

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202204037

谭小青, 胡筱希, 唐红珍, 等. 2023. 牛尾菜 HPLC 指纹图谱及抗氧化活性谱效关系研究 [J]. 广西植物, 43(11): 2131–2138.

TAN XQ, HU XX, TANG HZ, et al., 2023. Correlation analysis between HPLC fingerprint of *Smilax riparia* and antioxidant activity [J]. *Guihaia*, 43(11): 2131–2138.



## 牛尾菜 HPLC 指纹图谱及抗氧化活性谱效关系研究

谭小青<sup>1</sup>, 胡筱希<sup>1</sup>, 唐红珍<sup>2</sup>, 梁臣艳<sup>2</sup>, 覃喜军<sup>2</sup>, 刘振杰<sup>2\*</sup>

( 1. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022; 2. 广西优势中成药与民族药开发工程技术研究中心, 广西中医药大学, 南宁 530299 )

**摘要:** 为筛选牛尾菜抗氧化作用的药效活性物质,提升牛尾菜的药材质量控制标准,该研究测定了 13 批牛尾菜的高效液相指纹图谱,并进行相似度评价和聚类分析,采用偏最小二乘回归分析法将共有峰与抗氧化的抑制率进行关联性分析,并进行单体化合物抗氧化试验验证。结果表明:(1)该文建立了含有 14 个主要共有峰的 13 批牛尾菜 HPLC 指纹图谱。(2)13 批牛尾菜样品聚为两类。(3)指纹图谱中的 1、2、3、5、6、9、14 号峰面积与抗氧化效果呈正相关,4、7、8、10、11、12 号峰与抗氧化效果呈负相关,其中 9、11、3、4、5 号峰的 VIP 值均大于 1。(4)9 号峰为齐墩果酸,10 号峰为熊果酸,9 号峰对 ABTS 自由基的清除能力最大。该研究认为牛尾菜抗氧化作用不是单一成分起作用,而是多种成分综合作用,其中 9 号峰(齐墩果酸)可能是牛尾菜具有抗氧化作用的物质基础。

**关键词:** 牛尾菜, 高效液相色谱, 指纹图谱, 抗氧化, 谱效关系

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2023)11-2131-08

## Correlation analysis between HPLC fingerprint of *Smilax riparia* and antioxidant activity

TAN Xiaoqing<sup>1</sup>, HU Xiaoxi<sup>1</sup>, TANG Hongzhen<sup>2</sup>, LIANG Chenyan<sup>2</sup>,  
QIN Xijun<sup>2</sup>, LIU Zhenjie<sup>2\*</sup>

( 1. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China; 2. Guangxi Engineering Technology Research Center of Advantage Chinese Patent Drug and Ethnic Drug Development, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299, China )

**Abstract:** In order to investigate the relationship between antioxidant efficacy and active components of *Smilax riparia*, the HPLC fingerprint of *S. riparia* extracts were determined, similarity evaluation and cluster analysis were carried out, while

收稿日期: 2022-12-08

基金项目: 国家自然科学基金(81860711, 81860270); 广西自然科学基金(2018JJB140263); 广西科技基地和人才专项(桂科 AD19245124); 广西中医药大学 2019–2021 年广西一流学科建设开放课题(2019XK111); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2019KY0324)。

第一作者: 谭小青(1986-), 硕士, 助理研究员, 研究方向为天然产物研究与开发, (E-mail)43524960@qq.com。

\*通信作者: 刘振杰, 博士, 副研究员, 研究方向为药物分析, (E-mail)rainman982@126.com。

analysis software was used for PLSR to establish the spectra effect relationship, and validation test of *in vitro* anti-oxidation was carried out. The results were as follows: (1) HPLC fingerprints of 13 batches of *S. riparia* with 14 main common peaks were established. (2) Thirteen batches of *S. riparia* samples were grouped into two categories, the samples of *S. riparia* with close geographical location were clustered into one group, and the chemical fingerprints of *S. riparia* with close geographical location were highly similar. (3) PLSR showed that the areas of peaks 1, 2, 3, 5, 6, 9 and 14 in the fingerprint were positively correlated with the antioxidant effect, while the areas of peaks 4, 7, 8, 10, 11 and 12 were negatively correlated with the antioxidant effect, the VIP values of peaks 9, 11, 3, 4 and 5 were all greater than 1. (4) Peak 9 was oleanolic acid, Peak 10 was ursolic acid, and Peak 9 had the largest scavenging capacity for ABTS free radicals. Therefore, antioxidant efficacy of *S. riparia* is contributed by a combined action of multi-components rather than one component, and Peak 9 (oleanolic acid) may be the material basis of the antioxidation effect of *S. riparia*.

**Key words:** *Smilax riparia*, HPLC, fingerprint, antioxidant, spectrum-effect relationship

牛尾菜 (*Smilax riparia*) 为百合科 (Liliaceae Juss.) 植物牛尾菜的根茎 (唐进等, 1978), 俗称龙须菜, 是常用民间草药 (赵琦, 2017); 在中国大部分地区都有分布, 是常用壮药, 是广西特色中成药中华跌打丸主要成分之一 (国家药典委员会, 2015), 有通络止痛、活血化瘀之功效, 用于风湿性关节炎、跌打损伤、腰肌劳损等 (Sun et al., 2012)。牛尾菜中具有黄酮类、苷类、酚类以及其他化学物质, 具有镇痛、祛痰、抗氧化等药理作用 (陈人萍等, 2014; Sun et al., 2012)。牛尾菜作为《中国药典》收录的中成药中华跌打丸的“倒挂”药材, 其质量标准并未被《中国药典》2020 年版收录。虽然《广西壮族自治区瑶药材质量标准》收录了牛尾菜的质量标准, 但是其标准仍然局限于外观鉴别和理化鉴定, 并未对其进行特征指纹图谱表征和活性成分的含量测定, 因此, 有必要利用其中的药效确切活性成分建立质量控制方法, 进行其关联药效活性的物质筛选是研究的首要问题。

中药通过多种成分的协同作用来发挥疗效, 而利用中药谱效关系研究能够筛选活性成分。谱效关系结合指纹图谱的基础及药效学研究的内容, 通过指纹图谱和药效之间的关系, 筛选出具有中药药效的活性成分 (李戎等, 2002)。该方法简单且高效, 体现了药材提取物中主要成分与药理作用之间的关系大小, 为中药主要药效物质的研究提供依据。目前研究发现, 抗氧化是预防衰老的重要步骤, 因为自由基或氧化剂会将细胞和组织分解, 影响代谢功能, 从而引起多种疾病。相关研究发现, 牛尾菜中的多酚类等成分具有抗氧化活性 (陈雯等, 2012; Li et al., 2006)。本研究以牛

尾菜的广西、广东和辽宁等不同产区为主要研究区域, 依托广西中药药材资源的道地产区的优势, 采用 HPLC 指纹图谱和清除 ABTS 自由基的作用的抗氧化测定方法, 通过对不同批次的牛尾菜的指纹图谱进行相似度评价、色谱峰面积聚类分析、抗氧化活性测定、偏最小二乘回归分析法, 拟探讨以下问题: (1) 不同产地的牛尾菜的化学表征有何异同; (2) 牛尾菜药材的道地产区在哪里; (3) 牛尾菜抗氧化活性的药效物质是什么。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料和仪器

Waters 2489 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Multiskan Go 全波长酶标仪 (美国 Thermo 公司)。

过硫酸钾、甲醇为分析纯, 乙腈为色谱纯; ABTS (2,2-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐, 2021 年购自美国麦克林生化科技股份有限公司); 齐墩果酸 (成都普菲德生物科技有限公司, 批号: 18051406)、熊果酸 (成都普菲德生物科技有限公司, 批号: 18081601)。

牛尾菜药材 (编号: S1~S13) 经广西中医药大学唐红珍教授鉴定为百合科菝葜属 (*Smilax* L.) 植物牛尾菜的根茎 (谭小青等, 2021a)。药材样品来源信息见表 1。

### 1.2 方法

1.2.1 溶液的制备 取牛尾菜药材粗粉 1 g, 放入具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇溶液 20 mL, 超声 30 min, 放冷, 补足减少的质量, 使用 0.22  $\mu\text{m}$  有机

表 1 牛尾菜样品来源信息  
Table 1 Information of *Smilax riparia*

样品 Sample	产地 Place of origin	样品 Sample	产地 Place of origin
S1	辽宁锦州 Jinzhou, Liaoning	S8	江西赣州 Ganzhou, Jiangxi
S2	广西百色 Baise, Guangxi	S9	广东韶关 Shaoguan, Guangdong
S3	福建三明 Sanming, Fujian	S10	广西南宁 Nanning, Guangxi
S4	广东清远 Qingyuan, Guangdong	S11	广西金秀 Jinxiu, Guangxi
S5	贵州贵阳 Guiyang, Guizhou	S12	广西宜州 Yizhou, Guangxi
S6	广西桂林 Guilin, Guangxi	S13	广西玉林 Yulin, Guangxi
S7	广西贺州 Hezhou, Guangxi		

滤膜滤过,即得。称取适量齐墩果酸、熊果酸,加 80% 甲醇制成单一对照品储备液,分别精密吸取齐墩果酸储备液 0~5 mL 与熊果酸储备液 0~5 mL,加入 80% 甲醇稀释,将其定容至 5 mL 容量瓶,使用 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜滤过,即为混合对照品溶液(齐墩果酸 0.038  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,熊果酸 0.047  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

1.2.2 HPLC 色谱条件 WatersCORTECS<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ ),流速为 0.5 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 20  $^{\circ}\text{C}$ ,流动相选择 0.5% 磷酸水(A)-乙腈(B)水溶液,梯度洗脱(0~5 min, 95% A; 5~40 min, 95%~5% A; 40~45 min, 5%~5% A),检测波长 205 nm,进样量 2  $\mu\text{L}$ 。

1.2.3 方法学考察 精密度试验:取“1.2.1”项下的供试品适量,按“1.2.2”的色谱条件,进样测定 6 次,计算相对保留时间、相对峰面积的 RSD 值,实验表明,各色谱峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 2.3%,表明仪器精密度良好。重复性试验:取牛尾菜 S4 的样品适量,共 6 份,按“1.2.1”制备样品溶液进样测定,计算相对保留时间、相对峰面积的 RSD 值,实验表明,各色谱峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 2.73%,表明方法重复性良好。稳定性试验:取牛尾菜药材的供试品溶液(S4),分别放置 0、2、4、8、12、24 h 后,按“1.2.2”的色谱条件进样分析,计算相对保留时间、相对峰面积的 RSD 值,实验表明,各色谱峰的

相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 1.31%,表明样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

1.2.4 指纹图谱测定 将制备好的样品溶液和对照品混合溶液,按“1.2.2”HPLC 色谱条件测定,记录结果,将色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,采用平均数法,设置时间窗宽为 0.1,经过多点矫正后,进行全峰匹配,生成对照图谱,确定 13 批牛尾菜样品指纹图谱的主要共有峰,并进行相似度评价。

1.2.5 牛尾菜指纹图谱聚类分析 将 13 批牛尾菜样品共有峰的峰面积导入 SPSS 22.0 软件,使用 Ward 方法和平均欧方距离进行聚类。

1.2.6 抗氧化作用考察 精密称取牛尾菜粉末 0.2 g 于锥形瓶内,加入 80% 甲醇溶液 100 mL,超声 30 min,放冷,补足减少重量,经 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜滤过,蒸干,用 50% 乙醇溶解,将其配成质量浓度为 2.0、1.0、0.5、0.25、0.125  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液。称取 ABTS 38.41 mg,加水溶解后,转移并定容至 10 mL 量瓶中,将其配制成浓度为 7  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液,加入浓度为 2.45  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的过硫酸钾溶液,混合均匀后,放置暗处 12~24 h,即得 ABTS+自由基溶液。在 96 孔板中,分别加入 2.0、1.0、0.5、0.25、0.125  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,分别加入 ABTS+工作液 180  $\mu\text{L}$ ,以无水乙醇为空白对照,在室温下放置约 6 min,在 734 nm 波长下测定吸光度,重复 3 次(谭小青等,2021b)。ABTS 清除率按公式计算 =  $[1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$ , $A_0$  空白溶液,即无水乙醇加 ABTS 的 A 值; $A_i$  为样品溶液和 ABTS 反应后的 A 值; $A_j$  为空白对照的 A 值。应用清除 ABTS 自由基的抗氧化测定方法对 13 个不同批次来源的牛尾菜样品进行了测定,并计算了各样品的 IC<sub>50</sub> 值。

## 2 结果与分析

### 2.1 指纹图谱的建立

利用 HPLC 构建了 13 个不同产地来源的牛尾菜药材的 14 个主要共有峰的指纹图谱,牛尾菜样品 HPLC 叠加图谱见图 1,样品对照图谱见图 2,另外,通过与对照品比对,指认了其中 2 个色谱峰,其中 9 号为齐墩果酸,10 号为熊果酸,混合对照品的 HPLC 图见图 3。牛尾菜 HPLC 指纹图谱 14 个共有峰的峰面积结果见表 2。由表 2 可知,1 号峰

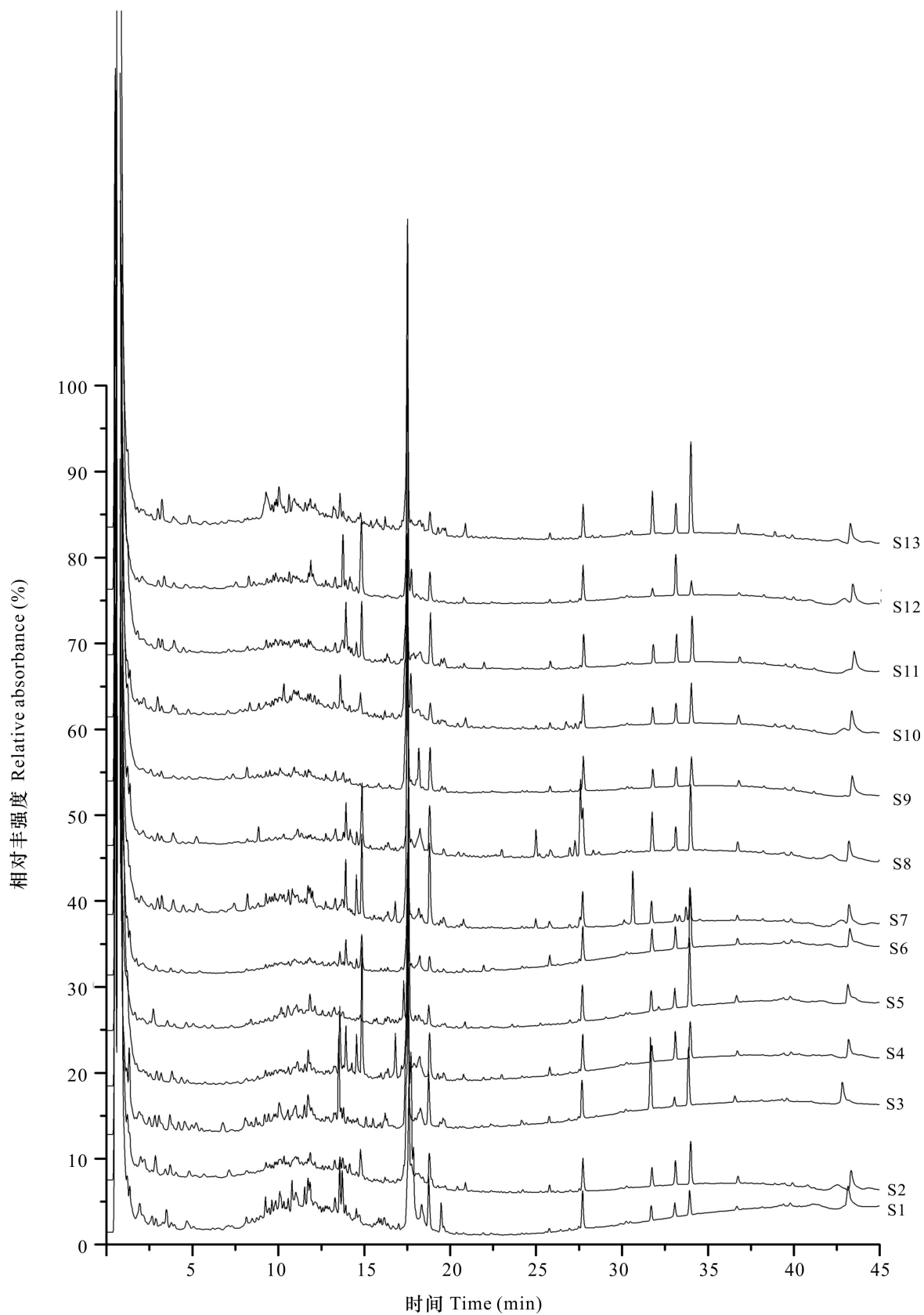


图 1 13 批牛尾菜样品 HPLC 叠加图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of 13 batches of *Smilax riparia*

和 2 号峰的峰面积最大, 7 号峰的峰面积较大, 3、5、14 号峰的峰面积较小, 其他色谱峰的峰面积大小居中。因此, 对指纹图谱的相似度评价影响较大的是 1、2、7 号峰, 而 6、9、10、11、12、13 号峰对指纹图谱的相似度计算结果的影响相对较小。

在牛尾菜经 HPLC 检测得到的色谱图中, 13 批药材的相似度在 0.965~1.000 之间, 表明各批次牛尾菜药材质量基本稳定, 结果见表 3。由表 3 可知, 不同批次 S1、S2、S3、S6、S7、S10 和 S12 的牛尾菜样品的相似度在 0.963~1.000 之间; 而其他批次 S4、S5、S8、S9、S11 和 S13 的牛尾菜样品的相似度在 0.943~0.960 之间。指纹图谱相似度之间的差别虽然能够一定程度上反映出不同产量来源样品之间化学表征的接近程度, 但还是不能清晰直观地反映出牛尾菜样品之间的差异, 因此, 还需要通过对色谱峰的峰面积进行聚类分析来验证。

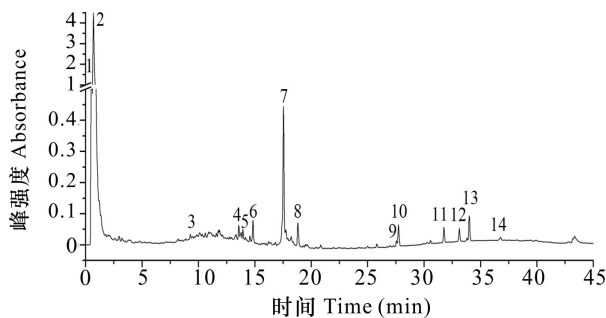
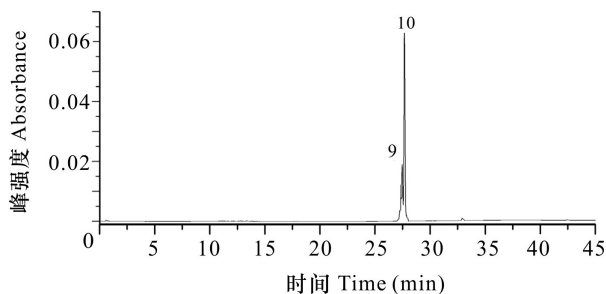


图 2 牛尾菜药材样品的 HPLC 对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC control fingerprint of *Smilax riparia*



9. 齐墩果酸; 10. 熊果酸。

9. Oleanolic acid; 10. Ursolic acid.

图 3 混合对照品的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatogram of substance control

## 2.2 牛尾菜指纹图谱聚类分析结果

13 批牛尾菜样品 14 个共有峰的峰面积的聚

类结果见图 4, 横坐标的数字代表距离, 纵坐标分别代表 13 批的牛尾菜样品。由图 4 可知, 13 批牛尾菜样品可分为 2 类, 第 I 类包括 S1(辽宁锦州)、S2(广西百色)、S3(福建三明)、S5(贵州贵阳)、S6(广西桂林)、S10(广西南宁)、S12(广西宜州); 第 II 类包括 S4(广东清远)、S7(广西贺州)、S8(江西赣州)、S9(广东韶关)、S11(广西金秀)、S13(广西玉林)。其中, 第 I 类中 S2(广西百色)、S6(广西桂林)、S12(广西宜州) 与 S5(贵州贵阳) 地理位置比较接近, 属于贵州省或贵州与广西交接的桂东北地区, 而 S4(广东清远)、S9(广东韶关)、S8(江西赣州)、S7(广西贺州)、S11(广西金秀)、S13(广西玉林) 都是属于广东省或者与广东省交界的地区。因此, 通过对指纹图谱共有峰的峰面积的聚类分析可以将地理位置较为接近的牛尾菜药材批次分开来。此外, 通过将相似度计算的结果与聚类分析的结果进行比较, 二者具有一定的相似性, 但是聚类分析能够更清晰直观地反映出牛尾菜样品之间化学表征的差异。

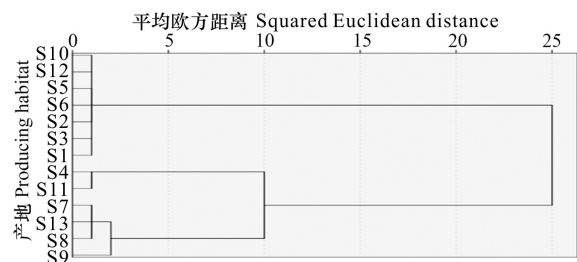


图 4 13 批牛尾菜聚类分析树状图

Fig. 4 Dendrogram of cluster analysis of 13 batches of *Smilax riparia*

## 2.3 抗氧化作用考察结果

13 个牛尾菜样品的清除 ABTS 自由基的作用抑制率, 以及各样品  $IC_{50}$  值的结果见表 4。由表 4 可知, 浓度为  $0.125 \sim 2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的牛尾菜样品均有一定的抗氧化作用, 浓度为  $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的牛尾菜样品的抗氧化作用清除率大于 50%, 其余浓度的清除率低于 50%。根据各批次样品  $IC_{50}$  曲线推测得到其  $IC_{50}$  值均在 1.05~1.94 之间且相差将近一倍, 样品的  $IC_{50}$  值越小说明样品的抗氧化活性越好。因此, S3(福建三明) 的抗氧化活性最好, 其次是 S2(广西百色)、S13(广西玉林)、S12(广西宜州);

表 2 牛尾菜 HPLC 指纹图谱共有峰面积

Table 2 Relative peak area of common peaks in HPLC chromatograms for 13 batches of *Smilax riparia*

样品 Sample	共有峰 Common peak													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S1	662.76	1716.82	49.26	39.83	71.22	73.87	267.14	74.05	4.9	50.34	19.47	18.75	33.14	5.54
S2	722.68	2 566.61	15.91	9.25	23.41	22.45	453.87	57.61	3.46	43.44	24.97	31.19	58.54	10.58
S3	650.61	2 750.66	29.33	20.22	21.15	24.15	361.97	76.87	3.44	50.57	93.19	10.49	77.66	9.22
S4	432.26	9 196.98	15.68	5.18	22.72	12.58	335.83	77.47	3.63	48.32	21.11	36.09	49.41	6.85
S5	280.38	3 056.52	5.75	5.39	19.58	8.94	284.78	31.76	3.33	47.93	29.13	26.09	94.81	10.39
S6	394.23	3 129.47	7.24	2.99	12.25	6.37	169.45	23.25	3.79	46.14	30.00	28.66	71.80	9.27
S7	770.45	5 395.96	31.43	14.16	48.81	33.46	516.60	116.58	12.63	46.85	28.84	10.46	45.67	7.29
S8	466.36	4 576.74	1.79	4.99	29.61	16.93	300.21	67.41	96.03	63.16	51.14	35.38	89.51	14.04
S9	761.19	6 840.77	7.47	5.21	16.62	17.81	594.40	60.02	3.31	45.73	24.40	25.41	40.10	8.61
S10	511.14	3 468.10	17.10	4.38	12.85	15.96	284.21	28.55	8.47	46.33	22.76	27.23	54.89	14.16
S11	561.76	9 392.18	20.69	4.39	21.93	37.66	214.70	82.53	2.83	42.76	24.40	36.20	63.04	8.52
S12	576.48	3 521.11	20.62	22.56	29.97	73.51	323.79	42.35	3.57	46.59	10.72	52.03	19.38	4.13
S13	536.97	5 618.17	154.68	33.16	63.60	40.50	399.95	28.30	2.96	44.30	58.91	39.63	124.93	14.75

表 3 13 个批次牛尾菜的相似度

Table 3 Similarity of HPLC fingerprints of 13 batches of *Smilax riparia*

样品 Sample	相似度 Similarity	样品 Sample	相似度 Similarity
S1	0.965	S8	1.000
S2	0.983	S9	1.000
S3	0.992	S10	1.000
S4	0.997	S11	0.997
S5	0.999	S12	0.999
S6	1.000	S13	0.999
S7	0.999		

而 S10(广西南宁)、S11(广西金秀)的抗氧化活性相对较弱,S1(辽宁锦州)和 S7(广西贺州)的更弱;其余批次的活性居中。按抗氧化作用强弱的结果进行分类,得到的结果与指纹图谱相似度结果及聚类分析结果不完全一致,说明指纹图谱仍然不能区分药材的药效活性强弱。

#### 2.4 谱效关系分析

以指纹图谱中共有峰面积为自变量,13 批牛

尾菜的抗氧化活性抑制率为因变量,进行偏最小二乘回归分析,得到二者的谱效关系系数值及其 VIP 值(刘振杰等,2020)。13 批牛尾菜的指纹图谱峰面积与其抗氧化活性的谱效关系分析见图 5,其 VIP 值见图 6。由图 5 和图 6 可知,指纹图谱中的 1、2、3、5、6、9、14 号峰面积与抗氧化效果均呈正相关,4、7、8、10、11、12 号峰与抗氧化效果均呈负相关;9、11、3、4、5 号峰的 VIP 值均大于 1,说明这些峰在抗氧化作用中效果比较显著,进一步提示齐墩果酸可能是牛尾菜有抗氧化作用的化学成分。

#### 2.5 齐墩果酸体外抗氧化验证试验

精密称定活性化合物单体(齐墩果酸)对照品,无水乙醇溶解后,转移至 10 mL 容量瓶,定容;取以上溶液,无水乙醇稀释,将其配制成为 1.0、0.5、0.25、0.125、0.065  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的质量浓度的溶液。按“1.2.6”项下方法操作,计算齐墩果酸的清除率。实验结果表明,齐墩果酸对 ABTS 自由基的清除率分别为 26%、47%、70%、71%、81%,其  $\text{IC}_{50}$  值为 0.194,说明齐墩果酸有较强的清除 ABTS 自由基的能力,是牛尾菜抗氧化活性的主要成分之一。

### 3 讨论与结论

本研究采用 HPLC 法,首次建立了不同产地的 13 批牛尾菜的指纹图谱,确定 14 个主要共有色谱峰,指认了齐墩果酸和熊果酸 2 个色谱峰,13 批药材具有较高相似度说明牛尾菜药材质量基本稳定。另外,由于中药指纹图谱具有模糊性和整体性的特点(张慧等,2018),其与含量测定的要求不同,对色谱峰的分度无高要求,不要求所有色谱峰完全分开,而本文中牛尾菜指纹图谱的 14 个主要色谱峰的分度介于 0.79~7.02 之间,除个别色谱峰分度低于 1.0 外,其余色谱峰分度基本大于 1.0,齐墩果酸和熊果酸的参照峰的分度也达到 1.0 以上,虽然指纹图谱不需要将所有峰分开,但是后期对目标成分进行含量测定的时候,仍然需要对目标色谱峰的条件方法进行优化,使分离度达到 1.5 及以上。

牛尾菜的聚类分析结果表明地理位置比较接近的牛尾菜样品聚为一类,并且地域相近的牛尾菜的化学指纹图谱相似度高,这说明地理条件、气候因素等可能是影响牛尾菜化学表征差异形成的关键因素,而这也是中药道地药材形成的原因之一(徐浩等,2021)。广西牛尾菜是广西特色中成药品种《中华跌打丸》的一味主要药材(钟海森等,2018),因此广西牛尾菜可能具有一定的道地性。本实验结果也在一定程度上印证了这一点,福建三明的牛尾菜的抗氧化活性最好,其次是广西百色、广西玉林、广西宜州。

基于清除 ABTS 自由基的抗氧化测定方法的牛尾菜样品测定表明,不同产地批次的牛尾菜的抗氧化活性存在较大的差别,说明牛尾菜药材中可能存在关键的抗氧化活性物质,牛尾菜中含有大量的鞣质类成分(赵琦,2017),这些成分常常作为工业生产原料使用,而牛尾菜中的皂苷类成分可能是其发挥药效的主要成分,有相关研究结果报道了皂苷类成分良好的药理活性(查正霞等,2020),如白头翁药材中的白头翁皂苷 B4 目前已经开发出国家兽药新药并投产,人药剂型也在研发中,而齐墩果酸作为三萜皂苷类化合物;黄勤英等(2019)研究表明其有抗氧化作用,本文体外抗氧化验证试验结果也说明齐墩果酸具有较强的抗氧化能力,与黄勤英等的研究结果相吻合。此外,

表 4 抗氧化活性测定结果

Table 4 Antioxidant effects of 14 batches of *Smilax riparia*

样品 Sample	不同浓度样品 Samples with different concentrations (g · L <sup>-1</sup> )					IC <sub>50</sub>
	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125	
S1	53.43	31.91	22.14	14.56	6.12	1.79
S2	68.91	41.47	22.94	10.59	4.49	1.39
S3	81.87	53.36	31.04	14.59	12.12	1.05
S4	65.69	41.27	23.15	10.68	10.28	1.44
S5	67.38	38.72	21.09	8.67	3.53	1.45
S6	63.94	37.17	18.51	7.54	2.51	1.54
S7	48.61	25.52	14.28	5.55	1.35	1.94
S8	58.50	35.38	15.66	7.05	1.55	1.66
S9	61.58	36.53	20.04	12.10	5.70	1.57
S10	58.77	32.38	17.89	9.11	3.87	1.67
S11	58.60	29.67	16.66	14.02	3.38	1.70
S12	69.92	39.51	20.57	11.06	4.82	1.40
S13	70.44	38.77	22.57	11.11	5.01	1.39

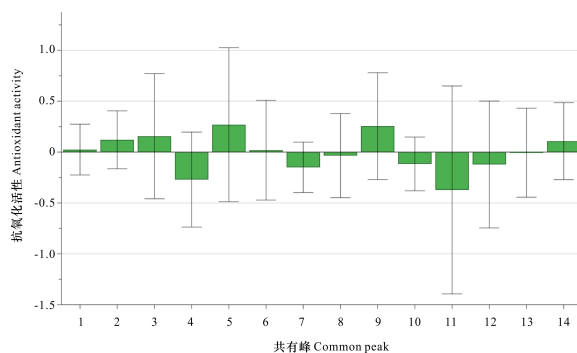


图 5 牛尾菜偏最小二乘回归分析谱效关系图

Fig. 5 PLSR regression analysis spectral efficiency diagram of *Smilax riparia*

本文通过谱效关系研究发现牛尾菜的指纹图谱中 1、2、3、5、6、9、14 号峰都与其抗氧化能力呈正相关,表明牛尾菜的抗氧化作用可能是多种成分共同作用的结果。目前,虽然有较多相关研究对牛尾菜根茎的化合物进行了分离鉴定(龚韦凡等,2017),但是这些研究可能没有针对性的分离出活性成分和指标性成分,因而造成在质量控制标准中活性成分鉴定的困难,所以,将指纹图谱中的其他高活性的化合物成分进行针对性的分离,并鉴定这些成分,进一步探究其药理活性,将是本课题今后的研究方向。

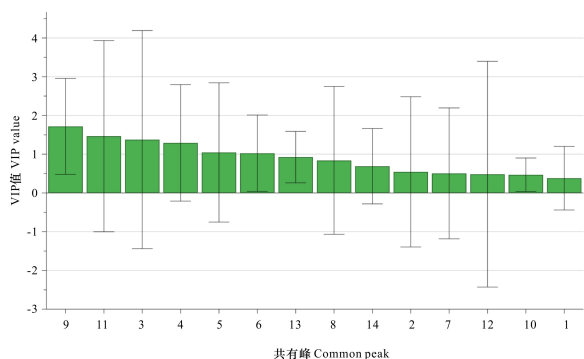


图 6 牛尾菜偏最小二乘回归分析共有峰与抗氧化活性的 VIP 值

Fig. 6 VIP value of common peaks in pharmacodynamic model of PLSR regression analysis

### 参考文献:

- CHEN RP, ZHANG YH, LIU W, et al., 2014. Study on anti-rheumatoid arthritis activities of ethanol extract from *Smilax riparia* [J]. *Spec Wild Econ Anim Plant Res*, 36(2): 47-50. [陈人萍, 张英华, 刘卫, 等, 2014. 牛尾菜乙醇提取物抗类风湿性关节炎作用研究 [J]. *特产研究*, 36(2): 47-50.]
- CHEN W, TANG SA, QIN N, et al., 2012. Antioxidant constituents from *Smilax riparia* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 37(6): 806-810. [陈雯, 唐生安, 秦楠, 等, 2012. 牛尾菜抗氧化活性成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 37(6): 806-810.]
- CHA ZX, LIU YL, XU QM, 2020. Research progress on pharmacological activities of triterpenoid saponins from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharm*, 31(1): 120-124. [查正霞, 刘艳丽, 许琼明, 2020. 白头翁中三萜皂苷类成分的药理研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 31(1): 120-124.]
- GONG WF, ZOU DJ, GAO RX, et al., 2017. Chemical constituents from roots of *Smilax riparia* [J]. *Chin Med Mat*, 40(7): 1595-1599. [龚韦凡, 邹大江, 高瑞锡, 等, 2017. 牛尾菜根茎的化学成分研究 [J]. *中药材*, 40(7): 1595-1599.]
- 国家药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版.
- HUANG QY, ZHANG HQ, WANG WJ, et al., 2019. Study on extraction process and antioxidant activity of oleanolic acid from *Ilex kudingcha* C. J. Tseng [J]. *Chin Med J Res Prac*, 33(4): 43-46. [黄勤英, 张海全, 王文君, 等, 2019. 苦丁茶齐墩果酸的优化提取及其抗氧化作用 [J]. *现代中药研究与实践*, 33(4): 43-46.]
- LI R, YAN ZY, LI WJ, et al., 2002. Establishing spectrum effect relationship of traditional Chinese medicine [J]. *Educ Chin Med*, 2(2): 62. [李戎, 闫志勇, 李文军, 2002. 创建中药谱效关系学 [J]. *中医教育*, 2(2): 62.]
- LI J, BI XL, ZHENG GH, et al., 2006. Steroidal glycosides and aromatic compounds from *Smilax riparia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54 (10): 1451.
- LIU ZJ, TAN XQ, QIN XJ, et al., 2020. Study on the relationship between HPLC fingerprint of *Ilicis Rotundae* Cortex and its antiviral activities *in vitro* [J]. *Chin Med Mat*, 43(11): 2718-2723. [刘振杰, 谭小青, 覃喜军, 等, 2020. 救必应 HPLC 指纹图谱及体外抗病毒活性的谱效关系研究 [J]. *中药材*, 43(11): 2718-2723.]
- SUN TT, ZHANG DW, HAN Y, et al., 2012. Smilasides M and N, two new phenylpropanoid glycosides from *Smilax riparia* [J]. *J Asia Nat Prod Res*, 14(2): 165-170.
- 唐进, 汪发缙, 1978. 中国植物志: 第 15 卷 [M]. 北京: 科学出版社.
- TAN XQ, DU PL, QIN XJ, et al., 2021a. Difference analysis of volatile components in roots, stems and leaves of *Smilax riparia* by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Safe Qual Detec Technol*, 12(10): 4014-4019. [谭小青, 杜沛霖, 覃喜军, 等, 2021a. 气相色谱-质谱联用法分析牛尾菜根和茎叶中挥发性成分的差异 [J]. *食品安全质量检测学报*, 12(10): 4014-4019.]
- TAN XQ, LIU BM, HUANG Y, et al., 2021b. Study on liposoluble constituents from *Glochidion Sphaerogynum* (Muell. Arg.) Kurz and its antioxidant activities [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 38(2): 196-200. [谭小青, 刘布鸣, 黄艳, 等, 2021b. 圆果算盘子脂溶性成分及其抗氧化活性研究 [J]. *中国现代应用药学*, 38(2): 196-200.]
- XU H, WU ZY, WANG SL, et al., 2021. Discussion on the origin and development status of genuine regional drug [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 36(4): 1793-1797. [徐浩, 吴之易, 王圣隆, 等, 2021. 论地道药材的成因及发展现状 [J]. *中华中医药杂志*, 36(4): 1793-1797.]
- ZHAO Q, 2017. Breeding techniques of *Asparagus schoberioides* Kunth under forest [J]. *Anhui Agric Sci Bull*, 23(24): 54, 85. [赵琦, 2017. 龙须菜林下繁育技术 [J]. *安徽农学通报*, 23(24): 54, 85.]
- ZHONG HS, CHEN ZM, ZHAO FH, et al., 2018. The Research on Zhonghua Dieda Pill [J]. *J Guangxi Univ Chin Med*, 21(4): 68-71. [钟海森, 陈章美, 赵芳惠, 等, 2018. 中华跌打丸研究概况 [J]. *广西中医药大学学报*, 21(4): 68-71.]
- ZHANG H, CHEN Y, WANG JN, et al., 2018. Application of fingerprint technology in quality evaluation and process control of traditional Chinese medicine formula granules [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 43(19): 3822-3827. [张慧, 陈燕, 汪佳楠, 等, 2018. 指纹图谱技术在中药配方颗粒质量评价及过程控制中的应用 [J]. *中国中药杂志*, 43(19): 3822-3827.]

(责任编辑 李 莉)