

基于熵权法和灰色关联度法优选人参—酸枣仁 抗氧化活性最佳配比

Optimization of ginseng ratio and semen ziziphi spinosae antioxidant
activity based on the combination of entropy-weight
method and grey-correlation degree method

肖凤琴¹ 王 欣¹ 刘 晖¹ 董红影¹

XIAO Feng-qin¹ WANG Xin¹ LIU Hui¹ DONG Hong-ying¹

周文文¹ 徐志佳¹ 李光哲¹ 严铭铭^{1,2}

ZHOU Wen-wen¹ XUE Zhi-jia¹ LI Guang-zhe¹ YAN Ming-ming^{1,2}

(1. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117; 2. 吉林省中药保健食品科技创新中心, 吉林 长春 130117)

(1. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130117, China; 2. Jinlin Provincial Science and Technology Innovation Center of Health Food of Chinese Medicine, Changchun, Jilin 130117, China)

摘要:目的: 开发以人参—酸枣仁为原料的相关保健品。

方法:应用 HPLC、紫外分光光度计对人参、酸枣仁不同配伍比例进行化学成分研究;应用 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基清除率分析样品的体外抗氧化活性;同时采用灰色关联度法,以熵权法所得权重为分辨系数进行统计分析,结合性状进行综合评价优选出最佳配伍比例。**结果:**人参—酸枣仁不同配伍的样品的抗氧化活性与总酚酸、酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素含量呈显著相关关系; $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 的样品的总酚酸、酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素含量高于其他配伍的,且其抗氧化活性强于其他配伍的,说明抗氧化活性的药效物质基础是总酚酸、酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素。**结论:**人参—酸枣仁抗氧化活性最佳配比($m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$)为 1 : 1。

关键词: 人参;酸枣仁;配比;化学成分;抗氧化活性;相关性分析

Abstract: Objective: This study aimed to develop relevant health products with ginseng and semen ziziphi spinosae as raw materials. **Methods:** HPLC and UV spectrophotometer were used to study the chemical components of different compatibility ratios of ginseng and semen ziziphi spinosae. The antioxidant activity *in vitro* of ginseng and semen ziziphi spinosae with different compatibility ratios was analyzed by DPPH free radical, ABTS⁺ free radical, hydroxyl free radical and superoxide anion free radical scavenging rate. Moreover, the grey relational degree method was used, and entropy weight method was used as the discrimination coefficient for statistical analysis, combined with the characteristics of comprehensive evaluation to optimize the compatibility ratio. **Results:** The correlation analysis showed that the antioxidant activity of ginseng-semen ziziphi spinosae and the content of total phenolic acid, Jujuboside A and spinosin were significantly correlated; and the chemical content determination results showed that the total phenolic acid, Jujuboside A and spinosin content of ginseng-semen ziziphi spinosae (1 : 1) were higher than the other ratio. The results showed that its antioxidant activity was stronger than other ratios. Furthermore, the pharmacodynamic bases of its antioxidant activity were total phenolic acid, Jujuboside A, and spinosin. **Conclusion:** The optimal ratio of antioxidant activity of ginseng and semen ziziphi spinosae is $m_{\text{ginseng}} : m_{\text{semen ziziphi spinosae}}$ at 1 : 1.

Keywords: ginseng; semen ziziphi spinosae; ratio; chemical composition; antioxidant activity; correlation analysis

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YEC1702100);吉林省中药保健食品科技创新中心资助项目(编号:20180623041Tc);长春中医药大学大学生国家级创新创业训练计划支持项目(编号:202110199030)

作者简介:肖凤琴,女,长春中医药大学在读博士研究生。

通信作者:严铭铭(1968—),女,长春中医药大学教授,博士生导师,博士。E-mail:yanmm595@yahoo.com.cn

李光哲(1972—),男,长春中医药大学教授,博士。

E-mail:ligz@nenu.edu.cn

收稿日期:2022-09-15 **改回日期:**2023-01-17

机体在新陈代谢过程中会因各种活性酶的催化作用产生许多自由基中间体,例如常见的活性氧(ROS)、活性氮(ROX)^[1]。正常情况下,体内的自由基不会对人体产生危害,但由于环境因素影响人体的内环境平衡会受到破坏,从而产生大量的自由基^[2],过量的自由基会引起分子、细胞和组织氧化损伤,引发各种疾病^[3]。研究表明,过量的活性氧与高血压^[4]、动脉粥样硬化、衰老^[5-6]、神经退行性疾病等多种疾病的发病机制密切相关^[7]。

人参(*Panax ginseng* C.A.Mey.)为五加科人参属多年生草本植物,具有调节机体免疫、降低氧化应激、抗抑郁、抗阿尔茨海默症、降血糖以及抗衰老等保健功效,可用于保健食品开发^[8-9]。酸枣仁为鼠李科植物酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) HuexH. F. Chou] 的干燥成熟种子,具有镇静安神、提高学习记忆能力、抗抑郁等作用。人参和酸枣仁是传统的中药材,在中国古代方剂中经常配伍使用,二者均为药食同源物质,共用具有补益元气、健脾、安神益智的作用^[10-11],目前对其功能性成分及抗氧化活性的研究多为单味药的研究,而对于中药配伍配比的研究较少。

灰色关联度分析是一种客观准确、系统科学的分析方法,常用来研究事物相互关联、相互作用的复杂因素之间的影响作用,其主要通过计算各指标的相对关联度而确定优劣^[12]。近年来,灰色关联度法在中医药领域的应用越来越多,一般用于中药成分及复方的谱效关系研究,以及中药材生物活性的评价研究^[13]。研究拟以人参、酸枣仁为研究对象,对其不同配比化学成分及抗氧化活性进行测定,应用灰色关联度分析方法将不同配伍的抗氧化活性作用与化学成分含量之间建立相关性分析,系统全面地评价活性与成分之间的关系,进一步阐明天然产物多成分多靶点的作用特点,以期为后续人参-酸枣仁抗氧化活性研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

人参:长春中医药大学附属医院;

酸枣仁:产地山西、批号 50918006、执行标准为《中国药典》2020 版一部,河北仁心药业有限公司;

石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇过硫酸钾、三氯乙酸:分析纯,北京化工厂;

人参皂苷 Rg1(批号 C27N11Q132589)、人参皂苷 Re(批号 J25GB152733)、人参皂苷 Rb1(批号 G01O11Y126429)标准品:上海源叶生物科技有限公司;

没食子酸(批号 110831-200302)、芦丁(批号 100080-200707)、酸枣仁皂苷 A(批号 110734-201713)、斯皮诺素(批号 111869-201704)标准品:中国药品生物制剂所;

DPPH、ATBS:上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 仪器与设备

十万分之一分析天平:AB265-S 型,瑞士 Mettler Toledo 公司;

电子天平:PX224ZH 型,奥豪斯仪器(上海)有限公司;
超声波清洗器:KQ-250B 型,昆山市超声仪器有限公司;

数显恒温水浴锅:HH-6 型,金坛市佳美仪器有限公司;

真空干燥箱:DZF-6050 型,上海一恒科学仪器有限公司;

电子调温电热套:DZTW 型,北京市光明医疗仪器有限公司;

紫外分光光度计:UV-1700 型,日本 Shimadzu 公司;
高效液相色谱仪:Agilent 1260 型,美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备 将人参、酸枣仁粉碎,分别以 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 2:1, 3:2, 0:1 的配比混合(共 50 g),加入 10 倍量蒸馏水,加热回流,提取 2 次,每次 2 h。过滤,合并滤液,回收溶剂至浸膏状,减压干燥,粉碎备用。

1.3.2 人参-酸枣仁不同配比化学成分测定

(1) 总酚酸含量:采用福林酚法^[14],以没食子酸配制标准溶液,测得标准曲线回归方程为 $y = 12.731x - 0.0047$ ($R^2 = 0.998$)。人参-酸枣仁各配比提取物中总酚酸含量以每克原药材中没食子酸当量表示(mg/g)。

(2) 总皂苷含量:依据文献^[15]稍作修改,以人参皂苷 Re 配制标准溶液,测得标准曲线回归方程为 $y = 4.8214x - 0.0213$ ($R^2 = 0.9993$)。人参-酸枣仁各配比提取物中总皂苷含量以每克原药材中人参皂苷 Re 当量表示(mg/g)。

(3) 总多糖含量:采用苯酚硫酸法^[16],以葡萄糖配制标准溶液,测得标准曲线回归方程为 $y = 6.7126x - 0.0043$ ($R^2 = 0.9983$)。人参-酸枣仁各配比提取物中总多糖含量以每克原药材中葡萄糖当量表示(mg/g)。

(4) 总黄酮含量:根据文献^[17]并稍作修改,以芦丁配制标准溶液测得标准曲线回归方程为 $y = 3.0456x + 0.0124$ ($R^2 = 0.9977$)。人参-酸枣仁各配比提取物中总皂苷含量以每克原药材中芦丁当量表示(mg/g)。

(5) 人参皂苷 Rg1、Rb1 及 Re 含量:根据文献^[18]。

(6) 酸枣仁皂苷 A 含量:根据文献^[18]。

(7) 斯皮诺素含量:根据文献^[18]。

1.3.3 体外抗氧化活性分析

(1) 超氧阴离子自由基清除率:采用邻苯三酚自氧化法^[19],按式(1)计算超氧阴离子自由基清除率。

$$R = (A_0 - A_1 + A_2) / A_0 \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——自由基清除率, %;

A_0 ——空白对照组吸光度值;

A_1 ——样品组吸光度值;

A_2 ——样品对照组吸光度值。

(2) 羟自由基清除率:采用水杨酸法^[20],按式(1)计算羟自由基清除率。

(3) DPPH 自由基清除率:参照文献[21]的方法稍作修改。在 96 孔板中,每孔加入 100 μL 样品水溶液, 100 μL DPPH 溶液,暗室反应 30 min,测定 517 nm 处吸光度值;以甲醇代替 DPPH 溶液作为样品对照组,以蒸馏水代替样品液作为空白对照组,并按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

(4) ABTS 自由基清除率:参照文献[22]的方法稍作修改,用蒸馏水配制 ABTS 终浓度为 7.4 mmol/L、过硫酸钾终浓度为 2.6 mmol/L 的混合溶液,25 $^{\circ}\text{C}$ 避光静置 12 h。使用前用蒸馏水稀释,使其在 734 nm 处的吸光度为 (0.70 ± 0.05) ,即得 ABTS 工作液。取 1 mL ABTS 工作液,用 pH 为 7.4 的 PBS 溶液稀释,常温下 734 nm 处吸光值为 0.7 ± 0.2 。将 0.2 mL ABTS 工作液与 10 μL 不同浓度样品混合,常温避光反应 6 min,测定 734 nm 处吸光度,平行 3 次。按式(2)计算 ABTS 自由基清除率。

$$R_1 = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_1 ——ABTS 自由基清除率, %;

A_1 ——样品 + ABTS 溶液吸光度值;

A_0 ——PBS 溶液 + ABTS 溶液的吸光度。

1.3.4 数据处理 使用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析,LSD 检验进行多重比较,以 $P < 0.05$ (双侧)为差异有统计学意义。用 Matlab.R2016b 进行灰色关联度分析和权重计算。

2 结果与分析

2.1 人参-酸枣仁不同配比化学成分

由表 1 可知,当 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 时,总酚酸含

量远高于单煎药材,表明二者配伍共煎提高了酚酸类物质的溶出;酸枣仁配伍人参后总物质与单体化合物含量均高于酸枣仁单煎,表明人参在与酸枣仁共煎煮过程中可以促进酸枣仁中有效物质的溶出。同时,二者配伍后的化学成分含量并不是随着药材加入量的升高而升高, $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 与 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 2 样品中酸枣仁皂苷 A 和斯皮诺素含量高于酸枣仁单煎药材,但是随着酸枣仁配伍比例的升高,二者含量并未升高。

2.2 人参-酸枣仁提取物的抗氧化活性

由表 2 可知,不同配比样品对超氧阴离子自由基的清除能力从大到小依次为 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 0 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 0 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 3 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 4 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 2 : 1;不同配比样品对羟自由基的清除能力从大到小依次为 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 0 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 0 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 3 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 2 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 4 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 2;不同配比样品对 ABTS 自由基的清除能力从大到小依次为 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 3 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 0 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 4 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 2 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 0;不同配比样品对 DPPH 自由基的清除能力从大到小依次为 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 4 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 0 : 1 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 0 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 3 : 2 $> m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 2 : 1。综上,各样品对不同自由基的清除能力不同,其中 $m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1 : 1 的抗氧化能力优于其余配比样品。

2.3 相关性分析

由表 3 可知,总皂苷含量与总多糖、总黄酮含量呈极显著正相关($P < 0.01$);人参皂苷 Rg1 含量与总皂苷、总多糖、总黄酮含量呈显著正相关($P < 0.05$);人参皂苷 Re 含量与总皂苷、总多糖、总黄酮含量呈显著正相关($P <$

表 1 人参-酸枣仁提取物中化学成分含量

Table 1 Content of chemical constituents in extracts of ginseng and semen ziziphi spinosae mg/g

$m_{\text{人参}} : m_{\text{酸枣仁}}$	总酚酸	总皂苷	总多糖	总黄酮	人参皂苷 Rg1	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb1	酸枣仁皂苷 A	斯皮诺素
1 : 0	5.13 $\pm$ 0.28	11.84 $\pm$ 0.46	114.35 $\pm$ 0.49	20.62 $\pm$ 0.36	1.68 $\pm$ 0.056	1.20 $\pm$ 0.047	1.24 $\pm$ 0.012	—	—
0 : 1	5.70 $\pm$ 0.07	4.52 $\pm$ 0.04	41.68 $\pm$ 0.27	13.57 $\pm$ 0.32	—	—	—	0.002 1 $\pm$ 0.000 17	0.48 $\pm$ 0.017
1 : 1	6.74 $\pm$ 0.16	13.30 $\pm$ 0.23	72.83 $\pm$ 0.11	16.66 $\pm$ 0.20	1.20 $\pm$ 0.047	1.22 $\pm$ 0.038	0.96 $\pm$ 0.008	0.003 8 $\pm$ 0.000 21	0.95 $\pm$ 0.032
1 : 2	6.26 $\pm$ 0.21	12.20 $\pm$ 0.18	64.40 $\pm$ 0.75	16.58 $\pm$ 0.13	0.98 $\pm$ 0.028	0.75 $\pm$ 0.056	0.82 $\pm$ 0.021	0.003 2 $\pm$ 0.000 23	0.76 $\pm$ 0.016
1 : 4	5.56 $\pm$ 0.25	7.69 $\pm$ 0.31	54.23 $\pm$ 0.43	14.02 $\pm$ 0.09	0.22 $\pm$ 0.023	0.24 $\pm$ 0.049	0.20 $\pm$ 0.054	0.002 0 $\pm$ 0.000 12	0.51 $\pm$ 0.027
2 : 1	5.52 $\pm$ 0.23	13.36 $\pm$ 0.36	87.23 $\pm$ 0.14	18.69 $\pm$ 0.17	0.77 $\pm$ 0.034	0.93 $\pm$ 0.027	1.14 $\pm$ 0.042	0.001 3 $\pm$ 0.000 35	0.14 $\pm$ 0.014
3 : 2	6.54 $\pm$ 0.27	16.59 $\pm$ 0.28	99.31 $\pm$ 0.22	18.88 $\pm$ 0.21	0.64 $\pm$ 0.056	0.73 $\pm$ 0.031	1.05 $\pm$ 0.023	0.001 4 $\pm$ 0.000 23	0.18 $\pm$ 0.010

表 2 人参-酸枣仁不同配比抗氧化活性 IC₅₀ 值

Table 2 IC₅₀ values of antioxidant activity of ginseng and semen ziziphi spinosae on different compatibility ratios

<i>m</i> 人参 : <i>m</i> 酸枣仁	超氧阴离子自由基	羟自由基	ABTS 自由基	DPPH 自由基
1 : 0	2.97±0.56	3.27±0.13	2.81±0.32	2.48±0.56
0 : 1	2.74±0.32	3.30±0.34	0.94±0.28	2.47±0.56
1 : 1	0.99±0.12	3.12±0.27	0.83±0.19	1.80±0.56
1 : 2	2.62±0.45	4.47±0.32	2.01±0.27	2.34±0.56
1 : 4	3.22±0.36	3.86±0.14	2.11±0.31	2.41±0.56
2 : 1	3.67±0.19	3.66±0.25	2.39±0.29	6.87±0.56
3 : 2	3.08±0.21	3.56±0.18	0.86±0.56	6.16±0.56

表 3 人参-酸枣仁不同配比化学成分含量与抗氧化活性的相关性[†]

Table 3 Correlation between chemical composition content and antioxidant activity of ginseng and semen ziziphi spinosae in different compatibility ratios

指标	总酚酸 含量	总皂苷 含量	总多糖 含量	总黄酮 含量	人参皂苷 Rg1 含量	人参皂苷 Re 含量	人参皂苷 Rb1 含量
总酚酸含量	1.000						
总皂苷含量	-0.055	1.000					
总多糖含量	-0.068	0.974 * *	1.000				
总黄酮含量	-0.057	0.964 * *	0.978 * *	1.000			
人参皂苷 Rg1 含量	-0.046	0.856 *	0.757 *	0.797 *	1.000		
人参皂苷 Re 含量	0.132	0.810 *	0.767 *	0.814 *	0.931 * *	1.000	
人参皂苷 Rb1 含量	0.132	0.901 * *	0.898 * *	0.948 * *	0.841 *	0.925 * *	1.000
酸枣仁皂苷 A 含量	0.647	-0.539	-0.621	-0.555	-0.179	-0.065	-0.279
斯皮诺素含量	0.534	-0.538	-0.651	-0.604	-0.131	-0.084	-0.352
超氧阴离子自由基 IC ₅₀ 值	-0.539	0.083	0.181	0.171	-0.300	-0.338	-0.028
羟自由基 IC ₅₀ 值	-0.087	-0.143	-0.239	-0.157	-0.148	-0.214	-0.088
DPPH 自由基 IC ₅₀ 值	-0.776 *	-0.422	-0.374	-0.405	-0.415	-0.263	-0.312
ABTS 自由基 IC ₅₀ 值	-0.097	-0.261	-0.434	-0.458	-0.117	-0.113	-0.423
指标	酸枣仁皂苷 A 含量	斯皮诺 素含量	超氧阴离子自 由基 IC ₅₀ 值	羟自由基 IC ₅₀ 值	DPPH 自由 基 IC ₅₀ 值	ABTS 自由基 IC ₅₀ 值	
总酚酸含量							
总皂苷含量							
总多糖含量							
总黄酮含量							
人参皂苷 Rg1 含量							
人参皂苷 Re 含量							
人参皂苷 Rb1 含量							
酸枣仁皂苷 A 含量	1.000						
斯皮诺素含量	0.973 * *	1.000					
超氧阴离子自由基 IC ₅₀ 值	-0.714	-0.770 *	1.000				
羟自由基 IC ₅₀ 值	-0.230	-0.188	-0.353	1.000			
DPPH 自由基 IC ₅₀ 值	-0.555	-0.486	-0.550	-0.325	1.000		
ABTS 自由基 IC ₅₀ 值	-0.714 *	-0.810 *	0.714 *	-0.046	0.041	1.000	

[†] * 相关性显著($P<0.05$); * * 相关性极显著($P<0.01$)。

0.05),与人参皂苷 Rg1 含量呈极显著正相关($P<0.01$);人参皂苷 Rb1 含量与总皂苷、总多糖、总黄酮、人参皂苷 Re 含量呈极显著正相关($P<0.01$),与人参皂苷 Rg1 含量呈显著正相关($P<0.05$);斯皮诺素含量与酸枣仁皂苷 A 含量呈极显著正相关($P<0.01$);超氧阴离子自由基 IC_{50} 值与斯皮诺素含量呈显著负相关($P<0.05$);DPPH 自由基 IC_{50} 值与总酚酸含量呈显著负相关($P<0.05$);ABTS 自由基 IC_{50} 值与酸枣仁皂苷 A、斯皮诺素含量呈显著负相关($P<0.05$)、与超氧阴离子自由基清除能力呈显著正相关($P<0.05$)。综上,人参-酸枣仁 9 个化学组分之间和抗氧化活性指标之间存在互相影响、互相牵制的关系,一些成分的变化可能会导致其他成分与抗氧化活性的改变。

由表 4~表 7 可知, $m_{\text{人参}}:m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1:1、 $m_{\text{人参}}:m_{\text{酸枣仁}}$ 为 3:2、人参单煎排名靠前,表明相对质量较优,且 $m_{\text{人参}}:m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1:1 具有显著差异,结合抗氧化能力试验,综合评选出 $m_{\text{人参}}:m_{\text{酸枣仁}}$ 为 1:1 为人参-酸枣仁抗氧化活性最佳配伍比例。

表 4 熵权法计算所得信息熵及权重

Table 4 Information entropy and weight calculated by entropy weight method

指标	信息熵	权重(ρ 值)
总酚酸含量	0.854	0.075
总皂苷含量	0.865	0.069
总多糖含量	0.851	0.077
总黄酮含量	0.833	0.086
人参皂苷 Rg1 含量	0.852	0.076
人参皂苷 Re 含量	0.874	0.065
人参皂苷 Rb1 含量	0.872	0.066
酸枣仁皂苷 A 含量	0.900	0.051
斯皮诺素含量	0.832	0.087
超氧阴离子自由基 IC_{50} 值	0.817	0.094
羟自由基 IC_{50} 值	0.904	0.049
DPPH 自由基 IC_{50} 值	0.849	0.078
ABTS 自由基 IC_{50} 值	0.871	0.066

表 5 各比较序列相对于最优参考序列的关联系数

Table 5 Correlation coefficient of each comparison sequence relative to the optimal reference sequence

含量	$m_{\text{人参}}:m_{\text{酸枣仁}}$						
	1:0	0:1	1:1	1:2	1:4	2:1	3:2
总酚酸含量	0.74	0.57	0.85	0.74	0.70	0.99	0.93
总皂苷含量	0.70	0.43	0.97	0.73	0.53	0.61	0.72
总多糖含量	0.54	0.33	0.86	0.36	0.39	0.51	0.69
总黄酮含量	0.69	0.44	0.97	0.64	0.62	0.81	0.96
人参皂苷 Rg1 含量	0.99	0.84	1.00	0.98	0.87	0.92	0.90
人参皂苷 Re 含量	0.94	0.88	1.00	0.99	0.92	0.99	0.96
人参皂苷 Rb1 含量	0.98	0.87	1.00	1.00	0.91	0.98	0.99
酸枣仁皂苷 A 含量	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
斯皮诺素含量	0.95	0.98	0.90	0.98	1.00	0.92	0.92
超氧阴离子自由基 IC_{50} 值	0.95	0.62	0.82	0.74	0.64	0.71	0.78
羟自由基 IC_{50} 值	0.86	0.66	0.99	0.70	0.68	0.87	0.91
DPPH 自由基 IC_{50} 值	0.96	0.86	0.82	0.79	0.74	0.81	0.99
ABTS 自由基 IC_{50} 值	0.91	0.69	0.93	0.83	0.76	0.57	0.63

表 6 各比较序列相对于最差参考序列的关联系数

Table 6 Correlation coefficient of each comparison sequence relative to the worst reference sequence

指标	$m_{\text{人参}}:m_{\text{酸枣仁}}$						
	1:0	0:1	1:1	1:2	1:4	2:1	3:2
总酚酸含量	0.91	0.84	0.68	0.91	0.96	0.75	0.77
总皂苷含量	0.59	0.93	0.51	0.57	0.72	0.65	0.58
总多糖含量	0.40	0.59	0.33	0.54	0.50	0.41	0.36
总黄酮含量	0.74	0.81	0.59	0.78	0.82	0.67	0.61
人参皂苷 Rg1 含量	0.87	1.00	0.88	0.89	0.97	0.93	0.94

续表 6

指标	<i>m</i> 人参： <i>m</i> 酸枣仁						
	1：0	0：1	1：1	1：2	1：4	2：1	3：2
人参皂苷 Re 含量	0.87	1.00	0.91	0.91	0.96	0.92	0.94
人参皂苷 Rb1 含量	0.90	1.00	0.91	0.91	0.97	0.90	0.91
酸枣仁皂苷 A 含量	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
斯皮诺素含量	0.90	0.92	1.00	0.91	0.93	0.99	0.98
超氧阴离子自由基 IC ₅₀ 值	0.66	0.90	0.72	0.77	0.87	0.79	0.74
羟自由基 IC ₅₀ 值	0.71	0.87	0.66	0.82	0.84	0.71	0.69
DPPH 自由基 IC ₅₀ 值	0.72	0.76	0.79	0.81	0.86	0.80	0.71
ABTS 自由基 IC ₅₀ 值	0.51	0.58	0.50	0.53	0.55	0.66	0.61

表 7 人参—酸枣仁药对不同配伍比例关联度、
相对关联度和质量排序

Table 7 Correlation degree, relative correlation degree
and quality ranking of ginseng and semen
ziziphi spinosae for different
compatibility ratios

<i>m</i> 人参： <i>m</i> 酸枣仁	最优参 考序列	最差参 考序列	相对关 联度	质量排名
1：0	0.871	0.769	0.526	3
0：1	0.725	0.871	0.437	7
1：1	0.934	0.749	0.564	1
1：2	0.820	0.809	0.494	5
1：4	0.766	0.850	0.462	6
2：1	0.833	0.797	0.503	4
3：2	0.883	0.775	0.533	2

3 结论

对配比后的 9 种人参—酸枣仁组分含量以及体外抗氧化活性结合熵权法与灰色关联度分析,建立了人参—酸枣仁不同配比的质量评价模型。结果表明,不同人参—酸枣仁配比样品的成分含量变化不是单纯的随生药量的增加而增加。中药配伍后产生的活性效应并不是简单的“1+1>2”,也并不是含量越高,活性越好。*m*人参：*m*酸枣仁为 1：1 为抗氧化活性最佳配比。后续可采用不同研究方法对优选出的人参—酸枣仁抗氧化活性最佳配比进行体内抗氧化活性研究,并对其分子作用机制进行探讨。

参考文献

[1] 黄壮伟, 吴格怡, 黄心蔚. 红景天苷调控炎症反应及氧化应激机制对慢性间歇性缺氧大鼠心功能的保护作用[J]. 中国医药, 2022, 17(9): 1 338-1 342.

HUANG Z W, WU G Y, HUANG X W. The protective effect of salidroside on cardiac function in rats with chronic intermittent hypoxia by regulating inflammatory reaction and oxidative stress mechanism[J]. Chinese Medicine, 2022, 17(9): 1 338-1 342.

[2] 任丽娟, 杨广林, 陈文静, 等. 茯苓酸调节 Nrf2/Keap1/ARE 信号通路改善脂多糖诱导肺泡上皮细胞氧化应激损伤研究[J]. 中国药师, 2022, 25(9): 1 525-1 530.

REN L J, YANG G L, CHEN W J, et al. Poric acid regulates Nrf2/Keap1/ARE signal pathway to improve lipopolysaccharide induced oxidative stress injury in alveolar epithelial cells [J]. Chinese Pharmacist, 2022, 25(9): 1 525-1 530.

[3] 赵雪莉, 汪水平, 马春林, 等. 氧化应激对机体的危害及小檗碱的调控作用[J]. 饲料研究, 2019, 42(2): 99-103.

ZHAO X L, WANG S P, MA C L, et al. The harm of oxidative stress to the body and the regulatory effect of berberine[J]. Feed Research, 2019, 42(2): 99-103.

[4] 刘莉, 叶鹏. 可卡因暴露通过 miR-30C-5P/苹果酸酶 1/活性氧通路升高血压和加强主动脉僵硬度[J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(4): 368.

LIU L, YE P. Cocaine exposure enhances hypertension and aortic stiffness through miR-30C-5P/malataase 1/active oxygen pathway[J]. Chinese Journal of Hypertension, 2018, 26(4): 368.

[5] 杨善岚, 吴磊, 涂嘉欣, 等. 自由基致衰老的研究进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2022, 26(5): 589-594.

YANG S L, WU L, TU J X, et al. Research progress of free radical induced senescence[J]. Chinese Journal of Disease Control, 2022, 26(5): 589-594.

[6] 王慧, 陈丽梅, 单思, 等. 线粒体功能对细胞衰老的影响及中医药与艾灸延缓衰老的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(7): 254-267.

WANG H, CHEN L M, SHAN S, et al. The effect of mitochondrial function on cell senescence and the research progress on anti-aging of traditional Chinese medicine and moxibustion[J]. Chinese Journal of Experimental Formulas, 2022, 28(7): 254-267.

[7] 许莉莉, 高雅然, 吕佩源. Keap1/Nrf2 信号通路 with 神经退行性疾病的研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(14): 2 723-2 727.

- XU L L, GAO Y R, LU P Y. Research progress of Keap1/Nrf2 signal pathway and neurodegenerative diseases[J]. Medical Review, 2022, 28(14): 2 723-2 727.
- [8] 李贵明, 李燕. 人参皂苷药理作用研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(8): 1 024-1 027.
- LI G M, LI Y. Research status of pharmacological effects of ginsenosides[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2020, 36(8): 1 024-1 027.
- [9] 李倩, 柴艺汇, 高洁, 等. 人参现代药理作用研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2019, 41(5): 89-92.
- LI Q, CHAI Y H, GAO J, et al. Research progress in modern pharmacological effects of ginseng[J]. Journal of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, 2019, 41(5): 89-92.
- [10] LI F T, YANG D, SONG F Y, et al. In vitro effects of ginseng and ziziphi spinosae semen on gut microbiota of rats with spleen deficiency[J]. Chemistry & Biodiversity, 2020, 17(9): 1-9.
- [11] 杜晨晖, 衡依然, 李泽, 等. 酸枣仁炮制的历史沿革及现代研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(10): 2 572-2 583.
- DU C H, HENG Y R, LI Z, et al. Historical evolution and modern research progress of processing of semen ziziphi spinosae[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2022, 47(10): 2 572-2 583.
- [12] WANG X H, LIANG Z J. Research on maintenance method of relay protection state based on combination weight and gray relation[J]. MATEC Web of Conferences, 2022, 1(6): 355.
- [13] 崔日新, 张景珍, 王思雨, 等. 基于熵权法和灰色关联度法的羌活饮片质量评价研究[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5 724-5 730.
- CUI R X, ZHANG J Z, WANG S Y, et al. Study on the quality evaluation of Rhizoma Notopterygii Preparations based on entropy weight method and grey correlation degree method[J]. Herbal Medicine, 2019, 50(23): 5 724-5 730.
- [14] 熊乐文, 金莹, 黄玮慕, 等. 金银花色泽与酚酸类成分含量相关性研究[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2 736-2 739.
- XIONG L W, JIN Y, HUANG W M, et al. Study on the correlation between the color of honeysuckle and the content of phenolic acids[J]. Chinese Patent Medicine, 2022, 44(8): 2 736-2 739.
- [15] 张璐. 洋槐花总皂苷提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 饲料研究, 2022(1): 82-86.
- ZHANG L. Study on the extraction process and antioxidant activity of total saponins from robinia pseudoacacia flowers[J]. Feed Research, 2022(1): 82-86.
- [16] 刘晓涵, 陈永刚, 林励, 等. 蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定枸杞子中多糖含量的比较[J]. 食品科技, 2009, 34(9): 270-272.
- LIU X H, CHEN Y G, LIN L, et al. Comparison of anthrone sulfuric acid method and phenol sulfuric acid method for determination of polysaccharide content in lycium barbarum[J]. Food Science and Technology, 2009, 34(9): 270-272.
- [17] 张亚兰, 赵建诚, 杨振亚, 等. 不同品种箬竹叶生化成分及抗氧化能力分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 93-100.
- ZHANG Y L, ZHAO J C, YANG Z Y, et al. Analysis of biochemical components and antioxidant capacity of different Indocalamus leaves[J]. Food Industry Science and Technology, 2022, 43(9): 93-100.
- [18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 8-382.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. State pharmacopoeia commission pharmacopoeia of the people's republic of China: Volume I [S]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020: 8-382.
- [19] 暴玮, 屈恋, 马丽, 等. 柠檬桉果实中皂苷的提纯及抗氧化活性[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2020, 45(6): 1 449-1 454.
- BAO W, QU L, MA L, et al. Purification and antioxidant activity of saponin from eucalyptus citriodora fruit[J]. Guangxi University News (Natural Science Edition), 2020, 45(6): 1 449-1 454.
- [20] 张志宇, 王珂, 李涵, 等. 文冠果种仁总皂苷的抗氧化及抗肝癌活性初探[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(7): 1 012-1 019.
- ZHANG Z Y, WANG K, LI H, et al. Preliminary study on antioxidant and antihepatoma activities of total saponins from Xanthoceras sorbifolia seeds[J]. Research and Development of Natural Products, 2016, 28(7): 1 012-1 019.
- [21] SREEKALA V, VIJAYKISHAN B, RAJASEKAR S S, et al. Phytochemical analysis and in vitro DPPH assay of ethanolic extract of mucuna pruriens seed[J]. International Journal of Current Pharmaceutical Research, 2020, 8(5): 93-96.
- [22] DIONYSIOS C C, CHARALAMBOS F, ASPASIA N, et al. Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils[J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(5): 1 294-1 302.
-
- (上接第 36 页)
- [12] 彭星星, 陈文敏, 罗仁仙, 等. 电子鼻鉴别核桃油中掺入大豆油、菜籽油及玉米油研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(11): 129-134.
- PENG X X, CHEN W M, LUO R X, et al. Detection of walnut oil adulterated with soybean rape seed oil/corn oil using electronic nose[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2015, 30(11): 129-134.
- [13] ZHANG M N, LI L Q, SONG G S, et al. Analysis of volatile compound change in tuna oil during storage using a laser irradiation based HS-SPME-GC/MS[J]. LWT, 2020, 120: 108922.
- [14] ZHU W H, LUAN H W, BU Y, et al. Flavor characteristics of shrimp sauces with different fermentation and storage time[J]. LWT, 2019, 110: 142-151.
- [15] WANG Q, LI L, DING W, et al. Adulterant identification in mutton by electronic nose and gas chromatography-mass spectrometer[J]. Food Control, 2018, 98: 431-438.