DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.04.002

藤黄檀抗氧化谱效关系研究

丘琴[1],李鹏飞[1],覃春萍[1],秦祖杰[2],莫惠晴[1],甄丹丹[1],张淼[1],刘媛媛[1],甄汉深[1],魏江存[2]
(1.广西中医药大学药学院,广西 南宁 530000;2.广西国际壮医医院,广西 南宁 530000)

摘要:目的 采用高效液相色谱法(High performance liquid chromatography,HPLC)建立藤黄檀的指纹图谱,研究其抗氧化活性的谱效关系。方法 建立10批不同产地藤黄檀的HPLC指纹图谱,采用1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical,DPPH)法和2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2′-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid),ABTS]法对藤黄檀进行抗氧化活性作用,采用灰色关联度法(Grey relational analysis,GRA)和偏最小二乘回归分析法(Partial least squares regression analysis,PLSR)研究其谱效关系,进而筛选出其抗氧化物质基础。结果 建立了10批不同产地藤黄檀的HPLC指纹图谱共有模式,确定了能够表征藤黄檀特征的15个共有峰。10批不同产地批藤黄檀均具有不同程度的抗氧化活性,并呈剂量依赖性。结论 成功建立10批不同产地藤黄檀的HPLC指纹图谱与其抗氧化活性的谱效关系,为深入探究藤黄檀抗氧化药效物质基础和质量标准提供了依据。

关键词:藤黄檀;指纹图谱;抗氧化;谱效关系
中图分类号:R282.71 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)04-0007-08

Study on Antioxidant Spectral Relationship of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth)

QIU Qin[1],LI Pengfei[1],QIN Chunping[1],QIN Zujie[2],MO Huiqing[1],ZHEN Dandan[1],
ZHANG Miao[1],LIU Yuanyuan[1],ZHEN Hanshen[1],WEI Jiangcun[2]
(1. School of Pharmacy,Guangxi University of Chinese Medicine,Nanning 530000,Guagnxi,China;
2. Guangxi International Zhuang Medical Hospital,Nanning 530000,Guangxi,China)

Abstract:*Objective* To establish the fingerprint of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) by high performance liquid chromatography(HPLC) and to study the spectral-effect relationship of its antioxidant activity. *Method* HPLC fingerprints of 10 batches of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) from different origins were established,and the antioxidant activity of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) was investigated by the 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine(DPPH) method and 2,2-biazobis(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid) diammonium salt(ABTS) method,and its antioxidant activity was studied by the grey relational analysis(GRA) method and partial least squares regression analysis(PLSR) method was used for its spectral-effect relationship,and then its antioxidant substance base was screened out. *Results* The HPLC fingerprint patterns of 10 batches of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) from different origins were established,and 15 peaks were identified to characterize Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth). Ten batches of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) from different origins were found to possess antioxidant activities in different degrees in a dose-dependent manner. *Conclusion* The HPLC fingerprints of 10 batches of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) from different places were successfully established,which provided the basis for in-depth investigation of the antioxidant efficacy of Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth) and its quality standard.

Keywords:Tenghuangtan(*Dalbergia hancei* Benth);fingerprinting;antioxidant; spectral relationship

---

基金项目:国家中医药管理局高水平中医药重点学科(壮药学)建设项目(国中医药人教函〔2022〕226号);广西壮瑶药重点实验室项目(桂科基字〔2014〕32号);壮瑶药协同创新中心项目(桂教科研〔2013〕20号);广西高等学校千名中青年骨干教师教育计划项目(桂教教师〔2022〕60号);广西壮族自治区民族药资源与应用工程研究中心项目(桂发改高技函〔2020〕2605号);广西科技基地和人才专项(桂科AD21238031);广西重点研发计划项目(桂科AB21196016);广西中医药重点学科壮药学项目(GZXK-Z-20-64);广西一流学科中药学(民族药学)基金项目(桂教科研〔2018〕12号);广西中医药大学"桂派杏林青年英才"培养项目(2022C032);广西中医药多学科交叉创新团队项目(GZKJ2309);广西中医药大学"高层次人才培育创新团队"项目(2022A008)
作者简介:丘琴(1983-),女,广西贵港人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中药药效物质及其质量评价。
通讯作者:秦祖杰(1969-),男(瑶族),广西桂林人,教授,博士研究生导师,硕士,研究方向:中西医基础及临床应用。E-mail:109741754@qq.com。

藤黄檀 *Dalbergia hancei* Benth. 为豆目蝶形花科黄檀属植物，主要分布在广西、广东、福建等地，主要以根、茎、树脂入药[1]。在中医方面，藤黄檀有强壮筋骨、舒筋活络、理气止痛等功效，主治胸胁痛、腹痛、劳伤疼痛、腰腿痛、关节痛等疾病[2-3]。中药指纹图谱是指中药材经适当处理后，采用一定的分析手段，得到能够标示该中药材特性的共有峰的图谱[4]，其提供中药化学组成方面的丰富信息，但药效活性成分并不一定是指纹图谱所体现的化学成分，同时含量高并不等于活性高[5]，所以存在指纹图谱与药效信息脱节问题。中药谱效学的提出可有效解决上述问题，它是在中医理论指导下，将中药物质群特征峰指纹图谱中化学成分的变化与药效联系起来，建立起中药的“谱－效”关系[6]。现今，中药谱效关系已得到广泛地应用[7-8]。

本课题组前期发现藤黄檀醇提物有较强的抗氧化能力。为进一步明确藤黄檀抗氧化活性物质，本实验建立了 10 批不同产地藤黄檀醇提物的 HPLC 指纹图谱，考察了不同产地藤黄檀醇提物抗氧化作用。并通过灰色关联度分析和偏最小二乘回归法将指纹图谱的数据和药效指标相关联，分析藤黄檀“谱”与“效”关系，筛选出与抗氧化作用相关的药效成分群，初步研究藤黄檀抗氧化作用的药效基础，以期为进一步探究藤黄檀的抗氧化有效物质及开发利用提供依据。

1 材料

1.1 药材

10 批不同产地的藤黄檀药材均来自于广西区内，经广西一心药业副主任中药师马利飞鉴定为豆目蝶形花科黄檀属（Fabaceae：*Dalbergieae*）藤黄檀 *Dalbergia hancai* Benth 的茎，详细信息来源见表 1。

1.2 仪器

Agilent1260 高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司）；XM－PO6H 超声波清洗机（小美超声仪器昆山有限公司）；HWS－26 电热恒温水浴锅（上海齐欣科学仪器有限公司）；XSR205DU 电子天平（Switzerland）；Multiskan GO 1510 酶标仪（Thermo Fisher）。

1.3 试剂与试药

甲醇、乙腈（色谱纯，美国 Fisher 科学世界公司）；甲醇、乙醇（分析纯，北京化工厂）；95% 乙醇（2021111002，成都市科隆化学品有限公司）；水为超纯水，其他试剂均为分析纯；过硫酸钾（CAS7720－78－7 上海麦克林生化科技有限公司）。

原儿茶酸（批号 110809－200503，中国药品生物制品检验所）；染料木苷（批号 111709－201702，中国药品生物制品检验所）；染料木素（批号 111704－200501，中国食品药品检定研究院）；DPPH（ED0098，阿拉丁）；ABTS（CAS30931－67－0，阿拉丁）。

2 方法

2.1 藤黄檀样品制备

藤黄檀药材鲜品于 60 ℃烘箱烘干，粉碎成粉末。将藤黄檀药材粉末加入 70% 乙醇重复提取 3 次。第 1 次提取加入 10 倍量 70% 乙醇浸泡 30 min，再加热回流提取 1 h。第 2 和第 3 次提取直接加入 8 倍量的 70% 乙醇浸泡回流提取 1 h。每次提取完成后将提取液过滤，再将滤液在旋转蒸发仪上浓缩，最终得到醇提物浸膏并在 4 ℃冰箱中密封保存备用。精密称取上述浸膏 0.05 g，置于 2 mL 容量瓶中，加入 50% 甲醇溶解、稀释并定容，摇匀，转速为 13 000 r/min 离心机上离心 10 min，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得供试品溶液。

表 1 藤黄檀药材来源信息

编号	产地	采购时间
S1	南宁青秀区	2018.03
S2	河池天峨县	2018.05
S3	玉林容县	2018.04
S4	桂林兴安县	2018.04
S5	柳州融安县	2018.04
S6	桂林永福县	2018.04
S7	玉林博白县	2018.04
S8	百色田阳县	2018.04
S9	南宁武鸣区	2021.12
S10	来宾忻城县	2018.06

2.2 不同批次藤黄檀 HPLC 指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 Agilent 1260 高效液相色谱仪，SPD－M20A 检测器，Shim－pack VP－ODS 色谱柱（4.60 mm×250 mm，5 μm），流速为 1.0 mL/min，流动相为 0.1% 醋酸－甲醇，柱温 25 ℃，进样量 10 μL，波长为 286 nm，洗脱程序见表 2。

表 2 藤黄檀醇提物的洗脱梯度

时间/(min)	A(0.1% 醋酸)/(%)	B(甲醇)/(%)
0	90	10
48	66	34
60	62	38
110	30	70

2.2.2 对照品溶液的制备 对照品溶液的制备：精密称取原儿茶酸、染料木苷和染料木素对照品适量，溶解于 2 mL 容量瓶中，用甲醇稀释并定容，摇匀，制成 0.505 mg/mL 的原儿茶酸、0.034 mg/mL 染料木苷和 0.103 mg/mL 染料木素混合对照品溶液。

2.2.3 方法学考察 精密度：取 S5 产地药材粉末约 2 g，精密称定，按 2.1 项下制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件，连续进样 6 次，记录色谱图。分别计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。

重复性：取 S5 产地药材粉末约 2 g，共 6 份，精密称定，按 2.1 项下制备供试品溶液，按 2.2.1 项下色谱条件，记录色谱图。分别计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。

稳定性：取 S5 产地药材粉末约 2 g，精密称定，按 2.1 项下制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 按2.2.1项下色谱条件进行测定，考察样品溶液的稳定性。分别计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。

2.2.4 HPLC 指纹图谱建立及相似度评价 在 2.1 项下制备 10 批不同产地的藤黄檀醇提物供试品溶液，按 2.2.1 项下的同一色谱条件进行样品测定，得到 10 批不同产地藤黄檀醇提物样品色谱图，采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版》软件，以 S5 产地的色谱图定为参照图谱，平均数法作为对

照指纹图谱(R)的生成方法,通过多点校正,利用 Mark 峰进行匹配色谱峰,得到 10 批不同产地藤黄檀醇提物样品叠加图。此外,使用 SPSS 26.0 软件对 10 批不同产地的藤黄檀醇提物的样品共有峰面积进行了主成分分析和聚类分析。

2.3 抗氧化活性测定

2.3.1 供试品溶液的制备 称取 10 批不同产地的藤黄檀茎粉末(过 60 目)10 g,按照 2.1 项下条件提取,过滤,浓缩,得藤黄檀茎总黄酮浸膏。精密称取上述浸膏 0.025 g,置于 25 mL 容量瓶中,加入 95% 乙醇溶解、稀释并定容,摇匀,即得供试品溶液。

2.3.2 DPPH 自由基清除法 依照 DPPH 自由基清除能力试剂盒说明书,配制 DPPH 工作液,进行反应和测定。精密称取 DPPH 16.51 mg,置于小烧杯中加无水乙醇,超声使其溶解,冷却至室温后转移至 10 mL 棕色容量瓶中,以无水乙醇定容,即得 DPPH 工作液。空白组:分别取 DPPH 工作液 + 95% 乙醇 100 μL,样品组:取 DPPH 工作液 100 μL + 不同质量浓度的供试品溶液(分别取 2.3.1 项下供试品溶液 20、40、80、120、160、200、240 μL,用 95% 乙醇定容至 2 mL 量瓶中,下同)各 100 μL,对照品:取无水乙醇 100 μL + 上述质量浓度供试品溶液各 100 μL,置于 96 孔板中,于避光静置 30 min,每个样品平行三次进行测定,用酶标仪于 517 nm 波长处分别测定吸光度,依次记为 A_0(空白组)、A_1(样品组)和 A_2(对照组)。按下式计算自由基清除率:自由基清除率(%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] × 100%。

2.3.3 ABTS 自由基清除法 依照 ABTS 自由基清除能力试剂盒说明书,配制 ABTS 工作液,进行反应和测定。精密称取 ABTS 38.41 mg,置 10 mL 棕色容量瓶中,加纯水溶解并稀释至刻度另精密称取过硫酸钾 66.10 mg,置于 100 mL 容量瓶中,加纯水溶解并稀释至刻度。将上述 ABTS 溶液与过硫酸钾溶液等体积混合,避光储存 12 ~ 16 h 后,用纯水稀释,使其在 734 nm 波长处的吸光度为 0.70 ± 0.02,即得 ABTS 工作液。分别取 95% 乙醇 20 μL + ABTS 工作液 180 μL(空白组)和不同质量浓度供试品溶液(分别取 2.3.1 项下供试品溶液 40、160、200、280、360、440 μL,用 95% 乙醇定容至 2 mL 量瓶中,下同)。各 20 μL + ABTS 工作液 180 μL(样品组)、不同质量浓度供试品溶液各 20 μL + 水 180 μL(对照组),置于 96 孔板中,于室温下静置 30 min,于 734 nm 波长处分别测定其吸光度,依次记为 A_0(空白组)、A_1(样品组)和 A_2(对照组)。按下式计算自由基清除率:自由基清除率(%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] × 100%。

2.4 抗氧化谱效关系

2.4.1 灰色关联度分析法 将 10 批不同产地藤黄檀醇提物指纹图谱 15 个共有峰的峰面积设为子序列。此外,将抗氧化药效数据(ABTS 和 DPPH)分别设为母序列[9]。其计算方法及步骤按照参考文献[10 - 12]进行灰色关联度分析,通过灰色关联度分析子序列和母序列的关联性,进而研究不同产地藤黄檀抗氧化谱效关系。

2.4.2 偏最小二乘回归分析法 偏最小二乘回归分析能够多反映自变量(X)对因变量(Y)的解释能力大小,集合了多种分析方法的优点,有着很强的解释和预测能力,尤其适用于样本量小或等于变量个数的情况[13]。采用软件 SIMCA 14.0 进行偏最小二乘回归分析,回归系数表示各自变量(X)对因变量(Y)的贡献大小,回归系数的正、负表示各成分对药效值的正相关或负相关,而回归系数绝对值越大,则对药效(Y)的贡献越大。再依据变量投影重要性值(VIP)判断自变量 X 对因变量 Y 的解释程度,当 VIP 值越大(>1),则自变量 X 对因变量 Y 的解释能力就越强[14]。将 10 批不同产地藤黄檀醇提物共有峰的峰面积数据作为自变量(X),DPPH 和 ABTS 的半数抑制率(IC_{50})分别作为因变量(Y)[15]。采用偏最小二乘回归法进行抗氧化谱效关系研究,探讨指纹图谱与抗氧化效值之间的关系。

3 结果

3.1 HPLC 指纹图谱分析结果

3.1.1 方法学验证 精密度试验结果测得 15 个共有峰的相对保留时间的 RSD 值为 0.02% ~ 0.14% 和相对峰面积的 RSD 值为 0.15% ~ 2.92%(n = 6),说明仪器的精密度良好。重复性试验结果测得 15 个共有峰的相对保留时间的 RSD 值为 0.02% ~ 0.09% 和相对峰面积的 RSD 值为 0.41% ~ 2.98%(n = 6),表明该方法重复性良好。稳定性试验结果测得 15 个共有峰的相对保留时间的 RSD 值为 0.05% ~ 0.07% 和相对峰面积的 RSD 值为 0.47% ~ 2.87%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.1.2 HPLC 指纹图谱及相似度评价 建立 10 批不同产地藤黄檀醇提物的 HPLC 指纹图谱,确定了 15 个共有峰,通过对照品比对法,指认出 1 号是原儿茶酸、10 号是峰染料木苷和 15 号是峰染料木素。通过比较发现 1 号峰的峰面积在 3 个已知成分中是最高的,为了后续更好地研究,故选取 1 号峰作为参照峰来进行指纹图谱的研究。10 批不同产地藤黄檀醇提物叠加色谱图如插页Ⅳ图 1 所示,对照指纹图谱如图 2 所示,混合对照品溶液 HPLC 色谱图如图 3 所示。相似度评价结果见表 3,10 个产地的藤黄檀 15 个共有峰相似度为 0.852 以上,表明各产地藤黄檀茎样品的化学成分相对稳定且良好。S9 产地的指纹图谱相似度相对较低,可能是 S9 产地的藤黄檀药材受到当地的土壤、季节、气候、光照、水分和成熟度的影响而导致其含量上产生差别[16 - 18]。

3.2 主成分分析结果

主成分分析是利用降维的思想,在损失最少信息的前提下把多个指标转化为几个综合指标的多元统计方法[19]。利用 SPSS 26.0 软件进行主成分分析,以 10 批不同产地藤黄檀醇提物的 15 个共有峰峰面积为变量,通过降维因子和提取原则为特征值大于 1 且前 n 个主成分的累计贡献率达到 70% 以上进行分析,得出 3 个主成分。主成分 1 的特征值为 5.866 5、主成分 2 的特征值为 5.511 5 和主成分 3 的特征值为 1.912 2,方差贡献率分别为 39.110 3%、36.743 4% 和 12.747 8%,累计贡献率达到 88.601 4%,表明这三个成分代表了藤黄檀醇提物指纹图谱中共有峰的大部分化学信息,且主成分 1 对藤黄檀药材的质量影响较大,结果见表 4。主成分的贡献大小取决于载荷的绝对值大小,由表5可知,主成分1与共有峰中峰6、7、8、10

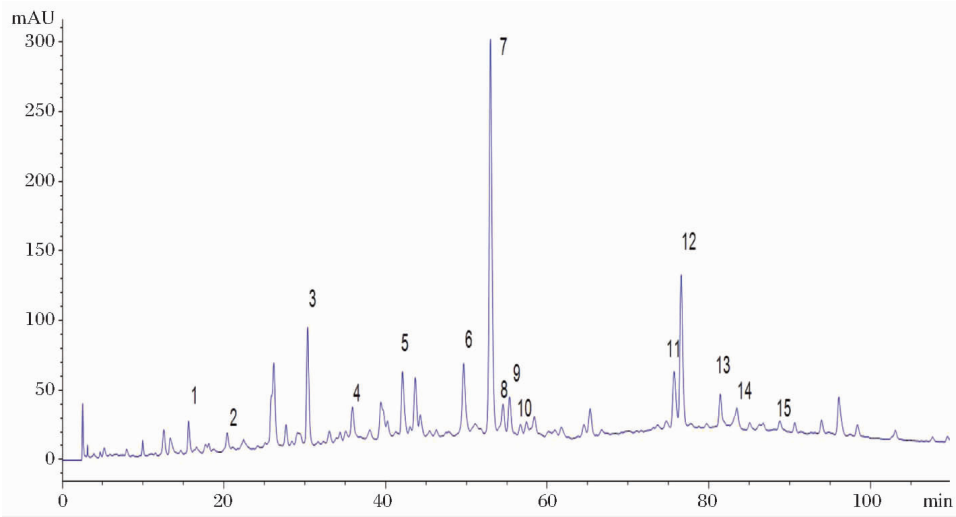


图 2 10 批不同产地藤黄檀醇提物对照图谱

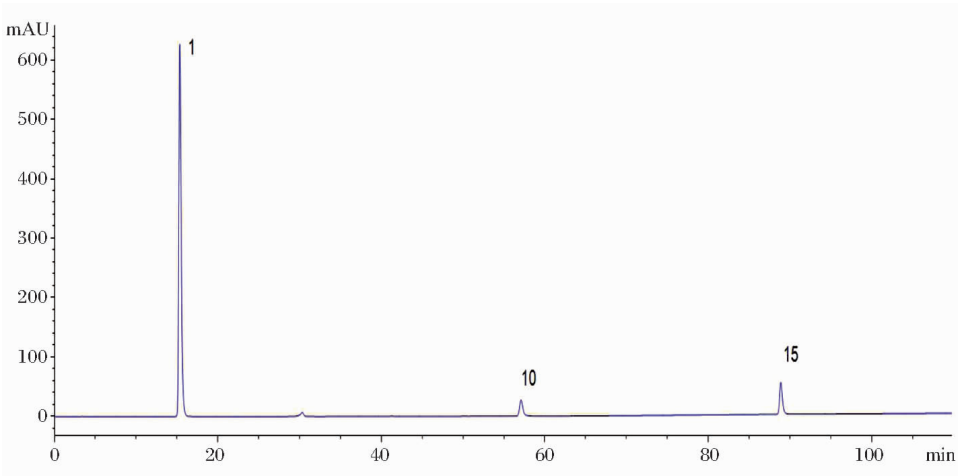


图 3 混合对照品溶液 HPLC 色谱图

表 3 10 批不同产地藤黄檀醇提物相似度评价结果

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
S1	1.000	0.955	0.992	0.986	0.971	0.982	0.974	0.976	0.919	0.975
S2	0.955	1.000	0.965	0.979	0.974	0.986	0.987	0.991	0.852	0.983
S3	0.992	0.965	1.000	0.995	0.982	0.991	0.986	0.987	0.923	0.983
S4	0.986	0.979	0.995	1.000	0.980	0.993	0.987	0.991	0.899	0.986
S5	0.971	0.974	0.982	0.980	1.000	0.992	0.995	0.990	0.878	0.998
S6	0.982	0.986	0.991	0.993	0.992	1.000	0.995	0.997	0.900	0.994
S7	0.974	0.987	0.986	0.987	0.995	0.995	1.000	0.998	0.884	0.996
S8	0.976	0.991	0.987	0.991	0.990	0.997	0.998	1.000	0.894	0.994
S9	0.919	0.852	0.923	0.899	0.878	0.900	0.884	0.894	1.000	0.874
S10	0.975	0.983	0.983	0.986	0.998	0.994	0.996	0.994	0.874	1.000
对照指纹图谱	0.989	0.975	0.996	0.992	0.987	0.995	0.991	0.993	0.933	0.988

(染料木苷)、11、12 和 14 关系密切,提示这些共有峰所代表的化合物对藤黄檀的质量控制起到很重要的作用,主成分 2 与共有峰中峰 4、5、15(染料木素)、1(原儿茶酸)、9、3、2 的关系密切,主成分 3 只与色谱峰 13 关系密切。由主成分分析得分图(插页Ⅳ图 4)可知,10 批不同产地的藤黄檀样品可以分成 3 类,S4、S5、S6、S10 为一类,S1、S2、S3、S7、S8 为一类,S9 为一类。

3.3 聚类分析结果

聚类分析是用欧氏距离或相似度大小衡量样品之间的亲疏程度,并以此来分类[20]。利用 SPSS 26.0 软件进行聚类分析,以 10 批不同产地的藤黄檀醇提物样品 15 个共有峰面积为变量,而峰面积代表了某个化学成分的含量。聚类分析结果如图 5 所示,图中 X 轴表示计算距离,Y 轴为谱图编号。距离越近则谱图相似程度越大,建立指纹谱图的可靠性越高。根据本实验结果,设定选择距离为 20。10 批不同产地藤黄檀醇提物样品可分为 3 类,聚类 1 为产地 S4、S5、S6、S10;聚类 2 为产地;S1、S2、S3、S7、S8;聚类 3 为产地 S9。其结果说明不同产地的藤黄檀样品存在差异,且影响因素最大是采收时间,其结果与

表 4 藤黄檀醇提物主成分特征值及方差贡献率

主成分	特征值	贡献率/(%)	累计贡献率/(%)
1	5.866 5	39.110 3	39.110 3
2	5.511 5	36.743 4	75.853 7
3	1.912 2	12.747 8	88.601 4
4	0.761 9	5.079 4	93.680 9
5	0.659 9	4.399 1	98.080 0
6	0.171 7	1.144 6	99.224 7
7	0.066 6	0.443 7	99.668 4
8	0.036 9	0.245 8	99.914 2
9	0.012 9	0.085 8	100.000 0

表 5 藤黄檀醇提物主成分载荷矩图

峰号	成分		
	1	2	3
7	0.994	0.057	0.035
8	0.962	0.035	-0.220
6	0.913	-0.275	-0.148
12	0.895	-0.414	-0.065
10	0.716	0.405	-0.304
11	0.715	0.427	-0.093
14	0.709	-0.172	0.681
4	-0.083	0.957	-0.203
5	0.256	0.937	0.175
15	-0.200	0.873	-0.026
1	-0.388	0.856	0.113
9	0.323	0.781	0.142
3	0.390	0.713	-0.463
2	-0.260	0.683	0.436
13	0.454	0.111	0.873

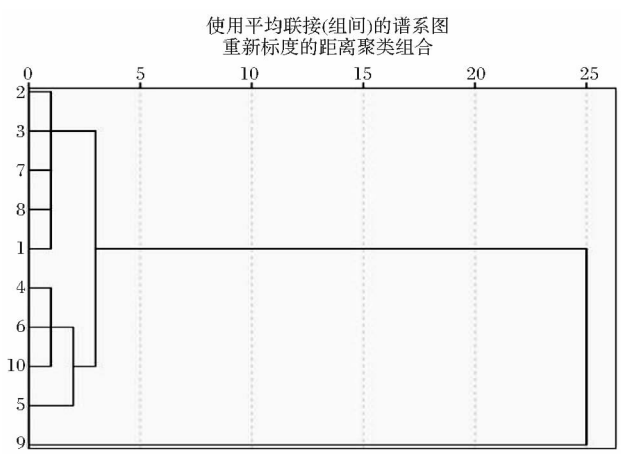


图 5 10 批不同产地藤黄檀醇提物样品聚类分析

主成分分析的结果一致。

3.4 抗氧化结果

10 批藤黄檀样品对 DPPH 自由基的清除能力测定结果见表 6。结果显示,10 批藤黄檀样品均表现出良好的 DPPH 自由基清除能力,而且清除作用随着藤黄檀供试品质量浓度的升高而增强,S10 和 S2 分别表现出相对最强和相对最弱的抗氧化作用,抗氧化活性的强弱顺序为 S10 > S6 > S7 = S4 > S3 > S5 = S8 > S9 > S1 > S2。

10 批藤黄檀样品对 ABTS 自由基的清除能力测定结果见表 7。结果显示,10 批藤黄檀样品均表现出良好的 ABTS 自由基清除能力,而且清除作用随着藤黄檀供试品质量浓度的升高而增强,同时 S6 和 S5 分别表现出相对最强和相对最弱的抗氧化作用,抗氧化活性的强弱顺序为 S6 > S4 > S10 > S9 > S8 > S7 > S3 > S2 > S1 > S5。

3.5 抗氧化谱效关系分析结果

3.5.1 灰色关联度分析 通过灰色关联度分析子序列和母序列的关联性。关联度越大,则认为该峰所对应的化合物对藤黄檀药效发挥贡献度大[21]。

灰色关联度分析结果如表 8 所示,藤黄檀醇提物共有峰与 DPPH 抗氧化药效的关联度由大到小依次为峰 2 > 峰 1 > 峰 5 > 峰 3 > 峰 10 > 峰 7 > 峰 4 > 峰 14 > 峰 9 > 峰 6 > 峰 15 > 峰 8 > 峰 13 > 峰 12 > 峰 11,除了峰 11,其余峰关联度均大于 0.7。藤黄檀醇提物共有峰与 ABTS 抗氧化药效的关联度由大到小依次为峰 1 > 峰 5 > 峰 2 > 峰 3 > 峰 10 > 峰 7 > 峰 4 > 峰 9 > 峰 14 > 峰 6 > 峰 15 > 峰 8 > 峰 13 > 峰 12 > 峰 11,除了峰 11,其余峰的关联度均大于 0.7。其中峰 1、2、3、4、5、7、9、10 和 14 对 DPPH 和 ABTS 清除能力的关联度都大于 0.9,表明这 9 个峰所代表的化合物都对藤黄檀醇提物抗氧化有较大的贡献。

表 6 10 批不同产地藤黄檀对 DPPH 自由基活性测定结果

单位:mg/mL

样品编号	浓度							DPPH IC_{50}
	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	
S1	26.209	34.509	50.494	66.994	77.347	87.297	89.288	0.041
S2	20.667	27.761	46.222	62.336	74.724	84.991	87.607	0.048
S3	27.483	34.311	53.430	69.119	84.179	90.760	92.090	0.037
S4	25.244	41.060	71.235	87.741	91.003	93.170	93.618	0.026
S5	28.321	32.335	52.324	71.091	82.828	90.986	92.004	0.038
S6	26.526	44.771	69.065	88.644	90.289	90.389	91.592	0.024
S7	30.237	42.054	65.391	85.198	88.733	89.195	89.492	0.026
S8	27.107	31.441	52.694	71.768	87.102	91.228	91.545	0.038
S9	27.659	33.904	47.756	69.777	82.667	86.703	87.252	0.040
S10	32.560	46.582	69.269	81.429	85.750	86.213	87.554	0.022

表 7 10 批不同产地藤黄檀对 ABTS 自由基活性测定结果

样品编号	浓度						ABTS IC_{50}
	0.02	0.06	0.10	0.14	0.18	0.22	
S1	19.314	36.436	53.680	70.674	79.523	88.331	0.096
S2	26.670	36.715	53.661	63.823	80.920	91.506	0.091
S3	19.830	42.117	56.808	67.245	82.617	91.840	0.090
S4	16.364	48.370	63.677	86.008	99.113	99.496	0.072
S5	17.497	39.541	51.942	66.372	80.429	87.311	0.098
S6	21.066	43.354	69.389	84.006	94.814	99.896	0.071
S7	17.571	39.884	54.847	75.222	85.375	90.253	0.090
S8	17.345	40.005	51.558	68.362	84.361	94.481	0.093
S9	20.135	40.939	61.023	81.422	88.286	94.587	0.080
S10	16.963	42.497	59.780	67.686	86.268	97.336	0.087

表 8 藤黄檀醇提物 HPLC 指纹图谱共有峰与抗氧化灰色关联度

共有峰峰号	关联度	
	DPPH	ABTS
1	0.949 0	0.960 7
2	0.950 9	0.951 0
3	0.929 6	0.944 2
4	0.908 1	0.929 6
5	0.936 6	0.960 3
6	0.893 5	0.909 8
7	0.910 3	0.930 1
8	0.877 5	0.895 5
9	0.903 1	0.922 1
10	0.928 7	0.938 0
11	0.578 5	0.579 2
12	0.781 8	0.790 6
13	0.829 9	0.835 1
14	0.903 9	0.914 7
15	0.890 9	0.909 5

3.5.2 偏最小二乘回归分析 VIP 是 PLSR 分析中一个重要的指标，VIP 值越大，表明该活性成分对药效的贡献率越大。当 VIP 值 >1 时，表明该活性成分对药效呈显著相关[22]。藤黄檀醇提物指纹图谱与 DPPH 抗氧化药效的回归分析得到的相关系数及变量重要性见表 9、图 6 和图 7。从中可知，在 DPPH 法的 PLSR 分析中，在 15 个共有峰中的峰 1、2、3、4、5、7、8、9、10、11 和 15 所对应的回归系数为负值，表明这些共有峰的峰面积越大，半数抑制率（IC_{50}）值就越低，即清除 DPPH 自由基的能力越强[23-24]。峰 3、4、5、9、10、11 和 15 的 VIP 值均大于 1，排序为峰 4 > 15 > 3 > 5 > 9 > 10 > 11，说明上述这些共有峰代表的化合物与藤黄檀醇提物抗氧化活性的大小呈显著相关。结合 PLSR 方程的回归系数和 VIP 值，表明峰 3、4、5、9、10、11 和 15 代表的化合物是清除 DPPH 自由基的主要活性成分。

表 9 藤黄檀醇提物指纹图谱与 DPPH 抗氧化药效的偏回归系数结果

共有峰峰号	偏回归系数
1	−0.079 0
2	−0.050 4
3	−0.133 1
4	−0.149 1
5	−0.132 0
6	0.097 9
7	−0.030 1
8	−0.033 7
9	−0.116 6
10	−0.092 4
11	−0.091 1
12	0.032 5
13	0.015 8
14	0.043 9
15	−0.140 0

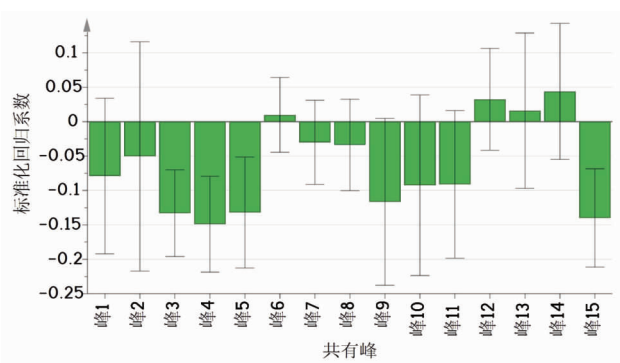


图 6 藤黄檀醇提物 DPPH 抗氧化谱效关系的偏回归系数图

藤黄檀醇提物指纹图谱与 ABTS 抗氧化药效的回归分析得到的相关系数及变量重要性见表 10、图 8 和图 9。从中可知，在 ABTS 法的 PLSR 分析中，15 个共有峰中的峰 3、4、7 ~ 12 和 15 所对应的回归系数为负值，表明这些共有峰的峰面积越大，IC_{50} 值就越低，即清除 ABTS 自由基的能力越强。峰 2、3、7、8、10、11、13 和 14 的 VIP 值均大于 1，排序为峰 10 > 13 > 8 > 3 > 11 > 2 > 14 > 7，说明上述这些共有峰代表的化合物与藤黄檀醇提物抗氧化活性的大小呈显著相关。结合 PLSR 方程的

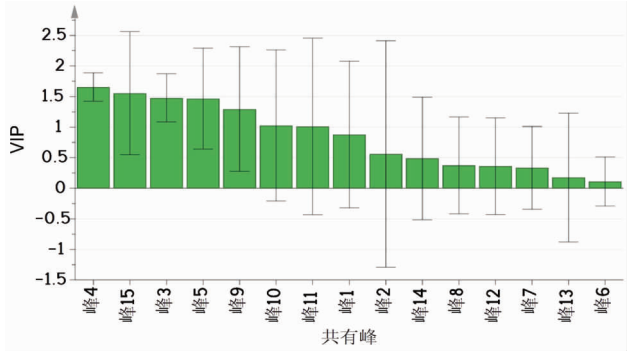


图 7 藤黄檀醇提物共有峰面积与 DPPH 抗氧化药效的 VIP 图

回归系数和 VIP 值，表明峰 3、4、7、8、10 和 11 代表的化合物是清除 ABTS 自由基的主要活性成分。

表 10 藤黄檀醇提物指纹图谱与 ABTS 抗氧化药效的偏回归系数结果

共有峰峰号	偏回归系数
1	0.072 6
2	0.350 7
3	−0.059 5
4	−0.166 9
5	0.054 9
6	0.001 0
7	−0.055 6
8	−0.117 6
9	−0.253 2
10	−0.372 5
11	−0.182 3
12	−0.002 2
13	0.242 1
14	0.218 6
15	−0.000 8

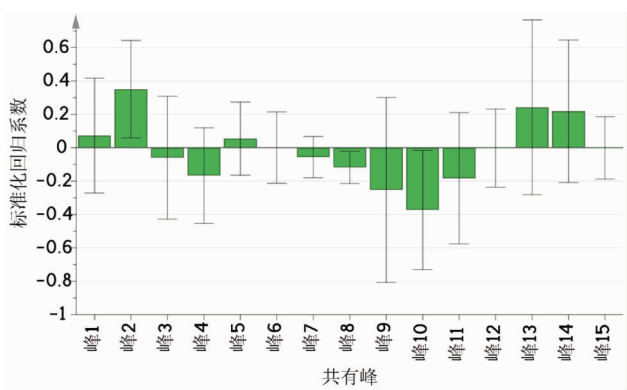


图 8 藤黄檀醇提物 ABTS 抗氧化谱效关系的偏回归系数图

4 讨论

研究对 10 批不同产地藤黄檀醇提物的共有峰进行指认，指认出 1 号峰原儿茶酸、10 号峰染料木苷和 15 号峰染料木素。相似度分析结果显示，10 批不同产地藤黄檀醇提物的共有峰相似度为 0.852 以上，说明藤黄檀醇提物之间的化学成分含量存在差异，其原因可能是样品间的产地、季节、气候、采收时间、生长状况和成熟度的差异。

采用 DPPH 法和 ABTS 法对藤黄檀醇提物的抗氧化活性进行测试，得出藤黄檀醇提物样品浓度的增大抗氧化活性随之

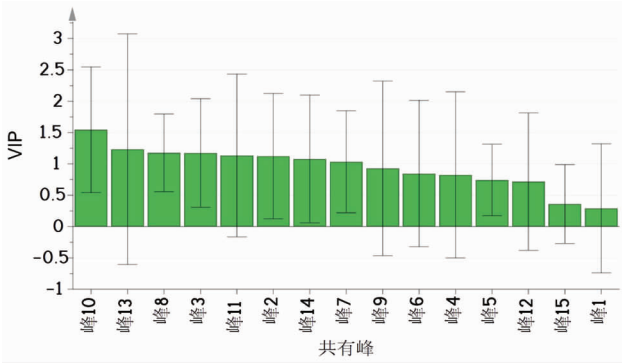


图 9 藤黄檀醇提物共有峰面积与 ABTS 抗氧化药效的 VIP 图

增强。同时 10 批不同产地的藤黄檀醇提物样品清除 DPPH 自由基的能力整体高于 ABTS 自由基。

采用灰色关联度分析法和偏最小二乘回归分析法分析了不同产地藤黄檀醇提物 HPLC 指纹图谱与抗氧化作用的相关性。经灰色关联度分析法发现,藤黄檀醇提物共有峰与 DPPH 抗氧化药效的关联度,除了峰 11,其余峰关联度均大于 0.7。此外,藤黄檀醇提物共有峰与 ABTS 抗氧化药效的关联度,除了峰 11,其余峰关联度均大于 0.7。其中峰 1、2、3、4、5、7、9、10 和 14 对 DPPH 和 ABTS 清除能力的关联度都大于 0.9,表明各色谱峰所代表的化合物都对藤黄檀醇提物抗氧化有较大的贡献。偏最小二乘回归分析结果显示,综合 DPPH 和 ABTS 两种抗氧化药效的偏最小二乘回归方程回归系数和 VIP 值,得出指纹图谱共有峰中峰 3、4、10 和 11 与藤黄檀醇提物的抗氧化活性相关性较大。综合灰色关联度和偏最小二乘回归法分析,藤黄檀醇提物的指纹图谱中峰 3、4、10 和 11 对抗氧化药效贡献较大,可能是其抗氧化药效物质基础。其中 10 号峰为染料木苷,经查阅相关文献发现染料木苷[25-26]均具有较好抗氧化效果。

5 结论

本研究建立了 10 批不同产地藤黄檀醇提物 HPLC 指纹图谱,确定了 15 个共有峰,通过对照品比对法指认出其中 3 个峰,分别是 1 号峰原儿茶酸、10 号峰染料木苷和 15 号峰染料木素。主成分分析和聚类分析的结果一致,均将 10 批产地药材聚为 3 类,表明该方法可用于藤黄檀的质量评价。此外,采用了灰色关联度分析和偏最小二乘回归分析的方法,研究了藤黄檀醇提物 HPLC 指纹图谱共有峰与抗氧化作用的关系。结果表明藤黄檀醇提物中 3、4、10 和 11 号峰对抗氧化作用贡献较大的色谱峰,其所代表的化合物可能是藤黄檀抗氧化的药效物质基础。本实验可为深入探究藤黄檀抗氧化药效物质基础和质量标准的建立及进一步开发利用提供科学依据。

参考文献

[1] 徐淼锋,黄晶,王祥红,等. 藤黄檀结香树脂的性状和显微鉴别研究[J]. 安徽农业科学,2022,50(10):145-148.
[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草-1[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:432-433.
[3] 福建省中医研究所. 福建药物志-第二册[M]. 福州:福建科学技术出版社,1983:513.
[4] 国家药品监督管理局. 关于印发《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》的通知[J]. 中成药,2000,22(10):671.
[5] 刁嘉茵,徐灿,王淑美,等. 中药指纹图谱与药效相关性研究进展[J]. 药学研究,2018,37(3):165-168.
[6] 蔡靓,张倩,杨丰庆. 中药谱效学的应用进展[J]. 中草药,2017,48(23):5005-5011.
[7] 李硕,王志允,常华杰,等. 木香 HPLC 指纹图谱的建立及其抗氧化、抗辐射作用谱效关系研究[J]. 中草药,2023,54(8):2580-2587.
[8] 沈成英,吴文明,侯雄军,等. 黄芩汤指纹图谱建立及不同相态抗皮肤癣菌活性谱效关系研究[J]. 中国药房,2023,34(6):687-692.
[9] 罗毓,田清清,汪梅,等. 基于多元统计方法的百合抗氧化谱效关系研究[J]. 广东药科大学学报,2023,39(3):102-109.
[10] 王斌,林钦贤,梁伟龙,等. 灰色关联度分析法评价半枝莲药材质量[J]. 中医药信息,2021,37(5):6-10.
[11] 卞理,窦志华,黄斯嘉. 灰色关联度分析法评价大黄饮片质量研究[J]. 现代中药研究与实践,2020,34(5):39-42,54.
[12] 付士朋,沈宏伟,王谦博,等. 指纹图谱结合灰色关联度分析法对不同产地赤芍质量的评价研究[J]. 中草药,2019,50(23):5865-5871.
[13] 孙亮亮,吴剑,张叶,等. 基于偏最小二乘回归分析法怀牛膝药材抗炎镇痛谱效关系[J]. 中成药,2018,40(12):2786-2792.
[14] HUANG M W,LI R J,YANG M,et al. Discovering the potential active ingredients of Qi-Yu-San-Long Decoction for anti-oxidation,inhibition of non-small cell lung cancer based on the spectrum-effect relationship combined with chemometric methods[J]. Front Pharmacol,2022,13:989139.
[15] 张雪丽,杨长福,李玮,等. 半夏水溶性成分抗氧化活性谱效关系研究[J]. 中南药学,2023,21(5):1183-1189.
[16] 李梦,侯旭粲,张宪宝,等. 道地药材生长环境数据库的构建[J]. 中国中药杂志,2019,44(14):3010-3014.
[17] 孙君社,郑志安,张秀清,等. 优质道地药材规范化生产探索[J]. 中国现代中药,2015,17(8):756-761.
[18] 蔡女煌. 影响中药质量十大因素的初步探讨[J]. 海峡药学,2014,26(3):43-44.
[19] 崔新刚,王颖莹. 基于主成分分析和聚类分析的不同厂家维 C 银翘片质量评价[J]. 中国民族民间医药,2021,30(3):40-43.
[20] 孙振华. 基于抗氧化谱效关系桑椹质量评价研究[D]. 南宁:广西中医药大学,2020.
[21] 任琦,刘良玉,付辉政,等. 灰色关联度法评价麸炒白术质量[J]. 中国现代中药,2020,22(5):767-771.
[22] 杨妍,唐传红,贾薇,等. 基于偏最小二乘法的赤芝子实体三萜类化合物抗氧化谱效关系的研究[J]. 食用菌学报,2020,27(2):63-76.
[23] 钱松,刘琴,麻秀萍,等. 地稔醇提物抗氧化活性的谱效关系研究[J]. 中国药房,2021,32(16):1969-1974.
[24] 李艳荣,周维维,王子怡,等. 山楂叶提取物抗氧化活性及谱效关系研究[J]. 中国药学杂志,2020,55(20):1673-1679.
[25] 张泉洋,马富超,王帅,等. 染料木苷药理作用的研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2017,44(4):315-318,325.
[26] 岳爱琴,史少静,徐海军,等. 大豆异黄酮的提取纯化及抗氧化性研究[J]. 安徽农业科学,2014,42(28):9912-9915.

藤黄檀抗氧化谱效关系研究

(正文见 7 – 13 页)

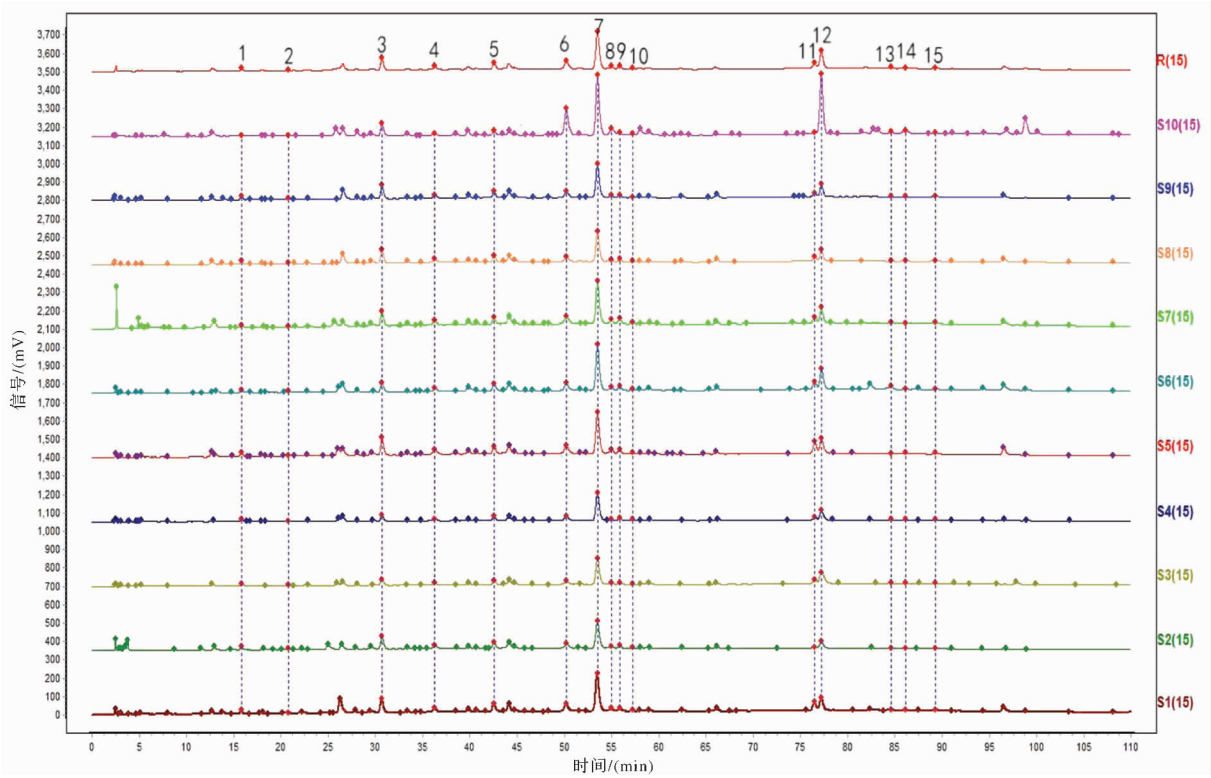


图 1　10 批不同产地藤黄檀醇提物 HPLC 叠加指纹色谱图

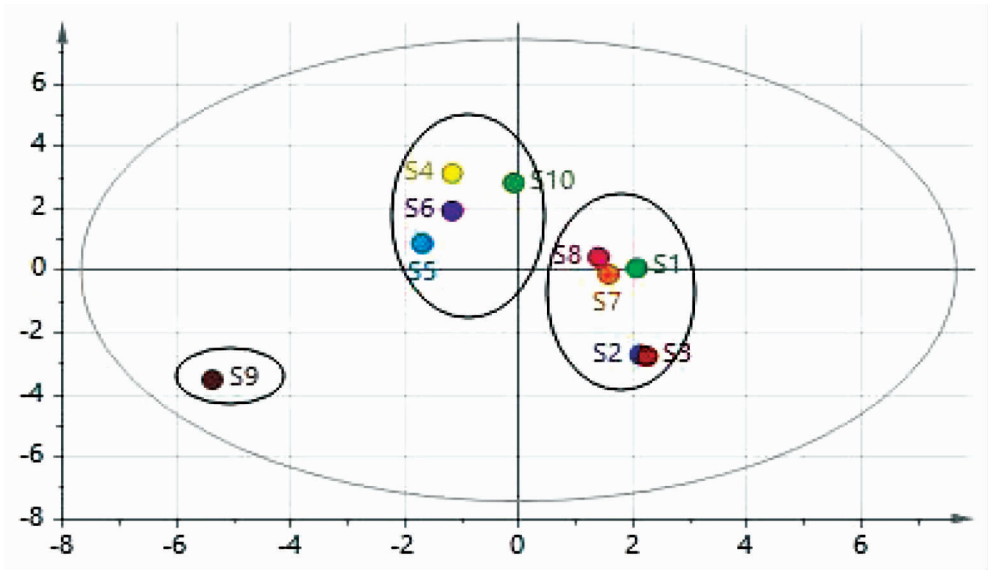


图 4　10 批不同产地藤黄檀醇提物主成分得分图