

三叶青大孔树脂乙醇洗脱部位UPLC-Q-TOF-MS指纹图谱的建立及抗氧化谱效关系研究

蔡国强, 徐志杰, 乔晓红, 罗天骥, 张 蕾, 何一波

Establishment of UPLC-Q-TOF-MS Fingerprints and Antioxidant Spectroscopic Relationship of Ethanol-eluting Sites of *Tetrastigma hemsleyanum* Macroporous Resin

CAI Guoqiang, XU Zhijie, QIAO Xiaohong, LUO Tianji, ZHANG Lei, and HE Yibo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080305>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法快速测定畜禽产品中抗组胺类药物残留

Determination of Antihistamine Residues in Livestock and Poultry Products by Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(5): 250-256,264 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050044>

三叶青原花青素纯化工艺及抗氧化、 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

Study on Purification Process and Antioxidative Activity and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum*

食品工业科技. 2022, 43(6): 178-185 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021060194>

仿野生种植三叶青不同部位总黄酮分析及其抗炎、抗氧化能力比较

Analysis of Total Flavonoids in Different Parts of Wild Planting *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg and Comparison of Their Anti-inflammatory and Antioxidant Capacity

食品工业科技. 2024, 45(6): 321-329 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040159>

液相色谱-四极杆飞行时间质谱用于快速筛查动物组织中多种激素残留的方法研究

Study and Application on the Method of Liquid Chromatography Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry for Rapid Screening of Multiple Hormone Residues in Animal Tissues

食品工业科技. 2021, 42(24): 229-238 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030099>

基于UPLC-Q-TOF-MS技术分析黄刺玫果的化学成分

Characterization of Chemical Constituents from Fruits of *Rosa xanthina* by UPLC-Q-TOF-MS

食品工业科技. 2021, 42(23): 251-258 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021020115>

响应面法优化三叶青总黄酮提取工艺及不同产地三叶青的质量评价

Optimization of Total Flavonoids Extraction Process of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg and Its Quality Evaluation from Different Origins

食品工业科技. 2022, 43(6): 158-167 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021060082>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

蔡国强, 徐志杰, 乔晓红, 等. 三叶青大孔树脂乙醇洗脱部位 UPLC-Q-TOF-MS 指纹图谱的建立及抗氧化谱效关系研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 313–321. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080305

CAI Guoqiang, XU Zhijie, QIAO Xiaohong, et al. Establishment of UPLC-Q-TOF-MS Fingerprints and Antioxidant Spectroscopic Relationship of Ethanol-eluting Sites of *Tetrastigma hemsleyanum* Macroporous Resin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(15): 313–321. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080305

· 分析检测 ·

三叶青大孔树脂乙醇洗脱部位 UPLC-Q-TOF-MS 指纹图谱的建立及 抗氧化谱效关系研究

蔡国强^{1,2}, 徐志杰², 乔晓红², 罗天骥², 张 蕾^{1,2}, 何一波^{1,2,*}

(1.浙江省绿色清洁技术及洗涤用品重点实验室, 浙江丽水 323000;

2.纳爱斯浙江科技有限公司, 浙江杭州 310051)

摘 要:目的: 研究三叶青提取物与其抗氧化活性的谱效关系, 初步明确其发挥抗氧化活性的质量标志物。方法: 制备三叶青提取物上大孔树脂柱, 分别使用浓度为 10%、30%、50%、70%、90% 和 100% 的乙醇进行洗脱, 得到 6 个不同洗脱部位; 采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱法 (UPLC-Q-TOF-MS) 建立三叶青提取物及各洗脱部位的指纹图谱并筛选特征峰; 以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除率为抗氧化指标, 考察三叶青提取物及各洗脱部位的抗氧化活性; 再综合 Pearson 相关系数法和正交偏最小二乘 (OPLS) 法分析研究特征峰与抗氧化活性的谱效关系, 筛选其质量标志物并分析鉴定其化学成分。结果: 在正、负离子模式下, 三叶青提取物及各洗脱部位分别筛选出 57、92 个特征峰; 综合 Pearson 相关系数与 OPLS 分析结果, 其中 14 个离子峰对抗氧化活性贡献较大, 分别为香兰素 (P2)、儿茶素 (P13、N19)、芦丁 (P27、N54)、异槲皮苷 (P28)、山奈酚-3-O-芸香糖苷 (P33、N61)、原花青素 B (N18)、原花青素 C (N22) 以及离子峰 N23、N25、N26、N29。结论: 建立了三叶青提取物及各洗脱部位的 UPLC-Q-TOF-MS 指纹图谱, 揭示了三叶青抗氧化活性的质量标志物, 为三叶青的质量标准制定及资源开发利用提供技术支撑。

关键词: 三叶青, 抗氧化活性, 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱, 谱效关系, 质量标志物

中图分类号: TS207

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)15-0313-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080305



本文网刊:

Establishment of UPLC-Q-TOF-MS Fingerprints and Antioxidant Spectroscopic Relationship of Ethanol-eluting Sites of *Tetrastigma hemsleyanum* Macroporous Resin

CAI Guoqiang^{1,2}, XU Zhijie², QIAO Xiaohong², LUO Tianji², ZHANG Lei^{1,2}, HE Yibo^{1,2,*}

(1.Key Laboratory of Green Cleaning Technology & Detergent of Zhejiang Province, Lishui 323000, China;

2.NICE Zhejiang Technology Co., Ltd., Hangzhou 310051, China)

Abstract: Objective: To study the spectrum-effect relationship between the extracts of *Tetrastigma hemsleyanum* and its antioxidant activity, and to clarify the quality markers of its antioxidant activity. Methods: The extract was prepared and separated by macroporous resin elution, six different elution sites were obtained using ethanol at concentrations of 10%, 30%, 50%, 70%, 90% and 100%. The fingerprints of the *Tetrastigma hemsleyanum* extract and each elution site were established by UPLC-Q-TOF-MS and the characteristic peaks were screened. The free radical scavenging rate of 1,1-

收稿日期: 2023-09-04

基金项目: 浙江省“领雁”研发攻关计划项目 (2022C01174)。

作者简介: 蔡国强 (1984-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 化妆品配方技术开发和功能天然产物的研究, E-mail: caigq84@cnnice.com。

* 通信作者: 何一波 (1971-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 化妆品配方设计, E-mail: hyb@cnnice.com。

diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) was used as an antioxidant index to investigate the antioxidant activity of the extract and each elution site of *Tetrastigma hemsleyanum*. The Pearson correlation coefficient method and orthogonal partial least squares (OPLS) method were combined to analyze and study the spectrum-effect relationship between the characteristic peaks and the antioxidant activity, to screen the quality markers, and to analyze and identify the chemical compositions. Results: Under the positive and negative ion modes, 57 and 92 characteristic peaks were identified in the extract and each elution site of *Tetrastigma hemsleyanum*, respectively. The combined results of Pearson correlation coefficient and OPLS analysis showed that 14 ion peaks contributed more to the antioxidant activity, which was vanillin (P2), catechin (P13, N19), rutin (P27, N54), and isoquercitrin (P28), kaempferol-3-O-rutinoside (P33, N61), proanthocyanidin B (N18), proanthocyanidin C (N22), and ion peaks N23, N25, N26, and N29, respectively. Conclusion: UPLC-Q-TOF-MS fingerprints of *Tetrastigma hemsleyanum* extract and each elution site were established, and the quality markers of *Tetrastigma hemsleyanum* antioxidant activity were revealed to provide technical support for the formulation of quality standards and resource development and utilization of *Tetrastigma hemsleyanum*.

Key words: *Tetrastigma hemsleyanum*; antioxidant activity; UPLC-Q-TOF-MS; spectrum-effect relationship; quality markers

三叶青(*Tetrastigma hemsleyanum*)学名三叶崖爬藤,为葡萄科崖爬藤属植物^[1],是我国特有珍稀濒危植物^[2],于2018年入选浙江省新“浙八味”。三叶青被称作“植物抗生素”^[3],具有抗氧化^[4-6]、抗肿瘤^[7-8]、抗炎^[9-10]等多种活性,民间常将其作为药食两用的食材,三叶青在药品、食品领域有着广泛的应用^[11-12]。三叶青主要含有黄酮、多糖、酚类、鞣质、萜类以及甾体类等^[13]成分,其中黄酮、多糖、酚类为主要活性成分^[14]。

现有三叶青的研究多为提取工艺^[15]、质量控制^[16]以及抗肿瘤功效^[17]等方向。关于三叶青抗氧化活性及药效成分的研究较少,其质量评价体系和质量标志物研究基础薄弱。而目前谱效关系已广泛应用于植物原料抗氧化活性物质基础研究中,杨锡金等^[18]运用偏最小二乘回归分析和灰色关联分析谱效关系筛选出景天三七中抗氧化活性关键成分分别为:表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅苷、异槲皮苷、迷迭香酸和槲皮苷;李东辉等^[19]运用偏最小二乘分析、灰色关联分析及 Pearson 相关系数法对其抗氧化活性进行谱效分析,筛选出大黄饮片中具有峰 1、2、3、7(芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷)、8、9(芦荟大黄素)、10(大黄酸)、12(大黄素)、14(大黄素甲醚)为发挥抗氧化活性的关键成分;刘翰飞^[20]通过将刺梨不同极性部位提取物的 HPLC 指纹图谱和抗氧化抑菌药效数据相结合,运用偏最小二乘法、灰色关联度法筛选出具有峰 8、10、12、13、15、16、17 为发挥抗氧化活性的关键成分。为探究三叶青发挥抗氧化活性的质量标志物,通过建立三叶青指纹图谱和抗氧化活性之间谱效关系,将指纹图谱的化学成分信息与药物活性关联,初步探索三叶青抗氧化活性的物质基础。

综上所述,本研究以 DPPH 自由基清除率为抗氧化活性指标,通过大孔树脂对三叶青提取物进行洗脱分离,运用 UPLC-Q-TOF-MS 建立三叶青不同洗脱部位的指纹图谱,再联合 Pearson 相关系数法和 OPLS 法建立抗氧化谱效关系模型,筛选出三叶青发挥抗氧化活性的质量标志物并分析鉴定其化学成分。本研

究以期三叶青在抗氧化方面的应用提供参考,也为质量控制及资源开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

三叶青 采自浙江台州,经南京野生植物综合利用研究所陈斌研究员鉴定为葡萄科崖爬藤属植物三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 的干燥块根;甲醇 色谱级,默克化工技术(上海)有限公司;乙腈、甲酸 质谱级,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;无水乙醇 分析级,成都科隆化学品有限公司;盐酸、氢氧化钠 分析纯,国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 批号为 Z6B8N-TF,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;AB-8 大孔树脂 安徽三星树脂科技有限公司。

Waters ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪、Waters Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪 美国 Waters 公司;ML204T/02 电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;DZF-6050 真空干燥箱、HWS-12 水浴锅 上海恒一科学仪器有限公司;KQ-400DE 超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;RE-6000AA 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂;PURELAB flex 2 超纯水系统 英国埃尔格公司。

1.2 实验方法

1.2.1 三叶青提取物制备 根据前期实验研究结果^[4],将三叶青块根粉碎后过 50 目筛,烘干至恒重,得到样品粉末。称取三叶青粉末 300 g,加入 60% 乙醇溶液 9 L,于 83 ℃ 回流提取 60 min,共提取 2 次,布氏漏斗抽滤后,于旋转蒸发仪减压浓缩至无醇味,得到三叶青提取物 S7,备用。

1.2.2 大孔树脂洗脱

1.2.2.1 大孔树脂预处理 参考文献 [21-22] 方法,采用 AB-8 大孔树脂对三叶青提取物进行洗脱分离。将 AB-8 大孔树脂放入 95% 乙醇中浸泡 24 h 后装柱,以 95% 乙醇冲洗至流出液澄清;再使用去离子水冲洗,至流出液无醇味;然后依次分别使用 3%

HCl 和 3% NaOH 溶液冲洗、浸泡树脂层 4 h; 最后用去离子水洗至流出液中性, 备用。

1.2.2.2 样品吸附 采用静态吸附法, 将三叶青提取物 S7 以 1:10 的比例在水中均匀分散, 与活化后的 AB-8 型大孔树脂 1:10 混合, 静态吸附 24 h, 期间每隔 2 h 搅拌一次, 使之充分吸附。

1.2.2.3 装柱 将静态吸附后的大孔树脂缓慢倒入玻璃层析柱中, 使用去离子水以 1 BV/h 的流速反复冲洗约 2 个柱体积, 使柱内的树脂充分压紧, 并达到除去杂质的目的。

1.2.2.4 洗脱收集 去离子水洗脱除杂后, 分别用浓度为 10%、30%、50%、70%、90% 和 100% 的乙醇以 1 BV/h 的流速缓慢冲洗, 直至洗脱液近无色, 再用下一浓度的乙醇进行洗脱。洗脱液分别减压浓缩至浸膏状, 真空干燥, 得到三叶青 10%(S1)、30%(S2)、50%(S3)、70%(S4)、90%(S5)、100%(S6) 乙醇洗脱部位粉末。

1.2.3 三叶青提取物及各洗脱部位 UPLC-Q-TOF-MS 图谱的建立

1.2.3.1 供试品溶液制备 精密称取上述三叶青各洗脱部位 S1~S6 粉末以及三叶青提取物粉末 S7 各 50 mg, 加入纯甲醇进行溶解, 定容至 1 mg/mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 得到供试品溶液, 备用。

1.2.3.2 UPLC 条件 色谱柱为 Waters BEH C₁₈ 柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水 (A)-0.1% 甲酸乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~10 min, 2%~10%B; 10~16 min, 10%~12%B; 16~24 min, 12%~15%B; 24~30 min, 15%~40%B; 30~40 min, 40%~2%B); 流速为 0.3 mL/min; 检测波长为 360 nm; 柱温为 40 °C; 进样量为 2 μL。

1.2.3.3 质谱条件 Waters Xevo G2-XS QToF 质谱仪采用 ESI 电喷雾离子源在正、负离子模式进行高灵敏度扫描, 扫描范围为 m/z 50~1200 Da, 正、负离子模式毛细管电压分别为 2.0 与 -2.0 kV, 温度 135 °C, 锥孔电压为 15~35 V, 锥孔流量为 50 L/hr, 碰撞电压为 6 V, 脱溶剂气温度为 500 °C, 脱溶剂气流速为 800 L/hr。采用全扫描模式进行数据收集, 频率为 0.2 s, 采集时间为 0~40 min。

根据正、负离子模式离子流图等信息, 通过质荷比、二级谱图, 借助 Reaxys、Pubchem 等数据库进行检索, 对各峰进行初步鉴定^[23-24]。再根据二级质谱裂解规律结合崖爬藤属植物相关文献^[25-27] 所报道数据进一步对比推测化学成分。

1.2.3.4 指纹图谱建立 取三叶青样品 S1~S7 供试品溶液, 按“1.2.3.2”“1.2.3.3”项下色谱与质谱条件进样分析, 于正、负离子扫描模式下采集三叶青提取物及各洗脱部位 S1~S7 的图谱, 利用 masslynx 软件对三叶青各样品的质谱数据进行处理, 提取并积分总离子流图, 导出离子峰峰面积、峰高和保留时间等信

息, 建立.txt 格式数据文件再将其导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”进行分析, 以 S7 为参照图谱, 采用中位数法生成对照图谱 S8(R), 经多点校正和自动匹配建立三叶青各洗脱部位指纹图谱。

1.2.4 抗氧化活性评价 参考文献 [18,28] 方法, DPPH 自由基清除率测定: 取适量 DPPH 粉末, 使用无水乙醇溶解, 制成浓度为 0.04 mg/mL 的 DPPH 溶液。将各洗脱部位粉末配制成 0.1 mg/mL 的供试液。其中取 1 mL 的供试液与 1 mL 的 DPPH 溶液混合均匀, 为 A 组; 取 1 mL 的 DPPH 溶液与 1 mL 的无水乙醇混合均匀, 为 B 组; 取 1 mL 的供试液与 1 mL 的无水乙醇混合均匀, 为 C 组。各组在室温环境下避光反应 30 min, 于波长 517 nm 下测定吸光度。实验平行重复 3 次, 得到各洗脱部分 DPPH 自由基清除率。DPPH 自由基清除率计算公式为:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{B+C-A}{B} \times 100$$

1.3 数据处理

采用 SPSS 26 软件进行 Pearson 相关系数分析; 采用 Simca14.1 软件进行 OPLS 分析。

2 结果与分析

2.1 三叶青提取物及各洗脱部位 UPLC-Q-TOF-MS 指纹图谱的建立

将三叶青各洗脱部位正、负离子模式质谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”进行分析, 结果如图 1 所示。由正、负离子模式特征图谱可知, 三叶青各洗脱部位化学成分、含量均有所不同, 于正离子模式指纹图谱中挑选出峰面积大于 4000 的 57 个离子峰 P1~P57, 于负离子模式指纹图谱中挑选出峰面积大于 4000 的 92 个离子峰 N1~N92, 用于后续谱效关联度分析。

2.2 抗氧化活性评价

三叶青各洗脱部位及三叶青提取物的 DPPH 自由基清除率结果如图 2 所示。三叶青各洗脱部位中, 10%、30%、50%、70%、90%、100% 乙醇洗脱部位 S1~S6 的 DPPH 自由基清除率分别为 6.61%、93.04%、91.99%、88.44%、20.05% 以及 8.94%, 而洗脱纯化前的三叶青提取物 S7 的 DPPH 自由基清除率为 80.29%。结果显示, 经大孔树脂洗脱后, 三叶青提取物 30% 乙醇洗脱部位 S2 的 DPPH 自由基清除率较三叶青提取物 S7 提升了 12.75%, 表明大孔树脂洗脱对三叶青抗氧化活性物质进行了有效的富集和分离。

2.3 三叶青抗氧化谱效关系分析

2.3.1 Pearson 相关系数 Pearson 相关系数是一种统计方法, 可以定量地度量变量之间的相关性, 广泛应用于谱毒或谱效的相关分析^[29-30]。运用 Pearson 相关系数法, 计算得到在正、负离子模式下三叶青提

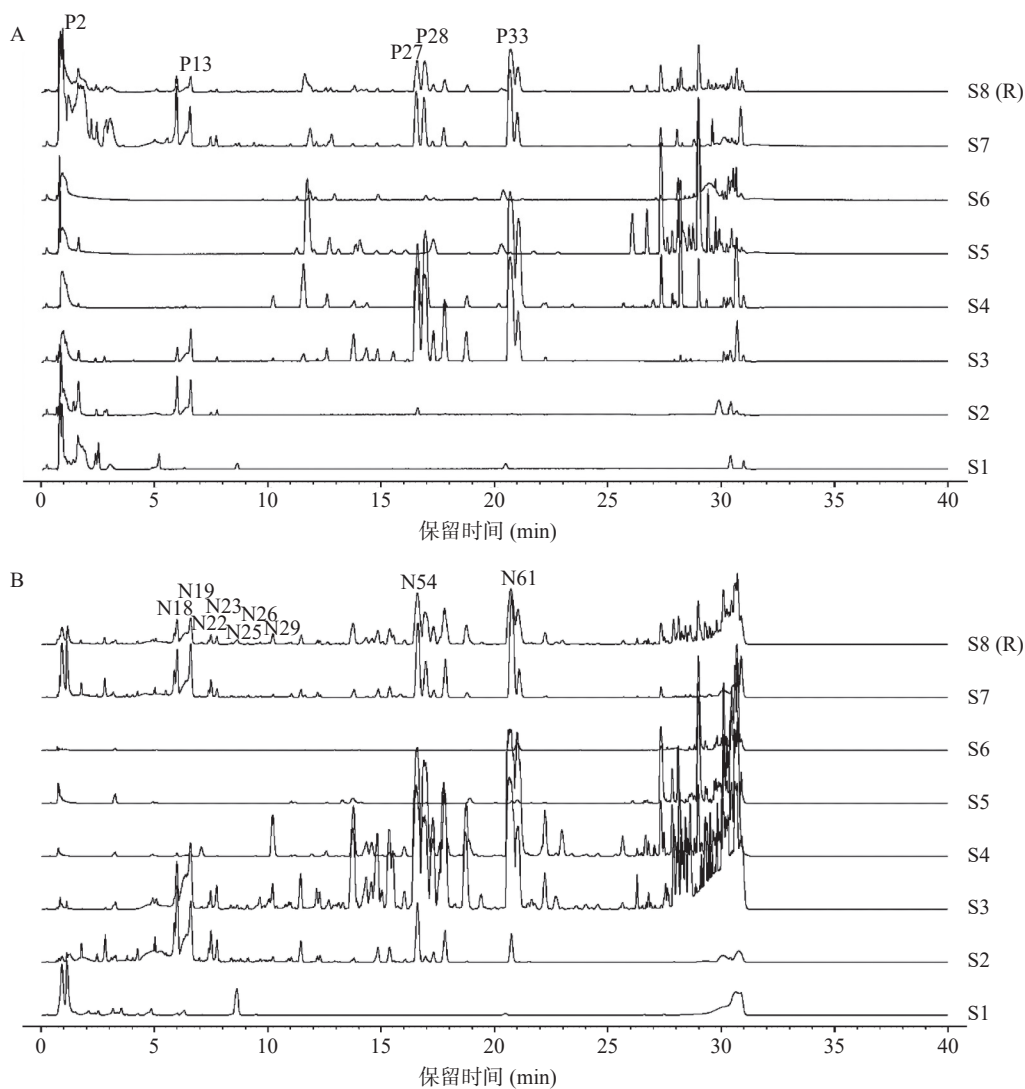


图 1 正(A)、负(B)离子模式下三叶青提取物及各洗脱部位指纹图谱

Fig.1 Fingerprints of *Tetrastigma hemsleyanum* extract and each elution site in positive (A) and negative (B) ion modes

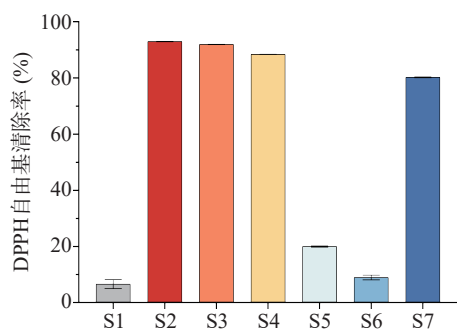


图 2 三叶青提取物及各洗脱部位的 DPPH 自由基清除率

Fig.2 DPPH radical scavenging rate of *Tetrastigma hemsleyanum* extract and each elution site

取物各洗脱部位各离子峰之间及其与抗氧化活性指标的相关系数,如表 1 所示。正离子模式下,得到 5 个特征峰与抗氧化活性呈显著性正相关(Pearson 相关系数>0.6),且相关系数具有显著性($P<0.05$),分别为 P2、P13、P27、P28、P33,相关系数热图如图 3A 所示。负离子模式下,得到 9 个特征峰与抗氧化活性呈显著性正相关(Pearson 相关系数>0.6),且相关系数具有显著性($P<0.05$),分别为 N18、N19、

表 1 正、负离子模式下各离子峰与抗氧化活性的 Pearson 相关系数分析

Table 1 Pearson correlation coefficient analysis of each ion peak with antioxidant activity in positive and negative ion modes

峰号	保留时间T(min)	离子模式	Pearson相关系数	P值
P2	0.687	[M+H] ⁺	0.7	0.04
P13	6.581	[M+H] ⁺	0.705	0.038
P27	16.577	[M+H] ⁺	0.682	0.046
P28	16.919	[M+H] ⁺	0.676	0.048
P33	20.707	[M+H] ⁺	0.704	0.039
N18	6.005	[M-H] ⁻	0.681	0.046
N19	6.606	[M-H] ⁻	0.757	0.024
N22	7.507	[M-H] ⁻	0.691	0.043
N23	7.764	[M-H] ⁻	0.713	0.036
N25	8.388	[M-H] ⁻	0.686	0.044
N26	8.518	[M-H] ⁻	0.725	0.033
N29	9.117	[M-H] ⁻	0.729	0.032
N54	16.619	[M-H] ⁻	0.872	0.005
N61	20.743	[M-H] ⁻	0.777	0.02

N22、N23、N25、N26、N29、N54、N61,其相关系数热图如图 3B 所示。在样本量有限的情况下,为避免

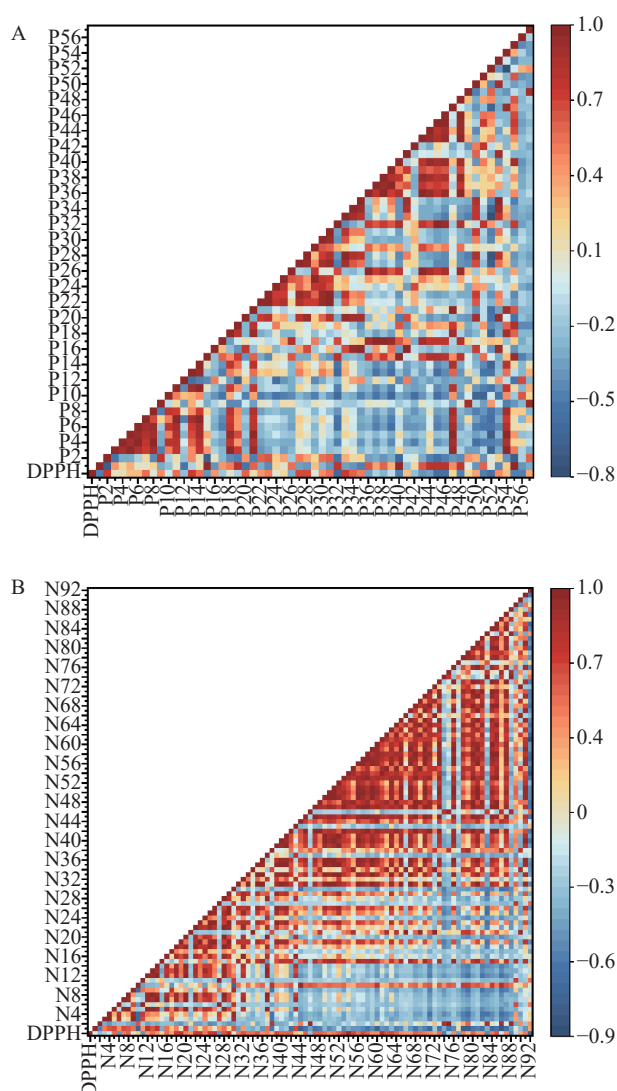


图3 正(A)、负(B)离子模式下各离子峰与抗氧化活性的 Pearson 相关系数热图

Fig.3 Heat map of Pearson correlation coefficient between each ion peak and antioxidant activity in positive (A) and negative (B) ion modes

数据多重共线性和模型过拟合等问题,采用 OPLS 分析来进一步分析验证特征峰与药效指标的关系。

2.3.2 OPLS 分析 OPLS 是一种多因变量对多自变量的回归建模方法,适用于小样本,可以克服多变量共线性的问题,避免数据干扰,提高模型的解释性和预测的可靠性从而使模型变得简单和易于解释^[31-32]。在 OPLS 分析中,回归系数可反映特征峰与活性指标的相关性,回归系数大于 0,则表明特征峰与活性指标呈正相关关系,否则反之;变量重要性投影 (VIP) 值表示特征峰对活性指标的重要程度,当 $VIP > 1$ 时,则表明自变量对因变量有重要影响。由回归系数图 4 可知,在正离子模式下三叶青提取物各洗脱部位共有 34 个离子峰与抗氧化活性呈正相关,而在负离子模式下共有 71 个离子峰与抗氧化活性呈正相关。由图 5 可知,正离子模式下共有 27 个离子峰 $VIP > 1$,筛选出其中排名前 10 的离子峰。结合回归系数图,其中共有 7 个离子峰满足与抗氧化

活性正相关,且 $VIP > 1$,分别为 P2、P13、P20、P27、P28、P33 以及 P34。同样负离子模式下共有 41 离子峰 $VIP > 1$,筛选出其中排名前 10 且与抗氧化活性呈正相关的离子峰共 9 个,分别为 N18、N19、N22、N23、N25、N26、N29、N54 以及 N61。

2.3.3 Pearson 系数和 OPLS 联合分析 综合 Pearson 相关系数和 OPLS 分析结果,将 Pearson 相关系数大于 0.6 且 $P < 0.05$ 的离子峰与 OPLS 分析中 $VIP > 1$ 且回归系数大于 0 的离子峰进行整合,选取其中同时满足二者条件的离子峰,得出在正、负离子模式下离子峰 P2、P13、P27、P28、P33、N18、N19、N22、N23、N25、N26、N29、N54 以及 N61 与抗氧化活性呈正相关,初步推测该 14 个峰对应的化合物为三叶青发挥抗氧化活性的质量标志物。

2.4 三叶青抗氧化质量标志物的化学成分鉴定

根据上文 1.2.3.3 项下数据分析方法,对三叶青发挥抗氧化活性的 14 个离子峰进行化学成分分析鉴定,推测结果如表 2 所示。

化合物 P2 在正离子模式下的母离子 m/z 153.0321,母离子脱去 1 个 CO 分子得到碎片离子 m/z 125,再脱去一个 CH_3 分子得到碎片离子 m/z 110,然后再脱去一个 CHO 分子得到碎片离子 m/z 81,结合文献资料^[33-34],推测化合物 P2 为香兰素。化合物 P13 在正离子模式下的母离子 m/z 291.0860,母离子失去 2 分子 C_2H_2O 和 1 中性分子 CO_2 得到 m/z 162,母离子 C 环的 1,3 键断裂($^{1,3}A^-$) 得到 m/z 139,结合文献资料^[35-36],推测化合物 P13 为儿茶素。化合物 P27 在正离子模式的母离子 m/z 611.1620,母离子脱去 1 分子鼠李糖产生碎片离子 m/z 465,再脱去 1 分子葡萄糖得到特征碎片离子 m/z 304,再脱去 1 个 H 得到特征碎片 m/z 303,结合文献资料^[37],推测化合物 P27 为芦丁。化合物 P28 在正离子模式下的母离子 m/z 465.1055,母离子糖苷键断裂后失去 1 分子葡萄糖苷得到 2 个特征碎片离子 m/z 304 和 303,结合文献资料^[38],推测化合物 P28 为异槲皮苷。化合物 P33 在正离子模式下的母离子 m/z 595.1691,母离子失去 1 分子鼠李糖苷得到碎片离子 m/z 449,母离子失去 1 分子 $C_{12}H_{20}O_9$ 得到特征离子碎片 m/z 287,结合文献资料^[39-40],推测化学成分 P33 为山奈酚-3-O-芸香糖苷。

化合物 N18 在负离子模式下的母离子 m/z 577.1373,母离子开环脱去 3 分子 C_2H_2O 得到碎片离子 m/z 451,再经过 RDA 反应并脱去 1 分子 H_2O 后得到特征碎片离子 m/z 407,母离子 C_4-C_8 键断裂脱去 1 分子儿茶素即特征碎片离子 m/z 289,结合文献资料^[36,41],推测化合物 N18 为原花青素 B。化合物 N19 在负离子模式下的母离子 m/z 289.0733,母离子经 RDA 裂解产生碎片离子 m/z 151 和 m/z 109,母离子发生分子内断裂失去 1 分子 $C_9H_{12}O_7$ 得到特征碎片离子 m/z 125,结合文献资料^[42-43],推测

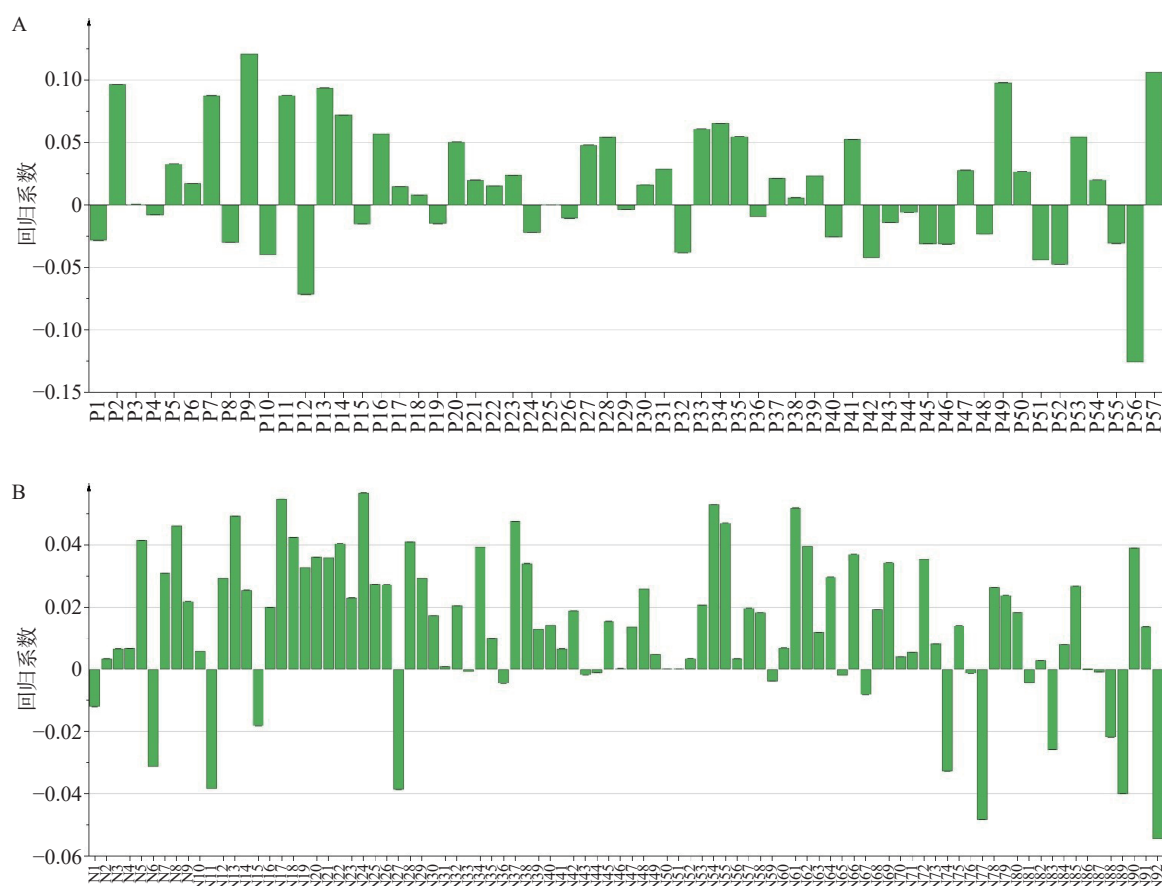


图 4 正(A)、负(B)离子模式下各离子峰与抗氧化活性的 OPLS 模型回归系数

Fig.4 OPLS model regression coefficients of each ion peak with antioxidant activity in positive (A) and negative (B) ion modes

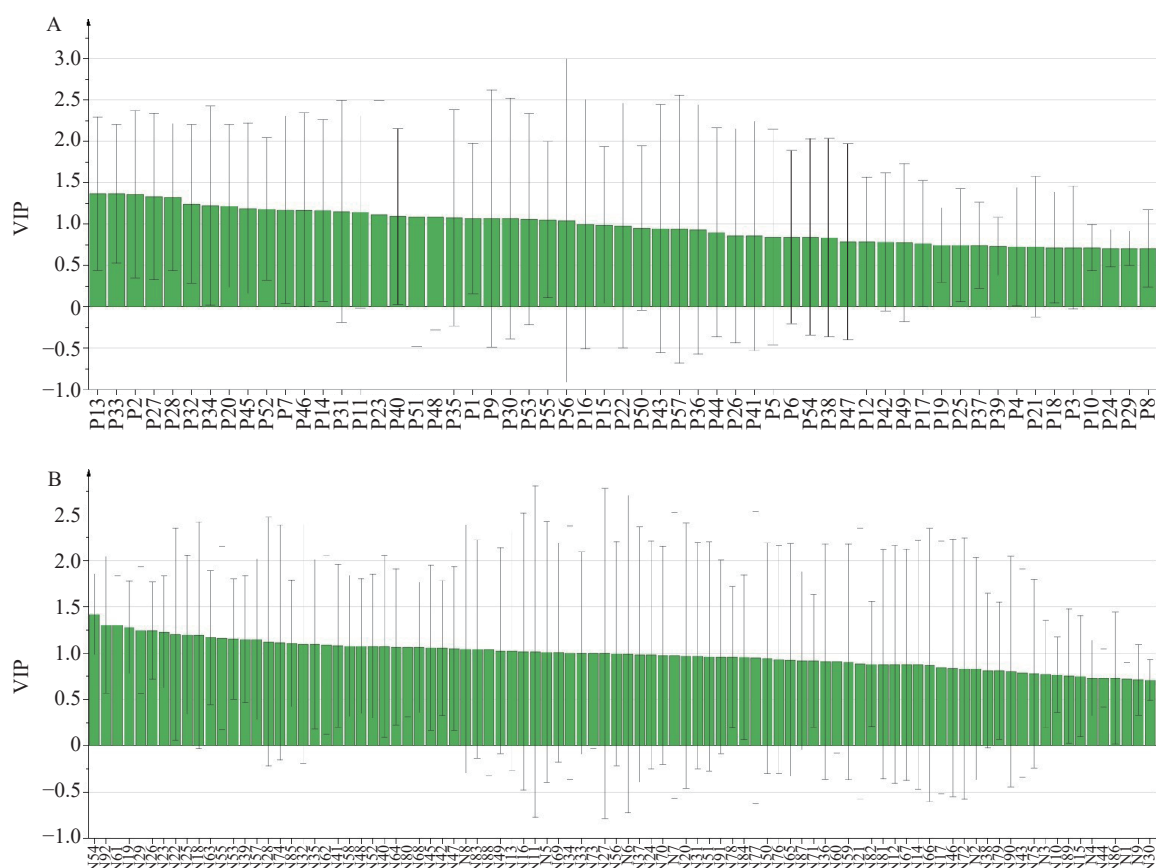


图 5 正(A)、负(B)离子模式下各离子峰与抗氧化活性的 OPLS 模型 VIP 值

Fig.5 OPLS model VIP values of each ion peak with antioxidant activity in positive (A) and negative (B) ion modes

表 2 三叶青抗氧化质量标志物的化学成分分析鉴定
Table 2 Chemical composition analysis and identification of antioxidant quality markers in *Tetrastigma hemsleyanum*

峰号	保留时间T(min)	离子模式	分子式	质荷比(m/z)		分子量	化合物
				准分子离子峰	二级碎片离子		
P2	0.687	[M+H] ⁺	C ₈ H ₈ O ₃	153.0321	125、110、81	152.0473	香兰素
P13	6.581	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	291.0860	162、139	290.0790	儿茶素
P27	16.577	[M+H] ⁺	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1620	465、304、303	610.1534	芦丁
P28	16.919	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465.1055	304、303	464.0955	异槲皮苷
P33	20.707	[M+H] ⁺	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1691	449、287	594.1585	山奈酚-3-O-芸香糖苷
N18	6.005	[M-H] ⁻	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.1373	451、407、289	578.1424	原花青素B
N19	6.606	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0733	151、125、109	290.0790	儿茶素
N22	7.507	[M-H] ⁻	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.2001	577、407、289	866.2058	原花青素C
N23	7.764	[M-H] ⁻	-	561.1398	475、289	-	未知
N25	8.388	[M-H] ⁻	-	849.2046	720、577、451	-	未知
N26	8.518	[M-H] ⁻	-	867.2364	849、720、577	-	未知
N29	9.117	[M-H] ⁻	-	849.2046	712、583、447	-	未知
N54	16.619	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.1450	301、300	610.1534	芦丁
N61	20.743	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.1504	285、284、255	594.1585	山奈酚-3-O-芸香糖苷

化合物 N18 为儿茶素。化合物 N22 在负离子模式下的母离子 m/z 865.2001, 母离子脱去 1 分子儿茶素分别得到碎片离子 m/z 289 和 m/z 577, 碎片离子 m/z 577 发生 RDA 反应再脱去 1 分子 H₂O 后得到特征碎片离子 m/z 407, 结合文献资料^[36,44], 推测化合物 N22 为原花青素 C。化合物 N54 在负离子模式下的母离子 m/z 609.1450, 母离子失去 1 分子葡萄糖、1 分子鼠李糖产生特征离子碎片 m/z 301, 再脱去 1 个 H 得到特征离子碎片 m/z 300, 结合文献资料^[45], 推测化合物 N54 为芦丁。化合物 N61 在负离子模式下的母离子 m/z 593.1504, 母离子脱去 1 分子 C₁₂H₂₀O₉ 得到特征碎片离子 m/z 285, 再脱去 1 个 H 得到碎片离子 m/z 284, 碎片离子 m/z 285 再脱去 1 分子 CH₂O 得到碎片离子 m/z 255, 结合文献资料^[40], 推测化合物 N61 为山奈酚-3-O-芸香糖苷。

经 UPLC-UPLC-Q-TOF-MS 定性分析, 鉴定出其中 10 种化学成分, 多为黄酮类成分, 分别为香兰素^[46](P2)、儿茶素^[47](P13、N19)、芦丁^[47-48](P27、N54)、异槲皮苷^[49](P28)、山奈酚-3-O-芸香糖苷^[50](P33、N61)、原花青素 B^[51](N18)以及原花青素 C^[52](N22), 以上鉴定出的化学成分抗氧化功效与文献报道一致。

3 结论

本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS 技术建立三叶青提取物及各大孔树脂洗脱部位的正、负离子模式指纹图谱, 综合 Pearson 相关系数与 OPLS 分析对其抗氧化谱效关系进行研究, 将 Pearson 相关系数大于 0.6 且 P<0.05 的离子峰与 OPLS 分析中 VIP>1 且回归系数大于 0 的离子峰进行整合, 推测出与抗氧化活性相关的离子峰共 14 个, 分别为 P2、P13、P27、P28、P33、N18、N19、N22、N23、N25、N26、N29、N54 以及 N61。经分析鉴定出其中 10 种化学成分, 分别为香兰素(P2)、儿茶素(P13、N19)、芦丁(P27、

N54)、异槲皮苷(P28)、山奈酚-3-O-芸香糖苷(P33、N61)、原花青素 B(N18)以及原花青素 C(N22)。本研究首次基于谱效关系分析挖掘三叶青抗氧化活性的质量标志物, 但本研究中抗氧化指标仍待完善, 无法综合全面评价三叶青的抗氧化作用, 且目前只指认部分质量标志物离子峰, 因此, 后续会进一步探究三叶青中发挥抗氧化活性的质量标志物。

综上所述, 本研究发现三叶青的抗氧化活性主要源于黄酮类物质, 并指认出香兰素、儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、原花青素 B 以及原花青素 C 为三叶青抗氧化活性的质量标志物, 为三叶青抗氧化活性质量标志物的确定和质量标准的制定提供了参考依据。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] HU W, ZHENG Y, XIA P, et al. The research progresses and future prospects of *Tetrastigma hemsleyanum*: A valuable Chinese herbal medicine[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 271: 113836.
[2] 陈海杰, 周永逸, 薛佳, 等. 基于 UFLC-QTRAP-MS/MS 技术分析三叶崖爬藤不同部位的多元活性成分[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(8): 1322-1337, 1363. [CHEN H J, ZHOU Y Y, XUE J, et al. Analysis of multiple active constituents in different parts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg based on UFLC-QTRAP-MS/MS[J]. *Natural Product Research and Development*, 2023, 35(8): 1322-1337, 1363.]
[3] BAI Y, JIANG L, LI Z, et al. Flavonoid metabolism in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg based on metabolome analysis and transcriptome sequencing[J]. *Molecules*, 2022, 28(1): 83.
[4] 徐志杰, 黄子涵, 马方芳, 等. 响应面法优化三叶青总黄酮提取工艺及不同产地三叶青的质量评价[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 158-167. [XU Z J, HUANG Z R, MA F F, et al. Optimiza-

- tion of total flavonoids extraction process of *Tetragium hemsleyanum* and its quality evaluation from different origins[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 158–167.]
- [5] WANG B, LIN Y, ZHOU M, et al. Polysaccharides from *Tetragium hemsleyanum* attenuate LPS-induced acute lung injury by modulating TLR4/COX-2/NF- κ B signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155: 113755.
- [6] SUN Y, LI H, HU J, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolics in *Tetragium hemsleyanum* and their antioxidant and antiproliferative activities[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(44): 10507–10515.
- [7] SUN L, LU J J, WANG B X, et al. Polysaccharides from *Tetragium hemsleyanum*: Optimum extraction, monosaccharide compositions, and antioxidant activity[J]. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 2022, 52(4): 383–393.
- [8] 吴舟涛, 朱玲燕, 吴学谦, 等. 三叶青化学成分和抗肿瘤作用研究进展[J]. *中南药学*, 2017, 15(3): 319–324. [WU Z T, ZHU L Y, WU X Q, et al. Research progress in the chemical compositions and anti-tumor effect of *Tetragium hemsleyanum* [J]. *Central South Pharmacy*, 2017, 15(3): 319–324.]
- [9] WEI C, ZHAO Y, JI T, et al. Cyclin-dependent kinase 6 identified as the target protein in the antitumor activity of *Tetragium hemsleyanum* [J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 865409.
- [10] 汪传宝, 陈静文, 王可, 等. 仿野生种植三叶青不同部位总黄酮分析及其抗炎、抗氧化能力比较[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(6): 321–329. [WANG C B, CHEN J W, WANG K, et al. Analysis of total flavonoids in different parts of wild planting *Tetragium hemsleyanum* and comparison of their anti-inflammatory and antioxidant capacity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(6): 321–329.]
- [11] WANG C Y, JANG H J, HAN Y K, et al. Alkaloids from *Tetragium hemsleyanum* and their anti-inflammatory effects on LPS-induced RAW264.7 cells[J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1445.
- [12] 程晓阳, 廖明, 何全光, 等. 三叶青超微粉对酒精性肝损伤大鼠肠道菌群的调节作用[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(18): 415–424. [CHENG X Y, LIAO M, HE Q G, et al. Effects of *Tetragium hemsleyanum* superfine powder on intestinal microflora in rats with alcohol-induced liver injury[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(18): 415–424.]
- [13] KRISHNA T P A, MAHARAJAN T, KRISHNA T P A, et al. Insights into metabolic engineering of bioactive molecules in *Tetragium hemsleyanum* Diels & Gilg: A traditional medicinal herb[J]. *Current Genomics*, 2023, 24(2): 72–83.
- [14] 伍婷, 李振斌, 杜家会, 等. 三叶青质量控制方法研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2023, 32(10): 49–54. [WU T, LI Z B, DU J H, et al. Research progress on quality control methods of *Tetragium hemsleyanum* [J]. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy*, 2023, 32(10): 49–54.]
- [15] 李兆慧, 师砚首, 喻晓雁, 等. 三叶青黄酮的提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. *中南药学*, 2023, 21(8): 2035–2040. [LI Z H, SHI Y S, YU X Y, et al. Optimization of extraction of flavonoids from *Tetragium hemsleyanum* and its antioxidant activities[J]. *Central South Pharmacy*, 2023, 21(8): 2035–2040.]
- [16] 李鹤, 陈伟东. 不同产地三叶青 HPLC 指纹图谱研究[J]. *中药材*, 2021, 44(12): 2896–2898. [LI H, CHEN W D. Study on the HPLC fingerprints of *Tetragium hemsleyanum* from different origins[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021, 44(12): 2896–2898.]
- [17] 赵文菊, 朱勇, 鲁正学. 三叶青多糖增强 Lewis 肺癌小鼠抗肿瘤免疫反应[J]. *中国肺癌杂志*, 2023, 26(8): 559–571. [ZHAO W J, ZHU Y, LU Z X. Radix *Tetragium hemsleyanum* promotes antitumor immune response in Lewis lung cancer mice[J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2023, 26(8): 559–571.]
- [18] 杨锡金, 王艳, 陈梓瀚, 等. 基于 HPLC-ECD 研究景天三七抗氧化活性的谱效关系[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(16): 15–24. [YANG X J, WANG Y, CHEN Z H, et al. Study on the spectrum effect relationship of antioxidant activity of *Sedum aizoon* L. based on HPLC-ECD[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(16): 15–24.]
- [19] 李东辉, 吴红伟, 李国峰, 等. 大黄总多酚、总蒽醌含量测定及体外抗氧化作用的谱效关系研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2022, 34(4): 541–552. [LI D H, WU H W, LI G F, et al. Study on content of total polyphenols and total anthraquinones in rhubarb and its spectrum-effect relationship of anti-oxidation *in vitro* [J]. *Natural Product Research and Development*, 2022, 34(4): 541–552.]
- [20] 刘翰飞. 刺梨抗氧化抑菌作用的谱效关系研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2021. [LIU H F. Study on the spectrum-effect relationship of anti-oxidation and bacteriostasis of *Rosa roxburghii* [D]. Guiyang: Guizhou University, 2021.]
- [21] 何志贵, 徐祥林, 崔莹莹, 等. 三叶青原花青素纯化工艺及抗氧化、 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(6): 178–185. [HE Z G, XU X L, CUI Y Y, et al. Study on purification process and antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity of proanthocyanidins from *Tetragium hemsleyanum* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(6): 178–185.]
- [22] 许海顺, 吴学谦, 熊科辉, 等. 三叶青不同洗脱组分的抗氧化活性研究[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(8): 1968–1971, 2068. [XU H X, WU X Q, XIONG K H, et al. Antioxidant activity of different elution fractions from *Tetragium hemsleyanum* [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 33(8): 1968–1971, 2068.]
- [23] 王昱涵, 王志萍, 谢谭芳, 等. UHPLC-Q-TOF-MS 技术在中药及中药复方制剂研究中的应用[J]. *中国药师*, 2022, 25(1): 114–118. [WANG Y H, WANG Z P, XIE T F, et al. Application of UPLC-Q-TOF-MS technique to the study of tradition Chinese medicine and herbal compound preparations[J]. *China Pharmacist*, 2022, 25(1): 114–118.]
- [24] ZHANG L, SHEN H, XU J, et al. UPLC-QTOF-MS/MS-guided isolation and purification of sulfur-containing derivatives from sulfur-fumigated edible herbs, a case study on ginseng[J]. *Food Chemistry*, 2018, 246: 202–210.
- [25] ZHU R, XU X, YING J, et al. The phytochemistry, pharmacology, and quality control of *Tetragium hemsleyanum* Diels & Gilg in China: A review[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 550497.
- [26] LUO Y, YANG Y, YANG X, et al. Quality evaluation of *Tetragium hemsleyanum* different parts based on quantitative analysis of 42 bioactive constituents combined with multivariate statistical analysis[J]. *Phytochemical Analysis*, 2022, 33(5): 754–765.
- [27] GUO Z, CHEN L, LIANG X. Components research on *Tetragium hemsleyanum* Diels et Gilg: Identification and effect of drying methods on the content of ten main constituents by targeting metabolomics method[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2023, 229: 115375.
- [28] 郭其洪, 李兴丽, 范江平, 等. 辣木籽抗氧化肽的分离鉴定及其稳定性分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 41–47. [GUO Q H, LI X L, FANG J P, et al. Isolation, identification and stability

- analysis of antioxidant peptides from *Moringa oleifera* seeds[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(5): 41–47.]
- [29] LI Y, YANG Y, KANG X, et al. Study on the anti-inflammatory effects of *Callicarpa nudiflora* based on the spectrum-effect relationship[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 12: 806808.]
- [30] SHI J W, LI Z Z, WU J S, et al. Identification of the bioactive components of Banxia Xiexin decoction that protect against CPT-11-induced intestinal toxicity via UPLC-based spectrum-effect relationship analyses[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 266: 113421.]
- [31] QI J, ZHANG Q, LI L, et al. Spectrum-effect relationship between UPLC-Q-TOF-MS fingerprint and anti-AUB effect of *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2022, 217: 114828.]
- [32] WUBULI A, ABDULLA R, ZANG D, et al. Spectrum-effect relationship between UPLC fingerprints and melanogenic effect of *Ruta graveolens* L[J]. *Journal of Chromatography B-analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2023, 1221: 123683.]
- [33] 钟洪祥, 王素方, 蔡继宝, 等. 香兰素的热解研究[J]. *烟草科技*, 2004(7): 22–26. [ZHONG H X, WANG S F, CAI J B, et al. Study on pyrolysis of vanillin[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2004(7): 22–26.]
- [34] 宁霄, 何欢, 金绍明, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中麦芽酚、乙基麦芽酚、香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(7): 2555–2562. [NING X, HE H, JIN S M, et al. Simultaneous determination of vanillin, methyl vanillin, ethyl vanillin, maltol and ethyl maltol in foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017, 8(7): 2555–2562.]
- [35] 沈淑双. 鸡树条荚蒾药用部位化学成分分析[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2023. [SHEN S S. Analysis of chemical constituents of medicinal parts of *Viburnum sargentii*[D]. Jiamusi: Jiamusi University, 2023.]
- [36] 王晴, 卢志威, 刘月红, 等. UPLC-Q-TOF/MSE 结合诊断离子过滤方法快速分析大黄中酚类成分[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(10): 1922–1931. [WANG Q, LU Z W, LIU Y H, et al. Rapid analysis on phenolic compounds in *Rheum palmatum* based on UPLC-Q-TOF/MSE combined with diagnostic ions filter[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2017, 42(10): 1922–1931.]
- [37] 李晓, 石慧, 丁晶鑫, 等. 不同基原八爪金龙药材中黄酮、香豆素类化学成分分析[J]. *中国药房*, 2021, 32(4): 443–452. [LI X, SHI H, DING J X, et al. Analysis of chemical constituents as flavonoids and coumarins in Radix Ardisiae from different sources[J]. *China Pharmacy*, 2021, 32(4): 443–452.]
- [38] YASIR M, SULTANA B, ANWAR F. LC-ESI-MS/MS based characterization of phenolic components in fruits of two species of *Solanaceae*[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(7): 2370–2376.]
- [39] CAO J, XIA X, DAI X, et al. Chemical composition and bioactivities of flavonoids-rich extract from *Davallia cylindrica* Ching[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37(2): 571–579.]
- [40] 沈瑶, 黄思红, 刘依茹, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析覆盆子不同部位的化学成分及其 9 种成分含量的快速测定[J]. *中草药*, 2023, 54(15): 4789–4803. [SHEN Y, HUANG S H, LIU Y R, et al. Analysis of chemical components in different parts of *Rubus chingii* and rapid determination of its nine main components by UHPLC-Q-Orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(15): 4789–4803.]
- [41] 李开敏, 刘育辰, 刘刚, 等. 血人参中化学成分鉴定及其保肝活性研究[J]. *中成药*, 2023, 45(11): 3826–3833. [LI K M, LIU Y C, LIU G, et al. Identification of chemical components in *Indigofera stachyodes* and their hepatoprotective activities[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2023, 45(11): 3826–3833.]
- [42] 蔡定吉. 岩白菜的化学成分及 COX-2 抑制活性研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023. [CAI D J. Chemical constituents and COX-2 inhibitory activity of *Bergenia purpurascens*[D]. Nanchang: Jiangxi University of Chinese Medicine, 2023.]
- [43] 杨祖凡, 王倩, 赵晴, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS 技术的沙棘黄酮类成分分析[J]. *化学试剂*, 2024, 46(2): 95–106. [YANG Z F, WANG Q, ZHAO Q, et al. Identification and characterization of flavonoid compounds from *Hippophae rhamnoides* L. by UPLC-Q-Orbitrap MS[J]. *Chemical Reagents*, 2024, 46(2): 95–106.]
- [44] 翁倩倩, 杨滨, 李斌, 等. 瓜拉纳化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(15): 68–75. [WENG Q Q, YANG B, LI B, et al. Analysis of chemical constituents in *Paullinia cupana* dried seeds by UPLC-Q-TOF-MS[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2021, 27(15): 68–75.]
- [45] 陆石英, 王海波, 袁光蔚, 等. UPLC-Q-Exactive 技术分析民族药石笔木化学成分[J]. *中国新药杂志*, 2019, 28(16): 2032–2039. [LU S Y, WANG H B, YUAN G W, et al. Study on chemical constituents of *Tutcheria championi* Nakai by UPLC-Q-Exactive[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2019, 28(16): 2032–2039.]
- [46] 杨庆明, 丁兰, 杨红, 等. 食用香料——香兰素的抗氧化活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2007(1): 85–88. [YANG Q M, DING L, YANG H, et al. Study on the antioxidant effect of vanillin in *in vitro* experiment[J]. *Food Research and Development*, 2007(1): 85–88.]
- [47] 刘长梅, 陈悦鸣, 胡煜. 不同茶叶中儿茶素、芦丁含量和抗氧化性效果研究[J]. *中国卫生工程学*, 2022, 21(3): 453–455, 458. [LIU C M, CHEN Y M, HU Y. Study on the content and antioxidant effects of catechins and rutin in different teas[J]. *Chinese Journal of Public Health Engineering*, 2022, 21(3): 453–455, 458.]
- [48] 郑妍, 秦梦洋, 岳松桦, 等. 苦荞麦芦丁提取工艺及抗氧化评价[J]. *食品安全导刊*, 2023(24): 148–150, 155. [ZHENG Y, QIN M Y, YUE S Y, et al. Extraction technology and antioxidant evaluation of rutin from tartary buckwheat[J]. *China Food Safety Magazine*, 2023(24): 148–150, 155.]
- [49] AHMAD R, AHMAD N, NAQVI A A, et al. Antioxidant and antiglycating constituents from leaves of *Ziziphus oxyphylla* and *Cedrela serrata*[J]. *Antioxidants*, 2016, 5(1): 9.]
- [50] WANG J, FANG X, GE L, et al. Antitumor, antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol[J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197563.]
- [51] 洪苏贞. 雷公藤临床应用文献研究与不同产地原花青素萃取分析及抗氧化作用[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2022. [HONG S Z. The clinical literature review, procyanidins extraction methods development and antioxidant activity evaluation in *Tripterygium wilfordii* Hook. F[D]. Hangzhou: Zhejiang Chinese Medical University, 2022.]
- [52] SONG J H, LEE H J, KANG K S. Procyanidin C1 activates the Nrf2/HO-1 signaling pathway to prevent glutamate-induced apoptotic HT22 cell death[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(1): 142.]