

基于 HPLC 指纹图谱与 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS 的太子参不同加工品的非挥发性成分研究

刘自强^{1,2}, 韩童童^{1,2*}, 金梦蕾^{1,2}, 吴诗澳^{1,2}, 谌瑞林^{1,2*}

1. 经典名方现代中药创制全国重点实验室, 江西 南昌 330004

2. 江中药业股份有限公司, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 分析太子参 *Pseudostellariae Radix* 不同加工品的非挥发性成分差异。方法 采用晒干、阴干、低温烘干、高温烘干、略烫后晒干对太子参新鲜块根加工, 得到 5 种太子参不同加工品。建立太子参药材 HPLC 指纹图谱, 通过相似度评价法分析太子参不同加工品整体内在成分的均一性。采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱/质谱 (UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS) 鉴定太子参药材 95%乙醇提取物中的环肽类成分, 并凭借聚类分析和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 揭示太子参不同加工品的环肽类成分差异。**结果** 建立的指纹图谱具有重复性好、色谱峰分离度高的优点; 从不同加工品中共筛选得到 20 个共有色谱峰; 有 2 个峰为略烫后晒干品新生成的特有色谱峰; 各类太子参加工品的指纹图谱相似度均超过 0.97。从太子参药材中共鉴定得到 14 个环肽类成分, 分别为太子参环肽 A (heterophyllin A, HA)、太子参环肽 B (heterophyllin B, HB)、太子参环肽 C (heterophyllin C, HC)、太子参环肽 D (heterophyllin D, HD)、太子参环肽 J (heterophyllin J, HJ)、太子参环肽甲 (pseudostellarin A, PA)、太子参环肽乙 (pseudostellarin B, PB)、太子参环肽丙 (pseudostellarin C, PC)、太子参环肽丁 (pseudostellarin D, PD)、太子参环肽戊 (pseudostellarin E, PE)、太子参环肽己 (pseudostellarin F, PF)、太子参环肽庚 (pseudostellarin G, PG)、太子参环肽辛 (pseudostellarin H, PH) 及新的环肽类化合物 (pseudostellarin L, PL)。经聚类分析, 干燥温度、是否经过沸水烫处理对太子参环肽类成分的影响较大。与低温烘干品相比, 高温烘干品中 HA、HB、HD、HJ、PA、PF、PG、PE、PL 的含量明显较低; 与晒干品相比, 略烫后晒干品中 HA、HB、HC、HD、HJ、PA、PF、PG 的含量明显较低, PB、PC、PD、PE、PH、PL 这 6 种环肽成分的差异却不显著。**结论** 建立的 HPLC 指纹图谱可用于太子参不同加工品的内在成分分析, 为太子参质量控制提供了技术手段。产地加工对太子参药材环肽类成分的影响较显著, 太子参加工环节的合理化与标准化需要得到关注与重视。

关键词: 太子参; HPLC; 指纹图谱; UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS; 环肽; 产地加工; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)20-7321-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.006

Study on non-volatile components of different processed products of *Pseudostellariae Radix* based on HPLC fingerprint and UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS

LIU Ziqiang^{1,2}, HAN Tongtong^{1,2}, JIN Menglei^{1,2}, WU Shiao^{1,2}, CHEN Ruilin^{1,2}

1. State Key Laboratory for the Modernization of Classical and Famous Prescriptions of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Jiangzhong Pharmaceutical Co., Ltd., Nanchang 330004, China

Abstract: Objective The differences of non-volatile components in different processed products of Taizishen (*Pseudostellariae Radix*, PR) were analyzed. **Methods** Five different processed products of PR were obtained by drying in the sun, drying in the shade, low temperature drying, high temperature drying, and drying in the sun after slightly scalding. The HPLC fingerprint of PR was established, and then the homogeneity of the internal components of different processed products of PR was analyzed by similarity

收稿日期: 2025-06-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960715); 江西省重点研发计划“揭榜挂帅”项目 (20223BBG71001)

作者简介: 刘自强 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药鉴定。E-mail: 1724141846@qq.com

*通信作者: 谌瑞林, 主任中药师, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: 409919538@qq.com

韩童童, 研究方向为中药炮制。E-mail: hantongtong1@crjz.com

evaluation method. UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS was used to identify the cyclic peptides in 95% ethanol extract of PR. Cluster analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were used to reveal the differences of cyclic peptides in different processed products of PR. **Results** The established fingerprint has the advantages of good repeatability and high resolution of chromatographic peaks. A total of 20 common chromatographic peaks were screened from different processed products. There were two unique chromatographic peaks newly generated from sun-dried products after slight scalding. The similarity of fingerprints of all kinds of processed products of PR exceeded 0.97. A total of 14 cyclic peptide components were identified from PR. They were heterophyllin A (HA), heterophyllin B (HB), heterophyllin C (HC), heterophyllin D (HD), heterophyllin J (HJ), pseudostellarin A (PA), pseudostellarin B (PB), pseudostellarin C (PC), pseudostellarin D (PD), pseudostellarin E (PE), pseudostellarin F (PF), pseudostellarin G (PG), pseudostellarin H (PH) and pseudostellarin L (PL). Cluster analysis showed that the drying temperature and boiled water treatment had a great effect on the cyclic peptide components of PR. Compared with low temperature drying products, the contents of HA, HB, HD, HJ, PA, PF, PG, PE and PL in high temperature drying products were significantly lower. Compared with sun-dried products, the contents of HA, HB, HC, HD, HJ, PA, PF and PG in sun-dried products after blanching were significantly lower, while the differences of PB, PC, PD, PE, PH and PL were not significant. **Conclusion** The established HPLC fingerprint can be used to analyze the internal components of different processed products of PR, which provides a technical means for the quality control of PR. The processing in the producing area has a significant effect on the cyclic peptide components of PR, and the rationalization and standardization of the processing of PR need to be paid attention to.

Key words: *Pseudostellariae Radix*; HPLC; fingerprint; UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS; cyclic peptide; origin processing; orthogonal partial least squares-discriminant analysis

太子参 *Pseudostellariae Radix* (PR) 为石竹科孩儿参属植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根^[1]。《中国药典》2025年版规定太子参药材加工方式为“置沸水中略烫后晒干或直接晒干”，目前，太子参产地加工干燥方式主要有晒干、阴干、不同温度烘干、略烫后晒干。经产地与市场调研，多数种植户或药材公司选择太子参干燥处理方式时，较为兼顾效率、成本、价格等因素，却不重视加工干燥条件对药材内在质量的影响。查阅文献发现，目前已有多位学者针对太子参不同加工品的水分、总多糖含量、浸出物含量等质量参数差异开展了分析与评价^[2-3]，针对产地加工方式（尤其是《中国药典》2025年版规定的“置沸水中略烫后晒干”法）对太子参药材内在成分影响的研究则较少。

前期团队分析了太子参不同加工品的气味^[4]，发现加工方式能显著影响太子参药材的挥发性成分。本实验针对非挥发性成分开展系列研究，旨在促进太子参药材加工干燥环节的标准化，为提高相关产品质量的均一性和可控性服务。指纹图谱能够较为全面地反映中药材的整体内在成分^[5]，目前常被用于原料药材及产品的鉴定、溯源及质量控制，本实验优化并建立太子参药材 HPLC 指纹图谱，通过相似度评价法揭示了不同加工品整体内在成分的均一性。太子参环肽为太子参中的独特成分，且具备抗慢性肺阻塞^[6]、抗癌^[7]、改善记忆^[8]等活性，因

此，本次实验采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱/质谱 (UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS) 对药材中各种环肽类成分进行分析与鉴定，结合聚类分析、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 初步探讨了加工方式对太子参中各种环肽类成分的影响。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BO-200FL 型鼓风干燥箱，上海贝茵生物科技有限公司；A11 型基本型研磨粉碎机，德国艾卡集团；IQ7000/ELix5UV 型超纯水机，厦门精艺兴业科技有限公司；MSA224S-CE 型万分之一分析天平，MSA6.6S-0CE-DM 型百万分之一分析天平，德国赛多利斯集团；SB-500DTY 型超声波清洗机，宁波新芝生物科技股份有限公司；HH-6 型水浴锅，国华（常州）仪器制造有限公司；UltiMate3000 型标准四元梯度高效液相色谱仪，QE plus 型超高效二维液相-高分辨质谱联用仪，美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 材料

对照品太子参环肽 B (heterophyllin B, HB)，批号 RDD-T02402401030，质量分数 98.47%，成都瑞芬思德丹生物科技有限公司；对照品太子参环肽 A (heterophyllin A, HA，批号 200178-202408，质量分数 97.75%)、太子参环肽庚 (pseudostellarin G, PG，批号 200179-202408，质量分数 97.43%)，森

岚科技有限公司；乙腈，色谱纯，批号 11219030，德国默克集团；95%乙醇，分析纯，批号 20241012，广东光华科技股份有限公司；磷酸，色谱纯，批号 226578，美国赛默飞世尔科技公司；甲酸，色谱纯，批号 WLN2501240002，天津市大茂化学试剂有限公司。太子参药材种植于福建省柘荣县太阳村太子参种植基地，当地具有丰富种植经验的人员对种植过程管理。2023年7月上旬到达当地传统采收期后，课题组前往种植基地对块根进行人工采挖，采挖后的块根初步抖净泥土后装入编织袋并标记，经江西中医药大学药学院吴志瑰副教授鉴定，为石竹科孩儿参属植物孩儿参 *P. heterophylla* (Miq.) Pax et Hoffm. 的新鲜块根。

2 方法和结果

2.1 药材加工

将采挖的太子参新鲜块根洗净并沥干，分别加工得到 23 批次太子参药材样品，其中晒干品 5 批、阴干品 3 批、低温烘干品 5 批、高温烘干品 4 批、略烫后晒干品 6 批。具体加工方法和编号信息见表 1。性状鉴定结果显示，太子参药材呈纺锤形或细长条形，稍弯曲，长 3~9 cm，直径 0.3~0.5 cm，具深浅不一的纵皱纹。晒干品、阴干品、低温烘干品表面呈黄白色；高温烘干品表面呈深黄色至红棕色，质地较硬而脆；略烫后晒干品表面呈浅黄色，质地较紧实，外皮出现明显破碎。不同加工品的图像见图 1。

表 1 加工方法及编号信息

Table 1 Processing method and numbering information

样品	操作方法	编号
晒干品 (SG)	将洗净的太子参块根置于阳光房中，充分摊开，曝晒 4~5 d 至块根干燥，搓去参须	SG1~SG5
阴干品 (YG)	将洗净的太子参块根置于通风、阴暗、干燥的室内，充分摊开，待块根干燥后搓去参须	YG1~YG3
低温烘干品 (DW)	打开鼓风干燥烘箱，温度升至 50 °C，将洗净的太子参块根置于烘箱中，充分摊开，连续烘 22~24 h 至块根干燥，搓去参须	DW1~DW5
高温烘干品 (GW)	打开鼓风干燥烘箱，温度升至 90 °C，将洗净的太子参块根置于烘箱中，充分摊开，连续烘 3 h 左右至块根干燥，搓去参须	GW1~GW4
略烫后晒干品 (LT)	将洗净的太子参块根置于沸水中略烫 60 s 后捞出，移置阳光房中，充分摊开，曝晒 4~5 d 至块根干燥，搓去参须	LT1~LT6

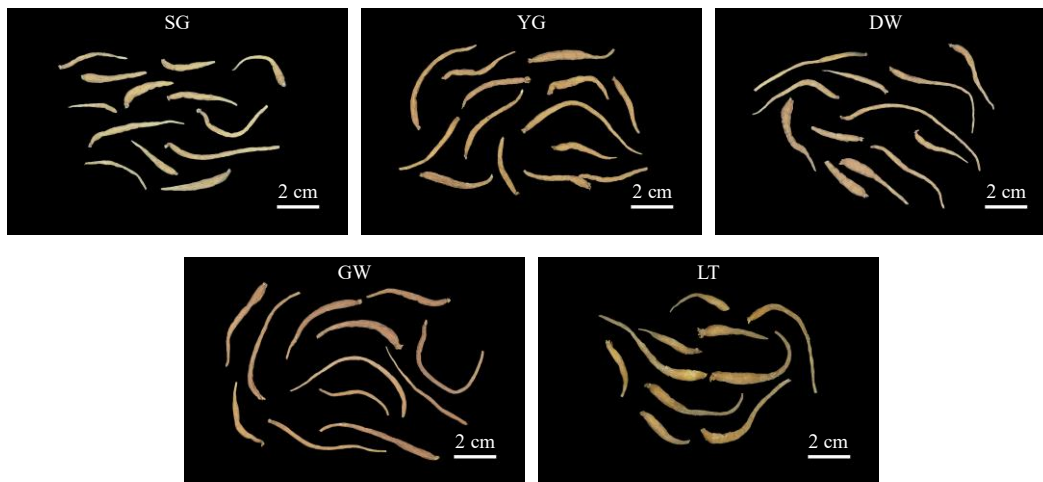


图 1 太子参不同加工品的图片

Fig. 1 Pictures of different processed products of PR

2.2 太子参不同加工品的 HPLC 指纹图谱建立

2.2.1 供试品溶液的制备 取太子参药材粉末（过三号筛）约 4 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加 95%乙醇 70 mL，超声处理（频率 40 kHz、功率 600 W）1 h，放冷，滤过，用 95%乙醇洗涤多次，合并滤液与洗液，蒸干，加 20%乙腈溶液，转移至 5 mL

量瓶中，定容，摇匀，即得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 取 HA、HB、PG 对照品适量，精密称定，加甲醇分别制成含 HA 80 μg/mL、HB 200 μg/mL、PG 80 μg/mL 的混合对照品溶液，即得对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse

Plus C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~30 min, 10%~16%乙腈; 30~51 min, 16%~23%乙腈; 51~101 min, 23%~43%乙腈; 101~105 min, 43%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样量 20 μL; 检测波长: 0~10.5 min, 220 nm; 10.5~51.0 min, 270 nm; 51.0~105 min, 203 nm。

2.2.4 进样分析 取太子参药材, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.2”项下方法制备混合对照品溶液, 用孔径为 0.22 μm 的滤膜滤过,

取续滤液, 按照“2.2.3”项下方法设置色谱条件后, 进样分析。

2.2.5 共有色谱峰指认 取 23 批次太子参药材供试品溶液及混合对照品溶液, 进样分析, 导出色谱图。根据结果从样品中筛选出 1~4、7~22 这 20 个共有色谱峰, 结合对照品的保留时间, 其中 19、21、22 号峰分别被指认为 HB、HA、PG。

另外, 5、6 号峰为略烫后晒干品新生成的特有色谱峰, 可作为该加工品的识别依据。样品和对照品色谱图见图 2。

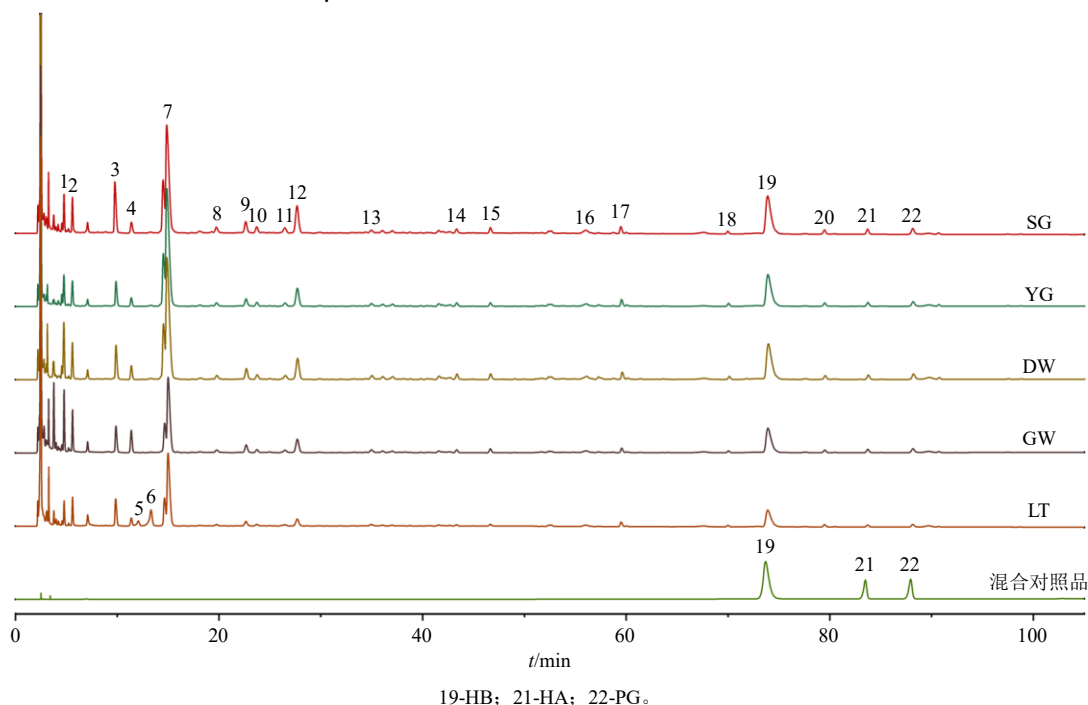


图 2 太子参不同加工品及混合对照品的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of different processed products and reference substances of PR

2.2.6 精密度试验 取太子参药材样品, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件重复分析 6 次, 以 19 号峰为参照, 统计各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 计算 RSD 值范围分别为 0.01%~0.05%、0.06%~0.52%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取太子参药材样品, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别在制备后 0、3、6、12、18、24 h, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样分析 6 次, 以 19 号峰为参照, 统计各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 计算 RSD 值范围分别为 0.01%~0.07%、0.11%~0.96%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 取 5 份来自于同一批次的太子

参药材, 分别按照“2.2.1”项下方法制备 5 份供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件分别进样分析 5 次, 以 19 号峰为参照, 统计各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 计算 RSD 值范围分别为 0.01%~0.09%、0.22%~4.05%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.9 太子参不同加工品指纹图谱相似性评价结果 将 23 批次加工品的色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统, 剪切除去前 3 min 的干扰峰, 将 DW1 作为参照图谱, 采用多点校正, 以 20 个共有色谱峰作为 Mark 峰进行匹配, 生成对照指纹图谱 (R, 图 3), 计算相似度。结果显示, 建立的指纹图谱可用于太子参药材的整体质量评价。较参照图谱, 各批药材的相似度均达到 0.970 以上, 即便

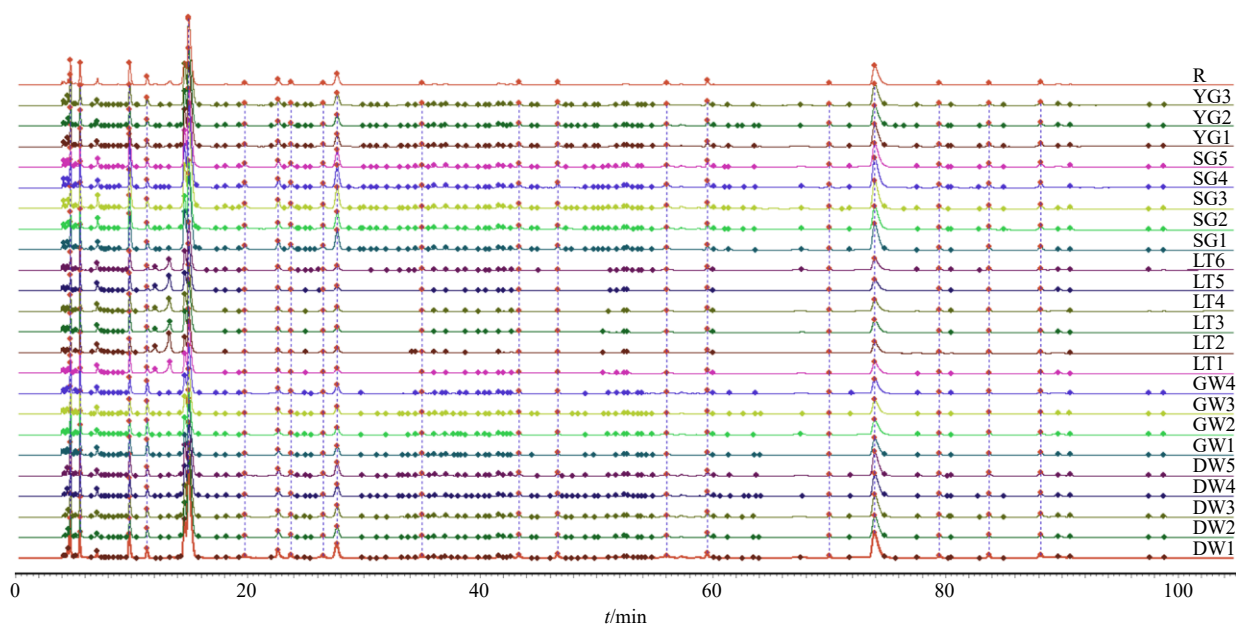


图3 23批次太子参不同加工品的HPLC指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprints of 23 batches of different processed products of PR

经沸水烫处理再进行晒干的太子参药材的相似度亦达到 0.990 以上, 说明太子参各类加工品之间的质量一致性均较好, 加工方式对太子参药材整体内在成分的影响较小。相似度评价结果见表 2。

表2 各批次样品指纹图谱与参照图谱的相似度计算结果
Table 2 Similarity calculation results of fingerprint of each batch of samples and reference fingerprint

批次	相似度	批次	相似度	批次	相似度	批次	相似度
DW1	1.000	GW2	0.973	LT4	0.991	SG4	0.975
DW2	0.998	GW3	0.981	LT5	0.991	SG5	0.987
DW3	0.998	GW4	0.985	LT6	0.991	YG1	0.995
DW4	0.998	LT1	0.992	SG1	0.983	YG2	0.994
DW5	0.999	LT2	0.992	SG2	0.972	YG3	0.995
GW1	0.983	LT3	0.991	SG3	0.987	R	0.997

2.3 太子参不同加工品的环肽类成分分析

2.3.1 供试品溶液的制备 同“2.2.1”项下的内容。

2.3.2 对照品溶液的制备 同“2.2.2”项下的内容。

2.3.3 色谱条件 色谱柱为 Evosphere Aqua C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈; 梯度洗脱: 0~2.0 min, 5% 乙腈; 2.0~42.0 min, 5%~95% 乙腈; 42.0~47.0 min, 95% 乙腈; 47.0~47.1 min, 95%~5% 乙腈; 47.1~50.0 min, 5% 乙腈; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 5 μL。

2.3.4 质谱条件 离子源为电喷雾离子源 (ESI); 扫描模式为正离子; 扫描范围为 *m/z* 100~1 500;

喷雾电压 3 500 V; 鞘气体积流量 35 mL/min; 毛细管温度 320 °C。

2.3.5 进样分析 取太子参药材, 按照“2.3.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.3.2”项下方法制备对照品溶液, 用孔径为 0.22 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按照“2.3.3”“2.3.4”项下方法分别设置色谱、质谱条件后, 进样分析。

2.3.6 太子参环肽类成分鉴定结果 将测得的 23 批太子参 95% 乙醇提取物的液质联用分析数据导入 Xcalibur 4.2 软件, 根据文献建立太子参化学成分质谱解析数据库, 结合保留时间、质荷比、二级碎片等信息, 鉴定提取物中的环肽类成分, 并统计各环肽的提取峰面积响应值, 其中 HB、HA、PG 根据对照品的质谱信息进行鉴定与确认。结果显示, 太子参环肽主要集中于洗脱程序中的 12~24 min 保留时间段, 从 5 种太子参加工品中鉴定出了 14 个环肽类成分, HA、HB、PE、PG 这 4 个环肽类成分的峰面积响应较高, 占有被鉴定环肽类成分峰面积的 80%, 占比最低的环肽为 PH。总离子流图见图 4, 各环肽的基本信息见表 3, 成分鉴定结果见表 4, 成分的峰面积见图 5。

2.3.7 太子参不同加工品环肽类成分的聚类分析 将 23 批次药材提取物的各化合物的提取峰面积数据导入 Origin Pro 2021 软件, 采用 Z 分数归一化处理后进行聚类分析并绘制聚类分析热图 (图 6)。热图显示, 阴干品 YG1~YG3、晒干品 SG1~SG5、

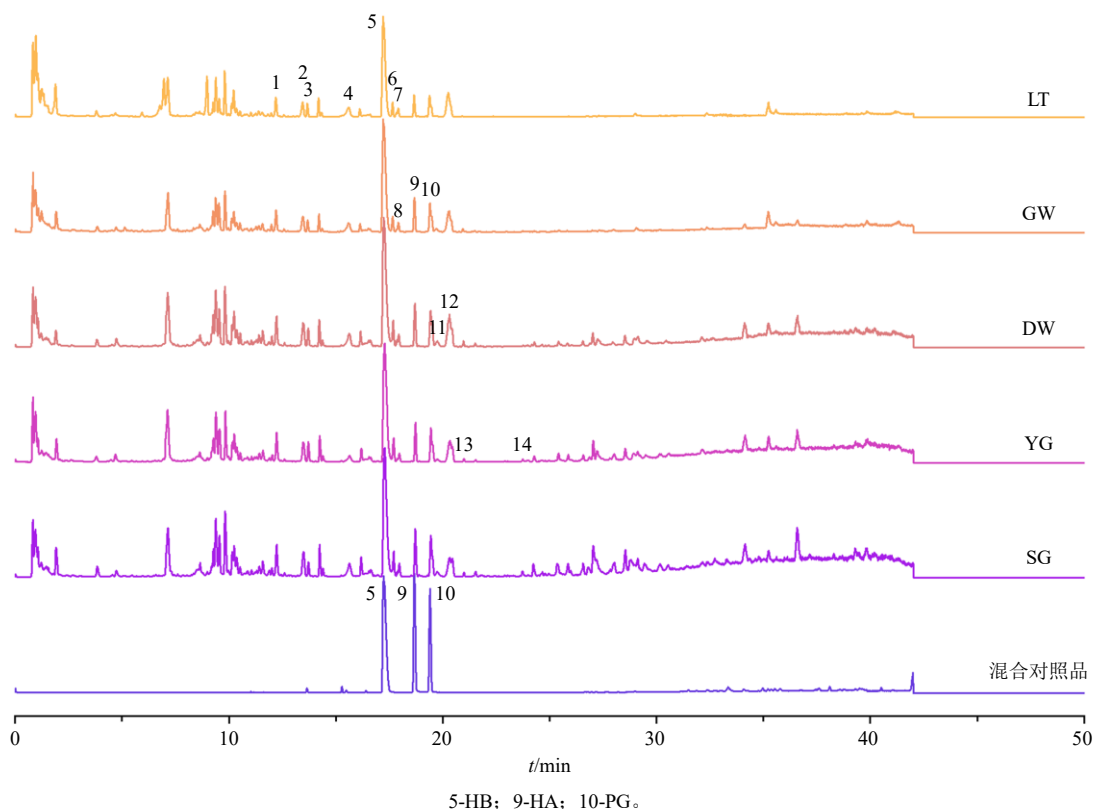


图 4 太子参不同加工品的非挥发性成分总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatogram of non-volatile components in different processed products of PR

表 3 太子参中环肽类成分的基本信息

Table 3 Basic information of cyclic peptide components in PR

峰号	中文名称	英文名称	简称	分子式	氨基酸序列
1	太子参环肽J	heterophyllin J	HJ	C ₂₄ H ₃₃ N ₅ O ₆	cyclo[Ala-Gly-Pro-Val-Tyr]
2	新的环肽类化合物	pseudostellarin L	PL	C ₃₀ H ₃₇ N ₅ O ₆	cyclo[Pro-Gly-Tyr-Phe-Val]
3	太子参环肽甲	pseudostellarin A	PA	C ₂₅ H ₃₅ N ₅ O ₆	cyclo[Gly-Pro-Tyr-Leu-Ala]
4	太子参环肽乙	pseudostellarin B	PB	C ₃₃ H ₄₆ N ₈ O ₈	cyclo[Gly-Ile-Gly-Gly-Gly-Pro-Pro-Phe]
5	太子参环肽B	heterophyllin B	HB	C ₄₀ H ₅₈ N ₈ O ₈	cyclo[Gly-Gly-Leu-Pro-Pro-Pro-Leu-Phe]
6	太子参环肽己	pseudostellarin F	PF	C ₃₈ H ₅₆ N ₈ O ₁₀	cyclo[Gly-Gly-Tyr-Leu-Pro-Pro-Leu-Ser]
7	太子参环肽丁	pseudostellarin D	PD	C ₃₆ H ₅₅ N ₇ O ₈	cyclo[Gly-Tyr-Gly-Pro-Leu-Ile-Leu]
8	太子参环肽丙	pseudostellarin C	PC	C ₄₀ H ₆₀ N ₈ O ₁₀	cyclo[Gly-Thr-Leu-Pro-Ser-Pro-Phe-Leu]
9	太子参环肽A	heterophyllin A	HA	C ₃₇ H ₅₇ N ₇ O ₈	cyclo[Thr-Pro-Val-Leu-Phe-Gly-Leu]
10	太子参环肽庚	pseudostellarin G	PG	C ₄₂ H ₅₆ N ₈ O ₉	cyclo[Pro-Phe-Ser-Phe-Gly-Pro-Leu-Ala]
11	太子参环肽辛	pseudostellarin H	PH	C ₄₄ H ₆₀ N ₈ O ₁₀	cyclo[Gly-Thr-Pro-Thr-Pro-Leu-Phe-Phe]
12	太子参环肽戊	pseudostellarin E	PE	C ₄₅ H ₆₇ N ₉ O ₉	cyclo[Gly-Pro-Pro-Leu-Gly-Pro-Val-Ile-Phe]
13	太子参环肽D	heterophyllin D	HD	C ₃₅ H ₄₈ N ₆ O ₇	cyclo[Gly-Phe-Ile-Thr-Val-Phe]
14	太子参环肽C	heterophyllin C	HC	C ₃₆ H ₆₁ N ₇ O ₇	cyclo[Leu-Gly-Pro-Ile-Ile-Pro-Ile]

低温烘干品 DW1~DW5 这 3 组加工品之间的距离较为接近且聚为一类, 高温烘干品 GW1~GW4、略烫后晒干品 LT1~LT6 分别各自聚为一类, 结果说明干燥温度、是否经过沸水烫处理这 2 个因素对太子参药材的环肽类成分具有较大影响。

2.3.8 干燥温度、是否经沸水烫处理对太子参环肽

类成分的影响 为了明确是否经过沸水烫、干燥温度这 2 个因素对太子参药材环肽类成分的具体影响, 分别建立低温烘干品与高温烘干品、晒干品与略烫后晒干品的环肽类成分 OPLS-DA 模型, 进行 200 次置换检验, 确认 2 组判别分析模型均未出现过拟合, 获取变量重要性投影 (variable importance

表4 太子参中环肽类成分的鉴定结果

Table 4 Identification results of cyclic peptides in PR

序号	tr/ min	化合物	离子模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片
1	12.23	HJ ^[6]	[M+H] ⁺	488.250 4	488.250 0	-0.80	70.065 8, 169.133 4, 297.191 7
2	13.42	PL ^[6]	[M+H] ⁺	564.281 7	564.280 7	-1.70	70.065 7, 155.081 4, 318.144 5, 465.213 9, 536.286 7
3	13.48	PA ^[6]	[M+H] ⁺	502.266 0	502.265 6	-0.76	70.065 8, 233.128 1, 361.186 4, 474.270 8
4	15.65	PB ^[6,9]	[M+H] ⁺	683.351 1	683.350 7	-0.70	120.080 8, 212.139 0, 302.149 6, 399.197 5, 513.241 5, 570.266 0, 665.355 0
5	17.28	HB ^[6,9-10]	[M+H] ⁺	779.445 0	779.444 8	-0.36	377.254 9, 405.249 1, 569.309 0, 751.449 0
6	17.70	PF ^[6]	[M+H] ⁺	785.419 2	785.419 0	-0.34	308.196 3, 672.334 9, 757.421 9
7	17.88	PD ^[6,9-10]	[M+H] ⁺	714.418 5	714.418 2	-0.47	136.075 6, 155.081 4, 183.148 9, 211.143 9, 324.227 6, 573.338 2, 601.334 4
8	17.97	PC ^[11]	[M+H] ⁺	813.450 5	813.450 4	-0.09	358.211 8, 471.229 2, 629.363 2
9	18.72	HA ^[9,11]	[M+H] ⁺	728.434 1	728.433 7	-0.67	197.128 2, 310.212 4, 419.227 7, 457.280 4, 514.301 1, 627.384 0
10	19.45	PG ^[9]	[M+H] ⁺	817.424 3	817.424 1	-0.21	245.128 3, 332.159 8, 536.249 4, 746.381 7
11	19.82	PH ^[10]	[M+H] ⁺	861.450 5	861.450 0	-0.59	294.181 1, 663.348 8
12	20.33	PE ^[6,9]	[M+H] ⁺	878.513 5	878.513 1	-0.38	252.133 9, 365.217 9, 616.359 5, 765.429 0, 674.421 5
13	20.99	HD ^[6,9]	[M+H] ⁺	665.365 7	665.365 3	-0.64	330.181 2, 387.202 2, 534.270 6, 647.355 0
14	23.95	HC ^[12]	[M+Na] ⁺	726.452 5	726.445 7	-9.36	268.165 4, 381.210 2, 437.274 0, 494.296 8, 534.324 4, 591.349 0

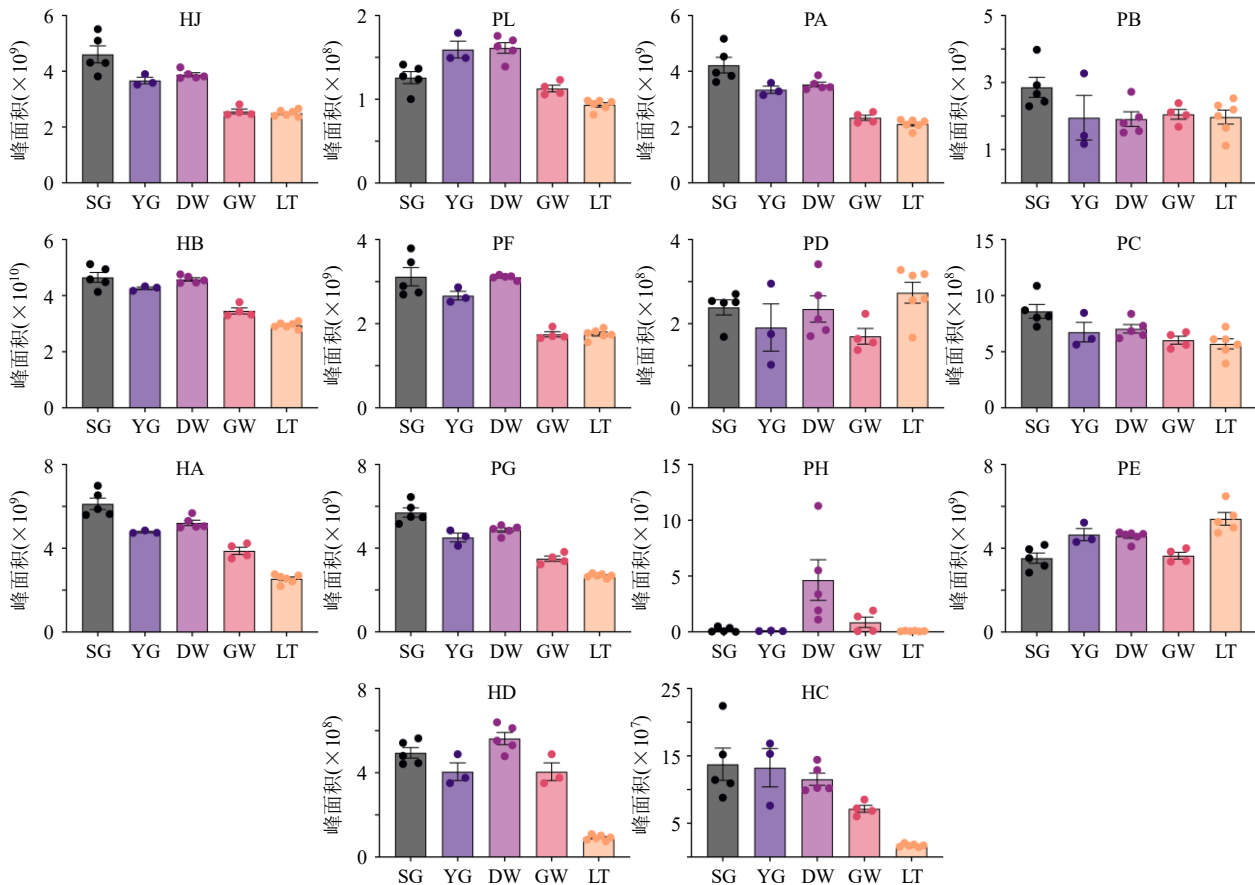


图5 太子参不同加工品环肽类成分的峰面积

Fig. 5 Peak area of cyclic peptide components in different processed products of PR

for projection, VIP) 值。此外, 分别对低温烘干品与高温烘干品、晒干品与略烫后晒干品的环肽类成分峰面积响应值进行独立样本 *t* 检验 ($\alpha=0.05$), 获

取 *P* 值。以 $VIP>1$ 且 $P<0.05$ 为标准, 将符合标准的成分视为主要差异成分。2 组比较分析的置换检验图、得分散点图分别见图 7、8, 低温烘干品与高

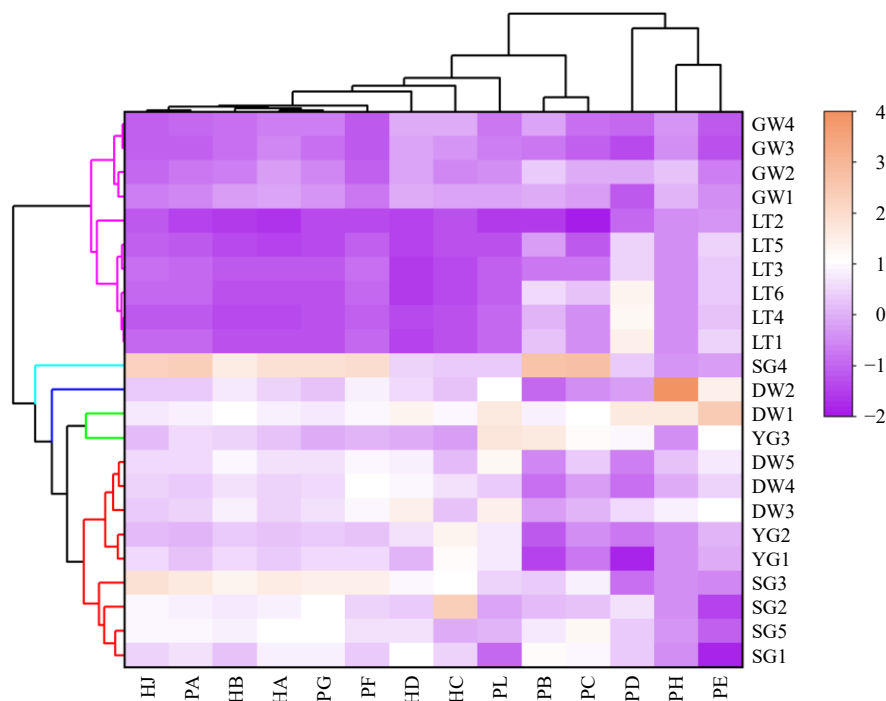


图 6 太子参不同加工品环肽成分差异的聚类分析热图

Fig. 6 Cluster analysis heat map of difference of cyclic peptide components in different processed products of PR

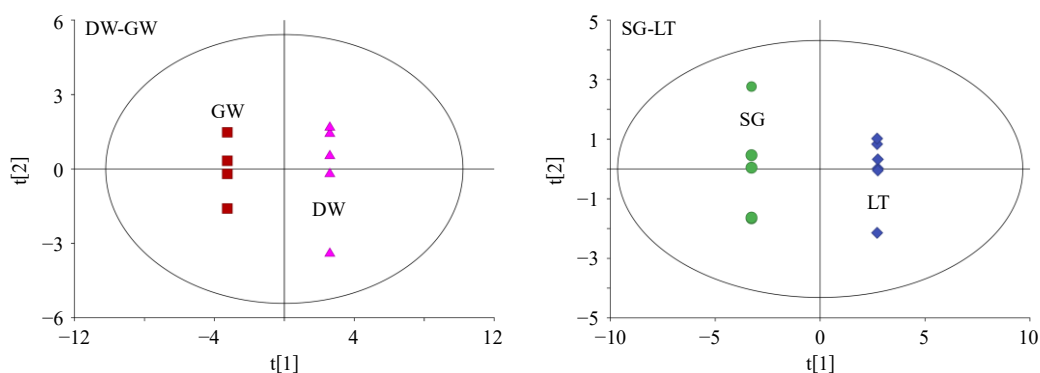


图 7 太子参不同加工品环肽成分差异的 OPLS-DA 的得分散点图

Fig. 7 Score scatter diagrams of OPLS-DA for difference of cyclic peptide components in different processed products of PR

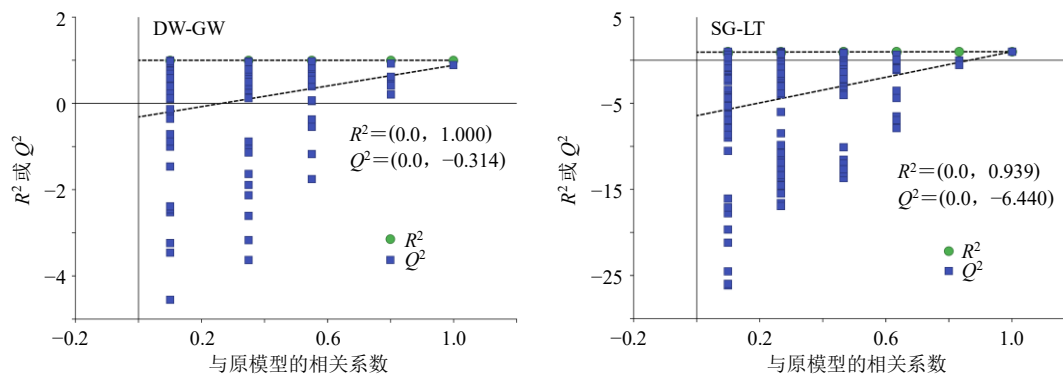


图 8 太子参不同加工品环肽成分差异的 OPLS-DA 的置换检验图

Fig. 8 Permutation test diagrams of OPLS-DA of difference of cyclic peptide components in different processed products of PR

温烘干品比较分析的 VIP、P 值见表 5，晒干品与略烫后晒干品比较分析的 VIP、P 值见表 6。低温烘干

品与高温烘干品的主要差异环肽类成分为 HA、HB、HD、HJ、PA、PF、PG、PE、PL 这 9 种，相较于低

表5 低温烘干品与高温烘干品之间环肽类成分差异分析的VIP、P值

Table 5 VIP value and P value of cyclic peptide composition difference analysis between low temperature drying products and high temperature drying products

成分	VIP值	P值	成分	VIP值	P值
HJ	1.177	<0.001	PC	0.706	0.091
PL	1.105	<0.001	HA	1.112	<0.001
PA	1.158	<0.001	PG	1.150	<0.001
PB	0.229	0.605	PH	0.668	0.110
HB	1.162	<0.001	PE	1.052	0.002
PF	1.197	<0.001	HD	1.114	0.001
PD	0.640	0.123	HC	0.976	0.007

表6 晒干品与略烫后晒干品之间环肽类成分差异分析的VIP、P值

Table 6 VIP value and P value of cyclic peptide composition difference analysis between sun-dried products and sun-dried products after slight scalding

成分	VIP值	P值	成分	VIP值	P值
HJ	1.107	0.002	PC	0.945	0.006
PL	0.998	0.008	HA	1.164	<0.001
PA	1.115	0.001	PG	1.168	<0.001
PB	0.762	0.043	PH	0.502	0.275
HB	1.145	<0.001	PE	0.973	0.009
PF	1.089	0.003	HD	1.175	<0.001
PD	0.408	0.287	HC	1.049	0.007

温烘干品，高温烘干品中这9个环肽的峰面积响应均显著降低，即高温干燥条件可能会使太子参药材中的这些环肽损失。略烫后晒干品较晒干品主要差异成分为HA、HB、HC、HD、HJ、PA、PF、PG这8种环肽，其峰面积响应均显著较低，占比约为0.42、0.63、0.14、0.18、0.61、0.50、0.56、0.47；PB、PC、PD、PE、PH、PL这6种环肽的含量差异不明显。结果说明，相较于直接晒干品，经沸水略烫再晒干处理并未使太子参药材中所有环肽类成分损失，以HC、HD为代表的8种环肽得到大量流失，以PD、PE为代表的6种环肽却可能得到较好地保留。

2.4 太子参不同部位的环肽类成分分析

“2.3”项下的实验发现，较晒干品，沸水烫处理并非使太子参中所鉴定得到的所有环肽类成分大量流失，其中6种环肽成分的差异不显著，其内在原理或机制值得深入探讨。

2.4.1 样品处理 取太子参新鲜块根，按图9示意的操作分离出外皮、木心部位，按低温烘干法处理

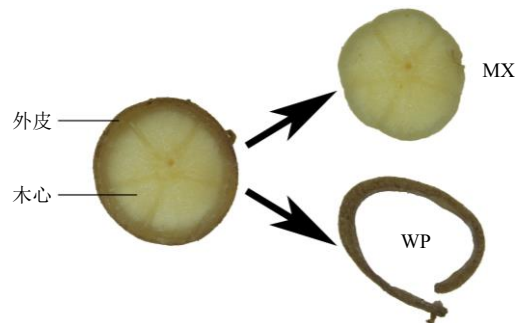


图9 太子参块根不同部位示意图

Fig. 9 Schematic diagram of different parts of PR

后，得到太子参不同部位的样品，分别编号为WP、MX。

2.4.2 环肽类成分分析 取太子参不同部位的样品，按“2.3”项下的方法依次提取、进样、分析。

2.4.3 太子参不同部位环肽类成分差异 观察95%乙醇提取物的总离子流图(图10)，相较于木心部位，外皮部位的非挥发性成分丰富且复杂，不同成分的分布规律差异较大。统计WP、MX中各环肽成分的相对峰面积，计算二者的比值，记为WP/MX，结果见表7。结果显示，木心中PB、PC、PD、PE、PH、PL占比较高，即这6种环肽可能主要存在于块根的木部；外皮中HA、HB、HC、HD、HJ、PA、PF、PG占比较高，即这8种环肽可能主要存在于块根的外皮部。其结果与“2.3.8”项下分析的“以HC、HD为代表的8种环肽得到大量流失，以PD、PE为代表的6种环肽却可能得到较好地保留”的结果极为契合。据此推测，略烫后晒干品与晒干品环肽类成分差异的内在原理可能是：较直接晒干处理得到的太子参药材，短暂沸水烫处理再晒干的过程使主要存在于皮部的成分流失，主要存在于木部的成分在加工过程中被保留。

3 讨论

3.1 实验样本数量设计

不同加工方式的无关变量影响情形不同，晒干法需考虑气温影响因素，阴干法无须设备参与且无须考虑天气影响，低温烘干法中设备性能的影响较突出且耗时长，高温烘干法耗时相对较短，略烫后晒干法还须兼顾烫制顺序、料水比，基于此，将晒干品、阴干品、低温烘干品、高温烘干品、略烫后晒干品的批次数分别设计为5、3、5、4、6。

3.2 指纹图谱条件优化

建立HPLC指纹图谱前，对提取溶剂(无水乙醇、95%乙醇、80%甲醇、50%甲醇、正己烷、醋酸

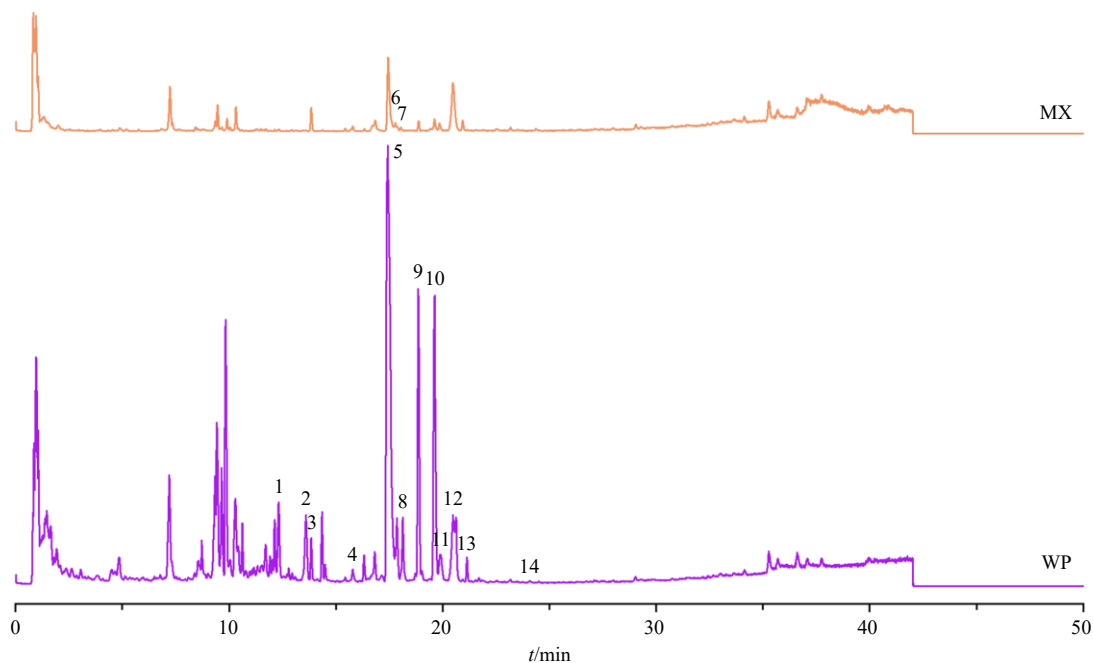


图 10 太子参块根不同部位的非挥发性成分总离子流图

Fig. 10 Total ion chromatogram of non-volatile components in different parts of roots of PR

表 7 太子参 WP 与 MX 中各环肽相对峰面积比值
(WP/MX, $n = 3$)Table 7 Ratio of relative peak area of each cyclic peptide
in WP and MX of PR (WP/MX, $n = 3$)

成分	WP/MX	成分	WP/MX	成分	WP/MX
HJ	3.46	PF	4.23	PH	0.05
PL	0.20	PD	0.01	PE	0.05
PA	5.39	PC	0.58	HD	1.58
PB	0.53	HA	2.77	HC	1.64
HB	1.03	PG	2.56		

乙酯) 进行考察, 发现醋酸乙酯和正己烷提取物中能被紫外检测的成分较少, 50%甲醇和 80%甲醇提取物中的亲水性成分集中于前 15 min 的保留时间段且极难以被分离, 最后选择 95%乙醇作为最佳提取溶剂。考察了提取方式(超声、索氏提取器、常温恒温振荡、加热回流), 发现除采用索氏提取器得到的提取物中能够被检测的成分较少外, 其余 3 种方式提取效果相当, 为保证工作效率, 将提取方式确定为超声提取。比较不同复溶溶剂(水、20%乙腈、50%乙腈、乙腈), 发现 20%乙腈既能确保提取物溶解完全又能保证供试品溶液稳定性。对检测波长(203、220、270 nm, 3 种波长切换)进行探索, 结果显示 3 种波长切换下得到的色谱峰数目多、峰面积大、峰形好、分离度高。此外, 实验还考察了安捷伦、赛默飞、岛津等不同品牌及型号的色谱柱,

发现 Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18} 色谱柱能为太子参药材提取物提供较出色的峰形。

4 结论及展望

本实验建立了太子参不同加工品的 HPLC 指纹图谱, 其具备操作简便、共有峰数目多、重复性好的优势。从建立的指纹图谱中筛选得到 1~4、7~22 号共有色谱峰, 5、6 号峰为略烫后晒干品的专属色谱峰, 可用于该类加工品的识别与区分。经相似度评价, 晒干品、阴干品、低温烘干品、高温烘干品、略烫后晒干品这 5 种太子参加工品的指纹图谱相似性较高, 体现了不同加工品之间整体非挥发性成分的相似性与均一性。基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS, 从太子参各类加工品的 95%乙醇提取物中鉴定得到了 14 种环肽。高温烘干品与低温烘干品相比, 主要差异成分为 HA、HB、HD 等 9 种环肽。略烫后晒干品较晒干品, 主要差异成分为以 HC、HD 为代表的 8 种环肽, 而以 PD、PE 为代表的 6 种环肽无明显差异。通过分析太子参不同部位的环肽差异, HB、HC、HD、HJ、PA、PF、PG 这 8 种环肽主要存在于皮部, PB、PC、PD、PE、PH、PL 这 6 种环肽主要存在于木部。以上结果或结论能够为太子参药材质量标准的建立、环肽类成分的继续深入研究、产地加工环节的合理化与标准化等提供参考。

实验利用反相高效液相色谱法建立了太子参

药材 95%乙醇提取物的指纹图谱, 参考相关文献, 太子参药材中含有较多的核苷^[13]、游离氨基酸^[14]、寡糖^[15]等亲水性成分, 后续需要考察正相色谱条件以建立太子参药材水溶性成分的指纹图谱, 以丰富太子参药材质量控制技术手段。本实验建立了太子参不同加工品的指纹图谱, 后续需要针对产地、种源、采收期等影响因素开展研究^[16-17]。实验初步分析了太子参药材皮部与木部的环肽成分差异, 但仅涉及到了福建产地, 且不能直观地显示内在成分在药材中的空间具体分布, 后续需要借助相关技术对以环肽为主的不同产地太子参活性成分的集中区域特点进行深入剖析, 从而对太子参生长发育中成分物质的积累过程、原料药材的质量控制研究、活性成分的分离制备等提供支撑^[18-19]。另外, 由于绝大多数太子参环肽对照品难以被制备, 太子参药材的环肽类多成分定量分析方法还有待建立和验证^[20]。太子参药材中还含有生物碱类^[21]、皂苷类^[22]成分, 接下来需要建立针对性的分析方法, 深入探讨加工方式对这些成分的影响及空间分布。

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: 69.
- [2] 徐荣, 江维克, 周涛, 等. 不同加工干燥方法对太子参药材品质的影响 [J]. 中药材, 2018, 41(12): 2802-2806.
- [3] 罗文敏, 张家春, 刘燕, 等. 多指标综合评价法优选黔产太子参最佳初加工方法 [J]. 中药材, 2018, 41(6): 1335-1342.
- [4] 刘自强, 胡培, 韩童童, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱结合 Heracles NEO 超快速气相电子鼻分析太子参不同加工品的挥发性成分 [J]. 中草药, 2024, 55(20): 6874-6888.
- [5] 李永康, 曹立华, 陈智. 基于 HPLC 指纹图谱与 UPLC-Q Exactive Focus MS/MS 的黄芩炒炭前后化学成分变化 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8425-8434.
- [6] Lu F, Yang H, Lin S D, et al. Cyclic peptide extracts derived from *Pseudostellaria heterophylla* ameliorates COPD via regulation of the TLR4/MyD88 pathway proteins [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 850.
- [7] Shi L Y, Zhang X Y, Mao L M, et al. Anti-neoplastic effect of heterophyllin B on ovarian cancer via the regulation of NRF2/HO-1 *in vitro* and *in vivo* [J]. *Tissue Cell*, 2024, 91: 102566.
- [8] 丰心月, 王奕霏, 邓嘉航, 等. 太子参改善斑马鱼和 APP/PS1 小鼠学习记忆 [J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(8): 55-61.
- [9] Hua Y J, Hou Y, Wang S N, et al. Chemical differentiation of *Pseudostellariae Radix* from different cultivated fields and germplasms by UPLC-triple TOF-MS/MS coupled with multivariate statistical analysis [J]. *Nat Prod Commun*, 2016, 11(12): 1827-1831.
- [10] 傅兴圣, 邹立思, 刘训红, 等. UPLC-ESI-TOF MS/MS 分析太子参中环肽类成分 [J]. 质谱学报, 2013, 34(3): 179-184.
- [11] Sha M, Li X H, Liu Y, et al. Comparative chemical characters of *Pseudostellaria heterophylla* from geographical origins of China [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(3): 439-446.
- [12] 谭宁华, 周俊. 太子参中新环肽: 太子参环肽 C [J]. 云南植物研究, 1995, 17(1): 60.
- [13] 李平, 孙越鹏, 甄会贤, 等. 基于 HPLC 多成分定量分析不同产地太子参药材的质量 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5734-5741.
- [14] 黄燕芬, 周小雷, 李翠, 等. LED 光质对太子参生长和主要功能成分的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(10): 139-150.
- [15] 肖承鸿, 徐荣, 周涛, 等. 基于波长切换技术的太子参 UHPLC 指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2020, 43(12): 2971-2976.
- [16] 吴新, 吴涛, 王冰清, 等. 不同产地甘草 UPLC 指纹图谱的建立及 6 种成分定量分析 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2518-2526.
- [17] 李敏, 乔旭, 魏建和, 等. 基于 UPLC 多指标测定和指纹图谱对不同来源茵陈药材质量评价 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 282-292.
- [18] 徐丽丽, 崔亚鹏, 刘娟, 等. 基质辅助激光解析质谱成像可视化分析桔梗皂苷空间分布 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2268-2273.
- [19] 李欠, 姬党通, 高慧. 基于质谱成像技术的独活鲜根中香豆素类成分的空间分布特征研究 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3438-3445.
- [20] 龙成燕, 杨炆, 黄思行, 等. 基于高分辨质谱数据库的黄连炮制前后生物碱变化规律 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 5972-5979.
- [21] Xu G B, Zhu Q F, Wang Z, et al. Pseudosterins A-C, three 1-ethyl-3-formyl- β -carboline from *Pseudostellaria heterophylla* and their cardioprotective effects [J]. *Molecules*, 2021, 26(16): 5045.
- [22] Du Q Y, Yang J Y, Zhou B Y, et al. Total saponin extracts of *Pseudostellaria heterophylla* ameliorates meibomian gland dysfunction through SCD1/SPT1/ceramide axis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 342: 119368.

[责任编辑 郑礼胜]