

基于谱效关联分析及生物信息学的积雪草抗氧化质量标志物研究

祁昱彤, 彭勃, 孟硕, 林力, 任钧国, 张森*, 刘建勋* (中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 北京 100091)

摘要: **目的** 建立积雪草指纹图谱, 研究积雪草与抗氧化活性的谱效关系, 结合网络药理学和分子对接技术, 筛选积雪草质量标志物(Q-marker), 为积雪草质量评价提供科学依据。 **方法** 采用 HPLC 法建立 16 批积雪草药材指纹图谱, 基于共有峰面积结果, 借助聚类分析、主成分分析(PCA)法对其进行研究; 以 1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH)、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二胺盐(ABTS)的测定值评价积雪草抗氧化活性, 采用灰色关联度(GCA)和偏最小二乘回归(PLSR)法明确 16 批积雪草药材共有峰与其抗氧化能力的相关性, 筛选有效成分; 引入网络药理学技术分析积雪草活性成分抗氧化的核心靶点, 构建“药物-成分-靶点”网络关系, 基于分子对接验证活性成分与核心靶标之间的结合性能, 综合筛选积雪草药效成分。 **结果** 16 批积雪草药材指纹图谱相似度为 0.819~0.982, 共标定了 9 个共有峰, 与对照品对比指认了其中 7 个化学成分; 16 批积雪草分为 4 类, 均具有抗氧化能力, 并呈浓度依赖性; 谱效关联分析结果显示, 共有峰 1(积雪草苷 B)、2(羟基积雪草苷)、5(山柰酚)与积雪草抗氧化活性密切相关, 其中积雪草苷 B、羟基积雪草苷、山柰酚作用于 127 个靶点, 关键靶点为 SRC、ESR1、HSP90AB1, 经分子对接验证, 3 个成分与核心靶点之间均有较好的结合性能, 表明积雪草抗氧化的物质基础可能为积雪草苷 B、羟基积雪草苷、山柰酚。综合 Q-Marker 五原则, 最终确定积雪草苷 B、羟基积雪草苷、山柰酚、积雪草苷为积雪草质量控制指标。 **结论** 通过不同批次积雪草药材与抗氧化活性的谱效相关性分析, 可为积雪草药效成分的挖掘和整体质量控制提供参考依据。

关键词: 积雪草; 指纹图谱; 抗氧化; 谱效关系; 化学模式识别; 网络药理; 分子对接; 质量标志物

doi:10.11669/cpj.2025.07.008 中图分类号:R917;R282 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2025)07-0727-12

Antioxidant Quality Marker of Centellae Herba Based on Spectral-Activity Correlation Analysis and Bioinformatics

QI Yutong, PENG Qing, MENG Shuo, LIN Li, REN Junguo, ZHANG Miao*, LIU Jianxun* (China Academy of Chinese Medical Sciences, Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, Beijing 100091, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC fingerprints of Centellae Herba and study the spectrum-effect relationship between its fingerprints and antioxidant activity, screen the quality markers of Centellae Herba and provide a basis for its quality evaluation. **METHODS** To establish the HPLC fingerprint of Centellae Herba and study the results of common peak area by combining cluster analysis and principal component analysis (PCA). The antioxidant activity of 16 batches of Centellae Herba samples was evaluated by the DPPH and ABTS radical scavenging methods and apply gray correlation analysis (GCA) and partial least squares regression (PLSR) to analyze the spectrum-effect relationship between Centellae Herba fingerprint and antioxidant activity. Network pharmacology technology was introduced to analyze the core targets and construct the network relationship, the compound and core target were verified based on molecular docking to comprehensively screen the active ingredients. **RESULTS** The similarity range of the fingerprints spectrum was 0.819–0.982, and a total of 9 common peaks were calibrated, 7 chemical components were identified. The 16 batches of Centellae Herba were divided into four categories, all of which had antioxidant capacity and were concentration-dependent. The results of spectral correlation analysis showed that the total peaks 1 (asiaticoside B), 2 (madecassoside) and 5 (kaempferol) were closely related to the antioxidant activity of Centellae Herba, among which asiaticoside B, madecassoside and kaempferol acted on 127 targets, and the key targets were SRC, ESR1 and HSP90AB1. Based on the five principles of Q-Marker, asiaticoside B, madecassoside, kaempferol and asiaticoside were finally determined as the evaluation indexes for quality control. **CONCLUSION** The spectral correlation analysis between different batches of Centellae Herba and antioxidant activity can provide a reference for the excavation and overall quality control of Centellae Herba.

KEY WORDS: Centellae Herba; fingerprinting; antioxidant; spectrum-effect relationship; chemical pattern recognition; network pharmacology; molecular docking; quality marker

基金项目: 中国中医科学院科技创新工程重大攻关项目资助(CI2021A04310); 国家重点研发计划技术开发项目资助(2023YFC3503600)

作者简介: 祁昱彤, 女, 博士研究生 研究方向: 中药质量评价 * **通讯作者:** 刘建勋, 男, 博士, 研究员 研究方向: 中药药理和中药新药 Tel: (010)62835608; 张森, 女, 博士, 助理研究员 研究方向: 中药药剂学 Tel: (010)62835640

积雪草 (*Centellae Herba*) 为伞形科植物积雪草 [*Centella asiatica* (L.) Urb.] 的干燥全草, 俗称雷公根、钱齿草、打的落, 始载于《神农本草经》^[1]; 其性寒, 味苦、辛, 善于清热利湿而消肿, 可作为复方治疗湿热黄疸、中暑腹泻、跌扑损伤等^[2], 以叶呈灰绿色为佳品。《神农本草经》中记载其能“主大热, 恶创, 痈疽, 浸淫赤, 皮肤赤, 身热”, 现代研究表明, 积雪草富含三萜、黄酮、有机酸等类成分, 具有明显的抗氧化^[3]、抗炎^[4]、促进创伤愈合作用^[5], 临床上常用于痤疮、瘢痕等皮肤损伤后的治疗^[6-8], 被认为是治疗皮肤病的关键中药, 有助于皮肤伤口的恢复。积雪草在医学美容领域具有较高的潜力和使用价值, 已被添加至部分药品、化妆品中^[2], 具有抗皮肤衰老作用, 其中抗氧化是其发挥作用的关键机制, 能够提高抗氧化酶活力, 抑制氧化损伤^[9], 清除细胞内过多的活性氧, 减轻皮肤氧化损害, 为临床治疗皮肤衰老提供了科学依据。

目前, 多数研究主要聚焦于积雪草化学成分的定量分析和指纹图谱的构建, 其生成的图谱信息尚不足以全面反映积雪草的药理活性, 存在一定局限性。然而, 关于其活性成分与抗氧化效应相关的评价模式鲜见报道, 本实验根据积雪草的功效, 选择其抗氧化作用作为评价指标, 对积雪草指纹图谱和抗氧化作用的关系进行初步探究, 明确其抗氧化作用的活性物质, 借助网络药理学和分子对接技术进一步验证, 基于 Q-marker 五原则综合筛选积雪草抗氧化质量标志物^[10-11]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

1200 型 HPLC 液相色谱仪 (美国安捷伦公司);

表 1 积雪草药材来源信息

Tab. 1 Source information of *Centellae Herba*

No.	Origin (in Chinese)	Batch number	No.	Origin (in Chinese)	Batch number
S1	Qiannan prefecture, Guizhou province (贵州黔南州)	20240416012	S9	Surrounding area of Yibin city, Sichuan province (四川宜宾周边地区)	20240416007
S2	Qiannan prefecture, Guizhou province (贵州黔南州)	20240416016	S10	Surrounding area of Yibin city, Sichuan province (四川宜宾周边地区)	20240416008
S3	Surrounding area of Qiannan prefecture, Guizhou province (贵州黔南州周边地区)	20240416014	S11	Pizhou city, Jiangsu province (江苏邳州)	2211011
S4	Xingyi city, Guizhou province (贵州兴义)	20240416013	S12	Pizhou city, Jiangsu province (江苏邳州)	235012
S5	Duyun city, Guizhou province (贵州都匀)	20240416011	S13	Pizhou city, Jiangsu province (江苏邳州)	2207012
S6	Yibin city, Sichuan province (四川宜宾)	20240416002	S14	Pizhou city, Jiangsu province (江苏邳州)	2206011
S7	Yibin city, Sichuan province (四川宜宾)	20240416005	S15	Ganzhou city, Jiangxi province (江西赣州)	2211001
S8	Yibin city, Sichuan province (四川宜宾)	20240416006	S16	Ganzhou city, Jiangxi province (江西赣州)	2404001

2 方法

2.1 积雪草指纹图谱建立

2.1.1 对照品溶液制备 分别精密称取积雪草苷

Synergy H4 多功能酶标仪 (美国伯腾仪器有限公司); 高速万能粉碎机 (合肥荣事达电子电器集团有限公司); NewClassic MF 型万分之一电子天平 (梅特勒-托利多常州称重设备系统有限公司); SCL-VS 可调式混匀仪 [大龙兴创实验仪器 (北京) 股份公司]; KQ-300 型超声波清洗器 (宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 试剂

对照品积雪草苷 (批号 110892-202006, 质量分数 $\geq 93.8\%$)、羟基积雪草苷 (批号 110893-202105, 质量分数为 93.7%)、积雪草苷 B (批号 112066-202001, 质量分数 $\geq 95.2\%$)、山柰酚 (批号 110861-200808, 质量分数为 97.4%) (中国食品药品检定研究院); 对照品积雪草酸 (批号 J00911804017, 质量分数 $> 98\%$)、羟基积雪草酸 (批号 Q05202207018, 质量分数 $> 98\%$) (成都瑞芬思生物科技股份有限公司); 槲皮素 (批号 015K1225, 质量分数 $> 98\%$) (默克 Sigma)。过硫酸钾溶液 ($4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 上海麦克林生化科技有限公司); 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二胺盐 (ABTS, 上海麦克林生化科技有限公司); 1,1-二苯基-2-苦基肼自由基 (DPPH, 上海麦克林生化科技有限公司); 抗坏血酸 (Vc, 国药集团化学试剂有限公司); 乙腈 (色谱纯); 无水乙醇 (分析纯)。

1.3 药材

16 批积雪草药材分别收集于贵州、四川、江苏和江西省, 经中国中医科学院西苑医院任钧国研究员鉴定为伞形科植物积雪草 [*Centella asiatica* (L.) Urb.] 的干燥全草, 药材粉碎后过二号筛, 密封保存, 置干燥器中备用。样品来源信息见表 1。

B、积雪草苷、山柰酚、槲皮素、羟基积雪草苷、积雪草酸、羟基积雪草酸对照品适量, 加甲醇制备各对照品储备液。分别吸取各储备液适量, 加甲醇稀释为含积

雪草苷 B 0.312 8 mg · mL⁻¹、积雪草苷 0.072 8 mg · mL⁻¹、羟基积雪草苷 0.206 8 mg · mL⁻¹、积雪草酸 0.324 mg · mL⁻¹、羟基积雪草酸 0.086 mg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液和含山柰酚 0.023 6 mg · mL⁻¹、槲皮素 0.022 9 mg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液制备 精密称取积雪草粉末 0.5 g, 精密加入甲醇 20 mL, 称重, 超声处理(功率 180 W, 频率 42 kHz) 30 min, 放冷, 再次称重, 用甲醇补足减失的质量后摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得^[12]。

2.1.3 色谱条件 Agilent Stable Bond C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A) - 2 mmol · L⁻¹ β 环糊精溶液, 梯度洗脱: 0 ~ 3 min, 20% A; 3 ~ 8 min, 20% ~ 24% A; 8 ~ 12 min, 24% A; 12 ~ 18 min, 24% ~ 27% A; 18 ~ 25 min, 27% ~ 40% A; 25 ~ 30 min, 40% ~ 50% A; 30 ~ 35 min, 50% A; 35 ~ 40 min, 50% ~ 60% A; 40 ~ 60 min, 60% ~ 80% A; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 30 °C; 检测波长 205 nm; 进样量 20 μL。

2.1.4 精密度实验 取样品 S10 适量, 按“2.1.2”项下条件制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录各峰面积, 计算 RSD 值。结果对照品各峰面积的相对标准偏差(RSD)值分别为 0.58%、0.25%、1.39%、1.04%、1.29%、2.03% 和 0.9%, 均小于 2.50%, 表明仪器精密度良好, 符合检测要求。

2.1.5 稳定性实验 取积雪草药材 S10, 按“2.1.2”项下条件制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件分别于 0、2、4、10、12 h 进样, 以 3 号峰(羟基积雪草苷)为参照峰, 计算共有峰相对峰面积的 RSD 值^[13]。结果各峰相对峰面积 RSD 分别为 1.92%、1.22%、2.45%、2.44%、2.92%、1.14%、1.20% 和 3.67%, 均小于 4.00%, 表明供试品在 12 h 内稳定性较好。

2.1.6 重复性实验 称取同一样品 S10 适量, 按“2.1.2”项下条件制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件测定, 以 3 号峰(羟基积雪草苷)为参照峰, 计算共有峰相对峰面积的 RSD 值^[13]。结果各峰峰面积 RSD 分别为 1.03%、0.78%、3.12%、1.86%、0.94%、1.70%、3.29% 和 3.92%, 均小于 4.00%, 表明方法重复性较好。

2.1.7 HPLC 指纹图谱研究及相似度评价 制备 16 批积雪草样品溶液, 分别注入 HPLC 色谱仪, 按“2.1.3”项下色谱条件检测, 导出图谱 cdf 格式, 采用《中药指纹图谱评价系统(2012.1 版)》进行识别

分析, 获得 16 批积雪草药材叠加图谱^[14], 并对其相似度进行评估。

2.2 化学模式判别

2.2.1 聚类分析(cluster analysis, CA) 应用 SPSS 27.0 软件, 以 16 批积雪草 9 个共有峰的峰面积作为变量, 选择组间联接和平方欧式距离法进行系统聚类分析^[15]。

2.2.2 主成分分析(principal component analysis, PCA) 采用 SPSS 27.0 和 SIMCA 14.1 软件分析 16 批积雪草共有峰的峰面积。通过 SPSS 对数据进行降维处理, 构建协方差矩阵进行因子分析, 设定提取标准为主成分特征值 > 1^[16], 获得相关系数特征值和累积方差贡献率。

2.3 抗氧化活性考察

2.3.1 DPPH 自由基清除率 参照文献[17]制备 DPPH 无水乙醇溶液, 取“2.1.2”项下供试品滤液, 加甲醇分别稀释至 2、5、10、15、20、25 mg · mL⁻¹ 质量浓度(按生药量计)的积雪草样品溶液。分别吸取 100 μL 不同浓度的供试品溶液与 200 μL DPPH 乙醇溶液混合至 96 孔板中, 振荡 1 min, 室温避光孵育 30 min, 用酶标仪测定 517 nm 处的吸光度(A₁); A₂ 为 100 μL 供试品溶液和 200 μL 无水乙醇溶液的吸光度值; A₀ 为 100 μL 无水乙醇溶液和 200 μL DPPH 溶液的吸光度值, 每组样品重复 3 次实验。Vc 为阳性对照, 根据公式 1 计算 DPPH 自由基清除率, 采用 SPSS 27.0 软件求出 IC₅₀ 值。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = 1 - (A_1 - A_2) / A_0 \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

2.3.2 ABTS 自由基清除率 参照文献[17]制备 ABTS 自由基储备液, 取“2.1.2”项下供试品滤液, 加甲醇分别稀释至 2、5、10、15、20、25 mg · mL⁻¹ 质量浓度的积雪草溶液。分别吸取 100 μL 不同浓度的供试品溶液与 200 μL ABTS 溶液混合至 96 孔板中, 振荡 1 min, 室温避光孵育 30 min, 用酶标仪测定 734 nm 处的吸光度(A₁); A₂ 为 100 μL 供试品溶液和 200 μL 无水乙醇溶液的吸光度值; A₀ 为 100 μL 无水乙醇溶液和 200 μL ABTS 溶液的吸光度值, 每组样品重复 3 次实验。根据公式 2 计算 ABTS 自由基清除率, 采用 SPSS 27.0 软件求出 IC₅₀ 值。

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = 1 - (A_1 - A_2) / A_0 \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

2.3.3 数据统计分析 采用 SPSS 27.0 软件对 16 批积雪草清除 DPPH 和 ABTS 自由基能力进行统计

分析,选择概率分析中 Logistic 模型计算半数抑制浓度 (IC_{50}),最后借助 GraphPad Prism 软件绘图。

2.4 谱效关系研究

2.4.1 灰色关联度分析 (grey relation analysis, GRA) 将 9 个共有峰峰面积归一化处理,以 DPPH 和 ABTS 自由基清除率 IC_{50} 的倒数值为母序列 Y_k ^[18],归一化后的共有峰峰面积为子序列 X_i ,根据公式 3~4 计算 Y_k 与 X_i 的关联系数 A_{ik} ,其中分辨系数 ρ 设定为 0.5, A_{ik} 取平均值即关联度^[19]。

$$A_{ik} = 1 - (\Delta\Delta ik_{mi} + \rho \times \Delta ik_{max}) / (\Delta ik_{max} + \rho \times \Delta ik_{max}) \quad \text{公式(3)}$$

$$\Delta A_{ik} = |Y_k - X_i| \quad \text{公式(4)}$$

i :共有峰编号, $i=1,2,3,\dots$

2.4.2 偏最小二乘回归分析 (partial least squares regression, PLSR) 以不同产地积雪草药材共有峰的峰面积为自变量 X ,分别以 DPPH 和 ABTS 清除率的 IC_{50} 值倒数为因变量 Y ,将数据导入 SIMCA 14.1 软件进行 PLSR 分析。

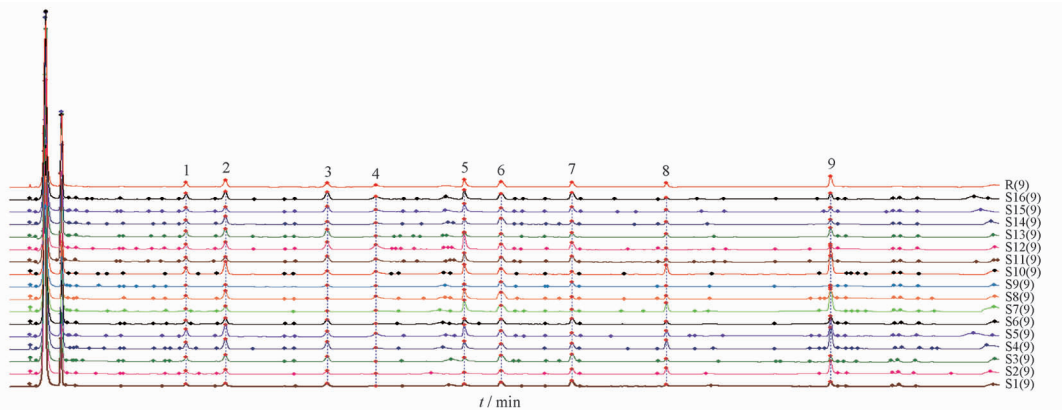
2.4.3 网络药理及分子对接预测 根据谱效关联分析筛选得到活性成分,利用 PharmMapper (<https://lilab-ecust.cn/>)、Swiss ADME (www.swissadme.ch)、Swiss Target Prediction (www.swisstargetprediction.ch) 数据库检索其蛋白靶点;以“Antioxidant”为关键词,通过 GeneCards (<https://www.genecards.org>)、TTD (<https://db.idrblab.net/ttd/>)、OMIM (<https://www.omim.org>) 数据库获取疾病靶点,其中 GeneCards 设定 Score 值高于中位数为筛选标准;将成分靶点与疾病靶点取交集得到积雪草活性成分抗氧化的

交集靶点。将交集靶点基因导入 String 数据库分析,借助 Cytoscape 软件进行 PPI 分析,筛选核心靶标。通过 DAVID 平台对交集靶点进行 GO (Gene Ontology) 和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 富集分析,设置属性为“Homo sapiens”,根据 P 值排列顺序,选取前 10 条通路进行可视化分析^[20]。从 PDB (<https://www.rcsb.org>) 数据库下载蛋白结构,通过 Pymol 软件进行去水、删除原配体等前处理操作,最后利用 AutoDockTools 1.5.7、Pymol 软件进行成分与蛋白对接。

3 结果分析

3.1 积雪草药材指纹图谱分析

以 S10 为参照图谱,选择平均数法,设定时间窗宽度为 0.1 min,多点校正,采用 Mark 峰匹配法,生成叠加图谱及对照图谱 (R)^[12],见图 1~2。共标定了 9 个共有峰,将对照图谱与混合标准品比对,确定 1 号峰为积雪草苷 B,2 号峰为羟基积雪草苷,3 号峰为积雪草苷,4 号峰为槲皮素,5 号峰为山柰酚,6 号峰为积雪草酸,7 号峰为羟基积雪草酸。经计算 16 批积雪草药材相似度在 0.819~0.982,评价结果见表 2。其中来自江苏邳州 (S11、S13、S14)、江西赣州 (S15~S16)、贵州兴义 (S4)、贵州都匀 (S5) 和四川宜宾部分批次 (S6、S8、S10) 的药材相似度大于 0.9,说明这些药材化学特征接近;而来自贵州黔南州 (S2) 及四川宜宾 (S7、S9) 地区的药材相似度小于 0.9,说明该产区药材与江苏、江西产区药材化学特征存在一定差异。

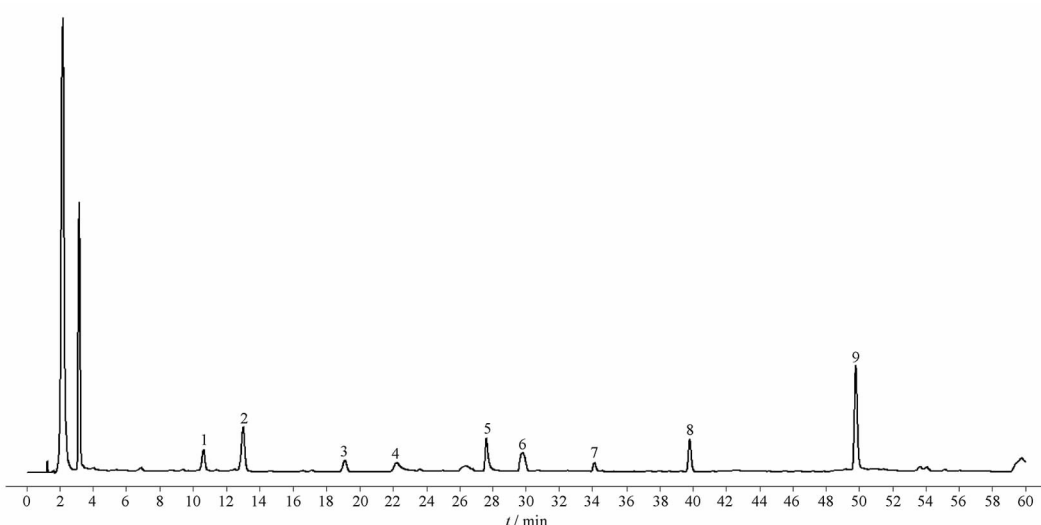


R - 对照指纹图谱; S1~S16 - 积雪草 16 批不同产地样品; 1 - 积雪草苷 B; 2 - 羟基积雪草苷; 3 - 积雪草苷; 4 - 槲皮素; 5 - 山柰酚; 6 - 积雪草酸; 7 - 羟基积雪草酸; 8~9 - 未知峰。

R - control fingerprint; S1 - S16 - 16 batches of samples of Centellae Herba from different origins; 1 - Asiaticoside B; 2 - Madecassoside; 3 - Asiaticoside; 4 - Quercetin; 5 - Kaempferol; 6 - Asiatic acid; 7 - Madecassic acid; 8 - 9 - Unknown peaks.

图 1 16 批积雪草药材 HPLC 指纹图谱叠加图谱

Fig. 1 Overlapping HPLC fingerprints of 16 batches of Centellae Herba



1 - 积雪草苷 B; 2 - 羟基积雪草苷; 3 - 积雪草苷; 4 - 槲皮素; 5 - 山奈酚; 6 - 积雪草酸; 7 - 羟基积雪草酸; 8 - 9 - 未知峰。
1 - asiaticoside B; 2 - madecassoside; 3 - asiaticoside; 4 - quercetin; 5 - kaempferol; 6 - asiatic acid; 7 - madecassic acid; 8 - 9 - unknown peaks.

图2 积雪草供试品 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of Centellae Herba sample

表2 16批积雪草药材相似度分析

Tab. 2 Similarity results of 16 batches of Centellae Herba

Sample No.	Similarity	Sample No.	Similarity
S1	0.927	S9	0.819
S2	0.898	S10	0.902
S3	0.903	S11	0.944
S4	0.953	S12	0.864
S5	0.978	S13	0.934
S6	0.982	S14	0.934
S7	0.874	S15	0.922
S8	0.924	S16	0.935

3.2 化学模式判别分析

3.2.1 CA 应用 SPSS 27.0 软件对 16 批积雪草药材进行 CA 分析, 结果见图 3。当欧氏距离为 10 时, 16 批积雪草样品聚为 4 类, 第 I 类为贵州黔南州及其周边地区 (S1 ~ S3)、四川宜宾 (S6) 及其周边地区 (S9)、江苏邳州市 (S11 ~ S14)、江西赣州市 (S15 ~ S16); 第 II 类为四川宜宾 (S8); 第 III 类为贵州兴义市 (S4) 和贵州都匀市 (S5); 四川宜宾 (S7) 及周边地区 (S10) 单独聚为第 IV 类。结果表明, 西南 (四川、贵州) 和东南部 (江西、江苏) 地区的积雪草药材既有一定相似性, 又存在差异, 且产地相同的药材质量亦有较大差异。

3.2.2 PCA 采用 SPSS 27.0 和 SIMCA 14.1 软件对 16 批积雪草共有峰的峰面积进行 PCA 分析 (表 3), 结果显示 Bartlett 球形检定显著性 $P < 0.01$, 说明数据可进行 PCA 分析^[21], 经提取后得到 3 个

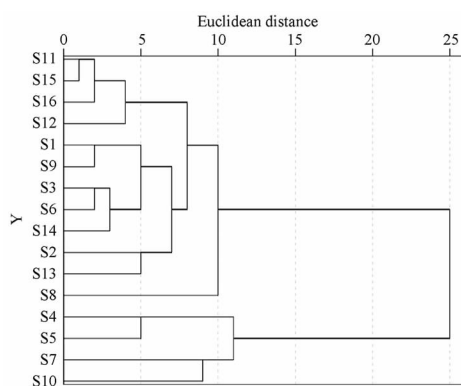


图3 16批不同来源积雪草药材聚类树状图

Fig. 3 Hierarchical cluster analysis of 16 batches of Centellae Herba

表3 积雪草样品主成分分析 (PCA) 相关系数特征值和累积方差贡献率

Tab. 3 Principal component analysis (PCA) correlation coefficient eigenvalue and cumulative contribution of Centellae Herba samples

Principal component No.	Eigenvalue	Variance contribution rate/%	Cumulative variance contribution rate/%
1	3.661	40.682	40.682
2	2.535	28.162	68.844
3	1.515	16.830	85.674

主成分, 累积方差贡献率达到 85.674%, 且其变化曲线较为陡峭 (图 4), 表明 3 个主成分能基本反映不同产地积雪草的特征。

通过 SPSS 计算因子载荷矩阵 (表 4) 可知, 主成分 1 主要反映了色谱峰 2、8、9 的信息, 主成分 2

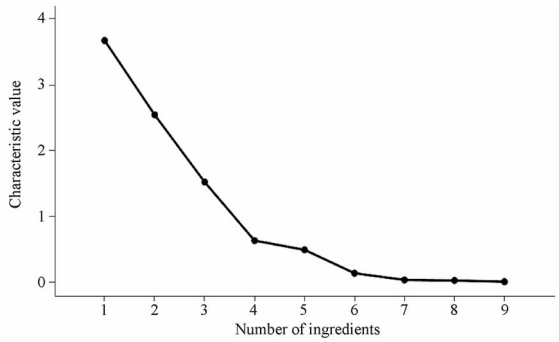


图4 积雪草 PCA 碎石图

Fig. 4 PCA scree plot of Centellae Herba

主要反映了色谱峰4、5、6的信息,主成分3主要反映了色谱峰1、3的信息。将9个共有峰数据标准化处理,结合主成分得分系数,以3个主成分对应的方差贡献率为权重系数^[22],分别计算3个主成分得分和综合得分(表5)。16批不同产地积雪草药材综合得分为0.09~2.42,综合得分越高,代表样品质量越好^[18,23],其中四川宜宾周边地区(S10)得分最高,表明该地积雪草药材质量较好,其次为贵州都匀市(S5)、贵州兴义市(S4)、江苏邳州市(S12)、四川宜宾市(S7);江西赣州市(S15、S16)和江苏邳州市(S11、S13、S14)药材综合得分排名在6~11,质量处于中等;贵州黔南州及其周边地区(S1~S3)、四川宜宾及其周边部分批次(S6、S9)综合得分排名分别为12~16,表明药材质量均低于其他产地,且同一地区不同批次的药材质量差异大,可能与采摘时节、气候、加工方式不同有关。

采用SIMCA 14.1软件对16批积雪草供试品进行PCA分析,设定变量为9个共有峰峰面积,构建判断矩阵,获得积雪草药材PCA得分图,见图5。共筛选出2个主成分,第一主成分 $t[1]$ 方差贡献率为40.7%,第二主成分方差贡献率为28.2%,贡献率之和为68.9%。在 $t[2]$ 分数下,16批积雪草药材可以分为两类,S1、S2、S3、S6、S9、S11、S13、S14、S15、S16为I类,S4、S5、S7、S8、S10为II类,与聚类分析结果基本一致。

3.3 积雪草抗氧化活性考察

以Vc为阳性药,考察16批积雪草药材清除DPPH和ABTS自由基的能力,应用SPSS 27.0软件计算 IC_{50} 值, IC_{50} 值越小说明样品抗氧化能力越强,结果见图6、表6。结果表明,16批积雪草药材均有一定的抗氧化能力,与浓度呈正相关,但均弱于Vc。其中,样品S13(江苏邳州)抗氧化能力最强,DPPH清除率的 IC_{50} 为 $4.634 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,随着浓度升高,

表4 积雪草 PCA 因子载荷矩阵

Tab. 4 PCA component matrix of Centellae Herba

Common peak No.	Load		
	Principal component 1	Principal component 2	Principal component 3
1	0.547	0.556	0.57
2	0.699	0.608	0.114
3	0.019	0.265	0.946
4	-0.105	0.934	0.062
5	0.167	0.897	-0.082
6	0.171	0.411	-0.696
7	-0.48	-0.041	0.667
8	0.953	-0.036	-0.14
9	0.937	0.07	-0.2
10	0.547	0.556	0.57

表5 16批积雪草主成分得分和排序

Tab. 5 Factor scores and sorting of principal components of 16 batches of Centellae Herba

Batch No.	Principal component 1	Principal component 2	Principal component 3	Aggregate score	Order of scores
S1	0.176 2	0.435 9	0.690 8	0.362 7	15
S2	1.115 6	0.419 9	0.647 9	0.795 1	14
S3	0.667 0	1.172 2	1.024 4	0.903 3	12
S4	2.407 7	1.926 0	1.340 9	2.039 8	3
S5	2.299 0	2.748 8	0.800 9	2.152 6	2
S6	0.733 0	1.072 0	0.909 1	0.879 0	13
S7	2.226 0	1.565 7	-0.758 6	1.422 7	5
S8	1.407 8	2.102 7	-0.470 7	1.267 2	8
S9	-0.127 1	0.385 9	0.125 4	0.091 1	16
S10	3.178 4	2.577 4	0.304 2	2.416 2	1
S11	0.544 7	1.724 6	1.129 5	1.047 4	9
S12	0.592 1	2.856 5	1.584 5	1.531 4	4
S13	1.256 3	1.419 1	1.552 9	1.368 1	7
S14	1.071 1	1.476 8	0.164 1	1.026 3	10
S15	0.549 5	1.519 4	1.163 0	0.988 8	11
S16	0.715 4	2.257 8	1.620 1	1.400 1	6

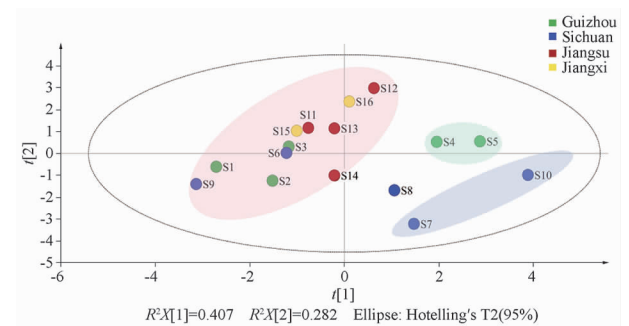


图5 积雪草 PCA 图

Fig. 5 PCA of Centellae Herba

清除率从22.16%升高至95.40%,质量浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时清除力与 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ Vc阳性药相当;16批药材中,S6(四川宜宾)对DPPH自由

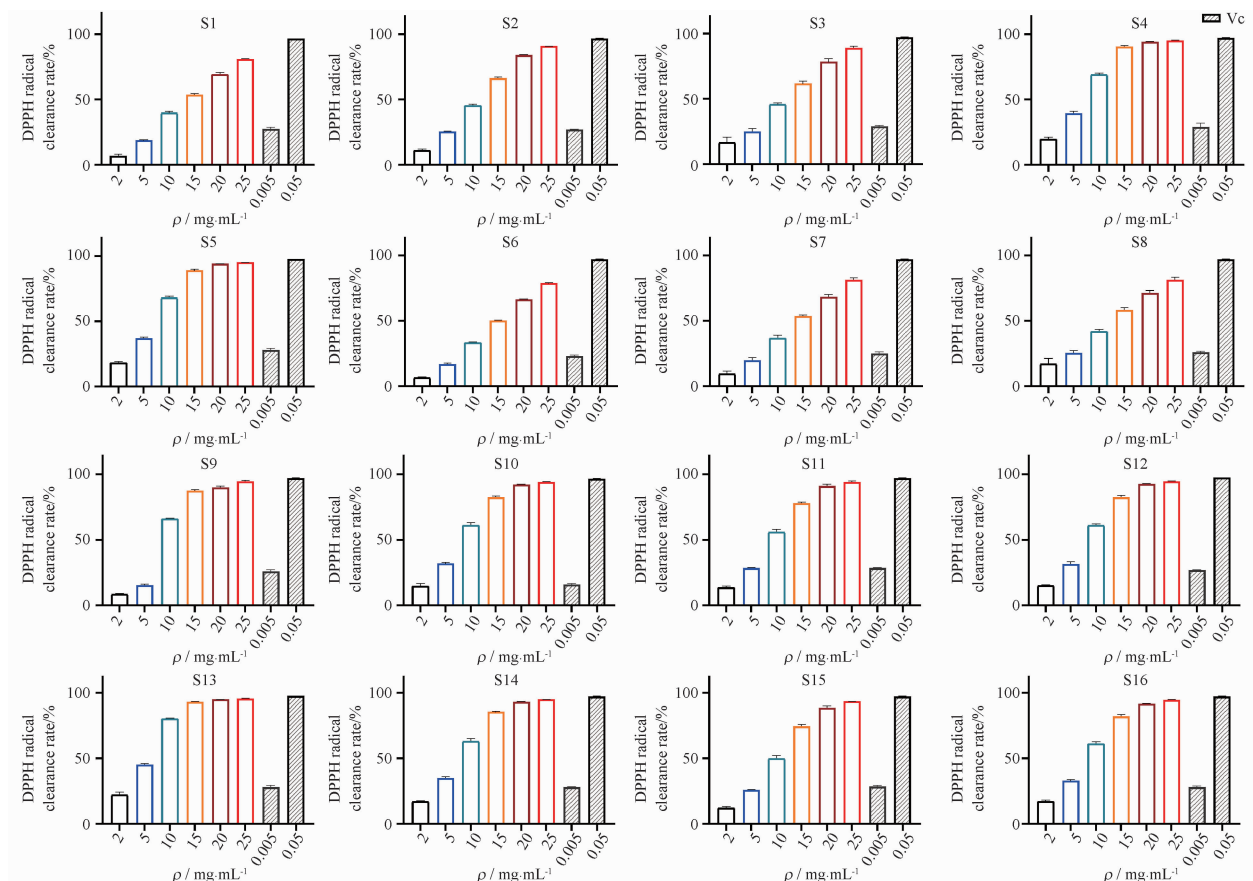


图6 16批积雪草样品清除1,1-二苯基-2-苦基胍自由基(DPPH)自由基活性。n=3, $\bar{x} \pm s$

Fig. 6 DPPH radical scavenging activities of 16 batches of Centellae Herba samples. n=3, $\bar{x} \pm s$

表6 16批积雪草抗氧化半数抑制率(IC₅₀)值

Tab. 6 IC₅₀ for 16 batches of Centellae Herba

Batch No.	IC ₅₀ /mg · mL ⁻¹		Batch No.	IC ₅₀ /mg · mL ⁻¹	
	DPPH	ABTS		DPPH	ABTS
S1	12.272	9.948	S9	7.788	2.421
S2	9.055	7.136	S10	6.714	4.033
S3	9.193	7.493	S11	7.367	5.093
S4	5.414	4.045	S12	6.690	3.62
S5	5.701	3.873	S13	4.634	3.522
S6	13.539	7.182	S14	6.187	4.739
S7	12.191	8.565	S15	8.132	3.921
S8	10.308	6.049	S16	6.486	3.972

基清除率最低, IC₅₀值为13.54 mg · mL⁻¹, 随着浓度升高, 清除率从6.56%升高至78.51%。通过考察16批药材的DPPH自由清除率, 发现抗氧化能力依次为S6 > S1 > S7 > S8 > S3 > S2 > S15 > S9 > S11 > S10 > S12 > S16 > S14 > S5 > S4 > S13。

16批积雪草药材对ABTS自由基清除率的IC₅₀值在2.42~9.95 mg · mL⁻¹(图7、表6)。其中, S9(四川宜宾周边地区)抗氧化能力最强, 随着浓度升高, 清除率从43.97%升高至98.85%, 质量浓度为

10 mg · mL⁻¹时清除力接近0.05 mg · mL⁻¹ Vc 阳性药; S2(贵州黔南州)对ABTS自由基清除率最低, IC₅₀值为9.95 mg · mL⁻¹, 随着浓度升高, 清除率从43.97%升高至98.85%。通过考察16批药材的ABTS自由清除率, 发现抗氧化能力依次为S7 > S1 > S3 > S2 > S8 > S6 > S11 > S14 > S4 > S10 > S16 > S15 > S5 > S12 > S13 > S9。综合DPPH和ABTS自由基清除率结果, 发现抗氧化能力排名靠前的批次分别为贵州黔南州S1、S3和四川宜宾S6、S7, 说明不同产地及同一产地不同批次的药材抗氧化能力强弱均有所不同。

3.4 积雪草抗氧化谱效关系研究

3.4.1 GRA分析 积雪草9个共有峰与抗氧化活性之间均有一定的关联性(表7), r越大说明成分与抗氧化活性的关联性越强^[24]。除峰6外, 其余8个共有峰关联度均>0.6, 即这些成分在发挥抗氧化作用方面贡献较大^[25], 表明积雪草提取液通过多成分共同发挥作用。根据关联度大小可知, 各共有峰对DPPH自由基清除率贡献大小依次为峰5 > 峰2 > 峰9 > 峰8 > 峰7 > 峰4 > 峰1 > 峰3 > 峰6; 对ABTS

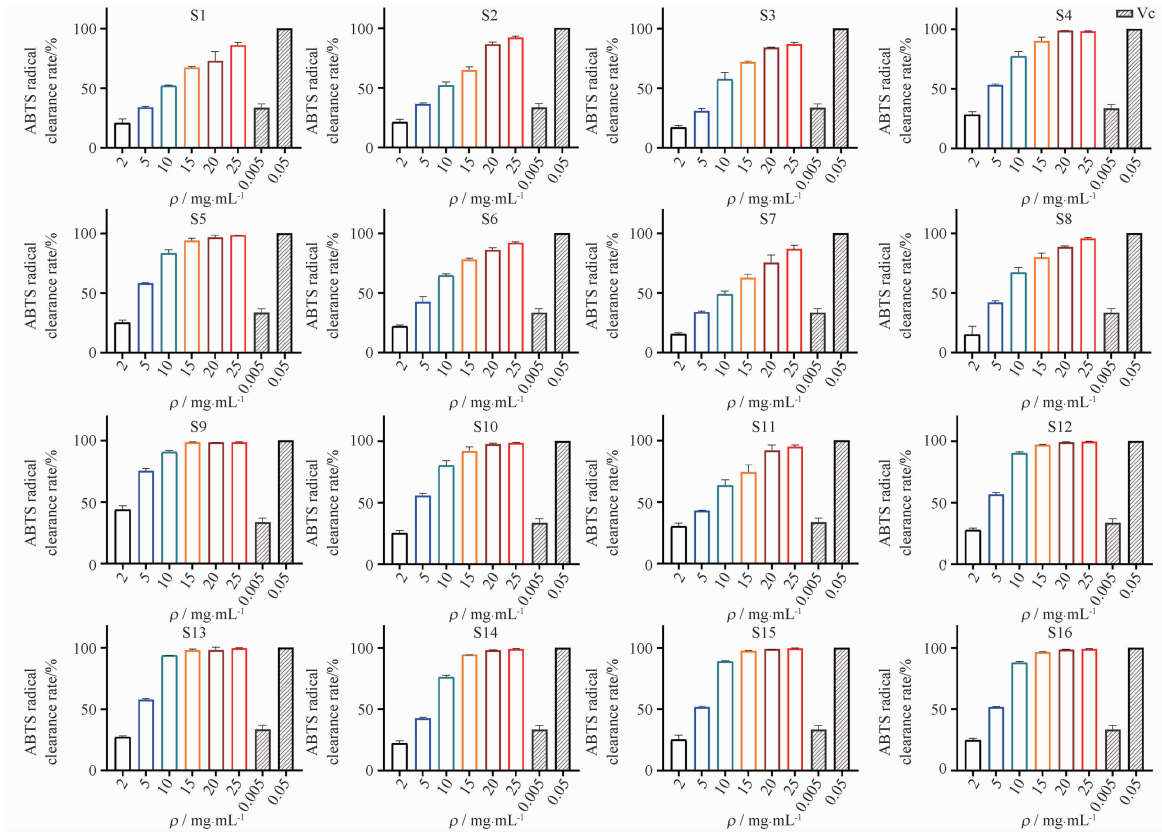


图7 16批积雪草样品清除2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二胺盐(ABTS)自由基活性。 $n=3, \bar{x} \pm s$
 Fig.7 ABTS radical scavenging activities of 16 batches of Centellae Herba samples. $n=3, \bar{x} \pm s$

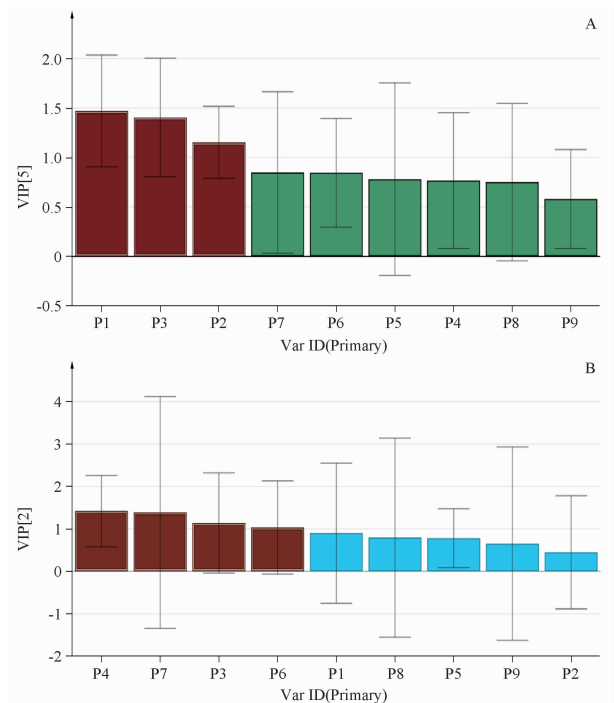
表7 积雪草各共有峰与抗氧化活性间的灰色关联度

Tab.7 Relevancy between each common peak and antioxidant effect of Centellae Herba

No.	DPPH		No.	ABTS	
	Common peak	Relevancy		Common peak	Relevancy
1	Peak 5	0.657 2	1	Peak 9	0.683 9
2	Peak 2	0.655 3	2	Peak 8	0.678 0
3	Peak 9	0.651 2	3	Peak 2	0.654 5
4	Peak 8	0.648 0	4	Peak 5	0.642 7
5	Peak 7	0.647 1	5	Peak 7	0.624 5
6	Peak 4	0.628 3	6	Peak 4	0.608 8
7	Peak 1	0.614 3	7	Peak 1	0.603 4
8	Peak 3	0.603 6	8	Peak 3	0.598 7
9	Peak 6	0.415 1	9	Peak 6	0.362 6

自由基清除率贡献大小依次为峰9 > 峰8 > 峰2 > 峰5 > 峰7 > 峰4 > 峰1 > 峰3 > 峰6。

3.4.2 最小二乘法判别分析(PLS-DA) VIP值是PLSR分析的重要评价指标,用于衡量自变量对因变量的解释能力。VIP值越大,说明自变量对因变量的解释能力越强,即化学成分对药效的影响就越显著^[26],通常认为VIP值>1,自变量对因变量的影响更为显著^[27]。由图8 VIP分析结果可知,在DPPH



A - DPPH的VIP值; B - ABTS的VIP值。

A - VIP value of DPPH; B - VIP value of ABTS.

图8 积雪草药材样品变量重要性(VIP)贡献图。 $n=3$

Fig.8 Variable importance in projection diagram of Centellae Herba. $n=3$

法中峰 1、2、3 VIP 值均 >1; ABTS 抗氧化组中峰 3、4、6、7 VIP 值均 >1, 表明这些成分与抗氧化活性显著相关。综合 GRA 和 PLSR 分析结果, 发现积雪草发挥抗氧化作用的主要为峰 1 (积雪草苷 B)、2 (羟基积雪草苷)、5 (山柰酚)。

3.5 网络药理学及分子对接预测

通过 PharmMapper、Swiss Target Prediction 数据库共获得积雪草苷 B、羟基积雪草苷、山柰酚 303 个靶点基因; 以“Antioxidant”为关键词, 在 GeneCards、TTD、OMIM 数据库检索疾病靶点, 以大于中位数为标准, 共获得 2 395 个相关基因。将活性成分与疾病靶点基因取交集, 获得 127 个共同基因。PPI 网络分析结果显示, *SRC*、*ESR1*、*HSP90AB1* 的 Degree

值最高, 认为是积雪草抗氧化作用的核心靶点。“药物-成分-靶点”网络图 (图 9) 显示, 积雪草苷 B、羟基积雪草苷、山柰酚的 Degree 值分别为 52、43、68, 表明 3 个成分与疾病靶点关联紧密。GO 分析结果表明 (图 10A), 积雪草 3 个活性成分抗氧化主要与凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process)、对外源性刺激的反应 (response to xenobiotic stimulus) 等生物过程有关, 与细胞外分泌体 (extracellular exosome)、细胞质基质 (cytosol) 等细胞定位有关, 与酶结合、相同蛋白结合等有关。KEGG 通路富集结果显示 (图 10B), 积雪草活性成分抗氧化主要在前列腺癌、内分泌抗性、蛋白聚糖、癌症通路、化学致癌-活性氧等信号通路明显富集。



图 9 “积雪草-成分-靶点”网络关系图

Fig. 9 “Jixuecao-component-target” network diagram

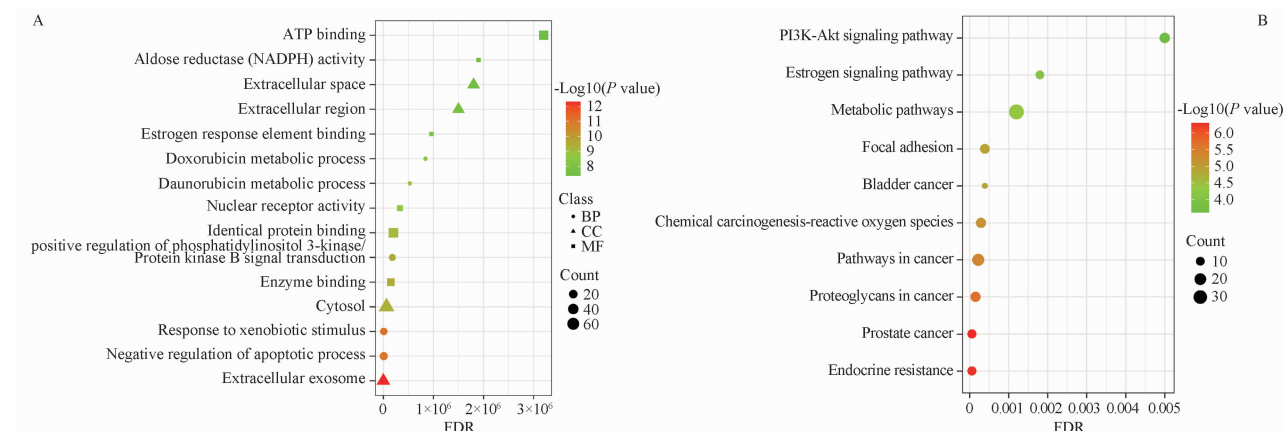


图 10 基因本体 (GO) 分析 (A) 及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析 (B) 气泡图

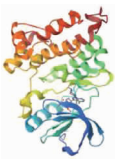

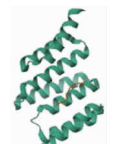
Fig. 10 Diagrams of GO analysis (A) and KEGG pathway analysis (B)

分子对接结果显示 (表 8), 3 个成分与核心靶标 *SRC*、*ESR1*、*HSP90AB1* 之间的结合性能较好, 三维图见图 11。以 *HSP90AB1* 为例, 积雪草苷 B 与氨基酸残基 TYR-261、ASP-255 具有氢键作用; 羟基积雪草苷与 *GLU-294*、*ASN-258*、*ARG-293* 具有氢键作

用, 二者均能与 *LYS-229*、*THR-260*、*THR-257*、*ASN-292*、*ASN-258* 形成氢键; 山柰酚与 *GLU-3*、*TYR-301*、*LYS-334* 具有氢键作用, 这种作用力能够促进积雪草苷 B、羟基积雪草苷、山柰酚与 *HSP90AB1* 结合并产生抗氧化作用。

表 8 积雪草活性成分与核心靶点分子对接结果

Tab. 8 Results of molecular docking between Centellae Herba active ingredients and core targets

Target	Structure	PDB ID	Target	Binding energy/kJ · mol ⁻¹
SRC		7NG7	Kaempferol	-32.64
			Asiaticoside B	-33.05
			Madecassoside	-29.29
ESRI		7YMK	Kaempferol	-35.98
			Asiaticoside B	-36.40
			Madecassoside	-35.15
HSP90AB1		3FWV	Kaempferol	-27.61
			Asiaticoside B	-31.38
			Madecassoside	-29.71

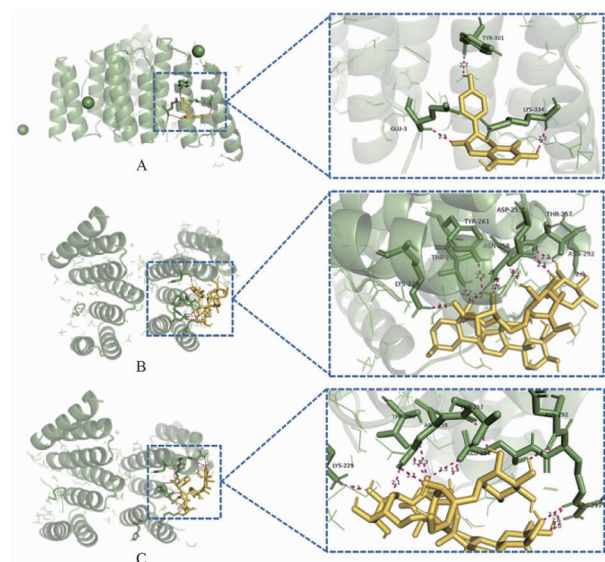


图 11 积雪草中活性化合物与 HSP90AB1 对接的 3D 图

Fig. 11 3D Diagram of the docking of the active compound in Centellae Herba with HSP90AB1

图 11 积雪草中活性化合物与 HSP90AB1 对接的 3D 图

Fig. 11 3D Diagram of the docking of the active compound in Centellae Herba with HSP90AB1

4 讨论

4.1 Q-marker 初步筛选-谱效关系

指纹图谱相似度评价结果显示,16 批积雪草药材共获得 9 个共有峰,其相似度高于 0.8,表明不同产地所含化学成分特征相似,质量比较稳定。聚类分析属于无监督多元统计方法,可以在相似性的基础上将数据分类,具有直观性、灵活性、适应性等特

点。通过系统聚类将 16 批积雪草大致分为 2 类,其中江西、江苏东南地区为 I 类,四川、贵州西南地区为 II 类,但在 I 类样品中贵州黔南州(S1 ~ S3)与东南地区样品聚为一类,存在产地交叉问题,可能与地理环境、采收时期、加工方式不同有关。因此产地不是评判积雪草品质的首要因素,需综合考虑其指标成分的含量。

本实验采用体外自由基清除法评价样品抗氧化能力,以 DPPH 和 ABTS 清除率的 IC₅₀ 值为变量进行谱效关联分析,IC₅₀ 值与样本抗氧化能力呈负相关,IC₅₀ 越小说明抗氧化能力越强。结果显示,16 批积雪草均具有较好的抗氧化性,并呈浓度依赖性。其中以 S5、S9 样品抗氧化能力强,且综合排名靠前,说明其活性成分含量高。采用 GRA 和 PLSR 建立指纹图谱与抗氧化活性之间的关联性,结果表明,有 8 个共有峰的关联度大于 0.6,说明积雪草提取物是通过“化学成分群”共同发挥抗氧化作用^[28-29]。综合偏最小二乘回归分析结果,发现共有峰 1(积雪草苷 B)、2(羟基积雪草苷)、5(山柰酚)可能是反映其抗氧化能力的关键特征峰。此外,《中国药典》2020 年版规定积雪草指标成分为积雪草苷和羟基积雪草苷,峰 3(积雪草苷)与抗氧化活性关联度均值高于 0.6,且 PLSR 分析其 VIP 值均大于 1,与抗氧化活性关联性较好,因此,上述 4 个成分可作为积雪草抗氧化的活性成分。

4.2 以抗氧化作用为导向的 Q-marker-网络药理学研究

对谱效关联分析所筛选的 3 种化合物与抗氧化

作用进行网络药理学分析,构建“中药-活性成分-靶点”网络图,初步确定化合物 Degree 值均高于 40,说明 3 种化合物在发挥药效过程中均起到关键作用;经 PPI 蛋白互作分析得到 *SRC*、*ESR1*、*HSP90AB1* 3 个核心靶点。为了阐明关键靶点在信号通路中的作用,进行了 KEGG 通路富集分析,推测积雪草中 3 个活性化合物可能通过内分泌抗性、蛋白聚糖、化学致癌-活性氧等信号通路发挥作用。经分子对接验证,3 种成分与 *SRC*、*ESR1*、*HSP90AB1* 核心靶标具有稳定的结合活性,其中与受体相互作用较强的残基包括 LYS-229、THR-260、THR-257、ASN-292、ASN-258,推断这些可能为受体的活性位点残基。

4.3 Q-marker 五原则分析

利用 UPLC 技术检测积雪草 7 种有效成分发现,羟基积雪草苷、积雪草苷 B、积雪草苷和山柰酚含量相对较高且稳定,符合 Q-marker 可测性原则^[30]。同时,有学者研究发现,上述 4 个成分均能在积雪草标准汤剂中稳定存在,说明能有效从饮片提取传递至标准汤剂之中^[31];且 4 个活性成分均能在血清或血浆中以原型或代谢物形式检测到^[32-33],符合 Q-marker 传递与溯源性原则。

在此基础上,借助 TCMS (https://old.tcmspe.com/) 数据库检索上述 4 个有效成分发现,积雪草苷 B、羟基积雪草苷、积雪草苷只在积雪草中存在,符合 Q-marker 特征性原则。山柰酚存在于 133 种中药中,但考虑到其含量较高且稳定,具有一定的抗氧化活性^[34-36],故也将该成分纳入积雪草质量控制的评价指标。

综上,本实验从 Q-marker 五原则角度,基于谱效关系、化学模式判别分析、网络药理学和分子对接的方法,初步确定积雪草苷 B、羟基积雪草苷、积雪草苷和山柰酚为积雪草抗氧化的候选 Q-markers,为积雪草质量评价方法的建立提供了参考依据。然而,积雪草是通过多成分相互协作共同发挥药效,因此需要对候选 Q-markers 的药动学特征、药效展开进一步研究,为基于抗氧化作用的积雪草候选 Q-markers 标准的制订提供科学支撑。

REFERENCES

[1] LI J Z, SUN Z H, CAI Q H, et al. Analysis of chemical constituents in different parts of *Centella asiatica* by LC-MS [J]. *J West China For Sci* (西部林业科学), 2022, 51 (4): 75-79, 86.
[2] ZHU J Y, CHEN Y T, NIE Y T, et al. Advances in dermatopharmacologic effects and mechanisms of *Centella asiatica* extracts

[J]. *Shandong Med J* (山东医药), 2023, 63 (20): 99-102.
[3] ZANG J. Studies on the quality control of *Centella asiatica* and its effect on glucolipid metabolism disorder and diabetic foot wound [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
[4] LIN C, WANG B, LIU J Z, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Centella asiatica* and prediction and analysis of its quality marker [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2023, 40(8): 70-77.
[5] RAZALI N N M, NG C T, FONG L Y. Cardiovascular protective effects of *Centella asiatica* and its triterpenes; a review [J]. *Planta Med*, 2019, 85(16): 1203-1215.
[6] HE T T. Advances in studies on quality evaluation of *Centella asiatica* [J]. *Guangdong Chem Ind* (广东化工), 2016, 43 (10): 104-105.
[7] RAZALI N N M, NG C T, FONG L Y. Cardiovascular protective effects of *Centella asiatica* and its triterpenes; a review [J]. *Planta Med*, 2019, 85(16): 1203-1215.
[8] IDRIS F N, MOHD NADZIR M. Comparative studies on different extraction methods of *Centella asiatica* and extracts bioactive compounds effects on antimicrobial activities [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2021, 10(4): 457.
[9] BURANASUDJA V, RANI D, MALLA A, et al. Insights into antioxidant activities and anti-skin-aging potential of callus extract from *Centella asiatica* (L.) [J]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1): 13459.
[10] SUN R S, ZHAO M J. Establishment of fingerprints and spectrum-effect relationship of anti-tumor activity of *Geranium wilfordii* from different places of origin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2023, 54 (15): 5003-5010.
[11] YANG C, ZHU X C, WAN H T, et al. Spectrum-effect relationship study on parched *Ziziphi Spinosae Semen* for its sedative and hypnotic effects based on gray correlation analysis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2021, 52 (17): 5267-5274.
[12] XU H Y, HE C X, LUO S X, et al. Determination of five triterpenes in *Centellae Herba* by a combinative method of HPLC fingerprint and quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2021, 56 (3): 181-188.
[13] TIAN P, WEI H C, HAN D E, et al. HPLC-ELSD fingerprint of Zhenwu Decoction and simultaneous determination of 13 components [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2020, 51 (23): 5980-5989.
[14] LI S, WANG Z Y, CHANG H J, et al. Establishment of HPLC fingerprint and effects of antioxidant and radioresistance related to its spectrum study of *Aucklandiae Radix* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2023, 54 (8): 2580-2587.
[15] WANG L Y, LIU Y H. Establishment of fingerprints of Pat Chun Tang and determination of multi-indicator components by double-labeled multi-test method [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2023, 46 (5): 1216-1223.
[16] ZHANG H J, SHI Y J, LUO Y Q, et al. Quality evaluation of *Chelidonium majus* herbs from different regions based on HPLC fingerprint and multi-index content determination combined with entropy weighted TOPSIS method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2024, 55 (12): 4194-4203.
[17] HE J, SHANG F H, LI L Y, et al. Establishment of fingerprints and spectrum-effect relationship of antioxidant activity of Citri

- Sarcodactylis Fructus [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2023, 54 (23): 7841-7852.
- [18] DUAN T H, XU R R, LI R, *et al.* Establishment of UPLC fingerprint and effects of antioxidant related to its spectrum study of *Angelica dahurica* cv. Qibaizhi [J]. *Chin Pharm J* (中国药学期刊), 2024, 59 (10): 896-903.
- [19] 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.
- [20] SONG Y N, WANG Y, ZHANG C, *et al.* Study quality markers for blood lipid-lowering effect of *Moringa oleifera* leaves based on specific chromatogram, network pharmacology and multi-index quantitative analysis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2024, 55 (5): 1686-1698.
- [21] HUANG Y, WANG B J, WANG L, *et al.* Quality evaluation of Nelumbinis Receptaculum based on fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2024, 55 (9): 3098-3106.
- [22] CHEN Q H, DENG Y F, HUANG S, *et al.* Quality evaluation of Sophorae Flos based on multiple chemical pattern recognition and UPLC fingerprint and chromatic value [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2023, 46 (5): 1205-1210.
- [23] XIE W, YANG N, JIANG S J. HPLC Fingerprint and pattern recognition of liposoluble components in *Mallotus apelta* leaves [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2017, 23 (18): 52-57.
- [24] LI Y R, ZHOU W W, WANG Z Y, *et al.* Relationship between antioxidant activity and spectrum-effect of Hawthorn Leaf extracts [J]. *Chin Pharm J* (中国药学期刊), 2020, 55 (20): 1673-1679.
- [25] KANG R, CHENG X L, YAO L W, *et al.* Quality analysis of *Rosa odorata* Sweet var. *gigantea* root based on UPLC-Q-Exact Orbitrap-MS fingerprint and antioxidant effect of DPPH spectrum-effect relationship [J]. *Chin Pharm J* (中国药学期刊), 2023, 58 (18): 1664-1670.
- [26] YANG M Y, LI M Y, HUANG Z, *et al.* UHPLC Fingerprinting and spectroscopic relationship of antioxidant activity of the Miao medicine *Ficus Tikoua* Bur. [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学期刊), 2024, 41 (6): 787-796.
- [27] ZHANG T, JIAO L Q, LIU R R, *et al.* Spectral effect relationship of antioxidant activity of polyphenols from *Ilex kudingcha* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学期刊), 2023, 58 (6): 489-496.
- [28] LIANG J Q, WANG J, XIONG W N, *et al.* Spectrum-effect relationship of leaf extracts from *Mangifera indica* based on grey relational analysis [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2015, 21 (1): 121-125.
- [29] HOU X T, CHEN X L, HAO E W, *et al.* Quality marker study of Cinnamomi Cortex on improving kidney-yang deficiency based on spectrum-effect relationship [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2021, 52 (9): 2597-2607.
- [30] YAN K, XU Y M, XU J P, *et al.* Determination of seven active components in *Centella asiatica* by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 2017, 33 (19): 1949-1953.
- [31] LV W S, YANG J, HOU X X, *et al.* Study on the quality evaluation of *Centellae Herba* standard decoction based on UPLC fingerprint and determination [J]. *J Guangdong Pharm Univ*(广东药科大学学报), 2023, 39 (5): 59-67.
- [32] OU Y D W, XIAO F, QIN Y, *et al.* Determination of multi-constituents of *Centella* total glucosides by LC-MS in rat plasma and their pharmacokinetics [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2014, 45(5): 460-466.
- [33] ZHU L S, LIU Y J, TAN X W. Study on the tissue distribution of asiaticoside in SD rats [J]. *Chin Pharm*(中国药师), 2018, 21(1): 20-27.
- [34] ZHANG Q. Preparation, *in vitro* and *in vivo* Antioxidant Activity of Kaempferol-loaded Liposome Hydrogel and Its Preliminary Treatment for Acute Eczema [D]. Anhui: Anhui University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [35] WANG R, LUO Q, FENG Y. Determination of antioxidant effects of kaempferol by micro-model of DPPH, ABTS and FRAP assay [J]. *Guangzhou Chem Ind*(广州化工), 2021, 49 (3): 58-59,63.
- [36] BISWAS D, MANDAL S, CHATTERJEE SAHA S, *et al.* Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology, and toxicity of *Centella asiatica* (L.) urban: a comprehensive review [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(12):6624-6654.

(收稿日期:2024-08-15)