

冀产野生青翘 UPLC 指纹图谱的建立及其抗氧化谱效关系研究

徐荣荣, 段天华, 李蕊, 田伟, 牛丽颖, 王鑫国*, 冯薇* (河北中医药大学药学院, 河北省中药配方颗粒技术创新中心, 中药材品质评价与标准化河北省工程研究中心, 石家庄 050091)

摘要:目的 建立冀产野生青翘药材的超高效液相色谱 (ultra-high-performance liquid chromatography, UPLC) 指纹图谱, 分析指纹图谱与抗氧化作用的关联性, 初步确定其抗氧化活性物质, 为控制冀产野生青翘药材的质量提供依据。方法 采用 UPLC 法建立 29 批冀产野生青翘的指纹图谱, 并采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱 (ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS) 对共有峰进行成分鉴定。以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼法 (DPPH 法) 和 2,2-联氮-二(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐法 (ABTS 法) 自由基清除率为抗氧化作用的指标, 评价冀产野生青翘药材的抗氧化活性。采用灰色关联度法和偏最小二乘回归分析冀产野生青翘共有峰与抗氧化活性的谱效关系。结果 建立了 29 批冀产野生青翘药材的 UPLC 指纹图谱, 相似度均在 0.950~0.999 之间。共标定 20 个共有峰, 利用对照品对比和 UPLC-Q-TOF-MS 解析指认出共有峰。通过清除 DPPH 和 ABTS 自由基实验发现, 29 批冀产野生青翘均具有抗氧化能力, 谱效分析结果显示, 枸橼酸、rengynic acid-1'-O- β -D-glucoside、连翘酸等 9 个成分与抗氧化能力呈正相关。综合两种统计模型, 可推测连翘酯苷 A、鼠李素、阿魏酸是冀产野生青翘发挥抗氧化活性的主要成分。结论 本实验建立了基于化学成分和抗氧化活性的冀产野生青翘质量评价模式, 可为冀产野生青翘的物质基础与质量控制研究提供参考。

关键词:青翘; 指纹图谱; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 抗氧化; 谱效关系

doi: 10.11669/cpj.2025.06.004 中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2025)06-0579-10

Establishment of UPLC Fingerprint of Wild Qingqiao from Hebei Province and Study on Its Antioxidant Spectrum-Effect Relationship

XU Rongrong, DUAN Tianhua, LI Rui, TIAN Wei, NIU Liying, WANG Xinguo*, FENG Wei* (School of Pharmaceutical Sciences, Hebei University of Chinese Medicine, Hebei Traditional Chinese Medicine Formula Granule Technology Innovate Center, Quality Evaluation and Standardization Hebei Province Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the UPLC fingerprint of wild Qingqiao from Hebei province, analyze the correlation between fingerprint and antioxidant effect, and preliminarily determine its antioxidant active substances, so as to provide a basis for controlling the quality of wild Qingqiao from Hebei province. **METHODS** The fingerprints of 29 batches of wild Qingqiao from Hebei province were established by UPLC, and the common peaks were identified by UPLC-Q-TOF-MS. The free radical scavenging rate of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method and 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) method was used as the antioxidant index to evaluate the antioxidant activity of wild Qingqiao from Hebei province. The spectrum-effect relationship between common peaks and antioxidant activity of wild Qingqiao from Hebei province was analyzed by grey correlation method and partial least squares regression. **RESULTS** The UPLC fingerprints of 29 batches of wild Qingqiao from Hebei province were established, and the similarity was between 0.950 and 0.999. A total of 20 common peaks were identified. The common peaks were identified by comparison of standards and UPLC-Q-TOF-MS analysis as citric acid, rengynic acid-1'-O- β -D-glucoside, rengynic acid, renyol, forsythoside D, adoxosidic acid, forsythide, forsythenside B, 4-hydroxybenzaldehyde, (+)-epipinoresinol-4'-O- β -D-glucoside, forsythoside J, forsythoside A, calcelarioside A, rutin, isoquercetin, rhamnetin, ferulic acid, forsythin, pinoresinol and forsythigenin. By scavenging DPPH and ABTS free radicals, it was found that 29 batches of wild Qingqiao from Hebei province had antioxidant capacity. The results of spectrum-effect analysis showed that 9 components such as citric acid, rengynic acid-1'-O- β -D-glucoside and rengynic acid were positively correlated with antioxidant capacity. Based on the two statistical models, it can be inferred that forsythoside A, rhamnetin and ferulic acid are the main components of the antioxidant activity of wild Qingqiao from Hebei province.

基金项目:河北省省级科技计划项目资助(21372503D)

作者简介:徐荣荣,女,硕士 研究方向:中药药效物质基础 *通讯作者:冯薇,女,博士,教授,博士生导师 研究方向:中药药效物质基础 Tel:(0311)85216828;王鑫国,男,学士,教授 研究方向:中药药效物质基础 Tel:(0311)89926208

CONCLUSION In this study, a quality evaluation model based on chemical composition and antioxidant activity was established, which could provide reference for the antioxidant active ingredients and quality control of wild *Forsythiae Fructus* from Hebei.

KEY WORDS: Hebei wild Qingqiao; fingerprint; UPLC-Q-TOF-MS; antioxidation; spectrum-effect relationship

连翘是木犀科植物连翘 [*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl] 的干燥果实,用于治疗风热感冒、温病初起、乳痈、丹毒、瘰疬等症。秋季果实初熟尚带绿色时采收,除去杂质,蒸熟晒干,习称“青翘”;果实熟透时采收,晒干,除去杂质,习称“老翘”^[1]。连翘为我国 40 种常用大宗药材之一,年产量约在 5×10^6 kg 以上,目前连翘药材来源以野生为主^[2],河北省作为我国传统大宗药材连翘的三大主产区之一,野生资源蕴藏量大。有研究表明,青翘和老翘在很多方面存在差异,首先在化学成分方面,青翘中黄酮类、木脂素类、挥发油类等多种化学成分的含量均高于老翘^[3-4];其次在药效方面,青翘与老翘均有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用,其中青翘的抗氧化、抗炎作用优于老翘^[5],且青翘的临床用药量远高于老翘^[6],因此冀产野生青翘成为市场流通中的主流产品。现代药理学研究表明,连翘具有抗菌^[7]、抗病毒^[8]、抗炎^[9]、抗氧化^[10]、止吐^[11]、抗肿瘤^[12]等作用,并具有肝保护^[13]、神经保护^[14-15]和心血管保护^[16]作用。其中,连翘保护线粒体、抗衰老、清除自由基、美白等药理活性的作用机制可能与抗氧化活性有关^[17-19]。连翘中含有连翘苷、连翘酯苷 A、连翘脂素等多种化学成分,这些化合物具有较强的抗氧化、抗病毒等生物活性^[20]。目前针对连翘的研究多集中在连翘的化学成分、质量标准和药理作用等方面,而针对冀产野生青翘的指纹图谱和抗氧化谱效关系的研究报道较少。随着药理作用研究的不断深入,其药效物质基础的快速分析鉴定更是需要关注的方面^[21]。中药指纹图谱可以在整体水平上阐明中药的化学成分组成,可以作为评价中药材质量的方法之一,但不能直接对其功效进行评价,因此存在着一定的局限性^[22]。将中药指纹图谱与中药药效结果联系起来,建立具有实际意义的中药谱效关系,能为中药的质量控制和药效评价标准提供科学依据^[23]。

本实验采用超高效液相色谱 (ultra-high-performance liquid chromatography, UPLC) 法建立冀产野生青翘的指纹图谱,并对药材中的共有峰进行鉴定,利用 1,1-苯基-2-三硝基苯肼法 (DPPH 法) 和 2,2-联氮-二(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐法 (ABTS 法) 检测体外抗氧化能力,结合灰色关联度

分析和偏最小二乘回归分析,研究药材中共有峰与抗氧化活性的谱效关系^[24],初步确定其抗氧化活性物质,为冀产野生青翘的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters H-Class 型超高效液相色谱仪 (PDA 检测器,美国 Waters 公司); Triple-TOFTM 6600⁺ 型四极杆串联飞行时间高分辨质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司); Analyst TF 1.8.1 数据采集软件、PeakView 1.2 数据处理软件 (美国 AB SCIEX 公司); YB-150 型多功能粉碎机 (永康市速锋工贸有限公司); CPA225D 型电子天平、BSA224S-CW 型电子天平 (德国赛多利斯有限公司); KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); H2050R 高速离心机 (湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司); ELx800 型酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司)。

1.2 试剂

连翘酯苷 A、松脂醇对照品 (成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为 22012104、20092410); 连翘脂素、芦丁对照品 (成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 CHB201204、CHB-L-062); 连翘苷对照品 (成都乐美天医药科技有限公司,批号为 DSTDL004802); 总抗氧化能力 (DPPH 法) 试剂盒 (苏州科铭生物技术有限公司); 总抗氧化能力 (ABTS 法) 试剂盒 (苏州科铭生物技术有限公司)。乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯,实验用水为超纯水,由 UPR-11-20L 型优普系列超纯水机制备。

1.3 药材

所收集 29 批样品 (安国市场直销的野生连翘商户),经河北中医药大学侯芳洁副教授鉴定为木犀科植物连翘 [*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl] 的干燥果实,多不开裂,表面绿褐色,为青翘。样品信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 连翘指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为菲罗门 Titank C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm); 流动相为乙腈

表1 冀产野生青翘样品采集信息表

Tab. 1 Sample collection information table of wild Qingqiao from Hebei province

No.	Place of origin (in Chinese)	Collection time	No.	Place of origin (in Chinese)	Collection time
S1	Yixian Hebei(河北易县)	2022-7	S16	Handan Hebei(河北邯郸)	2023-8
S2	Yixian, Hebei(河北易县)	2023-7	S17	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8
S3	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8	S18	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8
S4	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S19	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8
S5	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S20	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8
S6	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S21	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8
S7	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S22	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2023-8
S8	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S23	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2022-8
S9	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S24	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2023-8
S10	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S25	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2023-8
S11	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8	S26	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2022-8
S12	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S27	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2023-8
S13	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8	S28	Shijiazhuang, Hebei(河北石家庄)	2023-8
S14	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8	S29	Handan, Hebei(河北邯郸)	2023-8
S15	Handan, Hebei(河北邯郸)	2022-8			

(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~4 min, 5%~11% A; 4~7 min, 11%~19% A; 7~14 min, 19% A; 14~16 min, 19%~26% A; 16~19 min, 26%~48% A; 19~24 min, 48%~70% A; 24~27 min, 70%~85% A; 27~29 min, 85%~5% A); 流速:0.3 mL·min⁻¹; 柱温:30℃; 进样量:0.4 μL。采用定时波长(0~13 min, 265 nm; 13~19 min, 260 nm; 19~21 min, 270 nm; 21~22 min, 275 nm; 22~29 min, 280 nm)。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称定连翘酯苷A、芦丁、松脂醇、连翘苷、连翘脂素对照品适量,加甲醇溶解,分别制成单一对照品储备液。精密量取上述对照品储备液适量,加甲醇稀释并定容至2 mL,制成质量浓度分别为447.40、15.40、1.90、4.18、0.13 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取连翘药材粉末(过60目筛)1.0 g,精密称定,置于50 mL锥形瓶中,精密加入体积分数70%甲醇20 mL,称定质量,超声处理(功率250 W,频率40 kHz)30 min,取出,放至室温,再次称重,用体积分数70%甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液即得。

2.2 指纹图谱方法学考察

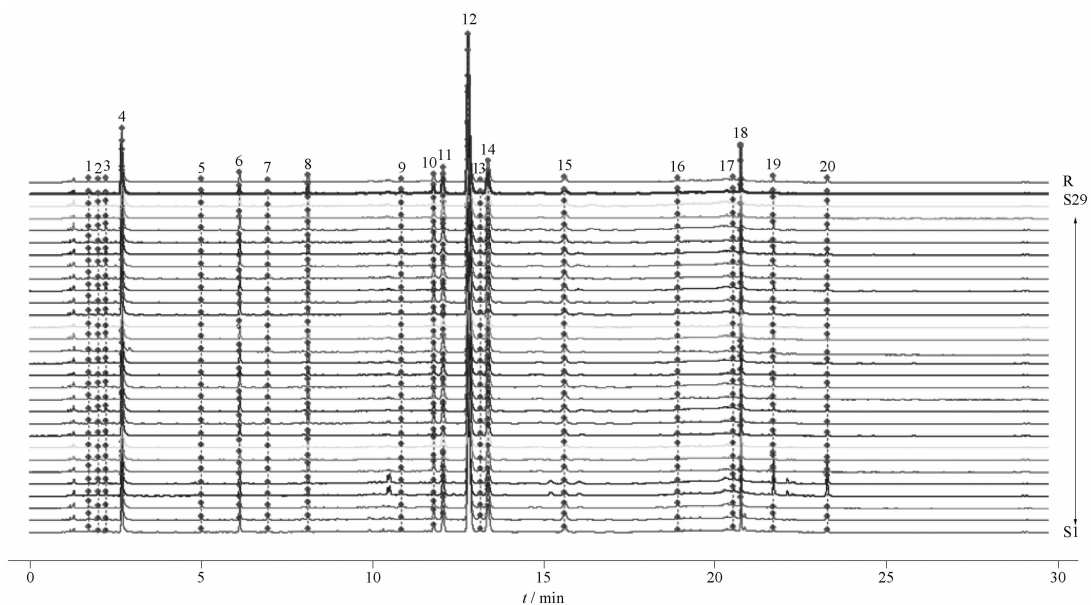
2.2.1 精密度实验 取S6号连翘药材粉末,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,连续进样6次,以12号色谱峰(连翘酯苷A)为参照峰,计算图谱中各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的相对标准偏差(RSD)。结果显示,各共有峰相对保留时间的RSD为0.02%~0.30%,相对峰面积的RSD为1.28%~2.96%,表明仪器精密度良好。

2.2.2 重复性实验 取S6号连翘药材粉末6份,按“2.1.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以12号色谱峰(连翘酯苷A)为参照峰,计算图谱中各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的RSD。结果显示,各共有峰相对保留时间的RSD为0.07%~0.36%,相对峰面积的RSD为1.80%~2.85%,表明该方法重复性良好。

2.2.3 稳定性实验 取S6号连翘药材粉末,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,分别于0、2、4、8、12、24 h进样测定,以12号色谱峰(连翘酯苷A)为参照峰,计算图谱中各共有峰的相对峰面积和相对保留时间的RSD。结果显示,各共有峰相对保留时间的RSD为0.16%~0.84%,相对峰面积的RSD为2.03%~2.56%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3 对照指纹图谱的生成与相似度评价

分别取29批冀产野生青翘药材粉末,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。将所得29批药材的图谱文件导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),以S1为参照图谱,设置时间窗宽度为0.1,并基于中位数法生成对照指纹图谱,运用多点校正进行Mark色谱峰匹配,计算其相似度。结果表明,29批冀产野生青翘样品的相似度均在0.950~0.999之间。共标定20个共有峰,与对照品溶液色谱峰的保留时间进行对比,确定色谱峰12为连翘酯苷A,峰14为芦丁,峰18为连翘苷,峰19为松脂醇,峰20为连翘脂素。29批冀产野生青翘的UPLC指纹图谱见图1。29批冀产野生青翘对照指纹图谱见图2A,混合对照品溶液色谱图见图2B。

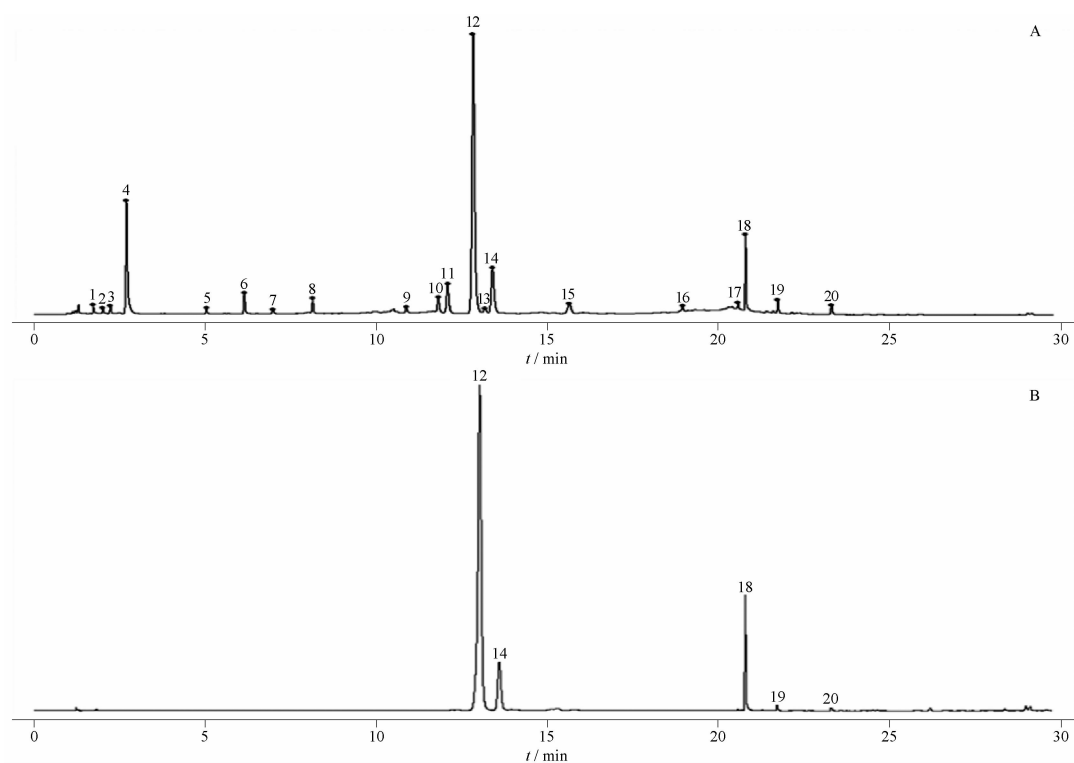


1 ~ 11, 13, 15 ~ 17 - 未知峰; 12 - 连翘酯苷 A; 14 - 芦丁; 18 - 连翘苷; 19 - 松脂醇; 20 - 连翘脂素。

1 - 11, 13, 15 - 17 - unknown peak; 12 - forsythiaside A; 14 - rutin; 18 - forsythin; 19 - pinoresinol; 20 - forsythigenin.

图 1 29 批冀产野生青翘样品的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱

Fig. 1 UPLC fingerprint of 29 batches of wild Qingqiao from Hebei province



1 ~ 11, 13, 15 ~ 17 - 未知峰; 12 - 连翘酯苷 A; 14 - 芦丁; 18 - 连翘苷; 19 - 松脂醇; 20 - 连翘脂素。

1 - 11, 13, 15 - 17 - unknown peak; 12 - forsythiaside A; 14 - rutin; 18 - forsythin; 19 - pinoresinol; 20 - forsythigenin.

图 2 冀产野生青翘(A)及混合对照品(B)的 UPLC 特征图谱

Fig. 2 UPLC control fingerprint of wild Qingqiao from Hebei province(A) and mixed reference substance (B)

2.4 指纹图谱中共有峰的鉴定

式下分析检测样品。

2.4.1 质谱条件 离子模式: 分别在正、负离子模

仪器参数优化后设置如下: 离子源(正离子模

式):电喷雾离子源(ESI⁺);雾化电压(ISVF):+5 500V;雾化温度(TEM):500 °C;解簇电压(DP):+80 V;碰撞能量(CE):+45 eV;雾化气压力(Gas 1, N₂)、辅助气压力(Gas 2, N₂)、气帘气压力(Cur, N₂)分别为:50、55、35 MPa;高分辨质谱扫描质量范围设置为 *m/z* 100 ~ 1 200,累积时间:250 ms;碎片离子扫描质量范围设置为 50 ~ 1 200,累积时间:100 ms。碰撞能量扩展(CES):15 eV。信息依赖获取(IDA)方式开启。

离子源(负离子模式):ESI⁻;雾化电压(ISVF):-4 500 V;TEM:500 °C;DP:-80 V;CE:-45 eV;Gas 1、Gas 2、Cur 分别为:50、55、35 MPa;其余各时间等参数同正离子模式保持一致。

2.4.2 共有峰鉴定 按“2.1.3”项下制备供试品溶液、“2.1.1”项下色谱条件和“2.4.1”项下质谱条件获得连翘的正、负离子流图,通过采用 PeakView 1.2 软件中“XIC Manager”功能进行数据分析,通过

比对精确相对分子质量和特征碎片离子,鉴定出连翘指纹图谱中共有峰的结构^[25],结果见表 2,冀产野生青翘的正、负离子全扫描离子流图见图 3。连翘的主要化学成分有苯乙醇苷类和木脂素类,其中苯乙醇苷类成分的结构通常是由苯乙醇基和糖基构成,母核通常为 β-葡萄糖,苯乙基和羟基被羟基或甲氧基取代,肉桂酰基被甲氧基取代,通过酯键或糖苷键形成天然糖苷类化合物^[26]。以连翘酯苷 A(峰 12)为例,在负离子模式下,其准分子离子峰为 *m/z* 623. 199 8 [M - H]⁻,其二级碎片离子有 *m/z* 461. 167 1 [M - H - C₆H₁₀O₅]⁻, *m/z* 443. 156 3 [M - H - C₆H₁₀O₅ - H₂O]⁻, *m/z* 179. 035 4 [M - H - C₆H₁₀O₅ - H₂O - C₁₃H₁₂O₆]⁻, *m/z* 161. 024 8 [M - H - C₆H₁₀O₅ - C₁₃H₁₂O₆ - 2H₂O]⁻,结合裂解规律及对对照品比对,推断其为连翘酯苷 A,连翘酯苷 A 的二级质谱及裂解途径见图 4^[27]。

表 2 冀产野生青翘共有峰的鉴定

Tab. 2 Identification of common peaks of wild Qingqiao from Hebei province

Peak No.	Formula	Molecular ion peak	Observe mass (<i>m/z</i>)	δ × 10 ⁻⁶	Predicted compounds	MS/MS fragments (<i>m/z</i>)	References
1	C ₆ H ₈ O ₇	[M - H] ⁻	191. 019 73	2. 3	Citric acid	111. 008 9 [M - H - H ₂ O - CO ₂ - H ₂ O] ⁻ ; 87. 008 8 [M - H - H ₂ O - CO ₂ - C ₂ H ₂ O] ⁻	[27]
2	C ₁₄ H ₂₄ O ₉	[M - H] ⁻	335. 134 76	1. 4	Rengynic acid-1'-O-β-D-glucoside	155. 071 7 [M - H - Glu - H ₂ O] ⁻	[25]
3	C ₈ H ₁₄ O ₄	[M - H] ⁻	173. 081 93	-0. 2	Rengynic acid	111. 047 1 [M - H - H ₂ O - COO] ⁻	[25-26]
4	C ₈ H ₁₆ O ₃	[M + H] ⁺	161. 117 22	-4. 6	Rengyol	105. 067 4 [M + H - C ₃ H ₄ O] ⁺ ; 91. 053 9 [M + H - C ₃ H ₄ O - CH ₂] ⁺ ; 77. 038 4 [M + H - C ₃ H ₄ O - 2CH ₂] ⁺	[28]
5	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₃	[M - H] ⁻	477. 161 37	-2	Forsythoside D	477. 160 4 [M - H] ⁻ ; 221. 072 3 [M - H - C ₆ H ₁₀ O ₄ - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻	[26]
6	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	[M - H] ⁻	375. 129 67	2. 7	Adoxosidic acid	213. 014 2 [M - H - Glu] ⁻ ; 169. 087 1 [M - H - Glu - CO ₂] ⁻ ; 151. 076 6 [M - H - Glu - CO ₂ - H ₂ O] ⁻	[25]
7	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	[M - H] ⁻	389. 108 94	0. 8	Forsythide	345. 116 9 [M - H - COO] ⁻ ; 183. 065 3 [M - H - COO - Glu] ⁻ ; 165. 055 0 [M - H - COO - Glu - H ₂ O] ⁻	[25]
8	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₁	[M + H] ⁺	467. 154 79	0. 3	Forsythenside B	245. 080 7 [M + H - C ₁₁ H ₁₀ O ₅] ⁺ ; 227. 067 2 [M + H - C ₁₁ H ₁₀ O ₅ - H ₂ O] ⁺ ; 199. 058 6 [M + H - C ₁₁ H ₁₀ O ₅ - H ₂ O - CO] ⁺	[26]
9	C ₇ H ₆ O ₂	[M - H] ⁻	121. 029 50	-3. 8	4-Hydroxybenzaldehyde	121. 022 9 [M - H] ⁻ ; 93. 031 7 [M - H - CO] ⁻	[28]
10	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	[M + H] ⁺	521. 201 74	-4. 4	Epipinosinol-4'-O-β-D-glucoside	341. 137 9 [M + H - Glc - H ₂ O] ⁺ ; 326. 963 4 [M + H - Glc - H ₂ O - CH ₃] ⁺	[26]
11	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	[M - H] ⁻	609. 182 49	1	Forsythoside J	447. 152 4 [M - H - Glu] ⁻ ; 429. 076 2 [M - H - Glu - H ₂ O] ⁻	[25]
12 ¹⁾	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M - H] ⁻	623. 198 14	1	Forsythoside A	461. 167 1 [M - H - C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ ; 443. 156 3 [M - H - C ₆ H ₁₀ O ₅ - H ₂ O] ⁻ ; 179. 034 8 [M - H - C ₆ H ₁₀ O ₅ - H ₂ O - C ₁₃ H ₁₂ O ₆] ⁻ ; 161. 024 2 [M - H - C ₆ H ₁₀ O ₅ - C ₁₃ H ₁₂ O ₆ - 2H ₂ O] ⁻	[25, 27]
13	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₁	[M - H] ⁻	477. 140 24	-0. 2	Calcelarioside A	477. 139 6 [M - H] ⁻ ; 179. 034 8 [M - H - C ₁₄ H ₁₈ O ₇] ⁻ ; 161. 024 2 [M - H - C ₁₄ H ₁₈ O ₇ - H ₂ O] ⁻ ; 133. 029 0 [M - H - C ₁₄ H ₁₈ O ₇ - H ₂ O - CO] ⁻	[26]

续表 2 (continued)

Peak No.	Formula	Molecular ion peak	Observe mass (m/z)	$\delta \times 10^{-6}$	Predicted compounds	MS/MS fragments (m/z)	References
14 ¹⁾	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M - H] ⁻	609.146 11	1	Rutin	301.036 5 [M - H - Rha - Glu] ⁻ ; 178.998 6 [M - H - Rha - Glu - C ₇ H ₇ O ₂] ⁻ ; 151.003 8 [M - H - Rha - Glu - C ₈ H ₆ O ₃] ⁻	[25]
15	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M + H] ⁺	465.102 75	-1.2	Isoquercetin	303.049 3 [M + H - C ₆ H ₆ O ₅] ⁺ ; 153.016 8 [M + H - C ₆ H ₆ O ₅ - C ₈ H ₆ O ₃] ⁺	[25]
16	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M + H] ⁺	317.065 58	-3.2	Rhamnetin	317.061 0 [M + H] ⁺ ; 273.033 9 [M + H - 2CO] ⁺ ; 153.016 8 [RDA fragment] ⁺	[28]
17	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M - H] ⁻	193.050 63	-1.1	Ferulic acid	133.029 0 [M - H - CH ₃ - COOH] ⁻	[26]
18 ¹⁾	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	[M + H] ⁺	535.217 39	-3.1	Forsythin	355.125 8 [M + H - Glu - H ₂ O] ⁺	[25-26]
19 ¹⁾	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	[M - H] ⁻	357.134 36	-1.5	Pinoreosinol	189.262 0 [M - H - C ₉ H ₁₂ O ₃] ⁻ ; 163.040 3 [M - H - C ₉ H ₁₂ O ₃ - C ₂ H ₂] ⁻ ; 135.045 2 [M - H - C ₉ H ₁₂ O ₃ - C ₂ H ₂ - CO] ⁻	[25]
20 ¹⁾	C ₂₁ H ₂₄ O ₆	[M + H] ⁺	373.164 57	-0.2	Forsythigenin	325.032 6 [M + H - H ₂ O - 2CH ₃] ⁺ ; 311.128 3 [M + H - 2OCH ₃] ⁺	[25-26]

注:¹⁾ - 通过对照品鉴定的化学成分。

Note:¹⁾ - the chemical component identified by reference substance.

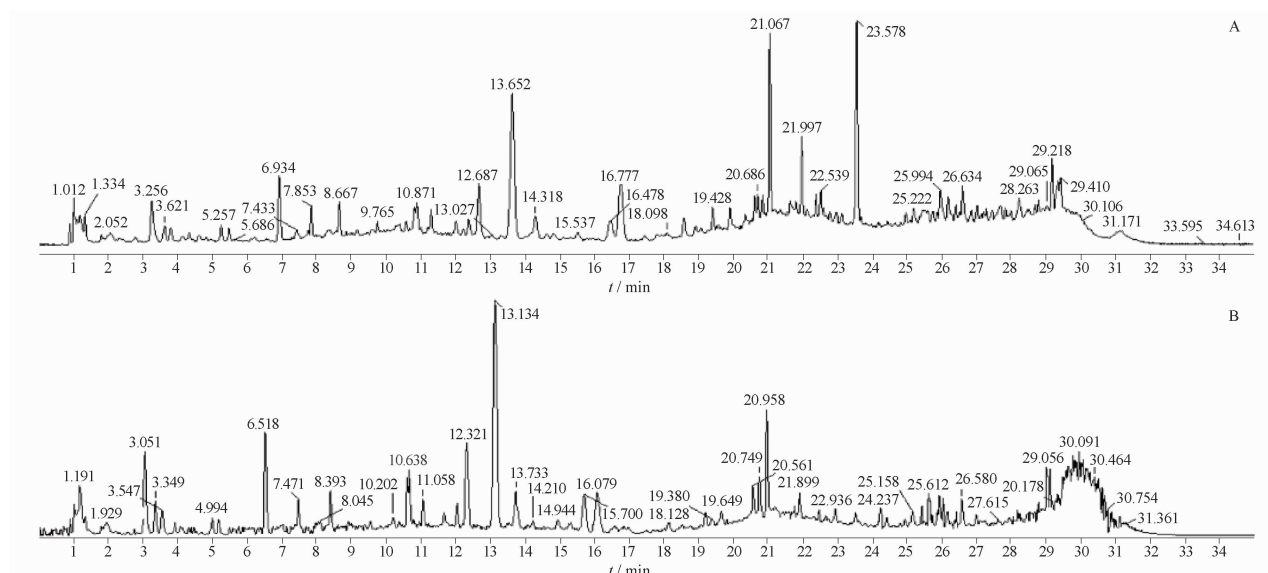


图 3 冀产野生青翘样品在正离子模式(A)和负离子模式(B)下的总离子流图(TIC)

Fig. 3 Total ion chromatogram (TIC) of wild Qingqiao from Hebei province in positive ion mode (A) and negative ion mode (B)

2.5 体外抗氧化作用考察

2.5.1 DPPH 自由基清除率

将“2.1.3”项下供试品溶液稀释 40 倍后,分别精密吸取 20 μ L 至 EP 管中,加入 DPPH 试剂 380 μ L,充分混匀,室温避光孵育 20 min,取 200 μ L 置 96 孔板中,即得样品溶液。平行实验重复 3 次。取体积分数 70% 甲醇 20 μ L 至 EP 管中,加入 DPPH 试剂 380 μ L,充分混匀,室温避光孵育 20 min,取 200 μ L 置 96 孔板中,即得空白溶液。酶标仪 515 nm 下测定吸光度值 (A)。冀产野生青翘的总抗氧化能力以 DPPH 自由基清除率表示(公式 1):

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [(A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{空白}}] \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

2.5.2 ABTS 自由基清除率

按试剂盒说明书制备 ABTS 工作液,将“2.1.3”项下供试品溶液稀释 40 倍后,分别精密吸取 10 μ L 至 EP 管中,加入 ABTS 工作液 190 μ L,充分混匀,取 200 μ L 置 96 孔板中,即得样品溶液。平行实验重复 3 次。取体积分数 70% 甲醇 10 μ L 至 EP 管中,加入 ABTS 工作液 190 μ L,充分混匀,取 200 μ L 置 96 孔板中,即得空白溶液。酶标仪 734 nm 下测定吸光度值 (A)。连翘的总抗氧化能力以 ABTS 自由基清除率表示(公式 2):

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = [(A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) \div A_{\text{空白}}] \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

抗氧化测定结果见表 3。

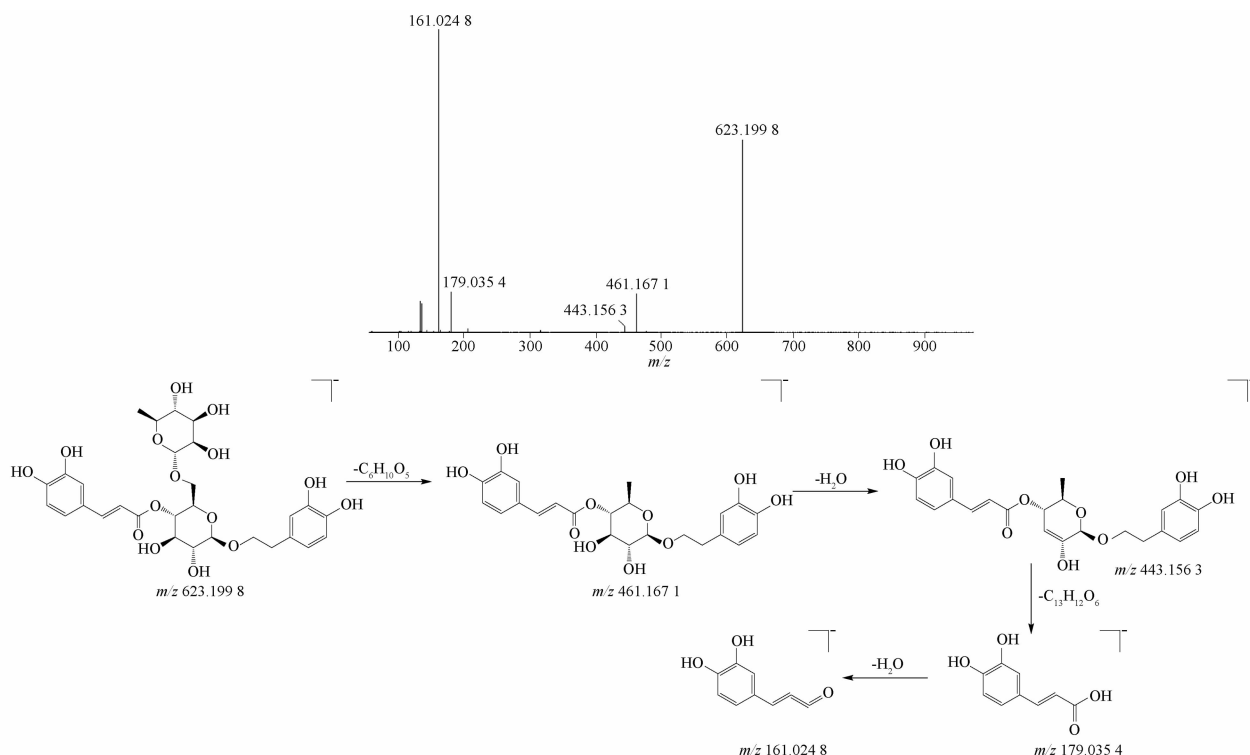


图4 连翘酯苷A的二级质谱和裂解过程

Fig. 4 MS/MS spectra and fragmentation pathways of forsythoside A

表3 29批冀产野生青翘样品的抗氧化能力

Tab. 3 Antioxidant capacity of 29 batches of wild Qingqiao from Hebei province

Sample No.	DPPH radical clearance rate/%	ABTS radical clearance rate/%	Sample No.	DPPH radical clearance rate/%	ABTS radical clearance rate/%
S1	53.10	72.17	S16	53.73	70.58
S2	51.20	73.03	S17	47.40	71.49
S3	46.08	67.47	S18	50.73	76.76
S4	48.32	71.51	S19	46.27	71.09
S5	36.61	47.55	S20	51.64	74.45
S6	54.74	73.06	S21	55.51	70.85
S7	50.36	79.45	S22	51.23	72.29
S8	65.35	77.56	S23	47.09	71.00
S9	48.63	71.79	S24	46.49	72.84
S10	57.51	59.74	S25	53.64	67.04
S11	50.05	71.81	S26	52.09	65.96
S12	51.64	75.38	S27	56.51	74.54
S13	39.21	77.39	S28	46.54	53.99
S14	51.14	76.00	S29	55.15	58.45
S15	50.73	69.29			

2.6 谱效关系研究

2.6.1 灰色关联度分析 参考 Li 等^[29] 的灰色关联度分析方法,对原始数据进行无量纲化处理,采用初值法,以 29 批冀产野生青翘药材的 DPPH 自由基清除率和 ABTS 自由基清除率作为参考序列,取对应批次连翘的 UPLC 图谱中 20 个共有峰面积作为比较序列,计算灰色关联系数(r)。

通过 r 可初步确定所对应的化学成分与抗氧化

活性之间的联系。 r 越大,说明化学成分与抗氧化作用的关联性越大,反之则越小。从 r 结果可知,各峰所代表的化学成分对其抗氧化活性的影响程度有所差别,其中有 16 个共有峰清除 DPPH 和 ABTS 两种自由基活性的 r 均大于 0.8 (峰 1、5、6、7、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20),有较高的关联度,表明冀产野生青翘的抗氧化作用是通过多种成分共同发挥作用实现的。 r 计算结果见表 4。

表4 冀产野生青翘各共有峰与抗氧化活性间的灰色关联度

Tab. 4 Relevancy between each common peak and antioxidant effect of wild Qingqiao from Hebei province

Order	Peak No.	r (DPPH radical clearance rate)	Order	Peak No.	r (ABTS radical clearance rate)
1	P14	0.946	1	P5	0.941
2	P5	0.945	2	P14	0.939
3	P12	0.938	3	P15	0.931
4	P15	0.935	4	P12	0.930
5	P9	0.914	5	P1	0.918
6	P1	0.912	6	P9	0.906
7	P13	0.907	7	P13	0.905
8	P6	0.903	8	P6	0.903
9	P11	0.902	9	P10	0.896
10	P10	0.898	10	P17	0.892
11	P17	0.891	11	P11	0.887
12	P7	0.889	12	P7	0.885
13	P18	0.866	13	P18	0.873
14	P19	0.852	14	P19	0.863
15	P20	0.820	15	P20	0.830
16	P16	0.810	16	P16	0.821
17	P4	0.797	17	P4	0.800
18	P2	0.757	18	P2	0.760
19	P8	0.700	19	P8	0.707
20	P3	0.569	20	P3	0.571

2.6.2 偏最小二乘回归分析(PLS) 偏最小二乘回归方程的建立:采用SIMCA-P 14.1软件中PLS模块对冀产野生青翘指纹图谱及其抗氧化能力进行相关性分析,以指纹图谱中各共有峰的峰面积为自变量 X ,分别以DPPH自由基清除率和ABTS自由基清除率为因变量 Y ,得到回归方程 $Y_1 = 0.000\ 43X_1 + 0.001\ 41X_2 + 0.000\ 54X_3 - 0.002\ 13X_4 - 0.000\ 64X_5 - 0.000\ 44X_6 + 0.006\ 22X_7 + 0.001\ 07X_8 + 0.001\ 74X_9 + 0.000\ 10X_{10} - 0.003\ 60X_{11} + 0.000\ 23X_{12} - 0.001\ 20X_{13} - 0.003\ 02X_{14} + 0.000\ 53X_{15} + 0.000\ 81X_{16} + 0.000\ 55X_{17} - 0.000\ 67X_{18} + 0.002\ 70X_{19} - 0.001\ 36X_{20}$, $Y_2 = 0.000\ 23X_1 + 0.001\ 18X_2 + 0.003\ 76X_3 - 0.002\ 33X_4 + 0.000\ 08X_5 - 0.000\ 51X_6 - 0.001\ 30X_7 - 0.000\ 69X_8 + 0.000\ 14X_9 + 0.001\ 03X_{10} + 0.000\ 42X_{11} + 0.000\ 94X_{12} - 0.002\ 39X_{13} - 0.000\ 03X_{14} + 0.000\ 65X_{15} + 0.001\ 54X_{16} + 0.000\ 04X_{17} - 0.000\ 47X_{18} - 0.000\ 16X_{19} - 0.000\ 19X_{20}$ 。回归方程中 Y_1, Y_2 分别对应DPPH自由基清除率、ABTS自由基清除率, $X_1 \sim X_{20}$ 分别对应1~20号共有峰的峰面积。在回归方程中,系数为正值的自变量与抗氧化能力呈正相关,系数为负值的自变量与抗氧化能力呈负相关。其中回归系数代表各自变量对抗氧化能力的贡献大小,回归系数越大,对药效贡献越大。DPPH自由基清除率回归系数见图5,ABTS自由基清除率回归系数见图6。

结果表明,冀产野生青翘UPLC指纹图谱中的峰1、2、3、7、8、9、10、12、15、16、17、19与DPPH自由基清除能力呈正相关,贡献度依次为峰7>19>9>2>8>16>17>3>15>1>12>10,峰4、5、6、11、13、14、18、20与DPPH自由基清除能力呈负相关,贡献度依次为峰11>14>4>20>13>18>5>6;峰1、2、3、5、9、10、11、12、15、16、17与ABTS自由基清除能力呈正相关,贡献度依次为峰3>16>2>10>12>15>11>1>9>5>17,峰4、6、7、8、13、14、18、19、20与ABTS自由基清除能力呈负相关,贡献度依次为峰13>4>7>8>6>18>20>19>14。

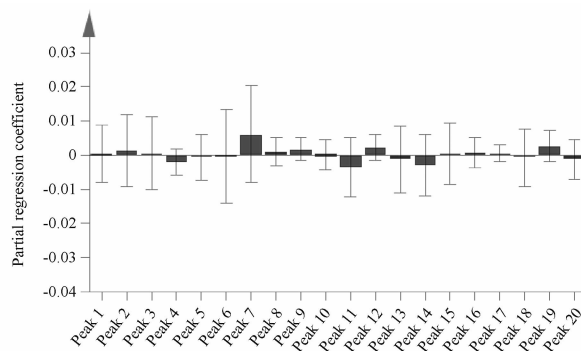


图5 冀产野生青翘各共有峰偏最小二乘回归系数图[1,1-2-苯基-2-苦基胍基自由基(DPPH)法]。n=29, $\bar{x} \pm s$

Fig. 5 Partial least squares diagram of each common peak of wild Qingqiao from Hebei province (DPPH). n=29, $\bar{x} \pm s$

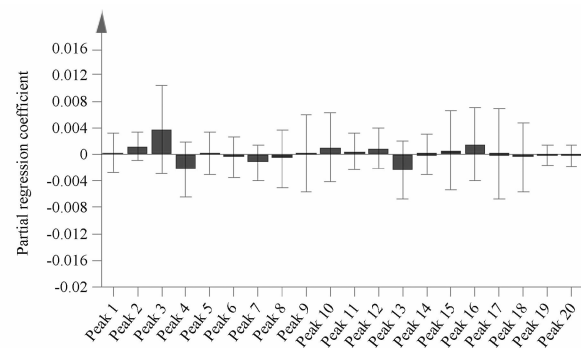


图6 冀产野生青翘各共有峰偏最小二乘回归系数图[总抗氧化能力检测试剂盒(ABTS)法]。n=29, $\bar{x} \pm s$

Fig. 6 Partial least squares diagram of each common peak of wild Qingqiao from Hebei province (ABTS). n=29, $\bar{x} \pm s$

变量重要性分析:在PLS中,VIP是反映自变量对因变量解释能力的重要指标,变量投影重要性指标(VIP值)越大,自变量 X (指纹图谱中各共有峰的峰面积)的解释能力越强^[30]。一般认为当VIP>1时,自变量在解释因变量时具有显著重要性。将自变量 X (各共有峰峰面积)与因变量 Y (自由基清除

率)导入 SIMCA-P. 14. 1 软件进行变量投影重要性分析,生成 VIP, DPPH 自由基清除率 VIP 值见图 7, ABTS 自由基清除率 VIP 值见图 8。由图 7、8 可知,在以 DPPH 自由基清除能力为指标时,峰 4、6、11、12、14、17、18、19 的 VIP 值均大于 1,依次为峰 12 > 4 > 18 > 17 > 6 > 14 > 19 > 11;以 ABTS 自由基清除能力为指标时,峰 4、11、12、16、17、18、19、20 的 VIP 值均大于 1,依次为峰 16 > 12 > 19 > 17 > 4 > 18 > 20 > 11。

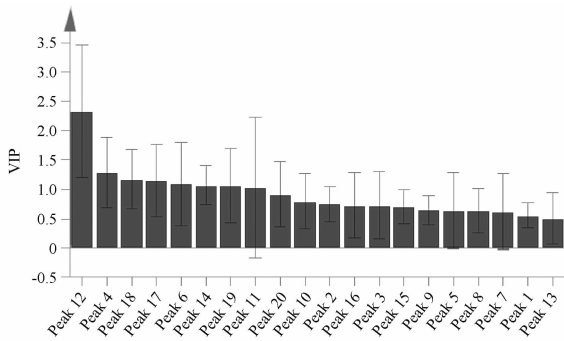


图 7 冀产野生青翘各共有峰的重要性指标(VIP)图(DPPH法)。n = 29

Fig. 7 Variable importance in projection diagram of each common peak of wild Qingqiao from Hebei province (DPPH). n = 29

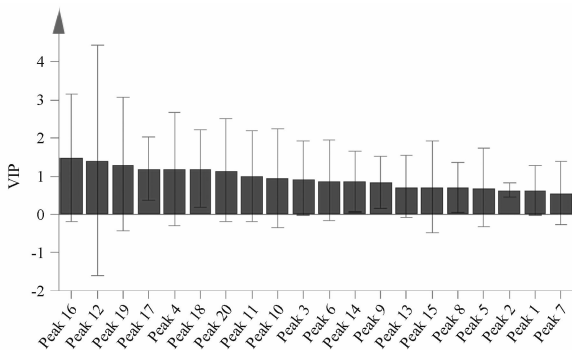


图 8 冀产野生青翘各共有峰的 VIP 图(ABTS 法)。n = 29

Fig. 8 Variable importance in projection diagram of each common peak of wild Qingqiao from Hebei province (ABTS). n = 29

3 讨论

本实验前期考察了提取溶剂(体积分数 50%、70%、100% 甲醇),料液体积比(1:20、1:30、1:40),提取时间(20、30、40 min)对供试品溶液制备效果的影响,通过对比各样品色谱峰的数量和面积,最终确定冀产野生青翘药材的最优提取工艺为:甲醇体积分数为 70%、料液比 1:20,提取时间为 30 min。采用二极管阵列检测器(PDA 检测器),对冀产野生青

翘药材供试品溶液在 210 ~ 400 nm 内进行全波长扫描,检测波长为 265 nm (0 ~ 13 min), 260 nm (13 ~ 19 min), 270 nm (19 ~ 21 min), 275 nm (21 ~ 22 min), 280 nm (22 ~ 29 min)时,色谱图出峰较多,待测成分的响应值较大。中药指纹图谱是一种可以全面反映中药化学成分种类和数量的定性分析方法,目前采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)中的相似度算法进行相似度计算。然而,此算法对化学成分的含量并不敏感,不能反映中药在含量上的变化情况。因此,相似度高仅表示不同批次的样品在成分上相似,而不能表明各成分含量相近^[31-32]。在指纹图谱相似度评价中,29 批冀产野生青翘样品的相似度均大于 0.95,说明冀产野生青翘各批次之间相似度较高,化学成分相似,质量较稳定。

抗氧化活性与测试体系密切相关,不同评价体系,反应原理不同,评价结果有时会有一些的差异, DPPH 自由基和 ABTS 自由基经常用于衡量植物活性成分体外抗氧化的指标^[33]。29 批冀产野生青翘 DPPH 自由基清除率的范围为 36.61% ~ 65.35%, ABTS 自由基清除率的范围为 47.55% ~ 79.45%,两种检测方法得到的检测结果基本趋势一致,说明不同批次间的冀产野生青翘存在一定的差异,可能与采收时间、贮存环境等因素有关。以 r 作为化学评价手段,冀产野生青翘中峰 3 与 DPPH 以及 ABTS 的 r 分别为 0.569、0.571,其余各共有峰与 DPPH 以及 ABTS 的 r 均大于 0.7,表明各共有峰与抗氧化活性具有较大的相关性,揭示冀产野生青翘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 PLS,其中峰 1(枸橼酸)、峰 2(rengynic acid-1'-O-β-D-glucoside)、峰 3(连翘酸)、峰 9(对羟基苯甲醛)、峰 10[(+)-表松脂素 4'-O-B-D-葡萄糖苷]、峰 12(连翘酯苷 A)、峰 15(异槲皮素)、峰 16(鼠李素)、峰 17(阿魏酸)与冀产野生青翘 2 种抗氧化活性均呈正相关,而峰 4(连翘醇)、峰 6(五福花苷酸)、峰 13(木通苯乙醇苷 A)、峰 14(芦丁)、峰 18(连翘苷)、峰 20(连翘脂素)与冀产野生青翘 2 种抗氧化活性均呈负相关。综合上述 2 种统计模型,以 $r > 0.7$,PLS 分析系数为正数(呈现正相关),且 VIP 值 > 1 为筛选条件^[34],可推测出峰 12(连翘酯苷 A)、峰 16(鼠李素)、峰 17(阿魏酸)是冀产野生青翘发挥抗氧化活性的主要成分。

本实验将常规的化学分析方法(UPLC)与抗氧化活性测定相结合,进一步将化学信息的“谱”与活

性信息的“效”进行关联度研究,即“谱效关系”研究,找到了与冀产野生青翘抗氧化作用有较大关联度的色谱峰,为冀产野生青翘药材的质量控制及药效物质的进一步阐明提供科学依据。

REFERENCES

- [1] Ch. P (2020) Vol I (中国药典 2020 年版. 一部) [S]. 2020: 177.
- [2] WEI L F. Studies on quality evaluation of Forsythiae Fructus [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.
- [3] YANG L G, ZHENG X K, ZHANG Y L, et al. Determination of forsythidin, rutin and quercetin in *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl by HPLC [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2011, 46(22): 1756-1758.
- [4] WANG Y X, MIAO Y L, WANG M, et al. Comparison of HPLC fingerprint, cluster analysis and principle component analysis of green *Forsythia suspensa* and grown *F. suspensa* [J]. *J China Pharm*(中国药房), 2021, 32(6): 663-668.
- [5] SHI Z W, HAO J J, ZHEN H X, et al. Comparative analysis of active constituents of *Forsythia suspensa* and its antioxidative and antimicrobial properties [J]. *Mol Plant Breed*(分子植物育种), 2023, 21(9): 3057-3064.
- [6] WEI Z J, REN X H, ZHANG Y, et al. Study on quality grade standard of premature *Forsythia suspensa* [J]. *J China Pharm*(中国药房), 2022, 33(7): 842-847.
- [7] CHEN J, TAN L Y, ZHANG S R, et al. Analysis of main components and antibacterial effect of *Forsythia suspensa* from different producing areas [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2018, 29(2): 427-430.
- [8] LUO X, WANG W, HU B X, et al. Research in antiviral effect of *Forsythia suspensa* [J]. *J Shanxi Univ Chin Med*(陕西中医药大学学报), 2022, 45(6): 28-33.
- [9] LIU W Q, GAO Y, ZHANG L W, et al. Study on anti-inflammatory mechanism of Forsythiae Fructus based on network pharmacology [J]. *J Shanxi Univ*(山西大学学报), 2023, 46(1): 208-219.
- [10] DU H Z, MA H. Research progress in pharmacological effects of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl on the nervous system [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2021, 56(7): 526-530.
- [11] ZHAO Y Z, NIE K. Research progress on the mechanism of *Forsythia suspensa* in preventing and treating chemotherapy-induced nausea and vomiting [J]. *J Guangdong Pharm Univ*(广东药科大学学报), 2021, 37(6): 162-166.
- [12] BAO J, DING R B, LIANG Y, et al. Differences in chemical component and anticancer activity of green and ripe Forsythiae Fructus [J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(7): 1513-1536.
- [13] ZHANG Y, MIAO H, YAN H, et al. Hepatoprotective effect of Forsythiae Fructus water extract against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 218: 27-34.
- [14] KONG F, JIANG X, WANG R, et al. Forsythoside B attenuates memory impairment and neuroinflammation via inhibition on NF- κ B signaling in Alzheimer's disease [J]. *J Neuroinflamm*, 2020, 17(1): 305.
- [15] YANG J S, SUN X P, WANG Y H, et al. Effect of forsythiaside on scopolamine-induced learning and memory impairment in mice [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(8): 177-181.
- [16] ZHANG Y, FENG F, CHEN T, et al. Antidiabetic and antihyperlipidemic activities of *Forsythia suspensa* (Thunb.) vahl (fruit) in streptozotocin-induced diabetes mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 192: 256-263.
- [17] LI X T, LI H C, LIU Z, et al. Protective effects of ethanol extract of *Forsythia suspensa* flower on mitochondria and antioxidant activity [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2009, 31(6): 839-843.
- [18] YUAN J F, HU J W, WANG D H, et al. Analysis of main active components in leaves and flowers of *Forsythia suspensa* from different regions [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2020, 32(3): 389-397.
- [19] FAN X Y. Preliminary Study on the Basis of Whitening Substances of *Forsythia suspensa* Flowers [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2020.
- [20] LI J, YOU Y, ZHAO Q S, et al. Research progress on composition and biological activity of *Forsythia suspensa* leaves [J]. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技), 2020, 41(18): 344-352.
- [21] PENG L Y, LIANG Y, SHI J J, et al. Relationship between HPLC fingerprint and total antioxidant activity of Danshen [J]. *Pharmacol Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2022, 38(3): 110-115.
- [22] ZHANG C X, LIU S X, ZHAO Y M, et al. Analysis on chemical constituents from Forsythiae Fructus by HPLC-Q-TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2016, 47(12): 2053-2060.
- [23] ZHANG Y B, ZHANG M, CHENG Q B, et al. Relationship between HPLC fingerprint chromatogram and antioxidant activity of *Forsythia suspensa* leaves [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2017, 29(4): 629-634.
- [24] ZHANG M, DENG J G, WEI W, et al. Establishment of HPLC fingerprint of *Malus doumeri* and its spectrum-effect relationship of blood-activating and stasis-resolving [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2023, 54(2): 601-607.
- [25] SHEN F, ZOU L S, WEN H M, et al. Qualitative evaluation of *Forsythia suspensa* by HPLC-PDA fingerprint combined with UPLC-Q-TOF-MS qualitative identification [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2019, 44(20): 4495-4503.
- [26] MOU Y, LIU B, ZHANG X, et al. Analysis of constituents in different parts of *Forsythia suspensa* by UPLC-Q-TOF-MS and evaluation of their anti-inflammatory activity [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2023, 48(30): 1-14.
- [27] XIAO G L, ZHONG H X, HUANG H J, et al. Identification of chemical constituents in Xiao'er Qingyan Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2022, 39(12): 1627-1636.
- [28] YE L H, GUO Y L, YANG Y, et al. Analysis of chemical constituents in Lianqiao by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*(中药与临床), 2020, 11(3): 14-18, 35.
- [29] LI Y Y. Grey correlation analysis of industrial structure and economic growth in Gansu province [J]. *Enterp Econ*(企业经济), 2011, 30(5): 20-23.
- [30] JIAN Y X, DONG B H, AO M Y, et al. HPLC fingerprint and spectrum-effect relationship of antioxidant activity of Ligustri Lucidi Fructus co-steamed with black soybean and yellow wine [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2023, 34(6): 1371-1375.
- [31] CHEN S L, SUN Y, WEI C X, et al. Establishment of HPLC fingerprint, chemical pattern recognition analysis and content determination of three components in Houxue Zhitong Capsules [J]. *Chin J Hosp Pharm*(中国医院药学杂志), 2022, 42(3): 242-247.
- [32] LI L, WANG J H, LI C, et al. Study on the compatibility stability of salvanolic acids for injection mixed with sodium chloride injection [J]. *Tianjin Pharm*(天津药学), 2023, 35(1): 27-35.
- [33] WANG J M, YAO C, LI C Q, et al. Spectrum-effect relation of antioxidant activity of Flos Carthami based on DPPH, ABTS and FRAP assay [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2017, 52(10): 825-831.
- [34] LI Z. Study on the Difference in Chemical Composition and Spectrum-effect Relationship of Epimedium from Different Origins [D]. Changchun: Jilin University, 2023.

(收稿日期:2024-08-01)