·方药研究·

菊茎叶总黄酮高效液相色谱指纹图谱与抗氧化活性的谱效关系研究

陈慧芳[1,2]，巫梦莹[1]，罗美美[1]，程冉冉[1]，丁杨飞[1]，熊俊伟[1]，张　伟[1,3,4,5]，吴德玲[1,3,4,5]

（1.安徽中医药大学药学院，安徽 合肥　230012；2.安庆医药高等专科学校，安徽 安庆　246052；
3.安徽中医药大学国家中医药管理局中药炮制传承基地，安徽 合肥　230012；
4.省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心，安徽 合肥　230012；
5.中药饮片制造新技术安徽省重点实验室，安徽 合肥　230012）

[摘要]目的　研究菊茎叶总黄酮指纹图谱与其抗氧化活性的相关性，探究菊茎叶总黄酮抗氧化活性的物质基础。**方法**　采用高效液相色谱法建立11批菊茎叶总黄酮样品的指纹图谱；分别采用1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除法、2,2′-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐自由基清除法及血浆铁离子还原法测定其抗氧化活性，结合灰色关联度法、偏最小二乘回归法分析谱效关系。**结果**　建立17个共有峰的菊茎叶总黄酮的高效液相色谱指纹图谱，指认其中11个共有峰，相似度大于0.886。灰色关联分析显示其中11个色谱峰关联度均大于0.9，偏最小二乘回归分析结果显示6个色谱峰的变量重要性投影值＞1，表明菊茎叶总黄酮与抗氧化活性有重要相关性。**结论**　共有峰6(山柰酚-3-*O*-芸香糖苷)、峰11、峰12(香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷)、峰13(木犀草素)、峰15与抗氧化活性密切相关，初步推测为菊茎叶总黄酮抗氧化活性的物质基础。

[关键词]菊茎叶；指纹图谱；抗氧化活性；谱效关系

[中图分类号]R284.1　[DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2024.02.020

菊茎叶来源于菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat.的干燥地上部分，有着悠久的临床应用历史。《名医别录》[1]记载菊“三月采叶，五月采茎，九月采花，皆阴干”；后《本草纲目》[2]记载菊“花、叶、根、茎、实并同”；《中华本草》[3]记载菊茎叶可用于治疗疔疮、痈疽、头风、目眩，说明菊茎叶具有和菊花类似的功效。菊茎叶中含有与菊花中相似的黄酮类、挥发油类及多糖类等化学成分[4-5]，具有抗氧化、保护缺血心肌、抑菌抗炎、抗病毒等药理作用[6-7]，其抗氧化活性与其所含的总黄酮成分密切相关[8]。目前，菊的药用资源利用主要在其花序上[9-10]，菊茎叶在菊花采摘后被当作非药用部位丢弃，造成资源浪费。因此，综合开发利用菊资源，扩大菊的药用部位，对菊茎叶进行更为深入的研究十分必要。

指纹图谱具有“完整性”和“模糊性”的基本属性，能有效地反映中药有效成分的综合作用，能从整体上评价中药的质量。目前，基于指纹的质量控制在中药的种植、饮片的加工、中成药的生产工艺和成品的质量控制中有广泛的应用[11]。天然产物的抗氧化潜力可根据不同的反应机制选择不同的方法评估，体外自由基实验常用于样品的批量分析和活性单体化合物的分离筛选，采用多种体外自由基实验方法综合评价体外抗氧化活性，可以初步筛选得到具有活性的单体成分[12]。

近年来，谱效关系已广泛应用于中药物质基础的研究和质量控制等领域[13-14]。谱效关系是通过数学统计方法与计算机技术对指纹图谱和药效作用进行有机分析，进而阐明图谱特征与药效的相互关系，确定相应的药效物质基础[15]。目前，灰色关联度分析方法以及偏最小二乘回归法是中药谱效关系研究中常用的化学统计方法，可以有效解析化学分析的数据。

因此，本研究通过建立不同批次菊茎叶总黄酮样品的指纹图谱，测定其抗氧化活性，结合灰色关联度分析方法以及偏最小二乘回归法，研究菊茎叶总黄酮指纹图谱特征峰与抗氧化活性的相关性，筛选其主要抗氧化活性成分，以阐明菊茎叶总黄酮抗氧化活性的物质基础，为菊茎叶的综合开发利用提供依据。

1　材料

1.1　药物　11批菊茎叶样品均采集于安徽省亳州市谯城区，经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为菊

基金项目：国家自然科学基金项目(81973485)；安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2020A0390，KJ2020A0889)；安徽省高校优秀青年骨干教师国内访问研修项目(gxgnfx2022124)

作者简介：陈慧芳(1985-)，女，硕士，副教授

通信作者：张伟(1985-)，男，硕士，副教授

科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥茎叶。

1.2 试剂 对照品:芹菜素-7-*O*-β-D-葡萄糖苷(CFS201502)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷(DST200619-075)、槲皮素-3-*O*-β-D-半乳糖苷(MUST-20052210)、芦丁(CFS202004)、香叶木素(MUST-21061005)、芹菜素(MUST-21040401)、香叶木素-7-*O*-β-D-葡萄糖苷(CFS201601)、木犀草素-7-*O*-β-D-葡萄糖苷(MUST-19010201)、木犀草素(M-007-181216)、异鼠李素(LMT0067-01)、异绿原酸B(MUST-21030602)、异绿原酸C(PS001057)、异绿原酸A(DSTDY054701)、绿原酸(MUST-21030304)均购自成都普思生物科技股份有限公司,纯度均>98%;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,DPPH;C13650509)、2,4,6-三吡啶基三嗪(C13019920)、抗坏血酸(C12873349)均购自上海麦克林生化科技有限公司;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2, 2′-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate,ABST);ZXPWH-NK]购自东京化成工业株式会社;乙腈(20210531)为色谱纯,购自安徽天地高纯溶剂有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器 LC-20ADXR型高效液相色谱仪(含二极管阵列检测器、四元低压泵、自动进样器):日本岛津公司;UV-8000型紫外可见分光光度计:上海元析仪器有限公司;Spectra Max iD5型荧光酶标仪:美国Molecular Devices公司;EX125DZH型万分之一分析天平:奥豪斯仪器有限公司;BSA224S型十万分之一分析天平:赛多利斯科学仪器北京有限公司;HPX-9082MBE电热恒温培养箱:上海博迅医疗生物仪器股份有限公司。

2 方法

2.1 菊茎叶总黄酮的指纹图谱研究

2.1.1 供试品溶液的制备 取11批菊茎叶样品粗粉50.0 g,精密称定,在85 ℃下依次以1∶20、1∶15、1∶15的比例加入50%乙醇加热回流,合并浓缩得提取液。将提取液在pH值为4.0、4 000 r/min条件下离心10 min,保存上清液[16]。将AB-8大孔树脂与上清液按2∶1比例装柱,先后以水、70%乙醇冲洗,收集70%乙醇洗脱物,浓缩蒸干,最终得到样品,得率为3.45%~4.69%。取适量样品以70%甲醇溶解,稀释至1 mg/mL,作为供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 取绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C共4种苯丙素类成分,异鼠李素、芹菜素、木犀草素、香叶木素、槲皮素-3-*O*-β-D-半乳糖苷、芹菜素-7-*O*-β-D-葡萄糖苷、木犀草素-7-*O*-β-D-葡萄糖苷、香叶木素-7-*O*-β-D-葡萄糖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、芦丁共10种黄酮类成分适量,加入70%甲醇溶解稀释,浓度分别为0.096、0.103、0.091、0.096、0.012、0.134、0.140、0.125、0.120、0.109、0.120、0.123、0.093、0.096 mg/mL,作为混合对照品溶液备用。

2.1.3 色谱条件 XDB-C_{18}色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%醋酸(B);梯度洗脱(0~8 min,8%~10% A;8~15 min,10%~14% A;15~18 min,14%~17% A;18~22 min,17%~17.5% A;22~35 min,17.5%~18% A;35~40 min,18% A;40~50 min,18%~19% A;50~65 min,19%~30% A;65~80 min,30%~52% A;80~85 min,52%~8% A;85~90 min,8% A);柱温:30 ℃;检测波长:348 nm;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL。

2.1.4 菊茎叶总黄酮指纹图谱方法学考察

(1)精密度试验 取同一批次(编号S1)的供试品溶液,按"2.1.3"项色谱条件,重复进样6次,对主要色谱共有峰进行分析,计算其相对保留时间的RSD为0.03%~0.31%,相对峰面积的RSD为0.02%~0.81%,结果表明仪器精密度良好。

(2)稳定性试验 取同一批次(编号S1)的供试品溶液,按"2.1.3"项色谱条件,分别在0、2、4、6、12、24 h进样,对主要色谱共有峰进行分析,计算其相对保留时间的RSD为0.02%~0.13%,相对峰面积的RSD为0.09%~1.48%。结果表明样品溶液在24 h内相对稳定。

(3)重复性试验 取同一批次(编号S1)的样品6份,按"2.1.1"项方法制备供试品溶液,按"2.1.3"项色谱条件进行测定,对主要色谱共有峰相对保留时间和相对峰面积进行分析,计算其相对保留时间的RSD为0.03%~0.18%,相对峰面积的RSD为0.17%~1.88%,表明该方法重复性良好。

2.1.5 菊茎叶总黄酮指纹图谱的建立、相似度评价及特征峰的指认 取11批菊茎叶总黄酮的供试品溶液,按"2.1.3"项色谱条件进样分析,测得指纹图谱。将各批次菊茎叶总黄酮样品的高效液相色谱图谱数据导入"中药指纹图谱相似度评价系统",以4号峰(S4)作为参照峰,采用中位数法,进行多点校正后将谱峰自动匹配,生成11批菊茎叶总黄酮的高效液相色谱指纹图谱和对照图谱(R),标定共有峰,

并对 11 批菊茎叶总黄酮样品的指纹图谱相似度进行计算。通过对照品色谱图的保留时间及紫外吸收光谱图指认，确定其中的成分。

2.2　菊茎叶总黄酮抗氧化活性检测

2.2.1　DPPH 自由基实验　精密称定“2.1.1”项下菊茎叶总黄酮 17.65 mg，用 70% 乙醇定容至 50 mL，即得菊茎叶总黄酮溶液。称量维生素 C 10.11 mg，用 70% 乙醇定容到 50 mL。取 DPPH 16.88 mg，加 95% 乙醇定容至 250 mL。取过硫酸铵 5.59 mg，加水定容到 10 mL 备用。分别取上述菊茎叶总黄酮溶液 0.2、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0 mL，70% 乙醇定容至 10 mL，配制成不同质量浓度的样品溶液。参考文献[17]的测定方法，并稍作调整。以维生素 C 作为阳性对照，计算清除率。清除率＝[1－$(A_2-A_1)/A_0$]×100%。

式中 A_2 为 2 mL DPPH＋2 mL 95% 乙醇的吸光度，A_1 为 2 mL 样品＋2 mL DPPH 的吸光度，A_0 为 2 mL 样品＋2 mL 95% 乙醇的吸光度。

2.2.2　ABTS 自由基实验　取“2.2.1”项下菊茎叶总黄酮溶液 0.2、0.3、0.5、0.8、1.5、2.0、3.0 mL，分别定容至 10 mL。取 ABTS 38.40 mg，用蒸馏水定容至 10 mL，避光保存。取 1.0 g 磷酸，加水配制成 1 mg/mL 的磷酸盐缓冲溶液（phosphate buffer saline，PBS），冷藏。参照文献[18]的方法，并稍作修改。以维生素 C 作为阳性对照，计算清除率。清除率＝[1－$(A_2-A_1)/A_0$]×100%。

式中 A_2 为 0.2 mL ABTS＋0.1 mL 样品溶液的吸光度，A_1 为 0.1 mL 样品溶液＋0.2 mL PBS 的吸光度，A_0 为 0.1 mL 蒸馏水＋0.2 mL ABTS 的吸光度。

2.2.3　血浆铁离子还原能力（ferric reducing ability of plasma，FRAP）实验　参照文献[17]的方法，配制 FRAP 工作溶液。分别吸取不同梯度浓度的 $FeSO_4$ 溶液 0.1 mL，各自加入 2,4,6-三吡啶基三嗪工作液 3 mL，再加入 0.3 mL 纯水，混合均匀后避光反应 30 min，在 593 nm 处测定各自的吸光度值。以吸光度值为纵坐标，以 $FeSO_4$ 物质的量为横坐标制作标准曲线。再分别吸取 0.1 mL 待测样品溶液，按照上述相同顺序加入各溶液，混合均匀后反应 30 min，根据各样品反应后的吸光度在标准曲线上对应 $FeSO_4$ 的浓度与其相应浓度的比值（mmol/g）来表示样品的抗氧化能力，FRAP 值越大，说明其抗氧化能力越强。

2.3　谱效相关性分析　采用灰色关联度分析法，参照文献[19-20]的计算方法，将不同批次菊茎叶总黄酮清除自由基的 IC_{50} 值作为母序列，不同批次菊茎叶的共有峰峰面积作为子序列。IC_{50} 值及共有峰峰面积数据的变换采用初值化变换法处理，得到各抗氧化活性实验关联度结果。使用 SIMCA 14.1 分析软件，参照文献[21]的计算方法，对 IC_{50} 值及共有峰峰面积数据进行标准化处理，将处理后的标准化值导入 SPSS 软件中，以清除自由基 IC_{50} 值作为因变量，样品共有峰峰面积为自变量，采用偏最小二乘回归方法进行分析，进一步评价不同批次菊茎叶总黄酮样品特征峰面积与清除自由基 IC_{50} 值之间的相关性。

3　结果

3.1　菊茎叶总黄酮的指纹图谱　生成 11 批菊茎叶总黄酮的高效液相色谱指纹图谱和对照图谱（R），见图 1，共标定了 17 个共有峰。通过对照品色谱图（见图 2）指认，确定其中的 11 个成分（见图 3），分别是绿原酸（1 号峰）、槲皮素-3-*O*-*β*-D-半乳糖苷（3 号峰）、木犀草素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷（4 号峰）、异绿原酸 B（5 号峰）、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷（6 号峰）、异绿原酸 A（7 号峰）、异绿原酸 C（9 号峰）、香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷（12 号峰）；木犀草素（13 号峰）；芹菜素（16 号峰）、香叶木素（17 号峰）。

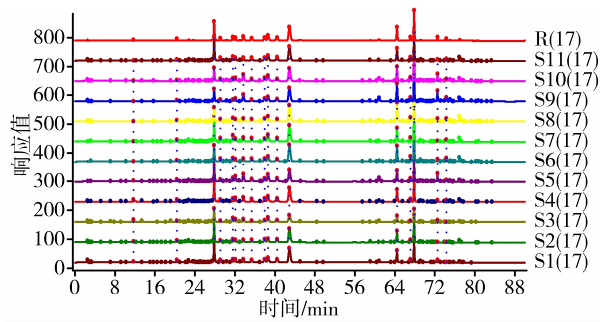
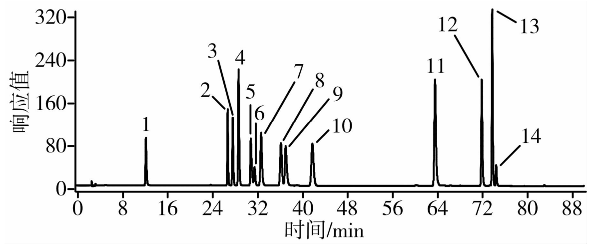
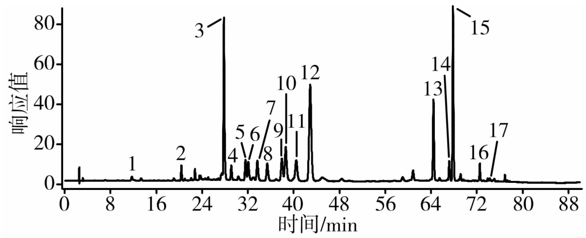


图 1　11 批样品（S1—S11）和对照品（R）的高效液相色谱指纹图谱



注：1. 绿原酸；2. 芦丁；3. 槲皮素-3-*O*-*β*-D-半乳糖苷；4. 木犀草素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷；5. 异绿原酸 B；6. 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷；7. 异绿原酸 A；8. 芹菜素-7-*O*-*β*-D-吡喃葡萄糖苷；9. 异绿原酸 C；10. 香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷；11. 木犀草素；12. 芹菜素；13. 香叶木素；14. 异鼠李素

图 2　混合对照品溶液的高效液相色谱图



注：1.绿原酸；3.槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷；4.木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷；5.异绿原酸 B；6.山柰酚-3-O-芸香糖苷；7.异绿原酸 A；9.异绿原酸 C；12.香叶木素-7-O-β-D-葡萄糖苷；13.木犀草素；16.芹菜素；17.香叶木素

图 3 样品的高效液相色谱指纹图谱共有峰

3.2 11 批次样品相似度分析 采用"中药指纹图谱相似度评价系统(2012 版)"软件(2012.130723 版本)对 11 批菊茎叶总黄酮样品的指纹图谱相似度进行计算，11批样品(S1－S11)色谱图与对照品(R)指纹图谱的相似度为 0.886～0.998。见表 1。

3.3 菊茎叶总黄酮抗氧化活性的测定 11 批菊茎叶总黄酮提取物均具有一定的抗氧化能力，不同浓度的菊茎叶总黄酮溶液对 DPPH、ABTS 自由基均具有明显的清除作用，且在一定浓度内，菊茎叶总黄酮样品清除自由基的能力随样品浓度升高而增强(见图 4、图 5)。同样，菊茎叶总黄酮也具有将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} 的能力，在 FRAP 实验中，标准曲线 $Y=0.351\,5X+0.170\,2$($R^2=0.999\,6$)表明 $FeSO_4$ 在 0.2～1.7 mmol/L 范围内与其在 593 nm 处的吸光度呈现良好的线性关系。综合 3 种抗氧化能力检测方法，11 批菊茎叶总黄酮提取物均有自由基清除活性和抗氧化还原能力。见表 2。

表 1 11 批样品(S1－S11)和对照品(R)的相似度矩阵

编号	相似度											
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	R
S1	1											
S2	0.997	1										
S3	0.983	0.972	1									
S4	0.972	0.996	0.985	1								
S5	0.959	0.956	0.989	0.975	1							
S6	0.934	0.969	0.931	0.966	0.914	1						
S7	0.929	0.948	0.905	0.945	0.886	0.995	1					
S8	0.957	0.931	0.912	0.939	0.921	0.975	0.978	1				
S9	0.998	0.955	0.952	0.966	0.957	0.979	0.972	0.992	1			
S10	0.959	0.996	0.985	0.998	0.972	0.964	0.942	0.935	0.962	1		
S11	0.998	0.952	0.959	0.966	0.969	0.966	0.955	0.986	0.998	0.962	1	
R	0.987	0.987	0.974	0.992	0.968	0.986	0.972	0.974	0.990	0.990	0.987	1

表 2 菊茎叶总黄酮对 DPPH、ABTS 及 FRAP 模型抗氧化能力的影响($n=3$)

样品	IC_{50}/(μg/mL)		FRAP 值/(mmol/g)
	DPPH	ABTS	
S1	0.035	0.012	0.397
S2	0.040	0.012	0.451
S3	0.036	0.013	0.428
S4	0.040	0.012	0.436
S5	0.037	0.012	0.354
S6	0.046	0.014	0.323
S7	0.048	0.012	0.326
S8	0.048	0.015	0.368
S9	0.043	0.015	0.434
S10	0.036	0.014	0.411
S11	0.037	0.014	0.402
维生素 C	0.004 28	0.005 7	0.668

注：S1－S11 为 11 批菊茎叶总黄酮样品，IC_{50} 为半数抑制浓度(half inhibitory concentration)

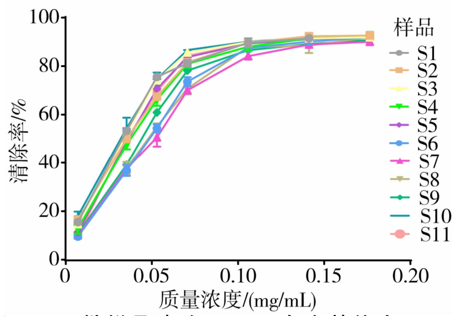


图 4 11 批样品清除 DPPH 自由基能力($n=3$)

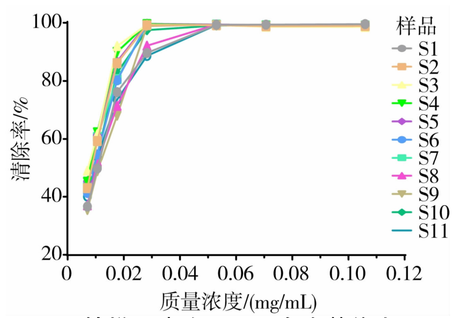


图 5 11 批样品清除 ABTS 自由基能力($n=3$)

3.4 菊花茎叶总黄酮指纹图谱与抗氧化活性关系研究

3.4.1 灰色关联度分析结果 17个共有峰的关联度均大于0.6，表示17个共有峰所代表的化学成分与DPPH、ABTS自由基清除能力及FRAP还原能力均有一定的关联性，其中关联度大于0.9的表明该成分与抗氧化活性关联性高，对抗氧化活性的贡献大。将DPPH、ABTS自由基清除能力及FRAP还原能力关联度大于0.9的峰取交集，其中共有的11个化合物分别为峰4（木犀草素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷）、峰5（异绿原酸B）、峰6（山柰酚-3-*O*-芸香糖苷）、峰8、峰9（异绿原酸C）、峰10、峰11、峰12（香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷）、峰13（木犀草素）、峰14、峰15，可初步判定这些指纹图谱中化学成分与抗氧化活性密切相关。见表4。

表4 抗氧化活性与各特征峰峰面积的关联度

峰号	化学成分	关联度		
		DPPH	ABTS	FRAP
1	绿原酸	0.708	0.699	0.772
2	峰2	0.826	0.838	0.909
3	槲皮素-3-*O*-*β*-D-半乳糖苷	0.867	0.876	0.930
4	木犀草素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷	0.934	0.937	0.945
5	异绿原酸B	0.928	0.939	0.950
6	山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	0.930	0.943	0.938
7	异绿原酸A	0.917	0.924	0.852
8	峰8	0.925	0.939	0.957
9	异绿原酸C	0.927	0.943	0.973
10	峰10	0.944	0.959	0.956
11	峰11	0.917	0.927	0.956
12	香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷	0.933	0.937	0.962
13	木犀草素	0.949	0.943	0.917
14	峰14	0.944	0.936	0.915
15	峰15	0.951	0.938	0.916
16	芹菜素	0.813	0.817	0.778
17	香叶木素	0.863	0.846	0.613

3.4.2 偏最小二乘回归法分析结果 对3种抗氧化试验结果进行偏最小二乘回归法分析，结果显示变量重要性投影（variable importance in the projection，VIP）值均大于1的成分包括峰3（槲皮素-3-*O*-*β*-D-半乳糖苷）、峰6（山柰酚-3-*O*-芸香糖苷）、峰11、峰12（香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷）、峰13（木犀草素）、峰15共6个。见图6。

4 讨论

菊花在中国具有悠久的食用、药用、酿酒等历史，且其茎、叶、根、果实具有类似功效，菊茎叶中含有与菊花同样丰富的活性成分，通过富集菊茎叶中总黄酮可以进一步提升菊茎叶的利用价值。本研究采用高效液相色谱法建立11批菊茎叶总黄酮样品的高效液相色谱指纹图谱，确定17个共有峰，通过对照品色谱图指认出绿原酸、木犀草素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷等10个成分，其成分结构类型与菊花中总黄酮类成分类似，抗氧化活性实验进一步表明菊茎叶总黄酮具有一定的抗氧化活性。灰色关联度分析显示，菊茎叶总黄酮指纹图谱中17个共有峰的关联度均大于0.6，其中有11个共有峰关联度大于0.9，表明菊茎叶总黄酮可通过多成分共同作用起到抗氧化作用[22-23]；偏最小二乘回归分析显示，有6个共有成分是抗氧化功效的重要因素。综合以上结果，取以上两种分析方法筛选出共有峰的交集，初步推测峰6（山柰酚-3-*O*-芸香糖苷）、峰11、峰12（香叶木素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖苷）、峰13（木犀草素）、峰15为菊茎叶总黄酮发挥抗氧化活性作用的主要物质。

本研究建立了菊茎叶的化学指纹图谱与抗氧化活性之间的谱效关系，初步推测菊茎叶总黄酮的抗氧化活性物质基础，可为扩大菊的药用部位、实现非药用部位的资源化奠定基础。在充分利用资源的基础上开发安全性高的食品添加剂，促进其开发利用和产业化发展，对实现经济、环境、社会效益协同发展具有一定的意义。

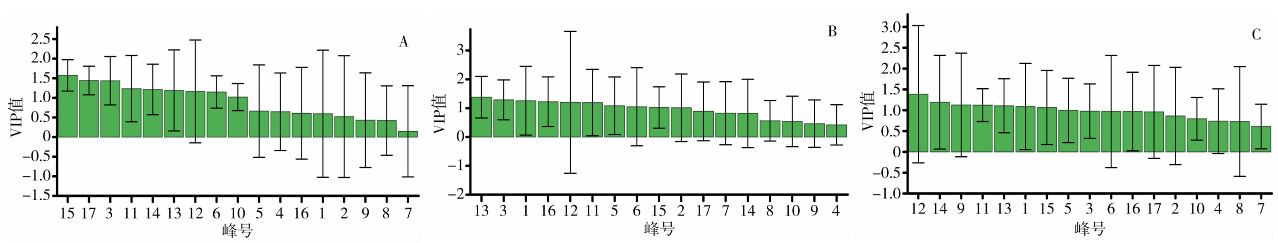


图6 11批菊茎叶总黄酮清除DPPH(A)、ABTS(B)自由基的IC_{50}值及FRAP值(C)与各特征峰峰面积的偏最小二乘回归分析结果

参考文献：

[1] 陶弘景.名医别录[M].北京：人民卫生出版社，1982：27.

[2] 李时珍.本草纲目[M].北京：人民卫生出版社，1982：27.

[3] 国家中医药管理局.中华本草[M].上海：上海科学技术

出版社,1999:6847.

[4] 朱琳.江苏产菊非药用部位资源化学研究[D].镇江:江苏大学,2011.

[5] 周衡朴,任敏霞,管家齐,等.菊花化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物预测分析[J].中草药,2019,50(19):4785-4795.

[6] SHAFAGHAT A,SADEGHI H,OJI K. Composition and antibacterial activity of essential oils from leaf,stem and root of *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh. from Iran[J]. Nat Prod Commun,2009,4(6):859-860.

[7] 刘东顺,陈春林,车晓航,等.菊花、叶、茎抗氧化活性比较[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(18):40-44.

[8] LÓPEZ-LÁZARO M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin[J]. Mini Rev Med Chem,2009,9(1):31-59.

[9] ZHAN G,LONG M,SHAN K,et al. Antioxidant effect of *Chrysanthemum morifolium* (Chuju) extract on H_2O_2-treated L-O_2 cells as revealed by LC/MS-based metabolic profiling[J]. Antioxidants(Basel),2022,11(6):1068.

[10] ZHU Z Y,QIAN S X,LU X D,et al. Protective properties of the extract of Chrysanthemum on patients with ischemic stroke[J/OL]. J Healthc Eng,2021:3637456[2023-07-13]. https://doi.org/10.1155/2021/3637456.

[11] LIU X Y,JIANG W W,SU M,et al. Quality evaluation of traditional Chinese medicines based on fingerprinting[J]. J Sep Sci,2020,43(1):6-17.

[12] 洪茜茜.核桃分心木抗氧化和镇静催眠活性成分分离鉴定及机制研究[D].无锡:江南大学,2021.

[13] CHEN Y R,PAN G J,XU W F,et al. Spectrum-effect relationship study between HPLC fingerprints and antioxidant activity of Sabia parviflora[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2020,1140:121970.

[14] SHI M,SUN G X. Integrated evaluation of HPLC and UV fingerprints for the quality control of Danshen tablet by systematic quantified fingerprint method combined with antioxidant activity[J]. J Sep Sci,2017,40(9):1942-1952.

[15] ZHU C S,LIN Z J,XIAO M L,et al. The spectrum-effect relationship:a rational approach to screening effective compounds,reflecting the internal quality of Chinese herbal medicine[J]. Chinese J Nat Med,2016,14(3):177-184.

[16] 张敏.菊花茎叶总黄酮、绿原酸提取纯化及抗氧化活性研究[D].济南:山东中医药大学,2015.

[17] 王振宇,杨斯月,吕维,等.利用3种不同化学计量学方法分析枸杞子抗氧化部位的谱效关系[J].中国中药杂志,2021,46(13):3377-3387.

[18] KANG W Y,WANG J M. *In vitro* antioxidant properties and *in vivo* lowering blood lipid of Forsythia suspense leaves[J]. Med Chem Res,2010,19(7):617-628.

[19] ZHANG Y C,WU X Y,WANG X H,et al. Grey relational analysis combined with network pharmacology to identify antioxidant components and uncover its mechanism from Moutan cortex[J]. Front Pharmacol,2021,12:748501.

[20] XIAO Y Y,SHAN X X,WANG H X,et al. Spectrum-effect relationship between HPLC fingerprint and antioxidant of "San-Bai Decoction" extracts[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2022,1208:123380.

[21] YU L,ZHANG Y Y,ZHAO X X,et al. Spectrum-effect relationship between HPLC fingerprints and antioxidant activity of Yangyin Tongnao Prescription[J/OL]. J Anal Methods Chem,2021:6650366[2023-07-13]. https://doi.org/10.1155/2021/6650366.

[22] LIU X K,WANG Y,GE W,et al. Spectrum-effect relationship between ultra-high-performance liquid chromatography fingerprints and antioxidant activities of Lophatherum gracile Brongn[J]. Food Sci Nutr,2022,10(5):1592-1601.

[23] ADEKOLA M B,AREOLA J O,FAGBOHUN O F,et al. *In-vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol stem-bark extract of Blighia sapida K. D. Koenig[J]. J Pharm Anal,2022,12(2):350-354.

(收稿日期:2023-07-14)

Spectrum-Effect Relationship Between the HPLC Fingerprint of Total Flavonoids in Chrysanthemum Stems and Leaves and Antioxidant Activities

CHEN Huifang[1,2], WU Mengying[1], LUO Meimei[1], CHENG Ranran[1], DING Yangfei[1], XIONG Junwei[1], ZHANG Wei[1,3,4,5], WU Deling[1,3,4,5]

(1. School of Pharmacy,Anhui University of Chinese Medicine,Anhui Hefei 230012,China;2. Anqing Medical and Pharmaceutical College,Anhui Anqing 246052,China;3. Traditional Chinese Medicine Processing and Inheritance Base,State Administration of Traditional Chinese Medicine,Anhui University of Chinese Medicine,Anhui Hefei 230012,China;4. Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality Improvement,Anhui Hefei 230012,China;5. Anhui Provincial Key Laboratory of New Manufacturing Technology for Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces,Anhui Hefei 230012,China)