

通关藤基原的化学探究及其主要成分分析

南 易^{1,2}, 宋 娟¹, 梁海珍¹, 石宇浩^{1,2}, 黄长亮¹, 于德鑫^{1,2}, 陈晓娟¹, 李海涛³, 郭宝林^{4*}, 马百平^{1,2*}

1. 军事科学院军事医学研究院, 北京 100850

2. 天津中医药大学, 天津 301617

3. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所云南分所, 云南 昆明 666100

4. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

摘要: **目的** 探究通关藤的基原, 建立其半定量分析方法, 为药材质量控制与标准完善提供科学依据。 **方法** 收集通关藤的对照药材、市场销售药材及 2 种可能基原植物 (通光散 *Masdenia tenacissima* 和灵药牛奶菜 *M. cavaleriei*) 的藤茎样品, 采用超高效液相色谱-电雾式检测器 (UHPLC-CAD) 技术, 使用 ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 0.5 mL/min, 进样量 2 μL。通过《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》分析样品谱图相似度。以 UHPLC-CAD 指纹图谱中 8 个主要成分的色谱峰面积为指标, 开展相对含量及批次间总相对含量的半定量分析。 **结果** 所建立的 UHPLC-CAD 指纹图谱分析方法的精密度、稳定性及重复性良好, 符合中药指纹图谱分析的方法要求。通关藤对照药材与市场上 12 批药材指纹图谱的相似度为 0.927~0.988, 通关藤药材对照指纹图谱与通光散藤茎的指纹图谱差异显著, 而与灵药牛奶菜藤茎的指纹图谱一致性良好, 相似度均大于 0.85, 且主成分含量较为一致。8 个主要成分的相对含量依次为通关藤苷 A>marsdenoside H>marsdenoside K>通关藤苷 B>通关藤苷 H>通关藤苷 D>通关藤苷 I>通关藤苷 E。 **结论** 除了《中国药典》2025 年版规定的指标成分通关藤苷 H 外, 通关藤苷 A、marsdenoside H、marsdenoside K 和通关藤苷 B 的含量较高, 可以作为潜在质量标志物, 从化学成分角度为中药通关藤的基原鉴定提供理论基础。

关键词: 通关藤; UHPLC-CAD; 指纹图谱; 通光散; 灵药牛奶菜; 相似度评价

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)16-6543-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.026

Chemical exploration on origin of “Tong-guan-teng” and analysis of its main components

NAN Yi^{1, 2}, SONG Juan¹, LIANG Haizhen¹, SHI Yuhao^{1, 2}, HUANG Changliang¹, YU Dexin^{1, 2}, CHEN Xiaojuan¹, LI Haitao³, GUO Baolin⁴, MA Baiping^{1, 2}

1. Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

3. Yunnan Branch of the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Kunming 666100, China

4. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Objective To explore the botanical origin of traditional Chinese medicine Tong-guan-teng and establish a semi-quantitative analysis method, and provide a scientific basis for the quality control and criterion improvement of the medicinal material. **Methods** Reference sample of Tong-guan-teng, market-available materials, and vine samples of two possible origin plants (*Masdenia tenacissima* and *M. cavaleriei*) were collected. Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with

收稿日期: 2025-10-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82074008)

作者简介: 南 易, 博士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: nanyi96@126.com

*通信作者: 马百平, 研究员, 博士生导师, 研究方向为天然药物化学。Tel: (010)66930265 E-mail: mabaiping@sina.com

郭宝林, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药资源、鉴定和栽培。Tel: (010)57833172 E-mail: guobaolin010@163.com

charged aerosol detector (UHPLC-CAD) was employed, and an ACQUITY BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) was used. The mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile, at a flow rate of 0.5 mL/min, with an injection volume of 2 μL. The similarity of sample chromatograms was analyzed by the “*Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 edition)*”. Based on the chromatographic peak areas of eight main components in the UHPLC-CAD fingerprint, semi-quantitative analysis of relative contents and total relative contents among batches was carried out. **Results** The established fingerprint was validated by methodology, with demonstrated satisfactory precision, stability and repeatability, which met the requirements of traditional Chinese medicine fingerprint analysis. The similarity of fingerprints among the reference sample and 12 batches of commercial Tong-guan-teng samples ranged from 0.927 to 0.988. Significant differences were observed between the reference fingerprint of Tong-guan-teng and those of *M. tenacissima* stems, while a high degree of consistency was achieved with *M. cavaleriei* stems (similarity > 0.85) and the total contents of major components were relatively consistent. The relative contents of the eight major components followed the order: tenacissoside A > marsdenoside H > marsdenoside K > tenacissoside B > tenacissoside H > tenacissoside D > tenacissoside I > tenacissoside E. **Conclusion** In addition to tenacissoside H (the index component specified in the 2025 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*), tenacissoside A, marsdenoside H, marsdenoside K and tenacissoside B have relatively high contents, which can serve as potential quality markers and provide a theoretical basis for the botanical origin identification of the traditional Chinese medicine Tong-guan-teng from the perspective of chemical composition.

Key words: Tong-guan-teng; UHPLC-CAD; fingerprint; *Masdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn.; *Masdenia cavaleriei* Léveillé; similarity evaluation

通关藤的应用历史悠久,其药用可追溯到明代的《滇南本草》^[1],也在《中国药典》中收录(1977年版起),具有止咳平喘、祛痰、通乳和清热解毒的功效。近年来,现代药理学研究揭示了通关藤的多种药理活性,尤其是抗肿瘤、抗血管生成和免疫调节等作用显著^[2],基于此已开发出了消癌平系列制剂,如消癌平片、消癌平胶囊和消癌平注射液等。

《中国药典》2025年版中通关藤描述为萝藦科植物通光散 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn.的干燥藤茎^[3]。《中国植物志》在通光散名称下的植物形态描述不同于1819年 William Roxburgh对通光散的原始描述^[4-5],而描述的是另一个物种灵药牛奶菜 *M. cavaleriei* H. Léveillé 的形态; *Flora of China* (《中国植物志》英文版)更正了《中国植物志》中的描述^[6],将通光散下的植物描述更正为 William Roxburgh 所做的原始描述,同时增加了灵药牛奶菜 *M. cavaleriei*,其植物形态描述与《中国植物志》的通光散相同。历版《中国药典》记载的通关藤基原植物应是参照了《中国植物志》,将其基原定为通光散,并延续至今。为更好地确定通关藤基原,本课题组对灵药牛奶菜的多个产区进行野外调查和样品采集,从植物形态和药材形态上确认了灵药牛奶菜为通关藤的基原,如灵药牛奶菜的藤茎形态与通关藤药材形态完全吻合—呈扁圆柱形,略扭

曲,节间两侧各有1条明显纵沟,于节处交互对称^[3];基于3个DNA片段的分子研究证明灵药牛奶菜和通光散关系较为近缘,但是2个独立的物种^[7]。本实验收集了中国食品药品检定研究院的通关藤对照药材和多份市售通关藤药材,野外采集了灵药牛奶菜的藤茎和通光散(参照 *Flora of China* 的正确名称)的藤茎,进行化学成分的表征和指纹图谱相似度比较,从而进一步对中药通关藤的基原进行基于化学成分的探讨,并且对其中主要成分进行指认及半定量分析。

通关藤的化学成分包括C₂₁甾、有机酸、萜类和多糖,其中C₂₁甾是其主要的抗肿瘤活性成分^[8]。该类成分可通过多种机制发挥抗肿瘤作用,包括抑制癌细胞增殖、调节肿瘤细胞血管生成、介导细胞凋亡和促进分化等^[9]。通关藤的抗癌活性显著,也被开发为系列成药上市,但其质量评价仍多为个别成分的含量测定^[10-14],未能从多成分和整体性上实现其有效的质量控制。指纹图谱技术作为鉴别中药品种、评价中药质量和解析中药主要成分的有效手段^[15],可通过分析图谱之间的相似程度反映成分组成的一致性,实现中药材的真伪鉴定、优劣评价等。

通关藤苷H(tenacissoside H)作为通关藤的药典规定的含量检测成分,其分子中不存在共轭结构,紫外吸收弱,难以利用紫外检测器进行液相色

谱分析,且现行的蒸发光散射检测器(evaporative light scattering detector, ELSD)分析方法在灵敏度、重现性上存在一定的局限性^[16]。电雾式检测器(charged aerosol detector, CAD)是一种通用型检测器,适用于半挥发及不挥发成分的检测^[17-18],并且对不同结构类型和不同具体结构的化合物响应一致性好,且具有灵敏度高、重现性好、操作简便的特点而被广泛应用^[19]。反梯度补偿技术是在色谱系统中补充与分析梯度比例相反的流动相,可使进入检测器前的洗脱溶液有机相比比例保持恒定,使各待测物在 CAD 中具有更为一致的雾化效率和响应因子。本研究将 UHPLC-CAD 与反梯度补偿技术结合,建立各色谱峰面积直接反映相互含量关系的半定量指纹图谱,用于分析通关藤药材和灵药牛奶菜藤茎中主要成分的相对含量。再应用 UHPLC-Q-TOF/MS 技术对其成分进行表征鉴定,特别是明确没有对照品的主要色谱峰的结构,为确定通关藤的基原植物提供化学证据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UHPLCTM 系统(Waters Corp., Milford, MA, 美国); Synapt G2-S MS 系统(Waters Corp, Manchester, 英国)。Waters ACQUITY UHPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)。Thermo

Vanquish UHPLC 系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.2 试剂及材料

蒸馏水(广州屈臣氏有限公司),乙腈和甲酸(质谱级,纯度≥99%,美国 Thermo Fisher 公司),无水甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

样品 S1 购自中国食品药品检定研究院,为通关藤的对照药材(批号 121522-202103),12 批通关藤药材(S2~S13)分别从广东、广西、云南和山西省收集,另基于植物形态特征从云南省蒙自市采集了 3 个批次的灵药牛奶菜藤茎(S14~S16),从云南省西双版纳州采集了 3 个批次的通光散藤茎(S17~S19)。所有样品均由李海涛研究员和郭宝林研究员依据 *Flora of China* 鉴定确认,样品信息见表 1,所有药材样品均保存于军事科学院军事医学研究院,野外采集样品的植物标本保存于中国医学科学院药用植物研究所云南分所。对照品通关藤苷 A(批号 202511023)、marsdenoside K(批号 202510225)、通关藤苷 H(批号 202511789)、通关藤苷 I(批号 202511253)、通关藤苷 B(批号 202511056)、通关藤苷 D(批号 202523614)和通关藤苷 E(批号 20258956)均购自宝鸡辰光生物技术有限公司,质量分数均>95%。

表 1 通关藤药材及其可能基原植物样品信息

Table 1 Information of Tong-guan-teng medicinal materials and possible original plant samples

编号	样品名称	产地/来源	收集时间
S1	通关藤对照药材	中国食品药品检定研究院	2024-10
S2	通关藤药材	云南省	2022-08
S3	通关藤药材	云南省	2022-08
S4	通关藤药材	南京某药厂	2022-09
S5	通关藤药材	南京某药厂	2022-09
S6	通关藤药材	南京某药厂	2022-09
S7	通关藤药材	广东省	2022-10
S8	通关藤药材	云南省	2022-09
S9	通关藤药材	陕西省	2022-10
S10	通关藤药材	云南省	2022-10
S11	通关藤药材	云南省	2022-10
S12	通关藤药材	广东省	2022-10
S13	通关藤药材	广西壮族自治区	2022-10
S14	灵药牛奶菜 <i>M. cavaleriei</i> 的藤茎	云南省蒙自市	2023-01
S15	灵药牛奶菜 <i>M. cavaleriei</i> 的藤茎	云南省蒙自市	2023-01
S16	灵药牛奶菜 <i>M. cavaleriei</i> 的藤茎	云南省蒙自市	2023-01
S17	通光散 <i>M. tenacissima</i> 的藤茎	云南省西双版纳傣族自治州	2022-11
S18	通光散 <i>M. tenacissima</i> 的藤茎	云南省西双版纳傣族自治州	2022-11
S19	通光散 <i>M. tenacissima</i> 的藤茎	云南省西双版纳傣族自治州	2022-11

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取各供试品细粉(过 40 目筛) 1.0 g, 加入 40 mL 甲醇, 摇匀后超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 45 min; 取出放冷至室温, 用甲醇补足减失的质量, 经 0.22 μm 有机相微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 待定性及半定量分析。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取通关藤苷 A、marsdenoside K、通关藤苷 H、通关藤苷 I、通关藤苷 B、通关藤苷 D、通关藤苷 E 适量, 用甲醇溶解, 制备成质量浓度为 0.38~0.58 mg/mL 的混合对照品溶液用于定性研究。

2.2 色谱和质谱条件

2.2.1 色谱条件 Waters ACQUITY™ UHPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)。分析泵流动相为含有 0.1% 甲酸的水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱: 0~3 min, 10%~28% B; 3~10 min, 28%~32% B; 10~12 min, 32%~38% B; 12~27 min, 38%~41% B; 27~28 min, 41%~52% B; 28~34 min, 52%~57% B; 34~35 min, 57%~95% B。样品的进样体积为 2 μL , 色谱柱温度设置为 40 $^{\circ}\text{C}$, 样品温度为 10 $^{\circ}\text{C}$ 。同时运行 2 个梯度泵, 启用 Chromeleon 7 工作站中的“反梯度”功能, 根据主泵和补偿泵之间的管路长短差异, 计算延迟时间, 并设为 0.608 min。体积流量 0.5 mL/min, 雾化器温度 35 $^{\circ}\text{C}$, CAD 采集频率 5.0 Hz 滤波 3.6 s。使用 Chromeleon 7 软件(美国 Thermo Fisher 公司)进行数据采集和分析。

2.2.2 质谱条件 数据采集模式为 MS^E。质荷比扫描范围为 m/z 50~1 500。源温度为 100 $^{\circ}\text{C}$, 去溶剂化温度为 450 $^{\circ}\text{C}$, 脱溶剂化气体流量为 850 L/h, 亮氨酸脑啡肽(LE)用作 LockSpray, 锥孔电压为 20 V。负离子模式下, 毛细管电压为 3.5 kV, 低能级下, 碰撞能量 4 eV, 高能级的碰撞能量为 70~90 eV; 正离子模式下, 毛细管电压为 1.5 kV, 低能级下, 碰撞能量 4 eV, 高能级的碰撞能量为 50~70 eV, 该仪器由 Masslynx 4.1 软件(Waters 公司)控制。

3 结果与分析

3.1 通光散和灵药牛奶菜的样品收集与确认

灵药牛奶菜和通光散从植株被毛、叶形状、花冠形状和花冠颜色等形态上存在显著差

异(分别为样品 S14~S16、S17~S19 的原植物图), 见图 1。已有文献对二者各部位形态特征进行了详细的比较与阐述^[7], 特别是灵药牛奶菜的藤茎呈特殊的扁圆柱形, 体现于通关藤的药材性状。因此本研究依据上述植物外观鉴别特征进行样品收集, 确保所有供试品基原鉴定准确无误。

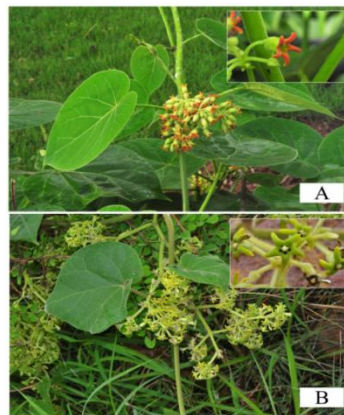


图 1 灵药牛奶菜 (A) 和通光散 (B) 的植物形态
Fig. 1 Plant morphology of *M. cavaleriei* (A) and *M. tenacissima* (B)

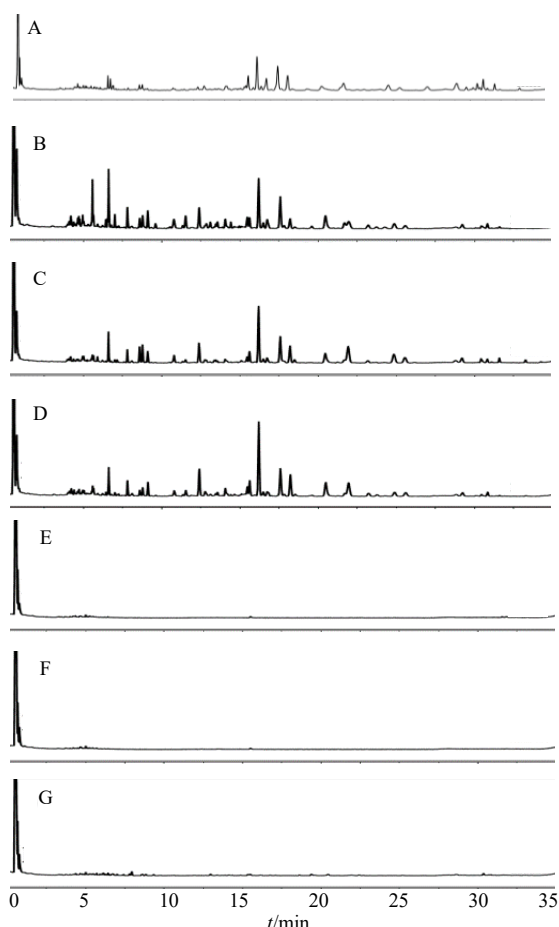
3.2 UHPLC-CAD 指纹图谱建立

3.2.1 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下供试品溶液 S11, 按“2.2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录各共有峰的保留时间和峰面积, 以峰 4 作为参照峰(S), 计算其他 12 个共有峰与参照峰的相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD, 结果相对保留时间的 RSD≤0.26%, 相对峰面积的 RSD≤0.56%, 表明仪器精密度良好。

3.2.2 重复性试验 精密称定 S11 通关藤粉末约 1 g, 按“2.1.1”项下方法平行配制 6 份供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 进样分析, 同上述精密度方法对结果进行处理, 结果相对保留时间的 RSD≤0.11%, 相对峰面积的 RSD≤2.62%, 表明处理方法的重复性良好。

3.2.3 稳定性试验 分别于 0、2、4、8、12、18、24 h 精密吸取“2.1.1”项下 S11 供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 进样分析, 同上述精密度方法对结果进行处理, 结果相对保留时间的 RSD≤0.11%, 相对峰面积的 RSD≤2.97%, 表明供试品溶液在 24 h 内的稳定性良好。

3.2.4 通关藤指纹图谱建立与相似度评价 按“2.1.1”配制供试品溶液 S1~S19, 按“2.2.1”项下 UHPLC-CAD 分析, 结果见图 2。能够看出通关藤



A-通关藤对照药材 (S1); B~D-灵药牛奶菜藤茎 (S14~S16); E~G-通光散藤茎 (S17~S19).
A-Tong-guan-teng reference sample (S1); B—D-stems of *M. cavaleriei* (S14—S16); E—G-stems of *M. tenacissima* (S17—S19).

图 2 通关藤对照药材、灵药牛奶菜藤茎和通光散藤茎的 UHPLC-CAD 图

Fig. 2 UHPLC-CAD chromatograms of Tong-guan-teng reference sample, stems of *M. cavaleriei* and stems of *M. tenacissima*

对照药材 (图 2-A) 与通光散的茎部位样品 (图 2-E~G) 差异显著, 但与灵药牛奶菜的茎部位样品 (图 2-B~D) 具有良好的相似性。为了进一步评价两者之间的相似程度, 将所得 S1~S13 色谱数据以 CDF 格式导入《中药色谱指纹图谱相似度系统软件 (2012 版)》(国家药典委员会), 得到 13 批市售药材指纹图谱 (图 3) 和对照指纹图谱 (图 4)。设定 S1 号图谱为参照图谱, 采用多点校正后进行自动 Mark 峰匹配, 设定时间窗宽度为 0.1 min, 以中位数法生成 12 个共有峰模式的对照指纹图谱。使用软件自动计算生成各批次样品与对照指纹图谱的相似度 (表 2), 各值均在 0.863~0.993, 代表各谱图间相似度高。S14~S163 批灵药牛奶菜样品与对照指纹图谱的相似度均 >0.85, 即认为通关藤药材的指纹图谱与灵药牛奶菜间无明显差异, 差异集中在共有成分的含量上, 为了进一步阐明差异, 对通关藤药材和灵药牛奶菜藤茎中的主要成分的相对含量进行半定量分析。

3.3 通关藤药材主要成分的指认与结构鉴定

UHPLC-CAD 可实现通关藤的化学成分的系统表征, 典型色谱图如图 5-B 所示。基于混合对照品的保留时间 (图 5-A), 对 UHPLC-CAD 谱图中的主要成分进行指认, 按照洗脱先后顺序依次为通关藤苷 A (1)、marsdenoside K (3)、通关藤苷 H (4)、通关藤苷 I (5)、通关藤苷 B (6)、通关藤苷 D (7)、通关藤苷 E (8); 但谱图中 2 号色谱峰对应的成分由于缺乏对照品无法通过对照品确认。图 5-C 为相同色谱分离条件下, 通关藤在液质负离子模式的基峰离子 (base peak ion, BPI) 图谱, 其整体谱图轮廓与 UHPLC-CAD 的谱图具有一致性。通过对比, 确认图 5-B 中的 2 号峰与图 5-C 中的 2 号离子峰

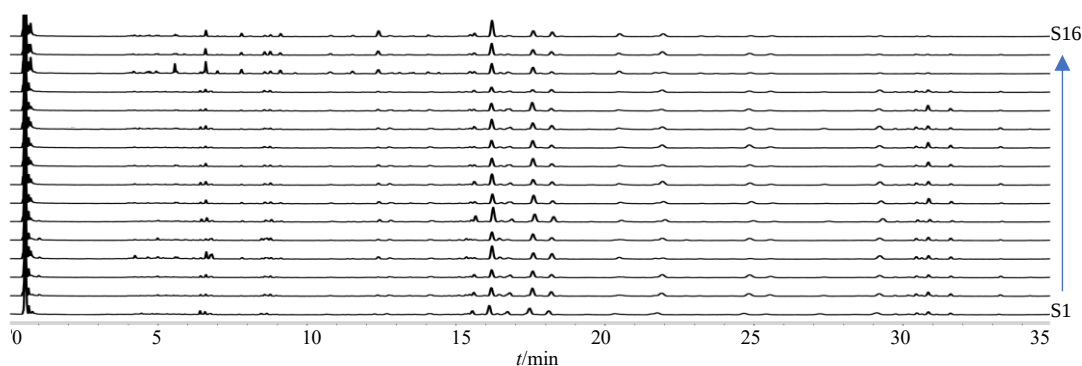


图 3 通关藤药材和灵药牛奶菜藤茎的 UHPLC-CAD 图谱

Fig. 3 UHPLC-CAD chromatograms of Tong-guan-teng medicinal materials and stem of *M. cavaleriei*

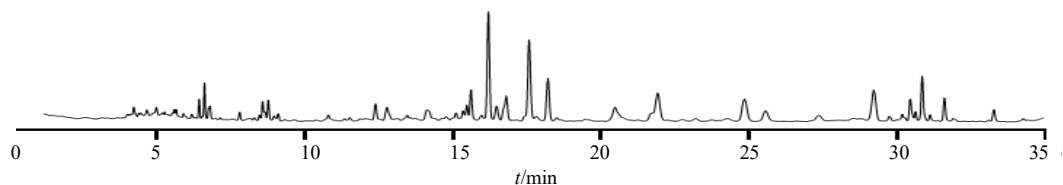


图 4 通关藤药材 UHPLC-CAD 对照指纹图谱

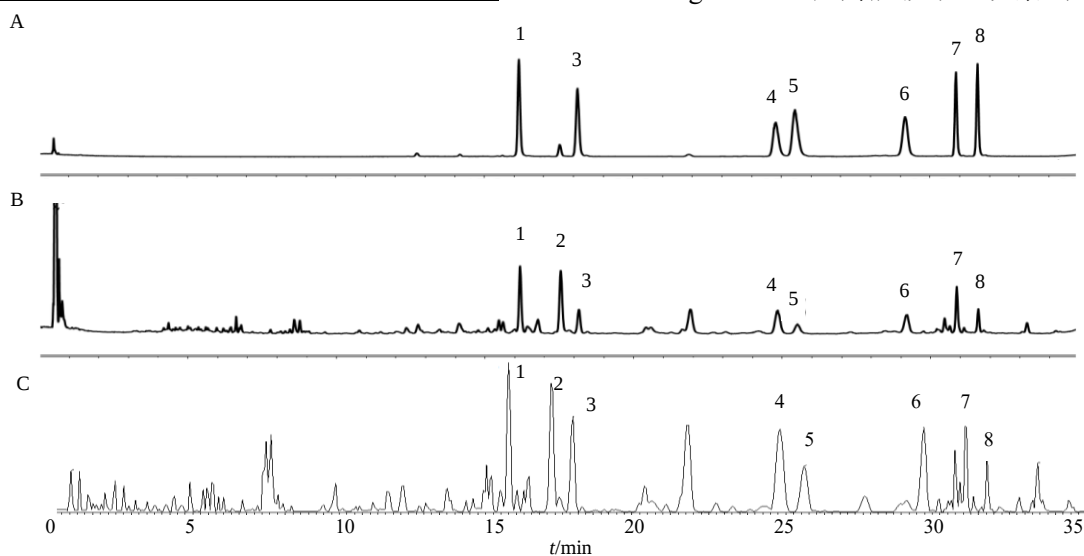
Fig. 4 Reference fingerprint of Tong-guan-teng medicinal material by UHPLC-CAD

表 2 S1~S19 样品与对照指纹图谱相似度评价

Table 2 Evaluation of similarity among S1—S19 samples and reference fingerprint

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.988	S11	0.993
S2	0.979	S12	0.969
S3	0.972	S13	0.951
S4	0.950	S14	0.864
S5	0.986	S15	0.920
S6	0.964	S16	0.863
S7	0.988	S17	0.000
S8	0.984	S18	0.000
S9	0.983	S19	0.000
S10	0.972		

($t_R = 16.12$ min) 为同一成分, 峰 2 在 UPLC-Q-TOF/MS 负离子模式 BPI 图 (图 5-C) 中的保留时间为 16.12 min, 在正离子模式下观察到其准分子离子峰为 m/z 979.486 6 $[M+Na]^+$, 而在负离子模式下, 准分子离子峰值为 m/z 1 001.500 1 $[M+HCOO]^-$ 。因此, 推测分子式为 $C_{48}H_{76}O_{19}$ 。在低能正离子模式下, 观察到特征母核碎片离子, 如 m/z 347.221 8 $[M+H-gluc-allyl-ole-Bu-Ac-H_2O]^+$ 、 m/z 329.211 7 $[M+H-gluc-allyl-ole-Bu-Ac-2H_2O]^+$ 、 m/z 311.201 0 $[M+H-gluc-allyl-ole-Bu-Ac-3H_2O]^+$ 和 m/z 293.190 3 $[M+H-gluc-allyl-ole-Bu-Ac-4H_2O]^+$ 。这表明该化合物的母核为 17 α -tenacigenin B。在低能级下, 观察到 C-11 和



A-混合对照品 UHPLC-CAD 图; B-通关藤 UHPLC-CAD 图; C-通关藤 UHPLC-Q-TOF/MS 负离子模式 BPI 图; 1-通关藤苷 A; 2-marsdenoside H; 3-marsdenoside K; 4-通关藤苷 H; 5-通关藤苷 I; 6-通关藤苷 B; 7-通关藤苷 D; 8-通关藤苷 E。

A-UHPLC-CAD chromatogram of mixed reference substances; B-UHPLC-CAD chromatogram of Tong-guan-teng; C-UHPLC-Q-TOF/MS BPI chromatogram of Tong-guan-teng in negative ion mode; 1-tenacissoside A; 2-marsdenoside H; 3-marsdenoside K; 4-tenacissoside H; 5-tenacissoside I; 6-tenacissoside B; 7-tenacissoside D; 8-tenacissoside E。

图 5 通关藤药材 UHPLC-CAD 与 UHPLC-Q-TOF/MS 图

Fig. 5 UHPLC-CAD and UHPLC-Q-TOF/MS chromatograms of Tong-guan-teng medicinal materials

C-12 上取代基丢失导致的碎片离子, 包括 m/z 919.466 1 $[M+Na-Ac-H_2O]^+$ 和 m/z 817.398 7 $[M+Na-Ac-Bu-2H_2O]^+$ 。在低能质谱的负离子模式

下, 还观察到 m/z 853.422 5 $[M-H-Bu-H_2O]^-$ 和 m/z 793.4125 $[M-H-Ac-Bu-2H_2O]^-$ 。这表明 C-11 和 C-12 上存在 Bu 和 Ac 取代基, 结合该成分在

正、负离子模式下的质谱数据鉴定其成分为 marsdenoside H，质谱图及可能的裂解途径见图 6。最终利用对照品鉴定了 7 个主要成分，同时依据对照品的质谱裂解规律，完成了图 5-C 中 2 号峰的结构鉴定，共鉴定出 8 个主要成分。

3.4 通关藤药材中主要成分的半定量分析

目前为止，已有多篇文献报道了通关藤药材中通关藤苷 I、通关藤苷 H、通关藤苷 A 等有效成分的含量测定方法^[10-14]，但针对多个主要成分间相对含量的比较研究尚属空白。本研究建立的半定量指纹图谱能够体现出谱图中各成分间的相对含量，因此结合对照品和成分的鉴定结果，对 S1~S16 样品中 8 个主成分进行半定量分析，旨在明确各主成分的相对含量分布特征。

通关藤主要活性成分为 C₂₁ 甾类化合物，其结构特征在于在 C-11 和 C-12 位取代基的多样性，如乙酰基 (Ac)、惕各酰基 (Tig)、苯甲酰基 (Bz) 和异丁酰基 (Bu) 等。通关藤苷 H 具有明确的抗肿瘤

的活性，结构中存在 C-11 和 C-12 位存在 Bu 取代和 Ac 取代，由于该成分缺乏共轭体系导致紫外吸收较弱，现有的含量测定方法多采用 ELSD 检测器。CAD 作为一种质量依赖的通用型检测器，不仅灵敏度高，且对不同类型化合物的响应因子一致性更优。为了进一步提升各成分响应因子的均一性，本研究采用了反梯度洗脱补偿技术，该方法在主泵运行分析梯度的基础上，通过副泵在另外一个型号相同的色谱柱上运行有机相比例相反的梯度程序，两流路经三通阀汇合后再进入 CAD 检测器。该色谱系统可确保各待测成分在进入检测器时处于相同比例的流动相环境中，显著提升雾化效率与响应因子的一致性。使色谱峰面积能更准确地反映各成分的相对含量，从而赋予所建立指纹图谱可靠的半定量功能。

图 7 为 13 批中药通关藤样品 (S1~S13) 和 3 批灵药牛奶菜样品 (S14~S16) 中 8 个主要成分的相对峰面积柱状图，结果显示，S6 号样品 8 个主要成分的总含量最高，S13 号样品成分的含量总量最低。尽管多

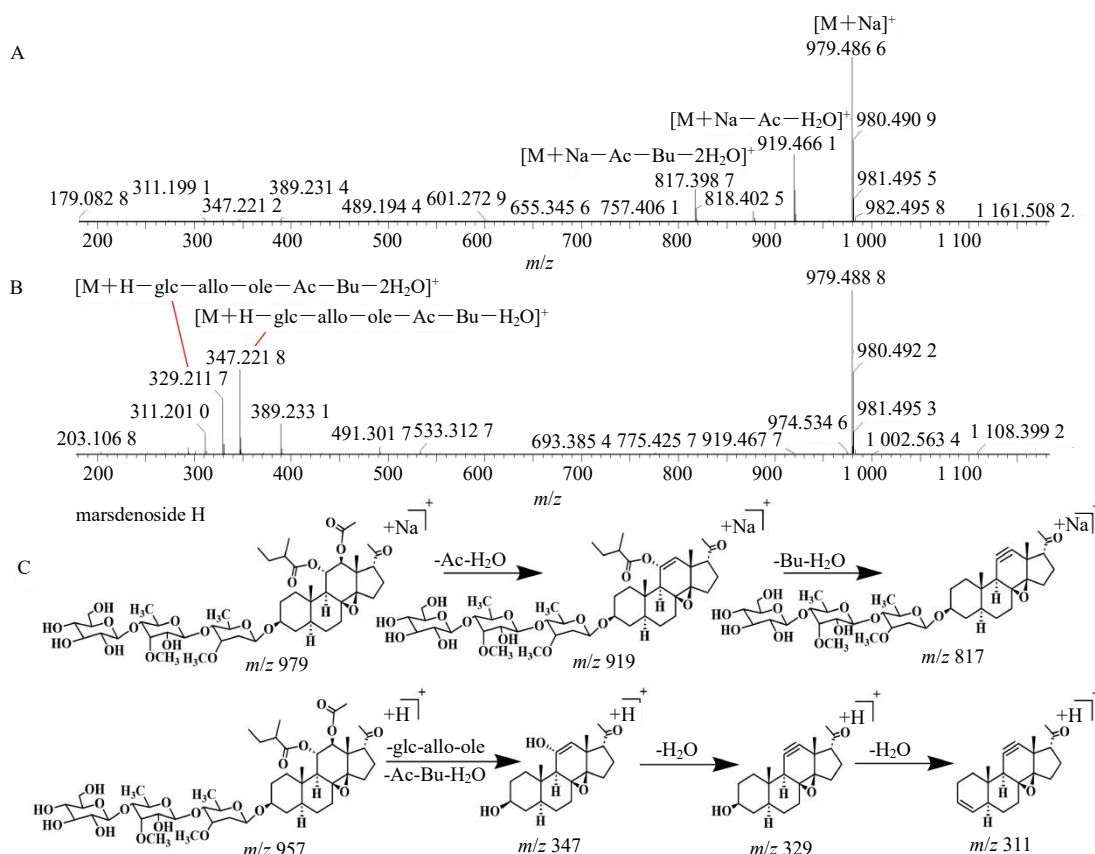


图 6 Marsdenoside H 高能级质谱图 (A)、低能级质谱图 (B) 和可能的裂解途径 (C)

Fig. 6 High-energy mass spectrum (A), low-energy mass spectrum (B) and proposed fragment pathway (C) of marsdenoside H

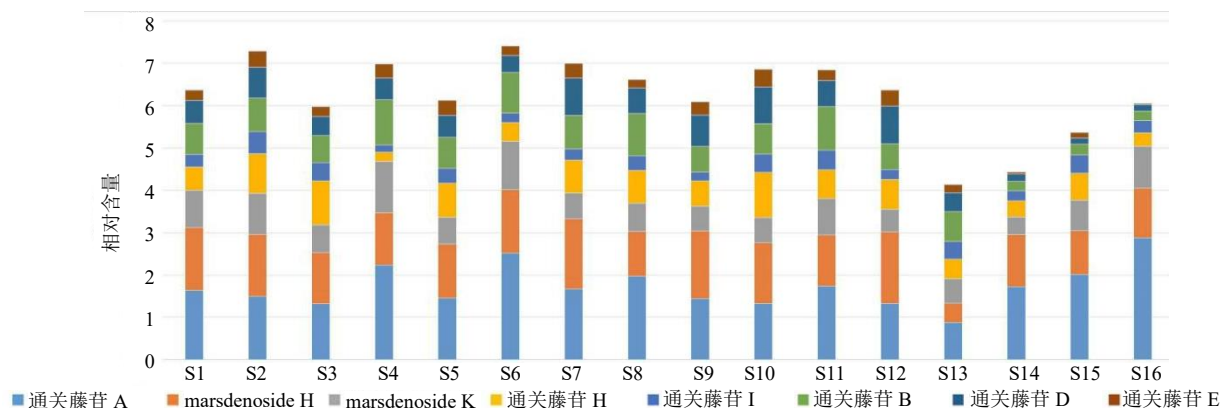


图 7 通关藤药材和灵药牛奶菜藤茎中主要成分相对含量

Fig. 7 Relative content of main components in Tong-guan-teng medicinal materials and stems of *M. cavaleriei*

批样品间存在一定个体差异,但 8 个主要成分的峰面积总和波动较小,表明不同批次样品的质量较为均一。将 S1~S16 样品成分的进行平均峰面积计算,可知通关藤中成分的平均含量(平均峰面积)由高到低为通关藤苷 A (1.724 5) > marsdenoside H (1.295 9) > marsdenoside K (0.751 7) > 通关藤苷 B (0.693 8) > 通关藤苷 H (0.652 6) > 通关藤苷 D (0.541 3) > 通关藤苷 I (0.331 1) > 通关藤苷 E (0.254 5)。

4 讨论

课题组前期基于常用傣药“傣百解”的基原订正研究发现了《中国植物志》的通光散 *Marsdenia tenacissima* 记述疑似有误,而 *Flora of China* 基于通光散物种 1819 年原始发表的形态记述,更正了通光散的植物描述,从而确认通光散是“傣百解”的基原^[7, 20],该研究结果已被即将出版的云南傣药标准收录。*Flora of China* 增加了灵药牛奶菜 *M. cavaleriei* 这一名称,将原来在《中国植物志》通光散名称下的形态描述置于灵药牛奶菜之下,本研究提出《中国药典》2025 年版中通关藤的基原也建议顺应 *Flora of China* 的正确订正,建议改为灵药牛奶菜。前期研究也对 2 个物种进行了系统的植物形态学比较和基于 psbD-trnT、trnL-trnF 和 ITS 3 个 DNA 片段的分子证据研究,确认二者为萝藦科牛奶菜属的 2 个近缘但独立的物种^[7],灵药牛奶菜广泛分布于广西、贵州和云南,与通关藤的药材产地重合,而通光散在中国仅见于云南和贵州的南部,为“傣百解”的药材产区。

本研究收集了中国食品药品检定研究院的通关藤对照药材和多渠道来源通关藤药材(包括成药生产企业的原料药材),建立了通关藤的 UHPLC-CAD 的指纹图谱,并形成了对照指纹图谱;经植物

学鉴定,采集了 3 批灵药牛奶菜 *M. cavaleriei* 藤茎,将其指纹谱图与通关藤药材对照指纹图谱,发现一致性良好,相似度均大于 0.85,且主成分含量较为一致;而采集的 3 批通光散 *M. tenacissima* 藤茎的指纹谱图与其完全不同,也不含其中 8 个主要 C₂₁ 甙类成分。

同属于萝藦科牛奶菜属 *Marsdenia* 的通光散和灵药牛奶菜均含有 C₂₁ 甙类成分,但两者 C₂₁ 甙的具体结构不同^[21-22]。已从灵药牛奶菜不同部位中共发现了 68 个化学成分,主要成分与本实验报道的 8 个 C₂₁ 甙一致^[23]。《中国药典》2025 年版将通关藤苷 H 作为通关藤质量控制的指标成分,本研究的药材半定量分析结果显示,其中通关藤苷 A、marsdenoside H、marsdenoside K 和通关藤苷 B 4 个 C₂₁ 甙的含量也普遍较高,而这 4 种成分均有抗肿瘤活性的报道,其作用机制可能与调节蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/糖原合酶激酶-3β (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)/信号转导和转录活化因子 3 (signal transducer and activator of transcription, STAT3) 信号轴、诱导癌症细胞凋亡密切相关^[24-25]。另外,本研究利用 UHPLC-CAD 结合反梯度补偿技术建立的半定量指纹图谱,不仅可以整体反映药材中各类成分的组成,也可直观反映各个峰间含量关系,是一种整体质量控制的方法。该文的研究结果也为提升通关藤的质量控制方法和标准奠定了良好基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 贾祎萍, 吴子薇, 李晓波, 等. 通关藤化学成分及其细胞毒性 [J]. 中成药, 2023, 45(9): 2910-2916.

- [2] Wang P L, Yang J, Zhu Z F, *et al.* *Marsdenia tenacissima*: A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *Am J Chin Med*, 2018: 1-32.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 317-318.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 63 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1977.
- [5] William Roxbujgh M D. *Plant of the coast of Coromandel: Vol. 3* [M]. London: W. Bulmer and Co., 1819, 35-36.
- [6] Flora of China Editorial Committee. *Flora of China* [M]. Beijing: Science Press, 1995, 16: 245.
- [7] 李金月, 谭运洪, 李海涛, 等. 基于分子与形态证据的傣药“傣百解”基原考证 [J]. 广西植物, 2023, 43(1): 32-42.
- [8] 于绍帅, 陈明苍, 李志雄, 等. 通关藤的化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 279-283.
- [9] 李双凤, 黄家彦, 韩笑, 等. 通关藤抗肿瘤主要成分及作用机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(1): 187-197.
- [10] 李思雨, 张冬月, 韩丽, 等. HPLC-DAD-ELSD 法同时测定 22 个产地通关藤中 3 种皂苷 [J]. 中成药, 2019, 41(5): 1144-1146.
- [11] 吕磊, 杨伟, 吴于初, 等. HPLC 法同时测定不同产地通关藤中通关藤苷 GIH 的含量 [J]. 解放军药科学学报, 2017, 33(4): 323-325.
- [12] 徐凯, 乔佳, 韩丽, 等. HPLC 法测定不同产地通关藤中通关藤苷 G 和 I 的含量 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(4): 607-610.
- [13] 陈敏, 李媛媛, 李先荣. HPLC 测定通关藤药材及消癌平片中通关藤苷 A 含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(3): 55-57.
- [14] 董占军, 安静, 王祁民, 等. UPLC-MS/MS 同时检测消癌平注射液通关藤苷 A、I、H 的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(3): 396-398.
- [15] 邹纯才, 鄢海燕. 我国中药色谱指纹图谱相似度评价方法 30 年 (1988—2017 年) 研究进展与展望 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(10): 1969-1977.
- [16] Eom H Y, Park S Y, Kim M K, *et al.* Comparison between evaporative light scattering detection and charged aerosol detection for the analysis of saikosaponins [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(26): 4347-4354.
- [17] 卢彭信, 李港, 郑伟, 等. 超高效液相色谱-电雾式检测器测定福建产绞股蓝中绞股蓝皂苷 XLVI 和 LVI [J]. 色谱, 2022, 40(9): 833-842.
- [18] 南易, 郑伟, 马凤霞, 等. HPLC-CAD 同时测定知母中芒果苷和知母皂苷 B II 的含量 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41(1): 111-116.
- [19] 石宇浩, 南易, 郑伟, 等. 酸枣仁种皮和种仁化学成分的定位及半定量分析 [J]. 色谱, 2024, 42(3): 234-244.
- [20] 李海涛, 康利平, 郭宝林, 等. 常用傣药“傣百解”的基原考证 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(8): 781-792.
- [21] Pang X, Kang L P, Fang X M, *et al.* C(21) steroid derivatives from the Dai herbal medicine Dai-Bai-Jie, the dried roots of *Marsdenia tenacissima*, and their screening for anti-HIV activity [J]. *J Nat Med*, 2018, 72(1): 166-180.
- [22] Pang X, Kang L P, Fang X, *et al.* Polyoxypregnane glycosides from the roots of *Marsdenia tenacissima* and their anti-HIV activities [J]. *Planta Med*, 2017, 83(1/02): 126-134.
- [23] Nan Y, Song J, Liang H Z, *et al.* Qualitative and quantitative analyses of chemical components in different parts of *Marsdenia cavaleriei* [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2025, 1259: 124617.
- [24] Li X L, He S H, Liang W, *et al.* *Marsdenia tenacissima* injection induces the apoptosis of prostate cancer by regulating the Akt/GSK3 β /STAT3 signaling axis [J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(2): 113-126.
- [25] 刘丽, 彭雨晴, 杨晨欣, 等. 消癌平抗肿瘤药理作用及机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(2): 526-538.

[责任编辑 时圣明]