

## 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

徐蓓蕾<sup>1,2,3,4</sup>, 张东琦<sup>1</sup>, 杨娜娜<sup>1</sup>, 胡扬<sup>1,2,3</sup>, 刘晶晶<sup>5</sup>, 王昊<sup>1,2,3</sup>, 王金宏<sup>1,2,3</sup>, 李钧<sup>1,2,3</sup>, 杨雪晶<sup>1,2,3</sup>, 孙文斌<sup>1</sup>, 李文兰<sup>1,2,3\*</sup>

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076
2. 抗肿瘤天然药物教育部工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076
3. 黑龙江省预防与治疗老年性疾病药物研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076
4. 中药制药与新药开发教育部工程研究中心, 北京 102488
5. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

**摘要:** 目的 建立 HPLC 指纹图谱, 区分白头翁 *Pulsatilla chinensis* 与其常见混伪品; 建立正品白头翁 HPLC 指纹图谱和抗氧化活性间的谱效关系, 辨识并验证白头翁潜在抗氧化质量标志物 (quality markers, Q-Marker)。方法 分别建立 18 批正品白头翁及其常见混伪品的 HPLC 指纹图谱, 通过相似度计算区分正品及其混伪品; 采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术表征正品白头翁化学成分; 建立正品白头翁 HPLC 指纹图谱和清除 1,1-二苯基-2-苦肟自由基 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 间的谱效关系模型, 筛选出潜在的抗氧化 Q-Marker, 测定含量; 以脂多糖促 RAW264.7 细胞氧化应激损伤模型, 评估潜在 Q-Marker 的生物效应。**结果** 正品白头翁与其常见混伪品指纹图谱差异明显, 相似度为 0.667~0.321; 18 批正品白头翁的 HPLC 指纹图谱, 相似度为 0.994~0.959, 共有峰 21 个; 经质谱表征解析了正品白头翁中的 21 个化学成分; 药效学实验表明各组正品白头翁均具有良好的抗氧化能力, 谱效相关性分析结果显示 17 号和 21 号峰与抗氧化活性关系密切; 经对照品比对确定 17 号和 21 号峰分别为白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D, 质量分数分别为 15.99%~8.86% 和 2.55%~0.97%; 抗氧化活性验证结果表明, 白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 显著降低脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞 NO 和 ROS 水平 ( $P<0.001$ ), 且二者配伍时不同程度的优于单一成分。**结论** 所建立的 HPLC 指纹图谱方法能够准确鉴定正品白头翁药材, 整合药效学实验, 能够科学辨识白头翁 Q-Marker 用于白头翁的质量控制。建立了一套系统的评价白头翁质量的方法, 为有效成分含量较低、难于质控的中药材的品质评价提供参考。

**关键词:** 白头翁; 谱效关系; 真伪鉴别; 抗氧化; 化学表征; 白头翁皂苷 B4; 白头翁皂苷 D

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)12-4427-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.12.025

## Study on potential antioxidant quality markers of *Pulsatilla Radix* based on fingerprints and spectrum-effect correlation

XU Beilei<sup>1, 2, 3, 4</sup>, ZHANG Dongqi<sup>1</sup>, YANG Nana<sup>1</sup>, HU Yang<sup>1, 2, 3</sup>, LIU Jingjing<sup>5</sup>, WANG Hao<sup>1, 2, 3</sup>, WANG Jinhong<sup>1, 2, 3</sup>, LI Jun<sup>1, 2, 3</sup>, YANG Xuejing<sup>1, 2, 3</sup>, SUN Wenbin<sup>1</sup>, LI Wenlan<sup>1, 2, 3</sup>

1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China
2. Engineering Research Center of Natural Anti-cancer Drugs, Ministry of Education, Harbin 150076, China
3. Heilongjiang Key Laboratory of Preventive and Therapeutic Drug Research of Senile Diseases, Harbin 150076, China
4. Engineering Research Center of Chinese Medicine Production and New Drug Development, Beijing 102488, China
5. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

**Abstract: Objective** The HPLC fingerprint was established to distinguish Baitouweng (*Pulsatillae Radix*) from its common

收稿日期: 2025-02-02

项目基金: 黑龙江省自然科学基金联合指导计划 (LH2020H069); 哈尔滨商业大学青年学术骨干支持计划 (2020CX12); 黑龙江省创新人才青年计划 (UNPSYCT-2018134); 黑龙江中医药管理局中医药科研课题 (ZHY2024-313); 龙江科技英才春雁支持计划团队项目 (2022CYCX0079)

作者简介: 徐蓓蕾, 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为中药药效物质基础及质量控制研究。

Tel: 15124515866 E-mail: xubeilei2006@163.com

\*通信作者: 李文兰, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为中药药效物质基础与质量评价研究。

Tel: 13936169153 E-mail: lwldzd@163.com

adulterants. The spectrum-effect relationship between the HPLC and antioxidant effects was established to identify and validate the antioxidant quality markers of *Pulsatillae Radix*. **Methods** The HPLC fingerprints of 18 batches of authentic *Pulsatillae Radix* and its common adulterants were established, and similarity calculations were conducted to distinguish the genuine samples and its adulterants. The chemical composition of *Pulsatillae Radix* was characterized by the UPLC-QTOF-MS/MS method. A spectrum-effect relationship model between HPLC fingerprints and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assays of authentic *Pulsatillae Radix* was established to preliminarily screen potential antioxidant quality markers, then the contents of quality markers were determined. Furthermore, a lipopolysaccharides-induced RAW264.7 cell oxidative stress model was utilized to evaluate the biological effects of potential antioxidant quality markers of *Pulsatillae Radix*. **Results** The fingerprints of authentic *Pulsatillae Radix* and its common adulterants were obviously different, and the similarity was between 0.667 and 0.321. Analysis of the HPLC fingerprint of these 18 batches revealed a similarity ranging from 0.994 to 0.959, with a total of 21 common peaks identified. Mass spectrometry characterization and analysis identified 21 chemical constituents among the authentic *Pulsatillae Radix* samples. Pharmacological experiments demonstrated that all authentic *Pulsatillae Radix* samples exhibited excellent antioxidant capabilities. The spectrum-effect relationship analysis indicated a close relationship between peaks 17 and 21 with antioxidant activity. Upon comparison with reference standards, peaks 17 and 21 were identified as Pulsatilla saponin B4 and Pulsatilla saponin D, with contents ranging from 15.99% to 8.86% and 2.55% to 0.97%, respectively. Antioxidant activity verification results showed that Pulsatilla saponin B4 and Pulsatilla saponin D significantly reduced the levels of NO and ROS induced by lipopolysaccharides in RAW264.7 cells ( $P < 0.0001$ ). Furthermore, their combination exhibited varying degrees of superiority over individual components. **Conclusion** The study of the HPLC fingerprinting method can accurately identify authentic *Pulsatillae Radix* samples, integrating pharmacological experiments to discern quality markers. The study's systematic evaluation method can serve as a reference for assessing the quality of low-potency ingredient, difficult-to-control traditional Chinese medicine.

**Key words:** *Pulsatillae Radix*; spectrum-effect correlation; authenticity identification; antioxidant; chemical characterization; Pulsatilla saponin B4 ; Pulsatilla saponin D

白头翁为毛茛科植物白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regei 的干燥根<sup>[1]</sup>, 始载于《神农本草经》<sup>[2]</sup>记载“白头翁, 一名野丈人, 一名胡王使者”, 其味苦性寒, 归胃、大肠经<sup>[1,3]</sup>。具清热解毒、凉血止痢之功。主要用于治疗热毒血痢、阴痒带下<sup>[1]</sup>。作为白头翁汤、白头翁丸、白头翁散等传统中药复方的君药, 白头翁在治疗热毒血痢中具有重要作用。目前, 对白头翁研究多集中于三萜皂苷类成分, 包括齐墩果酸型和羽扇豆烷型<sup>[4]</sup>, 尚含有香豆素类、木脂素类、三萜酸类等<sup>[3]</sup>, 有抗氧化、抗炎、抗菌、抗疟杀虫等作用<sup>[5-6]</sup>。报道显示白头翁抗氧化作用与传统药效关系密切<sup>[5]</sup>, 清除  $H_2O_2$  的能力强于维生素 C, 能够防止脂质过氧化, 降低组织或者细胞损伤<sup>[7-8]</sup>。

由于白头翁历史沿革和产地变迁复杂, 白头翁属植物种类多, 如朝鲜白头翁 *Pulsatilla cernua* (Thunb.) Berch et Opiz、兴安白头翁 *P. dahurica* (Fisch.) Spreng.等<sup>[9]</sup>, 宏观形态相似, 同名异物现象普遍, 各地用药习惯存在差异, 正品资源有限, 导致其难于鉴定和质控<sup>[9-10]</sup>。另外, 白头翁化学成分复杂, 有效成分含量低, 当前《中国药典》2020年版以白头翁皂苷 B4 作为质控指标<sup>[1]</sup>, 而白头翁混伪品, 如朝鲜白头翁等也含有白头翁皂苷

B4<sup>[11]</sup>。说明仅以白头翁皂苷 B4 进行质控, 可能影响到有效性与安全性。亟需对白头翁展开更为科学合理的质控研究<sup>[12]</sup>。本研究建立能够区分白头翁正品及其常见混伪品的 HPLC 指纹图谱。采用 UPLC-QTOF-MS/MS 表征正品白头翁化学成分。建立正品白头翁药材 HPLC 指纹图谱与抗氧化指标之间的谱效关系, 筛选潜在抗氧化质量标志物 (quality marker, Q-Marker), 以体外实验验证潜在 Q-Marker 的抗氧化活性。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); Waters alliance acquity-e2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); 安捷伦液相色谱-G7116B 6546 LC/Q-TOF (美国安捷伦公司); 赛默飞 U3000 高效液相色谱仪 (美国赛默飞公司); JM 型电子分析天平 (诸暨市超泽衡器设备有限公司); 中草药粉碎机 (天津市泰式特仪器有限公司); ZF 型三用紫外分析仪 (杭州齐威科技有限公司); XPR206DR 型百万分之一电子分析天平 (瑞士 METTLER TOLEDO 公司); Infinite F50 型酶标仪 (瑞士帝肯 Tecan 公司); CKX41 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司)。

## 1.2 药材

白头翁药材及其常见混伪品为自采,经哈尔滨商业大学金哲雄教授鉴定为白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regei 及其常见混伪品漏芦 *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC、朝鲜白头翁 *P. cernua* (Thunb.) Berch et Opiz.、西南白头翁 *P. millefolium* (Hemsl et wils) Ulbr、蒙古白头翁 *P. ambigua* (Turcz. ex Hayek) Juz.、兴安白头翁 *P. dahurica* (Fisch.) Spreng., 具体见表 1、2。

表 1 18 批正品白头翁药材样品来源信息

Table 1 Source information of 18 batches of authentic *Pulsatillae Radix*

编号	基原	产地	编号	基原	产地
S1	白头翁	辽宁	S10	白头翁	辽宁
S2	白头翁	辽宁	S11	白头翁	辽宁
S3	白头翁	辽宁	S12	白头翁	辽宁
S4	白头翁	辽宁	S13	白头翁	黑龙江
S5	白头翁	辽宁	S14	白头翁	黑龙江
S6	白头翁	辽宁	S15	白头翁	黑龙江
S7	白头翁	辽宁	S16	白头翁	黑龙江
S8	白头翁	辽宁	S17	白头翁	黑龙江
S9	白头翁	辽宁	S18	白头翁	黑龙江

表 2 常见混伪品样品来源信息

Table 2 Source information of *Pulsatillae Radix* and its common adulterants

编号	基原	产地	编号	基原	产地
W1	漏芦	辽宁	W4	西南白头翁	黑龙江
W2	朝鲜白头翁	黑龙江	W5	蒙古白头翁	四川
W3	兴安白头翁	内蒙古			

## 1.3 材料与试剂

对照品白头翁皂苷 B4 (批号 111766-201702, 中国食品药品检定研究院, 质量分数 $\geq$ 94.7%)、白头翁皂苷 D (批号 21012808, 成都普菲德生物技术有限公司, 质量分数 $\geq$ 99.03%); 甲醇 (批号 20220831)、乙腈 (批号 20220731) 均为色谱纯, 购自德国默克公司; 磷酸 (分析纯, 批号 20120311, 天津市富宇精细化工有限公司); DPPH (批号 A14IS212603, 成都普菲德生物技术有限公司); L-(+)-抗坏血酸 (批号 20220808, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 胎牛血清 (批号 22060701, 杭州四季青生物有限公司); DMEM 高糖培养基 (批号 MA0212-Nov-151)、活性氧检测试剂盒 (批号 MA0219-1-Nov-281) 均购自大连美伦生物技术有限公司; 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒 (批号 052223231026, 碧云天生物技术有限公司); 脂多糖 (LPS, 批号 L2880, 北京博奥拓达科技有限公司)。

## 1.4 细胞系

小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 购自大连美伦生物技术有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 指纹图谱的建立

**2.1.1 供试品溶液的制备** 取白头翁药材 5 g, 加 7 倍量水浸泡 30 min, 加热回流 30 min, 趁热滤过, 药渣再加 6 倍量水, 回流 20 min, 合并 2 次滤液, 浓缩至 20 mL, 得到白头翁水提物。取 10 mL 白头翁水提物浓缩至浸膏状, 用乙腈-水 (10:90) 复溶, 定容至 10 mL, 滤膜滤过, 即得。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取对照品白头翁皂苷 B4 对 2.75 mg 与白头翁皂苷 D 5.00 mg, 分别用 75% 甲醇配制为 0.275 mg/mL 和 0.5 mg/mL 对照品溶液, 滤过, 4 °C 避光保存, 备用。

**2.1.3 色谱条件** 采用 Welch Ultimate® XB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 10% A; 5~7 min, 10%~13% A; 7~9 min, 13%~15% A; 9~12 min, 15% A; 12~14 min, 15%~16.4% A; 14~17 min, 16.4%~19% A; 17~23 min, 19%~23% A; 23~26 min, 23%~26.6% A; 26~29 min, 26.6%~26.6% A; 29~35 min, 26.6%~32% A; 35~39 min, 32%~35% A; 39~45 min, 35%~42% A; 45~52 min, 42%~45% A; 52~62 min, 45%~90% A); 柱温 25 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 210 nm; 进样量 20 μL。

### 2.1.4 方法学考察

(1) 精密度试验: 取“2.1.1”项下供试品溶液 (S1), 在“2.1.3”项色谱条件下连续进样 6 次。以 17 号峰为参照峰, 测得 21 个共有峰相对保留时间 RSD 均 $<$ 1.15%, 相对峰面积 RSD 均 $<$ 2.73%。

(2) 重复性试验: 按“2.1.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液 (S1), 在“2.1.3”项下色谱条件进样分析。以 17 号峰为参照峰, 测得 21 个共有峰相对保留时间 RSD 均 $<$ 1.04%, 相对峰面积 RSD 均 $<$ 2.77%。

(3) 稳定性试验: 取“2.1.1”项下供试品溶液 (S1), 在“2.1.3”项下, 分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样。以 17 号峰为参照峰, 测得 21 个共有峰相对保留时间 RSD 均 $<$ 1.10%, 相对峰面积 RSD 均 $<$ 2.82%。

**2.1.5 指纹图谱建立** 将 18 批正品及 5 批混伪品白头翁 HPLC 色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版”进行分析。正品白头翁及其常见混伪品 HPLC 指纹图谱见图 1-A, 如图所示可见

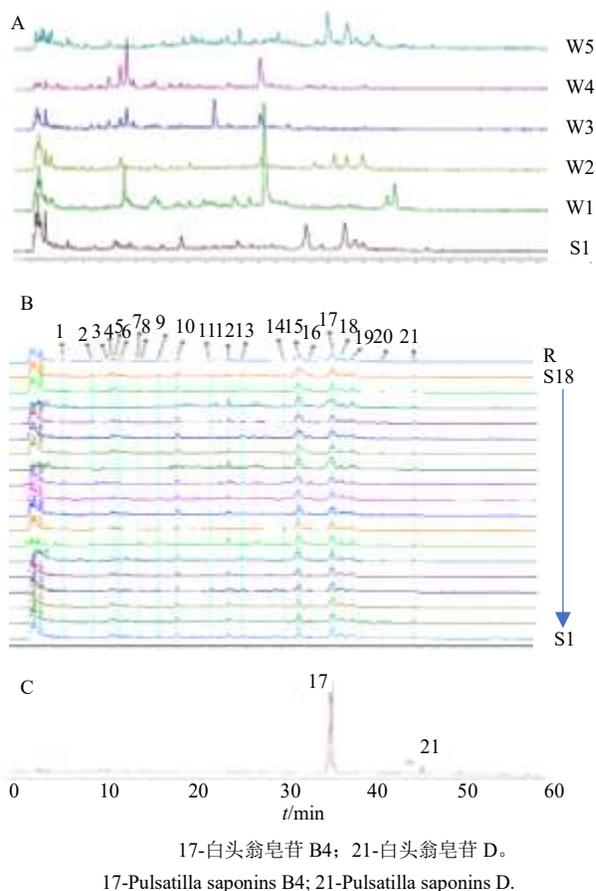


图1 白头翁及其常见混伪品的(A)与18批白头翁样品HPLC叠加图谱(B)和混和对照品(C)的HPLC色谱图  
Fig. 1 HPLC chromatograms of *Pulsatillae Radix* and its common adulterant samples (A) and 18 batches of *Pulsatillae Radix* samples (B) and HPLC chromatogram of *Pulsatilla saponin B4* and *Pulsatilla saponin D* (C)

正品与其混伪品区分明显,混伪品与正品间相似度为0.667~0.321;18批正品白头翁HPLC指纹图谱及对照指纹图谱见图1-B,正品白头翁样品得共有峰21个,以S1为参照图谱,分离良好,峰形稳定,峰面积大的17号峰为参照峰,采用中值法进行多点校正和Mark峰匹配,生成对照图谱,计算相似度。结果白头翁药材(S1~S18)指纹图谱相似度分别为0.990、0.981、0.981、0.972、0.985、0.990、0.990、0.993、0.994、0.991、0.979、0.970、0.993、0.980、0.959、0.979、0.980、0.987,说明正品的18批白头翁饮片虽然产地不同,但其相似度较高,内在质量相对稳定。

## 2.2 化学模式识别

**2.2.1 聚类分析** 将正品白头翁指纹图谱中21个共有峰面积标准化导入SPSS 20.0软件聚类。如图2-A所示,聚类距离为20时,聚为4类,S7为一

类,S15、S17为一类,S18为一类,其他为一类;聚类距离为25时,可分为2类,S7归一类,其他归一类。说明各样品整体质量稳定,但略有差异,无明显地域聚集性。

**2.2.2 主成分分析** 运用SPSS 20.0软件进行主成分分析,计算主成分特征值和方差贡献率。前7个主成分的特征值均>1,以此为标准。主成分1~7的累积方差贡献率>86.587%,具有较好代表性,能反应样品大部分的信息,可用于白头翁的质量评价。如图2-B所示,峰3、7~9、16、17、20和21在第1主成分上的载荷值较高,说明主成分1主要反映这8个成分指标信息;主成分2主要反映2、4~6、10~12和18的信息;主成分3和4分别主要反映峰15与峰1、9、13的信息;主成分5、6、7分别反映峰12、14、19的成分信息。

## 2.3 UPLC-QTOF-MS/MS表征

### 2.3.1 色谱及质谱条件

(1) 色谱条件: Waters ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 保护柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> (1.7 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱: 0~6 min, 5%~20% A; 6~20 min, 20%~39.6% A; 20~33 min, 39.6%~95% A; 柱温40℃; 进样量1 μL; 体积流量0.25 mL/min。

(2) 质谱条件: 离子源为电喷雾离子源(ESI); 毛细管电压3 kV; 雾化器气体6.5 bar; 锥形电压35 kV; 锥形气体流量50 L/h; 去溶剂气温度400℃; 去溶剂气流量700 L/h; 源温度120℃。

**2.3.2 化学成分表征指认** 将“2.1.1”项下制备的正品白头翁样品供试品稀释,正离子模式下数据采集,利用Masslynx 4.1™软件分析处理数据。根据图3中的保留时间,将一、二级质谱提供的准分子离子峰和碎片信息与Mass Bank等数据库,共表征出21个成分,如表3所示。

## 2.4 谱效关系分析

**2.4.1 DPPH 抗氧化实验** 取2 mL DPPH溶液(0.04 mg/mL),加入2 mL蒸馏水(A<sub>0</sub>)。将“2.1.1”项下白头翁溶液稀释后,各取2 mL,分别加入2 mL蒸馏水(A<sub>2</sub>)和2 mL DPPH溶液(A<sub>1</sub>)。室温反应30 min后,于517 nm处测吸光度(A)值<sup>[17]</sup>。根据公式(1)得到半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值,结果见图4-A,18批正品白头翁均具有较强抗氧化能力,IC<sub>50</sub>为(1.796±0.12)~(14.433±0.23) mg/mL。

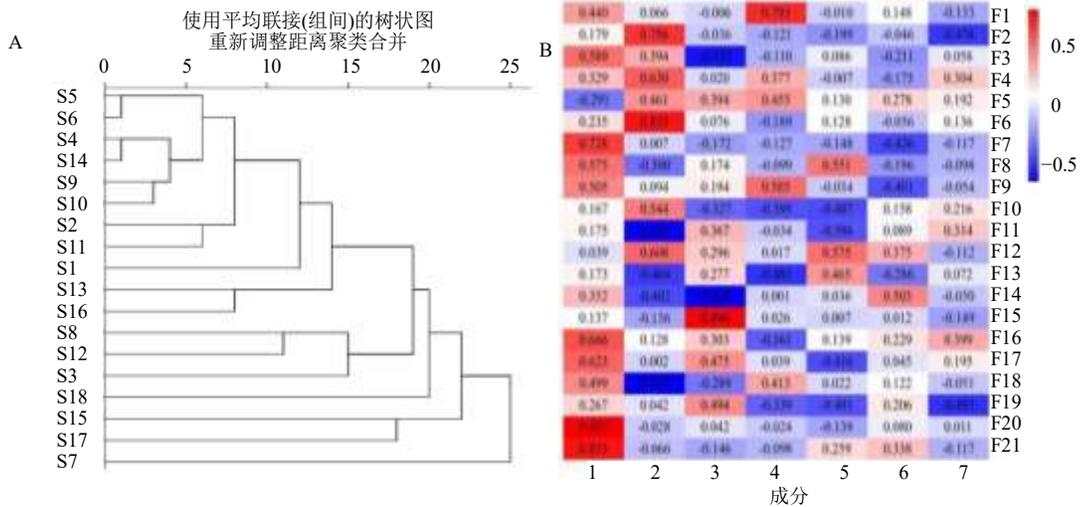


图2 18批白头翁样品聚类分析树状图(A)和主成分得分系数矩阵热图(B)

Fig. 2 Cluster analysis tree diagram of 18 batches of *Pulsatillae Radix* samples (A) and Heat map of principal component score coefficient matrix and Gravel diagram of principal component analysis of *Pulsatillae Radix* (B)



图3 正品白头翁样品在正离子模式下总离子流图

Fig. 3 Total ion flow diagram of genuine *Pulsatillae Radix* sample in UPLC-Q-TOF-MS/MS in positive ion mode

表3 白头翁中化学成分 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定结果

Table 3 Identification of chemical components UPLC-Q-TOF-MS/MS in *Pulsatillae Radix*

峰号	分子式	加子	tr/min	相对分子质量 (m/z)		误差/( $\times 10^{-6}$ )	化合物	MS/MS
				实际值	理论值			
1	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	1.08	317.066 3	317.066 1	0.6	异鼠李素 <sup>[13]</sup>	301.090 5, 256.130 0, 175.119 6
2	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	1.55	481.310 1	481.316 5	-3.6	$\beta$ -ecdysterone <sup>[14]</sup>	452.179 4, 445.191 4, 434.169 0
3	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	6.46	287.054 4	287.055 6	-4.2	金色草素 <sup>[13]</sup>	265.030 5, 252.091 9, 242.154 9, 233.013 0
4	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	11.19	1 221.626 1	1 221.626 8	-0.8	白头翁皂苷B <sup>[15]</sup>	913.515 4, 751.462 1, 711.317 0, 471.220 2, 437.34 20, 336.123 6
5	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	11.20	751.463	751.463 3	-0.4	白头翁皂苷A <sup>[15]</sup>	711.316 5, 601.409 6, 587.394 3, 437.341 6
6	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	11.33	499.374 6	499.378 7	-5.4	3-O-acetylleoleonic acid <sup>[16]</sup>	497.362 3, 456.355 8, 437.341 7
7	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	11.34	1 075.568 6	1 075.568 9	2.2	$\beta$ -D-glucopyranose- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-1-O-[(3 $\beta$ )-3-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl]oxy]-23-hydroxy-28-oxolup-20(29)-en-28-yl]- $\beta$ -D-glucopyranose <sup>[16]</sup>	915.522 0, 914.518 6, 913.515 4, 911.325 7, 751.463 1, 601.409 8
8	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	12.18	473.361 9	473.363 1	-1.5	23-羟基白桦脂酸 <sup>[16]</sup>	456.356 0, 455.352 8, 437.341 8, 409.346 9
9	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	14.05	455.352 4	455.352 5	0.23	betulonic acid <sup>[16]</sup>	437.341 8, 409.347 1
10	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	16.12	457.366 7	457.368 2	-1.9	betulinic acid <sup>[16]</sup>	440.360 7, 439.356 8, 437.342 3
11	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	16.24	457.368 2	457.368 2	0	齐墩果酸 <sup>[15]</sup>	439.357 4, 437.120 7, 271.061 2
12	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	17.13	457.361 9	457.368 2	-7.8	熊果酸 <sup>[16]</sup>	437.341 2, 429.118 1, 409.347 2
13	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	20.85	751.463 7	751.463 3	0.5	$\alpha$ -常春藤皂苷 <sup>[15]</sup>	693.333 1, 595.259 6, 437.339 9, 315.086 2
14	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	20.95	913.514 8	913.514 7	1.42	leiymudanoside <sup>[15]</sup>	869.400 3, 751.460 6, 693.33 2, 595.259 2
15	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	21.14	913.515 6	913.516 1	-0.5	白头翁皂苷D <sup>[15]</sup>	751.464 2, 715.440 2, 476.737 0, 455.353 3, 437.342 5
16	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	22.35	473.361 7	473.363 1	-1.8	常春藤皂苷元 <sup>[16]</sup>	471.345 1, 456.355 8, 437.341 7
17	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	24.15	471.347 2	471.347 4	0.2	23-羟基丁酮酸 <sup>[16]</sup>	453.336 4, 435.326 5, 407.330 0
18	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	25.68	161.060 5	161.060 3	1.2	3-甲基香豆素 <sup>[13]</sup>	133.065 5, 123.055 3
19	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	25.74	309.242 3	309.243 0	-2.3	雄甾烷 <sup>[13]</sup>	306.279 6, 162.063 8, 161.060 8
20	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>16</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	26.38	897.520 6	897.521 2	-0.8	hederasaponin B <sup>[16]</sup>	584.470 9, 512.503 5
21	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	28.32	489.356 1	489.358 0	-2.3	三羟基白桦木酸 <sup>[16]</sup>	488.353 7, 459.302 3, 443.205 9

$$\text{DPPH 自由基清除率} = 1 - (A_1 - A_2) / A_0 \quad (1)$$

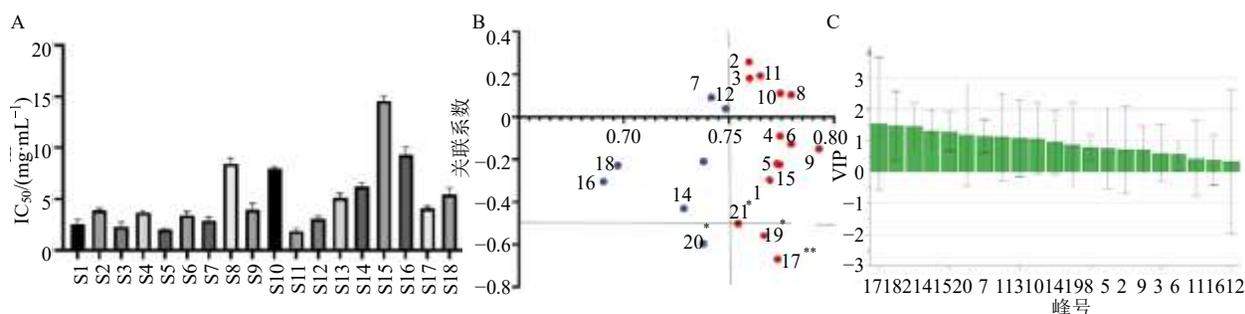
**2.4.2 灰色关联度 (grey relational analysis, GRA) 分析** 采用均值法处理原始数据, 以 18 批白头翁的 21 个色谱峰面积为比较序列, IC<sub>50</sub> 值设置为参考序列, 计算灰色关联度, 公式见 (2) ~ (4), 其中分辨系数  $\rho$  取 0.5。

$$\xi_i(k) = [\min(i) \min(k) |y(k) - x_i(k)| + \rho \max(i) \max(k) |y(k) - x_i(k)|] / [\min(i) \min(k) |y(k) - x_i(k)| + \rho \max(i) \max(k) |y(k) - x_i(k)|] \quad (2)$$

$$\Delta_i(k) = |y(k) - x_i(k)| \quad (3)$$

$$\xi_i(k) = [\min(i) \min(k) \Delta_i(k) + \rho \max(i) \max(k) \Delta_i(k)] / [\min(i) \min(k) \Delta_i(k) + \rho \max(i) \max(k) \Delta_i(k)] \quad (4)$$

与 IC<sub>50</sub> 关联度大于  $\geq 0.75$  为有药效, 则共有峰中与抗氧化相关联的有 14 个峰, 为峰 9、6、8、10、4、15、17、5、1、19、11、3、2 和 21 (图 4-B)。



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 其中图 B 中蓝色和红色点分别表示 GRA 和 PCA 结果。

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; The blue and red dots in Fig.3-B represent the results of GRA and PCA, respectively.

图 4 18 批白头翁抗氧化的 IC<sub>50</sub> (A)、GRA 与 PCA 分析图 (B)、PLS 分析 VIP 图 (C)

Fig. 4 IC<sub>50</sub> for 18 batches of *Pulsatillae Radix* (A), GRA and PCA (B), PLS analysis chart (C)

## 2.5 含量测定

**2.5.1 潜在抗氧化成分指认** 在“2.1.3”项色谱条件下, 利用白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 对照品, 对 18 批正品白头翁 HPLC 指纹图谱中 17 和 21 号峰 (潜在的抗氧化标志物) 进行指认及含量测定。结果确认 17 号峰为白头翁皂苷 B4; 21 号峰为白头翁皂苷 D, 见图 1-C。

**2.5.2 对照品溶液制备** 同“2.1.2”项下对照品溶液制备方法。

**2.5.3 供试品溶液的制备** 同“2.1.1”项下供试品溶液制备方法。

**2.5.4 色谱条件** 同“2.1.3”项下色谱条件。

**2.5.5 线性关系** 精密吸取对照品溶液, 按“2.1.3”项色谱条件进样并记录结果。以其质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 相对应的峰面积为纵坐标 ( $Y$ ), 计算标准曲线方程, 结果白头翁皂苷 B4 标准曲线方程  $Y = 68.427X + 3.5845$ ,  $r = 0.9990$ , 线性范围  $0.04 \sim 3.00$

**2.4.3 皮尔逊分析 (pearson correlation analysis, PCA)** 以 SPSS 26.0 软件, 进行共有峰和 IC<sub>50</sub> 之间 PCA 分析, 峰 17、20、19、21 与 IC<sub>50</sub> 相关系数绝对值大于 0.5, 认为与抗氧化强相关 ( $P < 0.01$ ), 见图 4-B。

**2.4.4 偏最小二乘 (partial least squares, PLS) 分析** 应用 SIMCA 14.1 软件, 以共有峰峰面积为自变量  $X$ , 抗氧化药效指标为因变量  $Y$ , 建立谱效关系模型。结果如图 4-C 所示, 依次有峰 17、18、21、4、15、20、1、13、10 的 VIP 值大于 1<sup>[18]</sup>。

如图 4-B 右下方所示, 峰 17、19、21 为 GRA 和 PCA 交集, 结合 PLS 模型中 VIP 值共同取交集, 即筛选出与 DPPH 氧化活性药效指标关联度最高的峰为峰 17 和 21, 可能为白头翁潜在的抗氧化 Q-Marker。

mg/mL; 白头翁皂苷 D 标准曲线方程  $Y = 4.1362X + 0.5292$ ,  $r = 0.9997$ , 线性范围  $0.03 \sim 5.00$  mg/mL。

## 2.5.6 方法学考察

(1) 精密度试验: 取 S1 供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。白头翁皂苷 B4 与白头翁皂苷 D 峰面积的 RSD 分别为 0.73%、1.12%, 表明仪器精密度良好。

(2) 重复性试验: 平行制备 6 份正品白头翁 S1 批次供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件测定, 计算白头翁皂苷 B4 与白头翁皂苷 D 含量的 RSD 分别为 0.77%、1.75%, 说明方法重复性良好。

(3) 稳定性试验: 取“2.1.1”项 S1 供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12 和 24 h 进样分析。白头翁皂苷 B4 与白头翁皂苷 D 峰面积的 RSD 分别为 1.27%、2.67%, 表明室温条件下, 供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

(4) 加样回收率试验: 精密称取已知含量的白

白头翁样品 (S1) 6 份, 以 1:1 比例加入 2 种成分对照品, 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样分析, 记录各成分峰面积, 计算含量后求加样回收率。白头翁皂苷 B4 平均加样回收率为 102.17%, RSD 为 0.80%; 白头翁皂苷 D 平均回收率为 102.00%, RSD 为 1.07%。

**2.5.7 含量测定** 18 批正品白头翁样品中白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 的含量结果如表 4 所示。

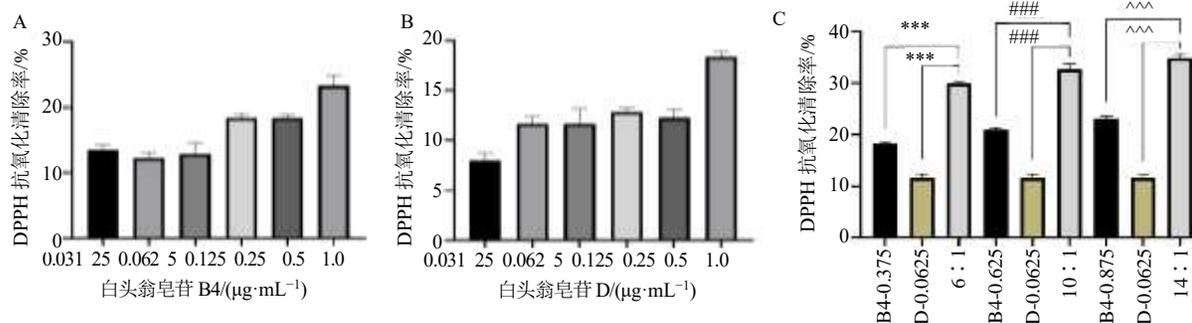
**2.6 潜在 Q-Marker 的抗氧化活性验证**

**2.6.1 DPPH 抗氧化活性实验** 为验证谱效分析结果, 同时比较潜在抗氧化标志物单一给药与配伍给药的药效差异。依据含量测定结果的比例, 设置配伍组 3 组, 白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 比例分别为 6:1、10:1 和 14:1。结果如图 5-A、B 所示, 白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 均具有一定的抗氧化活性, 且呈现剂量相关性。图 5-C 表现出不同比例配伍 (6:1、10:1 和 14:1) 均比白头翁皂

**表 4 白头翁皂苷 B4 及白头翁皂苷 D 含量测定结果**  
**Table 4 Results of Pulsatilla saponin B4 and Pulsatilla saponin D**

批次	白头翁皂苷B4/%	白头翁皂苷D/%	批次	白头翁皂苷B4/%	白头翁皂苷D/%
S1	12.67	1.01	S10	9.00	0.98
S2	13.65	2.18	S11	9.04	1.08
S3	13.65	2.18	S12	10.02	1.44
S4	14.57	2.55	S13	8.96	1.41
S5	12.36	1.00	S14	9.09	1.37
S6	15.99	1.14	S15	10.04	0.99
S7	11.98	0.98	S16	8.86	1.25
S8	11.89	0.97	S17	9.06	1.08
S9	9.56	1.08	S18	10.71	1.21

苷 B4 和白头翁皂苷 D 单一成分的 DPPH 抗氧化活性强, 且存在极显著性差异 ( $P < 0.001$ )。说明白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 可能协同发挥了抗氧化作用, 进一步证明二者能够作为潜在抗氧化活性 Q-Marker。



C 图反映白头翁皂苷 B4 与白头翁皂苷 D 的单一成分 vs 白头翁皂苷 B4 与白头翁皂苷 D 的不同比例配伍之间的比较: \*\*\* $P < 0.001$  vs 4:1; ####  $P < 0.001$  vs 8:1; ^^  $P < 0.001$  vs 16:1。

Panel C illustrates the comparative effects between the single-component treatments (pulsatilla saponins B4 vs pulsatilla saponins D) versus their different combination ratios: \*\*\* $P < 0.001$  vs 4:1; ####  $P < 0.001$  vs 8:1; ^^  $P < 0.001$  vs 16:1.

**图 5 白头翁皂苷 B4 (A)、白头翁皂苷 D (B) 和不同比例配伍 (C) 的 DPPH 自由基清除率**

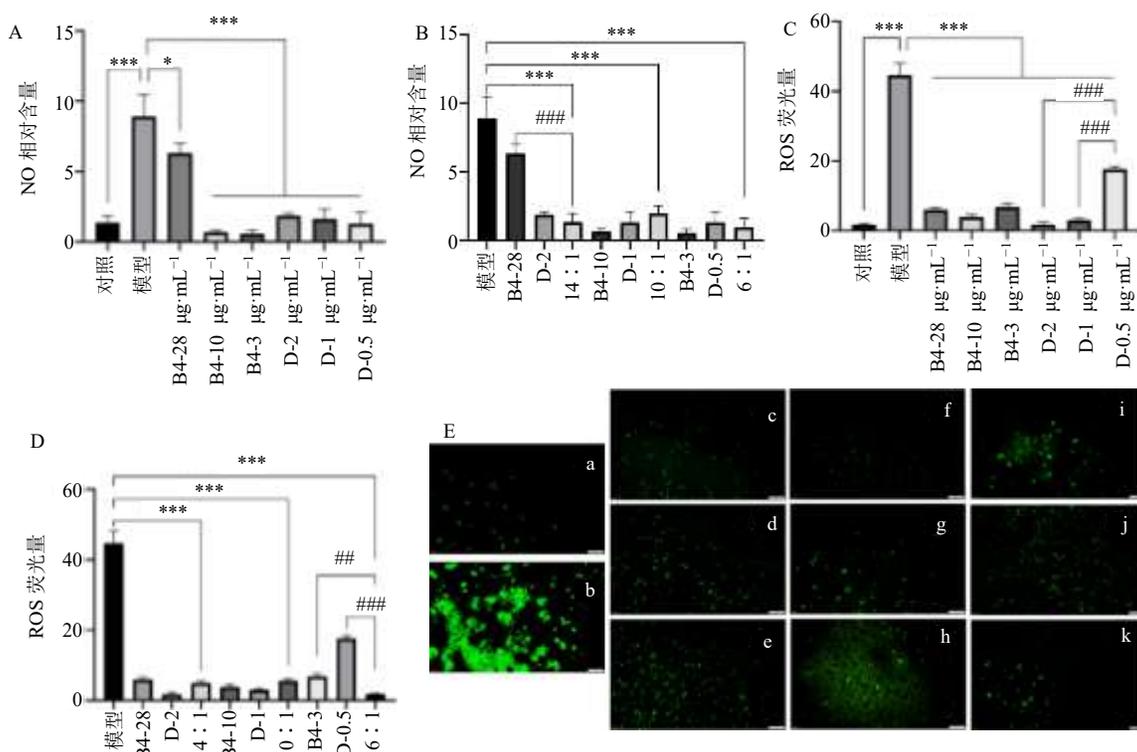
**Fig. 5 DPPH free radical scavenging of Pulsatilla saponins B4 (A), Pulsatilla saponins D (B) and different proportions (C) of the formulation**

**2.6.2 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞的氧化损伤实验**

(1) 细胞培养: RAW264.7 细胞使用含 10% 胎牛血清高糖 DMEM 培养基, 于 37 °C、含 5%CO<sub>2</sub> 条件下培养, 定期换液、传代, 取对数生长期细胞进行实验。

(2) NO 浓度测定: 将细胞以 1 × 10<sup>5</sup> 个/mL 的浓度接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后弃去旧培养基。将细胞分为对照组、模型组、B4 组 (含 3、10、28 μg/mL 白头翁皂苷 B4)、D 组 (含 0.5、1、2 μg/mL 白头翁皂苷 D)、B4+D 组 (按前述含量范围设置 6:1、10:1、14:1 组)。细胞分组给

药培养 24 h 后, 以 1 500 r/min 离心 10 min 后, 收集上清液, 按照试剂盒说明书测定。图 6-A 结果显示, 与对照组相比, LPS 诱导的 RAW264.7 细胞氧化应激损伤模型中 NO 含量显著升高 ( $P < 0.001$ ); 与模型组相比, 除白头翁皂苷 B4 高剂量组外 ( $P < 0.05$ ), 白头翁皂苷 B4 和 D 各剂量组均能极显著地降 NO 含量 ( $P < 0.001$ ); 如图 6-B 所示, 各配伍组均能显著降低氧化应激损伤模型中 NO 含量 ( $P < 0.001$ ), 且白头翁皂苷 B4 和 D (14:1) 配伍组显著优于单一成分白头翁皂苷 B4 高剂量组 ( $P < 0.001$ )。



A、C图反映白头翁皂苷B4和D单一成分不同剂量对LPS诱导的RAW264.7细胞氧化应激损伤模型中NO含量和ROS荧光量的影响，\* $P < 0.05$  \*\*\* $P < 0.001$ 表示与模型组比较有显著差异或极显著差异，#### $P < 0.001$ 表示给药组组间比较有极显著差异；B、D图反应白头翁皂苷B4与D的不同比例配伍对LPS诱导的RAW264.7细胞氧化应激损伤模型NO含量和ROS荧光量的影响：\*\*\* $P < 0.001$ 表示与模型组比较有极显著差异，以及白头翁皂苷B4和白头翁皂苷D单一成分vs白头翁皂苷B4与白头翁皂苷D的不同比例配伍之间NO含量和ROS荧光量：## $P < 0.01$  #### $P < 0.001$ 表示给药组组间比较有极显著差异；E图中a为对照组；b为模型组；c~e为D组（高、中、低剂量）；f~h为B4组（高、中、低剂量）；i为B4+D（14:1）组；j为B4+D（10:1）组；k为B4+D（6:1）组。

Panels A and C demonstrate the effects of different doses of the single components pulsatilla saponins B4 (B4) and pulsatilla saponins D (D) on nitric oxide (NO) content and reactive oxygen species (ROS) fluorescence levels in the lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 cell oxidative stress injury model. \* $P < 0.05$  and \*\*\* $P < 0.001$  indicate extremely significant or significant differences compared with the model group, respectively; #### $P < 0.001$  denotes an extremely significant difference among treatment groups. Panels B and D illustrate the influence of different combination ratios of pulsatilla saponin B4 and D on NO content and ROS fluorescence levels in the LPS-induced RAW264.7 cell oxidative stress injury model: \*\*\* $P < 0.001$  indicates an extremely significant difference compared with the model group, while ## $P < 0.01$  and #### $P < 0.001$  represent extremely significant or significant differences, respectively, between individual components (B4 or D alone) and their various combination ratios (B4+D). Panel E: a-control group; b-model group; c~e-D group (high, medium, and low doses); f~h-B4 group (high, medium, and low doses); i-B4+D (14:1) group; j-B4+D (10:1) group; k-B4+D (6:1) group.

图6 白头翁皂苷B4和D对LPS处理的RAW264.7细胞NO(A,B)和ROS的影响(C,D)以及ROS荧光图(E)

Fig. 6 Effects of Pulsatilla saponins B4 and D on NO (A, B) and ROS (C, D) and ROS fluorescence plots (E) in LPS-treated RAW264.7 cells

(3) ROS活性检测: 将细胞以 $5 \times 10^5/\text{mL}$ 的密度接种于6孔板中培养24h后弃去培养液, 分组同“2.6.2(2)”, 给药培养24h后弃去培养液。按试剂盒说明加入探针,  $37^\circ\text{C}$ 孵育30min, 洗涤细胞3次后, 荧光显微镜观察拍照。图6-C、E结果所示, 与对照组相比, LPS诱导的RAW264.7细胞氧化应激损伤模型中ROS荧光量显著升高 ( $P < 0.001$ ), 白头翁皂苷B4和D各剂量组均能显著降低该模型中ROS荧光量 ( $P < 0.001$ ), 白头翁皂苷D高、中剂量组显著优于低剂量组 ( $P < 0.001$ )。如图6-D、E结果所示, 各比例配伍组均能显著降低氧化应激损伤模型

中ROS荧光量 ( $P < 0.001$ ), 且白头翁皂苷B4和白头翁皂苷D (6:1) 配伍组显著优于单一成分白头翁皂苷B4和D的低剂量组 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。

### 3 讨论

由于历史变迁、用药习惯、野生资源不足等因素, 导致白头翁存在“同名异物”、质量参差不齐的问题, 用药有效与安全难以保障。除生药学鉴定外, 目前高通量测序、ITS2条形码、PCR-RFLP等方法也常用于白头翁的真伪鉴别<sup>[19-20]</sup>。中药指纹图谱可用于真伪鉴别, 结合药效作用, 建立谱效关系, 能反映符合有效性的中药整体质量<sup>[18, 21-23]</sup>。故本研究采用HPLC指纹

图谱区分正品白头翁及其混伪品,以 UPLC-QTOF-MS/MS 技术表征正品白头翁化学成分。运用 GRA、PCA、PLS 3 种模式识别方法,建立正品白头翁 HPLC 指纹图谱和抗氧化活性间的谱效关系<sup>[14]</sup>,结合体外验证实验,准确辨识潜在抗氧化 Q-Marker,评估潜在 Q-Marker 的生物效应。系统构建评价白头翁质量的方法,为混伪品多、有效成分含量较低、难于质控的中药材的品质评价提供参考。

白头翁传统应用中具有清热解毒、凉血、明目、燥湿、杀虫的功效,以上功效多与抗氧化作用关系密切<sup>[24-27]</sup>。本研究发现各组正品白头翁均有良好的抗氧化能力,初步辨识的抗氧化 Q-Marker——白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 能够抑制 RAW264.7 细胞中 NO 的释放,较好地清除 ROS,二者以组分配伍形式存在时不同程度地优于单一成分组; DPPH 自由基清除实验也表明二者均有较好的抗氧化能力,呈明显的量效关系,且二者以组分配伍形式存在时亦优于单一成分组。说明白头翁皂苷 B4 和白头翁皂苷 D 能够共同作为白头翁的潜在抗氧化 Q-Marker 应用于白头翁的质量控制。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1088-1088.
- [2] 丘海芯, 甘金月, 王宝林, 等. 仲景名方白头翁汤的指纹图谱及功效关联物质预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1740-1750.
- [3] 裴育莹, 王雪茜, 程发峰, 等. 《伤寒论》中下利“角药”的配伍分析与临床应用 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(7): 3796-3799.
- [4] 丁秀娟, 陈重, 李夏, 等. 白头翁化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 1952-1954.
- [5] 苑仁祎坤, 王琴琴, 何佳, 等. 白头翁药理作用及机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1421-1432.
- [6] Li Y H, Zou M, Han Q, et al. Therapeutic potential of triterpenoid saponin anemoside B4 from *Pulsatilla chinensis* [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 160: 105079.
- [7] 龙盛京, 罗佩卓, 覃日昌. 17 种清热中药抗活性氧作用的研究 [J]. 中草药, 1999, 30(1): 40-43.
- [8] 苏晓悦, 徐驰, 杜鑫, 等. 白头翁化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2023, 40(3): 76-82.
- [9] 张璐, 田静, 尹萌, 等. 白头翁药材及其混伪品的鉴别研究 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40(10): 1808-1819.
- [10] 张婷婷. 中国白头翁属 *Pulsatilla miller* 资源分布与白头翁药材质量评价研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2021.
- [11] 宋雅梅, 杨燕云, 张婷婷, 等. 白头翁类药材白头翁皂苷 B4 的 HPLC 法含量测定与 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(2): 127-131.
- [12] 郝敏, 陆兔林, 毛春琴, 等. 基于中药 Q-Marker 的饮片质量控制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1699-1708.
- [13] 刘鹏. 白头翁有效成分通过调控 TAMs 表型转化抗结肠癌作用机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.
- [14] 金苗苗. 中药白头翁质量控制和白桦脂酸体内外代谢研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- [15] Zhang T L, Zhang J, Chen F F, et al. Qualitative and quantitative analysis of triterpenoids in different tissues of *Pulsatilla chinensis* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 234: 115528.
- [16] Su S S, Xue G R, Shang J W, et al. Computational method for rapid screening of the metabolites of *Pulsatilla chinensis* in rats using UHPLC-Q-TOF/MS combined with mass spectrum-based orthogonal projection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 229: 115345.
- [17] Akbar A, Soekanto N H, Firdaus, et al. Antioxidant of n-hexane, ethyl acetate and methanol extracts of *Padina* sp with DPPH method [J]. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*, 2021, 800(1): 012019.
- [18] 彭丽颖, 梁悦, 施君君, 等. 丹参 HPLC 指纹图谱及总抗氧化活性谱效关系研究 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(3): 110-115.
- [19] Shi Y H, Zhao M M, Yao H, et al. Rapidly discriminate commercial medicinal *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regel from its adulterants using ITS2 barcoding and specific PCR-RFLP assay [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40000.
- [20] Zhang T, Liang Y, Xu L, et al. Study on DNA molecular identification of mix samples of five species of Baitouweng medicinal materials based on high-throughput sequencing technology [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2018, 53(11): 162-167.
- [21] 张强, 杨宇婷. 中药谱效关系研究现状概述 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(3): 680-683.
- [22] 肖复耀, 桂郎, 曾红玉, 等. 经典名方茵陈蒿汤基准样品 HPLC 指纹图谱及多指标量值传递研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 446-459.
- [23] Zhang T, Bai G, Liu C. Innovation theory, technical methods and industrial application of quality marker of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2024: 17(1): 84-86.
- [24] Leng D Y. A comprehensive review on botany, phytochemistry, traditional uses, pharmacology, analytical methods, processing methods, pharmacokinetics and toxicity of *Pulsatilla chinensis* [J]. *Altern Ther Health Med*, 2024, 30(1): 374-380.
- [25] 查正霞, 刘艳丽, 许琼明. 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, 2020, 31(1): 120-124.
- [26] 彭宇辉, 王敏敏, 雷家荣, 等. 基于 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的白头翁皂苷 D 对结肠癌上皮间质转化的影响 [J]. 中草药, 2025, 56(2): 499-508.
- [27] Wang T T, Song Y G, Xu H H, et al. Study on the mechanism of reducing biofilm toxicity and increasing antioxidant activity in vinegar processing phytomedicines containing pentacyclic triterpenoid saponins [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 290: 115112.

[责任编辑 时圣明]