

怀菊花对 LPS 致肺损伤保护作用的谱效关系研究

刘淑桢^{1,2}, 王小兰^{1,2,3}, 孙 瑜⁴, 王 影^{1,2}, 杨晓旭⁵, 陈 辉^{1,2,3}, 李 孟^{1,2*}, 郑晓珂^{1,2,3}, 冯卫生^{1,2,3}

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046; 3. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046; 4. 河南中医药大学医学院, 河南 郑州 450046; 5. 河南中医药大学管理科大联合学院, 河南 郑州 450046)

摘要：**目的** 建立怀菊花 HPLC 指纹图谱，并探讨其对脂多糖（LPS）所致肺上皮细胞损伤保护作用的谱效关系。**方法** 建立 12 批怀菊花提取物的 HPLC 指纹图谱，标定共有峰并进行相似度评价；采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 及对照品对比鉴定共有峰。建立 LPS 诱导的人正常肺上皮细胞（BEAS-2B）损伤模型，给予不同批次 100 μg/mL 怀菊花提取物干预，ELISA 法检测 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平并计算抑制率。以相关炎症因子抑制率为指标，通过灰色关联分析（GRA）和偏最小二乘回归（PLSR）分析探讨怀菊花指纹图谱与其肺损伤保护作用的谱效关系。**结果** 建立了 12 批怀菊花提取物 HPLC 指纹图谱，相似度为 0.828~0.991，共标定 18 个共有峰，并鉴定出 13 个。12 批怀菊花提取物可降低 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平。谱效分析结果表明，峰 1（绿原酸）、峰 3、峰 4（3, 5-O-二咖啡酰奎宁酸）、峰 5（香叶木苷）、峰 7（香叶木素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷）、峰 12（香叶木素-7-O-6"-丙二酰基葡萄糖苷）为怀菊花发挥肺损伤保护作用的主要物质。**结论** 本研究初步确认怀菊花发挥肺损伤保护作用的潜在活性成分，可为其治疗肺损伤的物质基础研究和质量控制提供参考。

关键词：怀菊花；肺损伤；谱效关系；BEAS-2B 细胞；物质基础

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2026)07-2442-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.043

菊花是菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序，归肝、肺经，具有清热解毒的功效^[1]，主要含有黄酮类和酚酸类化合物^[2]，具有良好的抗炎、抗氧化等药理活性，在保肝^[3]、降血压^[4]、抑制肺部炎症^[5]等方面均有显著效果。怀菊花因主产于河南古怀庆府而得名，作为菊花的来源之一，被收录于 2025 年版《中国药典》。

急性肺损伤（acute lung injury, ALI）是一种发病迅速、持续时间长的呼吸系统疾病，主要表现为肺泡上皮细胞、毛细血管内皮细胞损伤及弥漫性肺间质水肿^[6]。研究表明，肺上皮细胞损伤、炎症因子释放与 ALI 的发病密切相关^[7-8]。作为支气管上皮的起源，人正常肺上皮细胞（BEAS-2B）常被用作模拟肺上皮生理状态的体外模型，广泛应

用于 ALI 研究^[9-10]。课题组前期研究表明，怀菊花对脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）诱导的 ALI 小鼠具有较好的保护作用，但其潜在活性成分尚不完全明确^[11]。

中药谱效学是将指纹图谱与药效评价相结合，通过构建“谱-效”数学模型，筛选出与药效关联密切成分的方法，也是中药药效物质基础研究中一种常见的研究方法^[12]。因此，本研究拟通过构建 HPLC 指纹图谱，运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术表征共有峰，采用 LPS 诱导的 BEAS-2B 细胞损伤模型，以 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平作为药效学评价指标，通过谱-效的研究方法，以期初步揭示怀菊花发挥改善 ALI 活性的药效物质基础。

1 材料

1.1 仪器 Vanquish 型高效液相色谱仪、Forma

收稿日期：2026-01-29
基金项目：中央引导地方科技发展专项（豫财科〔2016〕149 号）；河南省高层次人才特殊支持计划“中原千人计划”（ZYQR2018100）；河南省博士后基金（344123）；河南省高等学校重点科研项目（21B360003，24A360015）；河南省高等学校青年骨干教师培养计划（2024GGJS070）；河南省高校科技创新团队支持计划（24IRTSTHN039）
作者简介：刘淑桢（2001—），女，硕士在读，从事中药药效物质基础研究。E-mail: liushuyan108@163.com
* 通信作者：李 孟（1988—），女，副教授，博士，从事中药药效物质基础研究。E-mail: limeng31716@163.com

3111 型细胞培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；UPLC-Triple TOF 6600 型超高效液相色谱-飞行时间高分辨质谱仪（美国 AB SCIEX 公司）；5424R 型低温高速离心机（德国 Eppendorf 公司）；BSA224S 型电子天平 [万分之一，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司]；FDU-2110 型冷冻干燥机（上海爱朗仪器有限公司）；SB25-12DTD 型超声波清洗机（宁波新芝生物科技股份有限公司）；全波长酶标仪（美国 Bio Tek 公司）。

1.2 药物与试剂 3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、芹菜素对照品（批号 B21539、B20887、B20984、S31423，纯度≥98%，上海源叶生物科技有限公司）；绿原酸、金合欢素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、香叶木素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、木犀草素由课题组前期从怀菊花中分离得到，纯度均≥98%。TNF-α、IL-6、IL-1β ELISA 试剂盒（批号 E-EL-H0109、E-EL-H6156、E-EL-H0149，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司）；地塞米松（批号 D8040，北京索莱宝科技有限公司）；脂多糖 [批号 L2880，西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司]。乙腈、甲酸均为质谱纯；水为纯净水（广州屈臣氏食品饮料有限公司）。

12 批次怀菊花药材（编号 S1~S12），均采自河南省焦作市，经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为菊科植物菊花 *Chrysanthemum morifolium* Ramat 的干燥头状花序。BEAS-2B 细胞购自上海富衡生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 怀菊花提取物制备 称取 12 批次怀菊花药材各 20 g，加入 70% 乙醇 500 mL，加热回流提取 2 次，每次 2 h，过滤，合并滤液，减压浓缩后冷冻干燥，得怀菊花提取物冻干粉。

2.2 怀菊花提取物 HPLC 指纹图谱建立

2.2.1 供试品溶液制备 精密称定各批次怀菊花提取物冻干粉 5 mg，置于 50 mL 具塞锥形瓶中，加入 15 mL 甲醇，称定质量，超声处理（功率 250 W，频率 80 kHz）15 min，静置至室温，再次称定，甲醇补足减失的质量，摇匀，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.2.2 对照品溶液制备 分别精密称取绿原酸、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、木犀草苷、芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、金合欢素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、香叶木素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、芹菜

素、木犀草素对照品适量，分别置于 5 mL 容量瓶中，加入甲醇溶解并定容至刻度，制成对照品储备液。精密量取上述各对照品储备液适量，加甲醇稀释成各对照品质量浓度为 100 μg/mL 的溶液，摇匀，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.2.3 色谱条件 Symmetry C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-水（含 0.1% 甲酸，B），梯度洗脱（0~15 min，8%~16% A；15~19 min，16%~18% A；19~21 min，18%~17% A；21~45 min，17% A；45~48 min，17%~19.5% A；48~68 min，19.5%~22% A；68~70 min，22%~24% A；70~95 min，24%~36% A；95~98 min，36%~8% A）；体积流量 0.8 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 270 nm；进样量 10 μL。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量，在“2.2.3”项色谱条件下连续进样测定 6 次，以 13 号峰为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间 RSD<1%，相对峰面积 RSD<3%，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取怀菊花提取物（编号 S12）6 份，按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液，在“2.2.3”项色谱条件下进样测定，以 13 号峰为参照峰，计算得到各对照品共有峰相对保留时间 RSD<1%，相对峰面积 RSD<3%，表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取同一怀菊花供试品溶液（编号 S12），于 0、3、6、9、12、24 h 在“2.2.3”项色谱条件下进样测定，以 13 号峰为参照峰，计算得到各对照品共有峰相对保留时间 RSD<1%，相对峰面积 RSD<3%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4 指纹图谱建立及相似度评价 取怀菊花供试品溶液及对照品溶液适量，在“2.2.3”项色谱条件下进样测定，数据以 CDF 格式导出。将 12 批怀菊花提取物的 HPLC 图谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”进行分析，以样品 S1 的图谱为参照，设置时间窗宽度为 0.1，采用中位数法进行多点校正和 Mark 峰匹配，生成对照图谱并计算相似度。结果表明，12 批怀菊花提取物图谱与对照指纹图谱的相似度依次为 0.963、0.982、0.980、0.989、0.963、0.963、0.991、0.984、0.837、0.828、0.968、0.964，12 批怀菊花提取物的化学差异较小。色谱图中共确定

18 个共有峰, 12 批怀菊花提取物 HPLC 叠加图谱见图 1, 对照指纹图谱见图 2A。

通过对照品色谱图指认, 共确定 8 种成分, 分别为绿原酸 (1 号峰)、木犀草苷 (2 号峰)、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸 (4 号峰)、芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (6 号峰)、香叶木素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (7 号峰)、木犀草素 (11 号峰)、金合欢素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (13 号峰)、芹菜素 (15 号峰), 对照品图谱见图 2B。

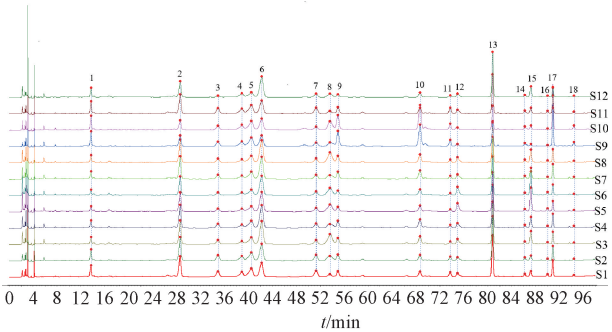
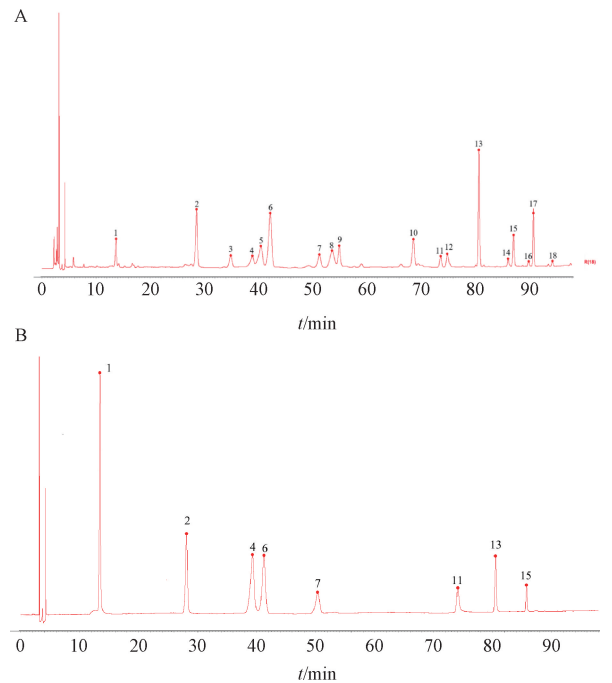


图 1 12 批怀菊花提取物的 HPLC 指纹图谱



注: 1. 绿原酸 2. 木犀草苷 4. 3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸
6. 芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 7. 香叶木素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 11. 木犀草素 13. 金合欢素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 15. 芹菜素

图 2 怀菊花 HPLC 对照指纹图谱 (A) 与对照品 HPLC 图 (B)

2.5 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的共有峰鉴定

2.5.1 色谱条件 ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲

酸, A) -乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~8 min, 7%~8% B; 8~10 min, 8%~16% B; 10~12 min, 16%~17% B; 12~20 min, 17% B; 20~23 min, 17%~19.5% B; 23~27 min, 19.5%~22.5% B; 27~37 min, 22.5%~24% B; 37~40 min, 24%~36% B; 40~50 min, 36%~8% B); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 ℃; 检测波长 270 nm; 进样量 2 μL。

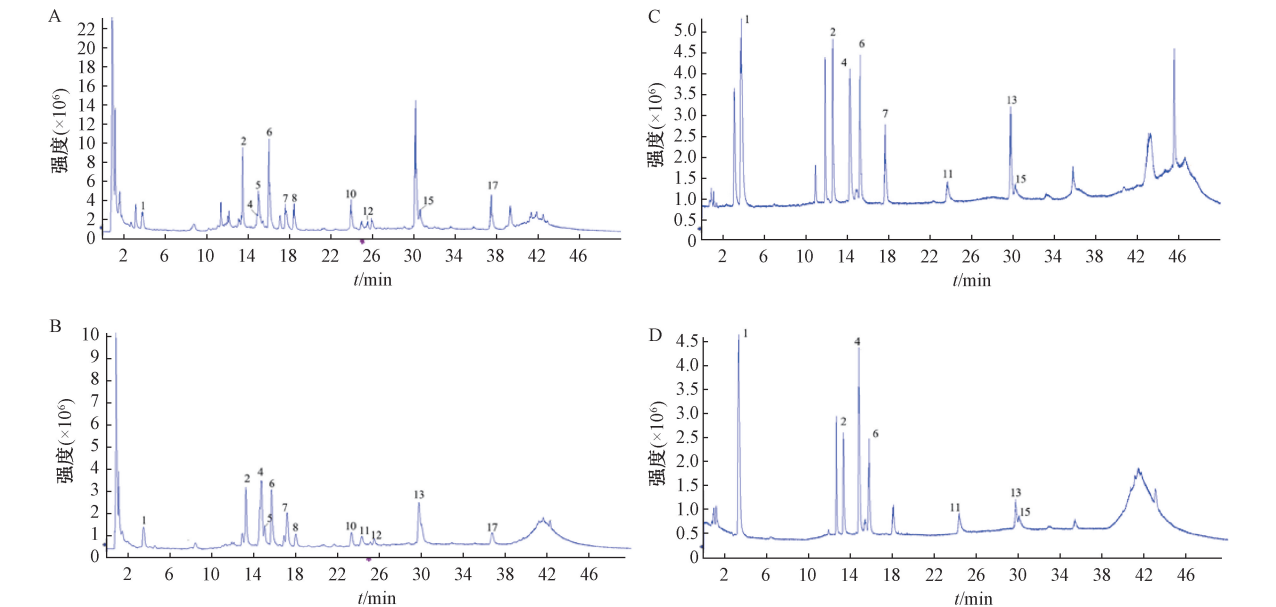
2.5.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI); 正、负离子扫描; 喷雾气 (GS1, N₂) 压力 45 psi (1 psi = 6.895 kPa); 辅助加热气 (GS2, N₂) 压力 50 psi; 气帘气压力 35 psi; 去簇电压 80 V; 离子源温度 550 ℃; 一级质谱的扫描范围 *m/z* 100~1 500, 二级质谱扫描范围 *m/z* 50~1 000; 碰撞电压 (40±20) V。

2.5.3 共有峰鉴定 取怀菊花提取物 (编号 S1) 适量, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5.1”“2.5.2”项条件下进样测定, 总离子流图 (TIC) 见图 3。通过对照品 TIC 图谱确定共有峰, 采用 SCIEX OS 软件进行数据处理, 结合对照品、文献报道、PubChem 数据库中精确相对分子质量, 共指认了 13 个共有峰, 结果见表 1。以峰 11 木犀草素为例, 在负离子模式下, 其准分子离子峰为 *m/z*: 285.041 4 [M-H]⁻, 二级质谱图可见准分子离子峰丢失 C₃H₂O₃, 产生碎片离子 *m/z*: 175.040 0, C 环发生 RDA 裂解产生碎片离子 *m/z*: 151.003 6、133.029 6 和 107.013 7, A 环破裂丢失 C₃O₂ 产生碎片离子 *m/z*: 217.051 1, 进一步中性丢失一分子 H₂O 产生碎片离子 *m/z*: 199.040 5。该化合物裂解途径与文献 [13] 报道一致, 经与对照品保留时间、精确分子质量对比, 鉴定峰 11 为木犀草素, 其二级质谱和裂解过程见图 4。

2.6 不同批次怀菊花对 LPS 所致 BEAS-2B 细胞损伤的作用

2.6.1 细胞培养 BEAS-2B 细胞加入 10% 胎牛血清, 在 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养, 待细胞生长至密度为 80%~90% 时, 用 0.25% 胰酶消化, 制成细胞悬液, 按 1×10⁴ 个/孔的密度接种于 96 孔板, 每孔 200 μL。

2.6.2 细胞分组和处理 将细胞分为正常组、模型组、地塞米松组 (1 μmol/mL) 及怀菊花提取物组 (即 S1 组~S12 组, 100 μg/mL), 每组设置 6 个复孔。弃去细胞上清液后, 正常组加入正常培养基培养, 其余各组用含 LPS (10 μg/mL) 的培养



注：A~B 分别为怀菊花样品正、负离子 TIC 图，C~D 分别为对照品正、负离子 TIC 图。

图 3 怀菊花样品及对照品正、负离子总离子流图

表 1 怀菊花提取物共有峰成分鉴定结果

峰号	t_R/min	名称	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片离子 m/z
1	3.86	绿原酸 [*]	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	355.102 4	355.100 8	-4.4	181.038 1, 163.038 5, 135.042 7, 117.032 4
2	13.46	木犀草苷 [*]	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	449.107 8	449.107 5	-0.8	287.054 7, 153.017 7, 135.039 9
4	14.98	3,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸 [*]	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	517.134 1	517.133 6	-0.9	163.038 0, 145.027 0, 135.042 6
5	15.09	香叶木苷	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	609.181 4	609.179 3	-3.4	447.127 9, 285.074 9, 163.032 6, 135.038 6
6	16.08	芹菜素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 [*]	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	433.112 9	433.112 9	-0.1	280.425 9, 271.059 9, 153.016 8, 121.026 1
7	17.37	香叶木素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 [*]	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	463.123 5	463.123 2	-0.6	301.069 7, 286.045 6, 258.048 9
8	18.48	香叶木素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖醛酸	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	477.102 8	477.101 9	-1.8	301.070 5, 286.046 9, 258.051 4
10	23.87	芹菜素-7- <i>O</i> -6'-丙二酰基葡萄糖苷	$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	519.113 3	519.112 9	-0.8	271.059 9, 153.016 7, 119.046 6
11	24.33	木犀草素 [*]	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	285.040 5	285.041 4	3.1	217.051 1, 199.040 5, 175.040 0, 151.003 6, 133.029 6, 107.013 7
12	25.87	香叶木素-7- <i>O</i> -6'-丙二酰基葡萄糖苷	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{14}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	549.123 9	549.124 2	0.6	301.070 4, 286.046 9, 258.051 9, 229.048 8
13	29.75	金合欢素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 [*]	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	445.114 0	445.115 1	2.4	283.062 9, 268.037 9, 239.069 2, 161.024 5
15	30.59	芹菜素 [*]	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	271.060 1	271.059 1	-3.7	243.067 7, 187.039 5, 163.036 7, 153.016 8, 145.026 5
17	37.36	金合欢素-7- <i>O</i> -6'-丙二酰基葡萄糖苷	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{13}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	533.129 0	533.128 9	0.1	285.075 5, 270.051 4, 153.013 7

注：*表示经对照品对比鉴定的化学成分。

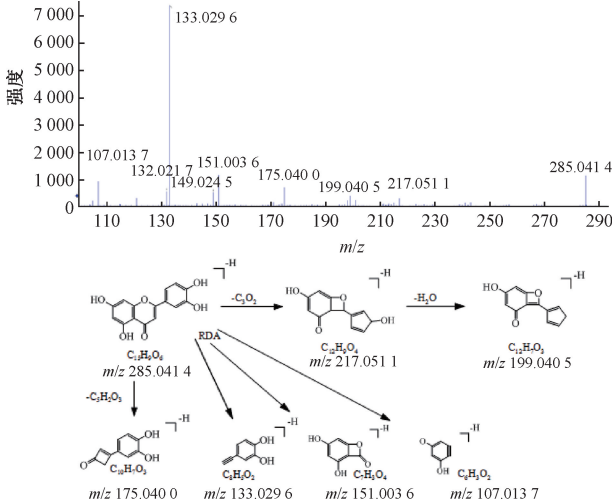


图 4 木犀草素二级质谱图及裂解过程

基进行培养^[14]，然后各给药组给予相应剂量药物，继续孵育 24 h，离心，取上清液。

2.6.3 ELISA 法检测 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平 取细胞上清液，按 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作，检测 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平，并根据说明书制得的标准曲线计算得到其含量和抑制率。炎症因子抑制率计算公式为抑制率=〔（模型组炎症因子水平-给药组炎症因子水平）/模型组炎症因子水平〕×100%。结果显示，与正常组比较，模型组细胞上清液中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平显著升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，S1 组~S12 组细胞上清液中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平均显著降低（ $P<0.01$ ），见表 2。

表 2 12 批怀菊花对 LPS 诱导 BEAS-2B 细胞炎症因子水平及抑制率 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	水平/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)			抑制率/%		
	TNF- α	IL-6	IL-1 β	TNF- α	IL-6	IL-1 β
正常组	21.83 $\pm$ 2.36	24.08 $\pm$ 2.84	66.33 $\pm$ 3.16	—	—	—
模型组	165.5 $\pm$ 15.24 ^{**}	35.15 $\pm$ 2.64 ^{**}	108.0 $\pm$ 8.48 ^{**}	—	—	—
地塞米松组	26.04 $\pm$ 3.63 ^{##}	25.63 $\pm$ 2.74 ^{##}	73.56 $\pm$ 5.27 ^{##}	—	—	—
S1 组	79.46 $\pm$ 29.43 ^{##}	23.99 $\pm$ 3.47 ^{##}	76.71 $\pm$ 10.31 ^{##}	51.98	31.75	28.98
S2 组	81.34 $\pm$ 20.95 ^{##}	23.46 $\pm$ 0.77 ^{##}	74.76 $\pm$ 4.59 ^{##}	50.84	33.25	30.79
S3 组	69.52 $\pm$ 2.89 ^{##}	25.00 $\pm$ 1.80 ^{##}	76.15 $\pm$ 8.58 ^{##}	57.98	28.87	29.50
S4 组	94.46 $\pm$ 2.11 ^{##}	24.82 $\pm$ 1.52 ^{##}	77.33 $\pm$ 5.08 ^{##}	42.91	29.39	28.41
S5 组	76.06 $\pm$ 3.49 ^{##}	26.94 $\pm$ 0.93 ^{##}	77.43 $\pm$ 3.24 ^{##}	54.03	23.35	28.32
S6 组	68.82 $\pm$ 2.38 ^{##}	25.75 $\pm$ 0.60 ^{##}	76.04 $\pm$ 6.60 ^{##}	58.40	26.75	29.61
S7 组	82.58 $\pm$ 7.83 ^{##}	24.66 $\pm$ 1.55 ^{##}	74.81 $\pm$ 7.89 ^{##}	50.09	29.85	30.75
S8 组	87.99 $\pm$ 18.27 ^{##}	24.99 $\pm$ 1.73 ^{##}	76.47 $\pm$ 8.86 ^{##}	46.82	28.92	29.21
S9 组	67.00 $\pm$ 3.78 ^{##}	24.55 $\pm$ 2.63 ^{##}	74.34 $\pm$ 4.23 ^{##}	59.51	30.17	31.18
S10 组	85.04 $\pm$ 2.61 ^{##}	24.81 $\pm$ 0.30 ^{##}	75.26 $\pm$ 3.25 ^{##}	48.60	29.43	30.32
S11 组	82.71 $\pm$ 21.62 ^{##}	24.07 $\pm$ 3.32 ^{##}	72.72 $\pm$ 5.87 ^{##}	50.01	31.53	32.68
S12 组	69.80 $\pm$ 6.62 ^{##}	25.27 $\pm$ 0.27 ^{##}	71.10 $\pm$ 3.98 ^{##}	57.81	28.11	34.18

注：与正常组比较，^{**} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{##} $P<0.01$ 。

2.7 谱效关系研究

2.7.1 灰色关联度分析 (GRA) 将 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 抑制率设为参考序列，各批次怀菊花提取物共有峰峰面积设为比较序列，运用 Excel 软件通过均值法对数据进行无量纲化处理。根据文献 [15] 计算得到灰色关联度系数 (r)，见表 3。当 $r>0.8$ 时，提示参考序列与比较序列关联度较大；当 $0.8<r<0.6$ 时，提示两序列关联度一般；当 $r<0.6$ 时，提示两序列关联度较小^[16]。结果显示，18 个共有峰与 BEAS-2B 细胞保护作用的关联度均大于 0.6，其中 16 种成分关联度在 0.801~0.977 之间，各共有峰与 TNF- α 抑制率的关联度排序为 14>13>5>2>4>16>7>1>3>18>11>17>6>12>9>10>15>8；与 IL-1 β 抑制率的关联排序为 14>13>5>2>4>1>7>18>16>11>3>17>12>6>9>10>15>8；与 IL-6 抑制率的关联排序为 14>5>13>4>2>7>3>18>16>17>11>9>12>6>10>15>8，表明这 16 种成分对药效有较大贡献，提示怀菊花对 LPS 所致 BEAS-2B 细胞损伤的保护作用是通过多种成分协调作用实现的。

2.7.2 偏最小二乘回归 (PLSR) 分析 将各批怀菊花提取物指纹图谱数据与炎症因子抑制率导入 SIMCA 14.1 软件，以共有峰峰面积为自变量 X ，肺保护药效指标为因变量 Y ，进行 PLSR 分析，得到标准化回归系数 (r) 及变量投影重要性 (VIP) 值，当 VIP 值>1 时，自变量在解释因变量时具有显著重要性^[17]。标准化回归系数结果见图 5，VIP 值结果见图 6，可知峰 1、3、8、9、15、16、18 的 r 为正值，提示这些峰与 TNF- α 抑制率呈正

表 3 怀菊花各共有峰与肺损伤保护作用的关联度

峰号	TNF- α 抑制率		IL-1 β 抑制率		IL-6 抑制率	
	关联度	排序	关联度	排序	关联度	排序
14	0.951	1	0.963	1	0.977	1
13	0.950	2	0.959	2	0.953	3
5	0.940	3	0.945	3	0.967	2
2	0.928	4	0.936	4	0.942	5
4	0.926	5	0.929	5	0.942	4
1	0.907	8	0.900	6	0.924	7
7	0.908	7	0.895	7	0.934	6
16	0.908	6	0.889	9	0.907	10
3	0.895	9	0.884	11	0.921	8
6	0.876	13	0.877	14	0.866	15
18	0.887	10	0.894	8	0.915	9
11	0.886	11	0.886	10	0.903	12
17	0.882	12	0.881	12	0.904	11
12	0.874	14	0.880	13	0.867	14
9	0.855	15	0.872	15	0.869	13
10	0.810	16	0.816	16	0.801	16
15	0.756	17	0.754	17	0.754	17
8	0.571	18	0.581	18	0.569	18

相关 (图 5A)，峰 2、3、5、7、8、14 的 VIP 值>1 (图 6A)，提示其对 TNF- α 抑制率的影响较为显著；峰 1~5、7、11、13、14 与 IL-6 抑制率呈正相关 (图 5B)，峰 1、3~5、7、12、15 的 VIP 值>1 (图 6B)，对 IL-6 抑制率的影响更显著；峰 3~5、6、9、11、12 与 IL-1 β 抑制率呈正相关 (图 5C)，峰 3、4、8、12、14、16 的 VIP 值>1 (图 6C)，对 IL-1 β 抑制率的影响显著。

3 讨论

本研究采用 HPLC 法对怀菊花样品的检测波长和流动相进行考察，发现在 270 nm 波长处，色谱峰较多，特征性强，因此选择 270 nm 作为检测波长。同时考察流动相甲醇-水 (含 0.1% 甲酸)、乙腈-水

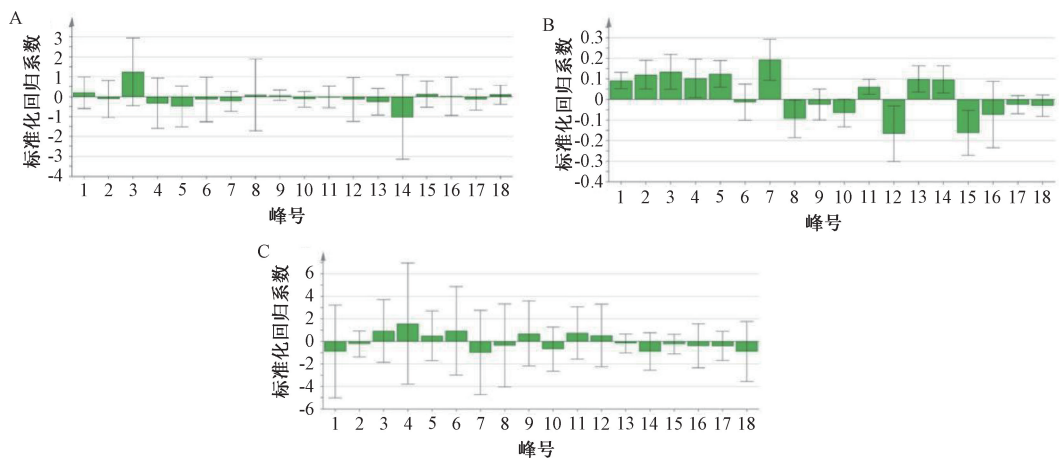


图 5 怀菊花共有峰与 TNF- α (A)、IL-6 (B)、IL-1 β (C) 抑制率的回归系数

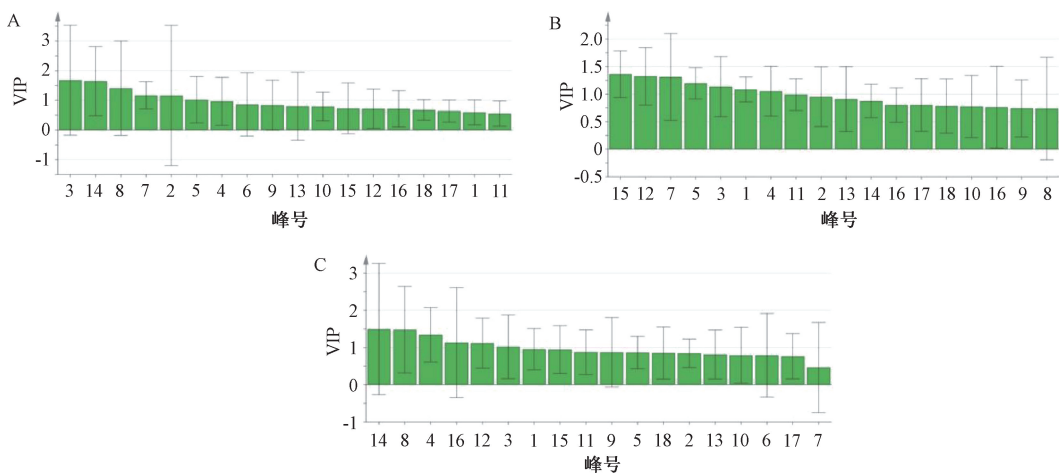


图 6 怀菊花共有峰与 TNF- α (A)、IL-6 (B)、IL-1 β (C) 抑制率的 VIP 值

(含 0.1% 甲酸) 及体积流量 1.0、0.8 mL/min，其中流动相为乙腈-水（含 0.1% 甲酸）、体积流量为 0.8 mL/min 时，分离度及峰形较好。进一步探究流动相比比例，确定了洗脱程序。

目前谱效相关研究中，体内动物实验和体外细胞实验都可用于“效”的评价^[18]。急性肺损伤的发病率、病死率高，其发病机制与炎症相关因子大量产生所导致的肺上皮细胞和内皮细胞损伤有关^[19]。LPS 作为革兰阴性菌细胞壁的主要组成，可诱导肺组织大量中性粒细胞聚集，促使促炎因子释放增加，从而导致肺血管细胞结构和功能损伤，被广泛应用于 ALI 模型制备^[20]。因此，本研究采用 LPS 诱导的人正常肺上皮细胞（BEAS-2B 细胞）构建 ALI 模型。

课题组前期研究发现，怀菊花中猫眼草酚 D^[21]、1, 5-二-O-咖啡酰基奎宁酸、3, 5-二咖啡酰基奎宁酸甲酯、3, 4-二咖啡酰基奎宁酸甲酯、圣草酚-7-O- β -D-葡萄糖苷^[22]对 LPS 诱导的 ALI 具有

改善作用，但是怀菊花中改善 ALI 的潜在活性成分尚不完全清楚。而中药谱效关系研究能将图谱与中药药效结合，阐明中药的药效物质基础，揭示中药治疗疾病具有潜在协同作用的药效成分群^[23]。GRA 法通过关联系数阐明变量间的相关关系，变量间趋势越接近，关联度越高^[24]，但其无法完全反映共有峰面积与药效间的关系，而 PLSR 分析可对变量进行分析解释，反映共有峰与药效的正负关系，弥补 GRA 法的不足^[25]。通过对 GRA、PLSR 分析结果取交集进行筛选，推测峰 1（绿原酸）、峰 3、峰 4（3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸）、峰 5（香叶木苷）、峰 7（香叶木素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷）、峰 12（香叶木素-7-O-6"-丙二酰基葡萄糖苷）可能是怀菊花改善 ALI 的潜在活性成分。

研究表明，绿原酸能通过提高 miR-223 水平，抑制 NLRP3 表达改善小鼠呼吸窘迫综合征^[26]；3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸能抑制 Nf- κ B/NLRP3 信号通路蛋白表达，减轻 LPS 诱导的 ALI^[27]；香叶木苷

能显著降低肺损伤小鼠氧化应激标志物水平，减轻肺上皮细胞损伤，减少肺组织炎症细胞浸润^[28]；香叶木素-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷能加速巨噬细胞极化，诱导糖酵解介导的 NF- κ B 通路失活，减轻 SARS-COV-2 小鼠肺炎^[29]。本研究结果从一定层面上反映了怀菊花改善 ALI 具有多种成分协同作用的特点，可为怀菊花改善 ALI 的作用机制和临床应用奠定基础。然而，各成分之间是否具有协同作用尚需要进一步开展体内外实验进行验证。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2025 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2025.

[2] Lu Y F, Li D X, Zhang R, *et al.* Chemical antioxidant quality markers of *Chrysanthemum morifolium* using a spectrum-effect approach[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 809482.

[3] Xiong S H, Xie J C, Xiang F, *et al.* Research progress on pharmacological effects against liver and eye diseases of flavonoids present in *Chrysanthum indicum* L., *Chrysanthemum morifolium* Ramat., *Buddleja officinalis* Maxim. and *Sophora japonica* L. [J]. *J Ethno Pharmacol*, 2025, 338 (Pt 2): 119094.

[4] 卢 新, 张留记, 李开言, 等. 基于体内外抗氧化作用的菊花对自发性高血压大鼠血压的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(4): 564-568.

[5] Jo D, Kim Y, Ko H, *et al.* *Chrysanthemum zawadskii* var. and *Platycodon grandifloras* extract mixture protects against lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation and cyclophosphamide-induced immune deficiency: *in vivo* evidence[J]. *J Med Food*, 2025, 28(3): 256-265.

[6] 韩兴稷, 焦太强, 高晨曦, 等. 基于 TGF- β /Smad 信号通路探讨麻杏苦甘汤对急性肺损伤大鼠肺纤维化的影响[J]. 中成药, 2025, 47(12): 3943-3950.

[7] Liu Y H, Zhou J B, Luo Y Y, *et al.* Honokiol alleviates LPS-induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis *via* Nrf2 activation *in vitro* and *in vivo*[J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 127.

[8] Lucchini A C, Gachanja N N, Rossi A G, *et al.* Epithelial cells and inflammation in pulmonary wound repair[J]. *Cells*, 2021, 10(2): 339.

[9] Han X Y, Na T, Wu T T, *et al.* Human lung epithelial BEAS-2B cells exhibit characteristics of mesenchymal stem cells[J]. *PLoS One*, 2020, 15(1): e0227174.

[10] Lu J, Li A M, Feng Q Y. Isoginkgetin inhibits macrophage activation and ferroptosis of lung epithelial cells under lipopolysaccharide-induced immunological stress *via* HOXA5-dependent inhibition of the TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2025, 502: 117413.

[11] 徐瑞豪, 樊 慧, 张 莉, 等. 怀菊花中咖啡酰基奎宁酸类化合物通过调节 ERK/MAPK 信号通路改善 LPS 诱导的

HUVEC 血管内皮细胞损伤[J]. 药学学报, 2019, 54(7): 1207-1213.

[12] 孟宪生, 罗 曦, 贾梦楠, 等. 中药质量评价研究现状及“质-量” 双标评价方法探讨[J]. 中草药, 2023, 54(22): 7281-7286.

[13] 谢易伶, 鲍 洋, 田世民, 等. UPLC-Q-Orbitrap HRMS 结合 HS-SPME-GC-MS 技术的荆肤止痒颗粒化学成分分析[J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(21): 2484-2491.

[14] Mao F L, Wu A P. Polyphyllin I alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation reduces pyroptosis in BEAS-2B and HPAEC cells by inhibiting NF- κ B signaling[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2022, 50(4): 23-30.

[15] 徐蓓蕾, 张东琦, 杨娜娜, 等. 基于指纹图谱与谱效关系的白头翁潜在抗氧化质量标志物 (Q-Marker) 分析[J]. 中草药, 2025, 56(12): 4427-4435.

[16] 邓李红, 田清清, 吴晓英, 等. 玫瑰花 UPLC 特征图谱的建立及体外抗氧化谱效关系研究[J]. 中药药理与临床, 2025, 41(5): 76-82.

[17] 徐荣荣, 段天华, 李 蕊, 等. 冀产野生青翘 UPLC 指纹图谱的建立及其抗氧化谱效关系研究[J]. 中国药学杂志, 2025, 60(6): 579-588.

[18] 王丽媛, 陶亚茹, 庄秀萍, 等. 白花蛇舌草对异烟肼致肝损伤保护作用的谱效关系研究[J]. 中国医院药学杂志, 2025, 45 (18): 2070-2076.

[19] 韩 英, 胡丹丹. 内质网应激与急性肺损伤恶化关联性的研究进展[J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2025, 46 (4): 568-573.

[20] 杨 迪, 郭 越, 张 鹏, 等. 阿司匹林调控 NLRP3/caspase-1/GSDMD 通路介导的焦亡途径减轻脂多糖诱导的急性肺损伤研究[J]. 中国药学杂志, 2023, 58 (4): 347-355.

[21] 张钦钦, 曾梦楠, 张贝贝, 等. 猫眼草酚 D 抑制小鼠急性肺损伤的作用及其机制研究[J]. 中国新药杂志, 2022, 31(4): 362-368.

[22] 冯卫生, 樊 慧, 徐瑞豪, 等. 圣草酚-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷改善血管内皮细胞损伤作用机制研究[J]. 中药材, 2018, 41(5): 1176-1180.

[23] 张小艺, 刘久石, 高石曼, 等. 中药谱效关系的研究方法及应用进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44 (20): 4405-4411.

[24] 宋 怡, 王 泉. 基于一测多评法结合化学模式识别及加权 TOPSIS 与灰色关联度融合模型评价不同产地款冬花的质量[J]. 药物分析杂志, 2025, 45(8): 1442-1457.

[25] 王洋洋, 靳 雅, 陈嘉媛, 等. 罗布麻叶 HPLC 指纹图谱及降脂活性的谱效关系研究[J]. 中南药学, 2026, 24 (1): 143-149.

[26] 刘 畅, 程晓丹, 孙家安, 等. 绿原酸通过调控 miR-223/NLRP3 轴减轻脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的机制[J]. 中南大学学报 (医学版), 2022, 47(3): 280-288.

[27] Wang Q, Xiao L. Isochlorogenic acid A attenuates acute lung injury induced by LPS *via* Nf- κ B/NLRP3 signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(11): 7018-7026.

[28] Islam J, Shree A, Afzal S M, et al. Protective effect of Diosmin against benzo (a) pyrene-induced lung injury in Swiss albino mice[J]. *Environ Toxicol*, 2020, 35(7): 747-757.

[29] Xu Y L, Li X J, Cai W, et al. Diosmetin-7-O-β-D-glucopyranoside from *Pogostemonis Herba* alleviated SARS-CoV-2-induced pneumonia by reshaping macrophage polarization and limiting viral replication[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 336: 118704.

不同生长年限叠鞘石斛代谢产物、抗氧化活性比较研究

苟海英, 丁海燕, 王 福, 陈鸿平, 陈 林, 胡 媛, 刘友平*
(成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137)

摘要:目的 比较一、二、三年生叠鞘石斛代谢物差异及其抗氧化活性。方法 采用超高效液相色谱-三重四级杆质谱 (UPLC-MS/MS) 法广泛靶向代谢组学技术检测代谢物, 主成分分析、层次聚类分析及正交偏最小二乘法-判别分析鉴定差异代谢物, 并进行 KEGG 富集分析, ABTS、DPPH 自由基清除能力及 FRAP 法评价抗氧化活性。结果 共检测出 2 630 个代谢物, 以氨基酸及其衍生物、萜类、黄酮类为主, 组间代谢物差异显著, 主要参与黄酮、二苯乙烯、苯丙烷类等合成。三年生药材抗氧化活性强于一年生、二年生。结论 本实验揭示了叠鞘石斛代谢产物积累规律, 可为不同生长年限该药材的品质评价、药效差异提供科学依据。

关键词: 叠鞘石斛; 生长年限; 代谢产物; 抗氧化活性

中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)07-2449-08
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.044

石斛是我国传统名贵药材, 应用历史悠久, 首载于《神农本草经》, 被列为上品^[1]。叠鞘石斛 *Dendrobium anrantiacum* Rchb. var. *denneanum* (Kerr) Z. H. Tsi 为兰科石斛属多年生附生草本植物, 以新鲜或干燥茎入药, 是石斛来源之一, 具有益胃生津、滋阴清热功效, 收载于 2010 年版《四川省中药材标准》和 2015 年版《四川省中药饮片炮制规范》^[2-3], 含有黄酮、联苳、萜类等成分, 具有抗氧化、降血糖、抗肿瘤等药理作用^[4]。

石斛为附生植物, 受其生长特性及长期过度采挖影响, 野生资源接近枯竭, 故人工栽培品成为该药材主要来源^[5]。夹江叠鞘石斛种植历史已有两百多年, 目前规模化种植面积达 1.25 万亩^[6], 是四川省道地药材。生长年限是道地药材品质形成的重要影响因素^[7-8], 研究表明, 不同生长年限叠鞘石斛中石斛酚、联苳类、生物碱等活性成分含量差异显著^[9-10], 故推测生长年限可能会影响其代谢物的积累与富集, 但目前尚无相应报道。

广泛靶向代谢组学兼具覆盖率广、灵敏度高双重优势, 已普遍应用于中药研究^[11]。本实验首次

基于上述技术探究一、二、三年生叠鞘石斛代谢物及抗氧化活性差异, 旨在揭示该药材代谢物的动态积累规律, 为其不同生长年限的品质评价、药效差异提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 ExionLC™ AD 型超高效液相色谱仪、QTRAP 6500 型质谱仪 (美国 Sciex 公司); SCIENTZ-12N/D 型冻干机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); MM 400 型研磨机 (德国 Retsch 公司); Eppendorf 5424R 型离心机 (德国 Eppendorf 公司); VORTEX-5 型涡旋混合器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); Biomek i5 型自动化工作站 (美国 Beckman Coulter 公司)。

1.2 药材与试剂 叠鞘石斛于 2025 年 3 月采自四川省乐山市夹江县, 栽培年限为一、二、三年, 栽培模式仿野生附石, 经成都中医药大学中药鉴定系严铸云教授鉴定为正品。设置 9 组样品, 每组 5 株鲜条, 干冰保存运输, 液氮下研磨至粉末状, 混合均匀, 设置 3 次生物学重复, 在-80 ℃下冷藏。甲醇、乙腈 (色谱级, 德国 Merck 公司); 甲酸 (色

收稿日期: 2026-01-22
基金项目: 四川省中医药管理局科学技术研究专项 (2024MS570)
作者简介: 苟海英 (2001—), 硕士在读, 从事中药物质基础研究。E-mail: 18782706618@163.com
* 通信作者: 刘友平, 研究员, 博士生导师, 从事中药物质基础与药效研究。E-mail: youpingLiu@cdutcm.edu.cn