bacteriostatic effect of Qingcijian[J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2020, 11(4): 21−23.]

[13] 金家宏, 宋肖洁, 摩根·多斯桑托斯. 一种青刺尖嫩叶提取物及其制备方法和应用: 中国, CN 105982979A[P]. 2016-10-05. [JIN J H, SONG X J, Morgan D S. An extract from leaves of *Prinsepia utilis* Royle and its preparation method and application: China, CN 105982979A[P]. 2016-10-05.]

[14] ZHENG Yue, ZHAO Lei, YI Junjie. Phytochemical characterization and antioxidant and enzyme inhibitory activities of different parts of *Prinsepia utilis* royle[J]. Journal of Food Quality, 2022, 2022(1): 9739851.

[15] GUPTA R, GOYAL R, BHATTACHARYA S, et al. Antioxidative *in vitro* and antiosteoporotic activities of *Prinsepia utilis* Royle in female rats[J]. European Journal of Integrative Medicine, 2015, 7(2): 157−163.

[16] BAGALE R, ACHARYA S, GUPTA A, et al. Antibacterial and antioxidant activities of *Prinsepia utilis* royle leaf and seed extracts[J]. Journal of Tropical Medicine, 2022, 2022(1): 3898939.

[17] XU Fanghua, YI Xuetao, ZHANG Xin, et al. Identification of anti-photoaging components of *Olea europaea* leaves based on spectrum-effect relationship[J]. Journal of Chromatography B, 2023, 1226: 123807.

[18] 张强, 杨宇婷. 中药谱效关系研究现状概述[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(3): 680−683. [ZHANG Qiang, YANG Yuting. Overview of the research status of the relationship between spec-

trum and effect of traditional Chinese medicine[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2022, 33(3): 680−683.]
[19] 巫梦莹, 陈慧芳, 程冉冉, 等. 基于谱-效关系筛选菊茎叶总黄酮抗氧化物质基础及其机制探讨[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(3): 464−477. [WU Mengying, CHEN Huifang, CHENG Ranran, et al. Screening of antioxidative material basis of total flavonoids from stems and leaves of *Chrysanthemum morifolium* based on the spectrum-effect relationship and its mechanism[J]. Natural Product Research and Development, 2024, 36(3): 464−477.]
[20] 段天华, 徐荣荣, 李蕊, 等. 祁白芷 UPLC 指纹图谱的建立及其抗氧化谱效关系研究[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(10): 896−903. [DUAN Tianhua, XU Rongrong, LI Rui, et al. Establishment of UPLC fingerprint and effects of antioxidant related to its spectrum study of *Angelica dahurica* cv. qibaizhi[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2024, 59(10): 896−903.]
[21] 李佳荣, 刘美, 邓莎, 等. 不同产地黑豆质量评价[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2554−2559. [LI Jiarong, LIU Mei, DENG Sha, et al. Quality assessment for Sojae Semen Nigrum from different habitats[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(8): 2554−2559.]
[22] 王媛媛, 胡卫, 胡殿文. 基于随机森林的紫苏抗氧化活性成分分析[J]. 长春师范大学学报, 2020, 39(12): 94−99. [WANG Yuanyuan, HU Wei, HU Dianwen. Analysis of antioxidant components from *Perilla frutescens* based on random forest method[J]. Journal of Changchun Normal University, 2020, 39(12): 94−99.]
[23] KAWAMURA A, MIZUNO A, KURAKAKE M, et al. Inaoside A: New antioxidant phenolic compound from the edible mushroom *Laetiporus cremeiporus*[J]. Heliyon, 2024, 10(3): e24651.
[24] 彭勃, 虞世帅, 曲丽萍, 等. 云南酸木瓜提取物化学成分及抗氧化和抗炎活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 304−312. [PENG Bo, YU Shishuai, QU Liping, et al. Chemical constituents, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Chaenomeles spec iosa*(sweet) nakai extract from Yunnan[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 304−312.]
[25] MENG Chengbo, WU Shengnan, XING Da. Efficacy of low-power laser irradiation in the prevention of D-galactose-induced senescence in human dermal fibroblasts[J]. Mechanisms for Low-Light Therapy VI, 2011, 7887: 78870P.
[26] PAN Shengsheng, GONG Siyu, ZHANG Jingjuan, et al. Anti-aging effects of fetal dermal mesenchymal stem cells in a D-galactose-induced aging model of adult dermal fibroblasts[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology. Animal, 2021, 57(8): 795−807.
[27] 杨建平, 张文娟, 荆春霞, 等. 过氧化氢诱导细胞早衰中基因表达及端粒酶活力的变化[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2017, 35(1): 15−18. [YANG J P, ZHANG W J, JING C X, et al. Changes of the expression for genes related with senescence and the telomerase activity during cellular replicative and premature senescence in human embryonic lung fibroblasts[J]. Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, 2017, 35(1): 15−18.]
[28] 杨欢, 曾利, 邓放, 等. 基于 UHPLC-Q/Orbitrap HRMS 技术的民族药青刺尖化学成分分析[J]. 中药材, 2022, 45(9): 2144−2150. [YANG H, ZENG L, DENG F, et al. Chemical composition analysis of *Prinsepia utilis* Royle based on UHPLC-Q/ Orbitrap HRMS technology[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2022, 45(9): 2144−2150.]
[29] 田合, 王苗苗, 谢军, 等. 薰衣草 UPLC 指纹图谱及抗氧化活性谱效关系研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(12): 37−45. [TIAN He, WANG Miaomiao, XIE Jun, et al. Study on the spectrum-effect relationship between UPLC fingerprint of lavender and its antioxidant activity[J]. China Food Additives, 2024, 35(12): 37−45.]
[30] 余欣彤, 曹嵌, 张兰兰, 等. 木棉花不同部位 UPLC 指纹图谱建立及抗氧化谱效关系研究[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(22): 2132−2139. [YU Xintong, CAO Qian, ZHANG Lanlan, et al. Establishment of UPLC fingerprint of different parts of gossampim *Flos* and study on spectrum effect relationship[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2024, 59(22): 2132−2139.]
[31] 李东辉, 吴红伟, 李国峰, 等. 大黄总多酚、总蒽醌含量测定及体外抗氧化作用的谱效关系研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(4): 541−552. [LI Donghui, WU Hongwei, LI Guofeng, et al. Study on content of total polyphenols and total anthraquinones in rhubarb and its spectrum-effect relationship of anti-oxidation *in vitro*[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(4): 541−552.]
[32] ZHOU Yufeng, CAO Yuanxiao, LI Jiaxun, et al. Screening and characterization of phenolic compounds by LC-ESI-QTOF-MS/MS and their antioxidant potentials in *Papaya* fruit and their by-products activities[J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102480.
[33] HUANG Shiqi, MA Yanli, ZHANG Chengting, et al. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolics in native and fermented *Prinsepia utilis* Royle seed during a simulated gastrointestinal digestion *in vitro*[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 37: 354−362.
[34] ZHANG Chengting, MA Yanli, GAO Fanding, et al. The free, esterified, and insoluble-bound phenolic profiles of *Rhus chinensis* Mill. fruits and their pancreatic lipase inhibitory activities with molecular docking analysis[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 40: 729−735.
[35] 曲丽萍, 周琪, 王飞飞, 等. 一种青刺尖茎叶黄酮提取物的定性分析方法: CN202110309957.4[P]. 2022-11-18. [QU L P, ZHOU Q, WANG F F, et al. A qualitative analysis method for flavonoid extracts from the young shoots and leaves of prinsepia utilis royle: CN202110309957.4[P]. 2022-11-18.]
[36] PENG Ying, PENG Chongsheng, WU Yang, et al. Chemical profiles of the active fraction from *Prinsepia utilis* Royle leaves and its anti-benign prostatic hyperplasia evaluation in animal models[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2021, 21(1): 272.
[37] LYU Qiang, KUO Tinghao, SUN Chongde, et al. Comprehensive structural characterization of phenolics in *Litchi* pulp using tandem mass spectral molecular networking[J]. Food Chemistry, 2019, 282: 9−17.
[38] ZHANG Xuan, JIA Yijia, MA Yanli, et al. Phenolic composition, antioxidant properties, and inhibition toward digestive enzymes with molecular docking analysis of different fractions from *Prinsepia utilis* royle fruits[J]. Molecules, 2018, 23(12): 3373.
[39] 武涛, 刘慧, 庄开颜, 等. 肌肽对 H_2O_2 诱导 HSF 细胞的氧化应激损伤的保护作用研究[J]. 轻工科技, 2024, 40(3): 148−152. [WU T, LIU H, ZHUANG K Y. Study on the protective effect of carnosine against oxidative stress damage induced by H_2O_2 in HSF cells[J]. Light Industry Science and Technology, 2024, 40(3): 148−152.]
[40] 胡锡昌, 张衍湖, 沈志滨, 等. 具有抗紫外辐射功效的皮肤外用组合物及其用途: 中国, CN 115531404[P]. 2022-12-30. [HU X C, ZHANG Y H, SHEN Z B, et al. Topical skin composition with anti-ultraviolet radiation efficacy and its use: China, CN 115531404[P]. 2022-12-30.]
[41] ZHANG X, YANG K, ZHANG H, et al. Effect of typhaneoside on ventricular remodeling and regulation of PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Herz, 2020, 45(Suppl 1): 113−122.