

基于超高效液相质谱联用技术分析不同产地桔梗皂苷类成分的差异

张婷婷, 黄晶晶, 梁静蕾, 庞涛, 陈万生, 张凤

Differential analysis of saponins in *Platycodon grandiflorus* from different origins based on ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry

ZHANG Tingting, HUANG Jingjing, LIANG Jinglei, PANG Tao, CHEN Wansheng, ZHANG Feng

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202506026>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的麻杏石甘汤化学成分分析

Analysis of the chemical constituents of Mxing Shigan decoction by UPLC-Q-TOF/MS

药学实践与服务. 2025, 43(11): 548-554, 571 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202306028](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202306028)

基于UHPLC-Q-TOF/MS结合网络药理学研究柴胡桂枝干姜汤治疗慢性非萎缩性胃炎的物质基础及疗效机制

Exploring effective components and therapeutic mechanism of Chaihu-Guizhi-Ganjiang decoction in treatment of chronic non-atrophic gastritis by UHPLC-Q-TOF/MS combined with network pharmacology

药学实践与服务. 2025, 43(9): 455-462 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202312061](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202312061)

基于UHPLC-Q/TOF-MS代谢组学策略的葛根-知母药对防治阿尔茨海默病的药效与作用机制研究

Study on the pharmacological effects and mechanism of Gegen-Zhimu herb pair in preventing and treating Alzheimer's disease by UHPLC-Q/TOF-MS metabolomics strategy

药学实践与服务. 2025, 43(1): 30-40 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202409035](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202409035)

UPLC-MS/MS法测定复方地黄合剂中10种指标性成分的含量

Quantitative analysis of 10 components in Compound Dihuang oral solution by UPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2025, 43(8): 390-394 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202312068](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202312068)

花椒生物碱富集纯化工艺优化及其成分分析

Optimization of purification process and component analysis of alkaloids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim

药学实践与服务. 2025, 43(2): 75-81 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202404066](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202404066)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

基于超高效液相质谱联用技术分析不同产地桔梗皂苷类成分的差异

张婷婷¹, 黄晶晶², 梁静蕾¹, 庞涛³, 陈万生^{3,4}, 张凤^{1,3} (1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海市浦东新区精神卫生中心, 上海 200122; 3. 海军军医大学第二附属医院药剂科, 上海 200003; 4. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203)

[摘要] **目的** 建立一种高效、灵敏的桔梗皂苷类成分鉴定分析技术体系, 系统比较不同产地桔梗所含皂苷类成分的差异, 以期为桔梗药材优质资源筛选、道地性评价以及标准化质量控制体系提供科学的参考。**方法** 以安徽、河南、吉林 3 个产地共 45 批桔梗药材(每个产地 15 批)为研究对象, 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UHPLC-Q-TOF/MS)技术对皂苷类成分进行定性鉴别及半定量分析, 同时结合主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)两种多元统计方法解析不同产地桔梗的皂苷类成分差异。**结果** 从 3 个产地桔梗中共鉴定出 28 种皂苷类成分, PCA 分析表明河南桔梗与吉林桔梗皂苷类成分差异较小, 安徽桔梗与二者皂苷类成分存在较大差异; PLS-DA 进一步筛选出 15 种主要差异化合物, 其中 3"-O-乙酰远志皂苷 D2、桔梗皂苷 H 等 6 种成分在安徽桔梗中的含量高于河南桔梗、吉林桔梗; 桔梗二酸 A 内酯在吉林桔梗中的含量最高; 桔梗皂苷 D3、远志皂苷 J、远志皂苷 D 等在河南桔梗中的含量更优。**结论** 本研究明确了 3 大产区桔梗的核心成分差异特征, 为桔梗优质药材资源筛选、道地性成因解析以及标准化质量控制体系构建提供了重要的理论依据。

[关键词] 桔梗; 皂苷类成分; 不同产地; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱; 差异分析

[文章编号] 2097-2024(2026)04-0189-11 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202506026

Differential analysis of saponins in *Platycodon grandiflorus* from different origins based on ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry

ZHANG Tingting¹, HUANG Jingjing², LIANG Jinglei¹, PANG Tao³, CHEN Wansheng^{3,4}, ZHANG Feng^{1,3} (1. School of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Pudong New Area Mental Health Center, Shanghai 200122, China; 3. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200003, China; 4. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective** To establish a highly efficient and sensitive technical system for the identification and analysis of platycodin-type saponins, systematically compare the differences in platycodin-type saponins among *Platycodon grandiflorum* from different producing areas, and provide scientific references for the screening of high-quality *Platycodon grandiflorum* resources, authenticity evaluation, and construction of standardized quality control systems. **Methods** A total of 45 batches of *P. grandiflorum* medicinal materials from 3 producing areas (Anhui, Henan, and Jilin, with 15 batches per area) were selected as research objects. Qualitative identification and semi-quantitative analysis of saponin components were performed based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF/MS) technology. Meanwhile, two multivariate statistical methods, principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA), were combined to analyze the differences in platycodin-type saponins of *Platycodon grandiflorus* from different producing areas. **Results** A total of 28 saponin components were identified from *Platycodon grandiflorus* of the three producing areas. PCA results showed that there were minor differences in platycodin-type saponins between Henan *Platycodon grandiflorus* and Jilin *Platycodon grandiflorus*, while Anhui *P. grandiflorum* exhibited significant differences from both. PLS-DA

[基金项目] 国家重点研发计划(2022YFC3501702); 上海市科委生物医药专项(22S21901900); 上海中医药大学有组织科研项目(2023YZZ02)

[作者简介] 张婷婷, 硕士研究生, 研究方向: 中药学, Email: 19299241702@163.com

[通信作者] 张凤, 副教授, 研究方向: 中药学、临床中药学, Email: fengzhangky@aliyun.com; 陈万生, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药药效物质、临床药学, Email: chenwansheng@smmu.edu.cn

further screened 15 major differential compounds. Among them, the contents of 6 components including 3"-O-acetylpolysaccharin D2 and platycodin H in Anhui *Platycodon grandiflorus* were higher than those in Henan and Jilin *Platycodon grandiflorus*; platycodigenic acid A had the highest content in Jilin *Platycodon grandiflorus*; the contents of platycodin D3, polysaccharin J, and polysaccharin D were relatively higher in Henan *Platycodon grandiflorus*. **Conclusion** This study clarified the characteristic differences in core components of *Platycodon grandiflorus* from the three major producing areas, which provided an important theoretical basis for the screening of high-quality *Platycodon grandiflorus* resources, elucidation of the mechanism underlying its authenticity, and construction of a standardized quality control system.

[**Key words**] *Platycodon grandiflorus*; saponins; different origins; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry; differential analysis

桔梗为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. 的干燥根, 是一种药食同源类中药^[1-2]。桔梗所含的皂苷类成分作为从桔梗中分离得到的代表性成分, 已被证明具有多种药理活性^[3]。生态条件差异会影响桔梗中的皂苷类成分含量, 从而导致药材质量存在差异^[4]。目前对不同产地桔梗皂苷类化学成分的研究缺少系统全面的差异性分析^[5-6]。例如, 南北产地桔梗皂苷谱差异显著, 南方产桔梗中桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D 等活性成分含量普遍高于北方, 而华东产区(如安徽、山东)因独特的地理环境常被视为优质桔梗的主产区^[3]。

桔梗皂苷类成分种类复杂, 传统分析方法如高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法存在紫外吸收弱、依赖对照品等局限性^[7-8]。超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UHPLC-Q-TOF/MS)凭借其高分辨率、高灵敏度及代谢物定性能力, 可同时鉴定多种皂苷并解析其结构特征, 可以提供更全面、更准确的信息而广泛应用于中药复杂成分体系的分析^[9-12]。故本研究拟通过 UHPLC-Q-TOF/MS 技术结合多元统计法对安徽、河南、吉林 3 个产地桔梗所含的皂苷成分进行差异性分析, 以为桔梗资源开发利用及质量控制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 仪器

Agilent 1290 Infinity 型超高效液相色谱和 Agilent 6530 型四极杆-飞行时间串联质谱仪(美国 Agilent 公司); CPA255D 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司); Lyovapor L-200 冷冻干燥机(瑞士 BUCHI 公司); Eppendorf mini spin 离心机、Eppendorf 5430r 离心机(德国 Eppendorf 公司); SK7200H 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); Milli-Q 型纯化水系统(美国 Millipore 公

司); HC-800Y 高速多功能粉碎机(武汉海纳电器有限公司)。

1.1.2 试药

桔梗药材共采集 45 批, 分别采自安徽(编号 AH1 ~ AH15)、河南(编号 HN1-HN15)、吉林(编号 JL1 ~ JL15), 每个产地各 15 批次。以上样品均经上海中医药大学中药学院孙连娜副教授鉴定为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根。桔梗皂苷 D3(批号: F854755)、桔梗皂苷 D(批号: F310822)、远志皂苷 D(批号: F074980)(纯度均>98%, 购自上海一飞生物科技有限公司); 华法林(批号: DRE-C17940000, 购自德国埃伦斯托弗博士有限公司); 去芹糖桔梗皂苷 D2、桔梗酸 A 内酯、桔梗皂苷 G3、桔梗皂苷 C、16-氧代桔梗皂苷 D 对照品为实验室前期从桔梗药材中分离得到, 经液相检测, 所有对照品纯度均>98%。甲醇、乙腈(质谱级试剂, 德国 Merck 公司); 甲酸(质谱级试剂, 美国 Fisher 公司); 无水乙醇(分析纯试剂, 国药集团化学试剂有限公司); 屈臣氏纯净水(屈臣氏公司); 其他均为分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 溶液的制备

1.2.1.1 供试品溶液的制备

精密称定河南、安徽、吉林 3 个产地的桔梗药材粉末(过 40 目筛)各 1.00 g 至具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇(含 100 ng/ml 华法林, 内标)25 ml, 密塞、称定重量, 超声 45 min, 冷却, 70% 甲醇补足失重, 滤过, 3 000 rpm 离心 10 min, 取上清液 1.0 ml 于 1.5 ml EP 管中, 12 000 rpm 离心 10 min, 取 200 μ l 上清液于进样小瓶中, 待进样分析, 每份样品平行制备 3 份。

1.2.1.2 对照品溶液的制备

精密称取桔梗皂苷 D3、桔梗皂苷 D、远志皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D2、桔梗酸 A 内酯、桔梗皂苷 G3、桔梗皂苷 C、16-氧代桔梗皂苷 D 等对照品适量, 加入甲醇分别配制成浓度为 1.0 mg/ml 的对

照品储备液, -20℃ 冰箱保存备用。精密吸取上述储备溶液各 10 μl, 置于 1.5 ml 离心管中, 加入甲醇, 涡旋 60 s 混匀, 配制成各对照品浓度均为 10 μg/ml 的混合对照品溶液。

1.2.2 UHPLC-Q-TOF/MS 条件

1.2.2.1 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B); 流速: 0.3 ml/min; 柱温: 35℃; 进样量: 1 μl; 检测波长: 210 nm、254 nm; 梯度洗脱条件: 0~2 min, 0~2%(B); 2~6 min, 2%~15%(B); 6~15 min, 15%~40%(B); 15~29 min, 40%~95%(B); 29~30 min, 95%~95%(B)。

1.2.2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI), 分别在正、负离子模式下采集数据; 数据采集范围 m/z 100~1700, 离子源温度 350℃; 毛细管电压 4.0 kV(正离子)、3.5 kV(负离子); 雾化气压力 45 Psi, 干燥气流速 11 L/min; 鞘气流速 11 L/min, 鞘气温度 350℃; 碎片电压 140 V, 碰撞能量 30 V。

1.2.3 不同产地药材中皂苷类成分的鉴定

采用 UHPLC-Q-TOF/MS 技术, 在“1.2.2”项下条件对供试品溶液以及对照品溶液进行检测, 得到正离子模式总离子流色谱图。通过 Pubmed、ELSEVIER、Web of Science、CNKI、TCMSP 等中英文在线数据库, 检索桔梗中已知的皂苷类化学成分, 并将其化学名称、分子式、精确分子量、离子碎片等信息进行汇总, 构建桔梗中皂苷类化学成分的数据库。利用 Mass Hunter 10.0、MS DIAL 4.60 和 MS FINDER 3.50 等软件, 结合对照品及构建的数据库对目标化合物的一、二级质谱信息进行比对, 对不同产地桔梗中皂苷类成分进行鉴定。

1.2.4 多元统计分析不同产地桔梗皂苷类成分差异

使用 AnalysisBase File Converter 软件将质谱数据转换为 abf 格式。利用 MS-DIAL ver. 4.70 软件对原始数据进行背景扣除与峰对齐处理, 并选用华法林为内标进行峰面积归一化分析, 根据 EIC 模式下的峰面积值计算每种化合物的峰面积。将数据导入 Metaboanalyst 5.0 中进行主成分分析(PCA)。以 28 种成分的相对含量为评价指标, 对 3 个产地 45 批样本进行热图展示, 比较不同产地样品中皂苷类成分的相对含量差异; 为了更好地获取不同组间的差异信息, 进一步对不同产地样品进行了偏最小二乘判别分析(PLS-DA), 并以投影重要性变量(VIP)值>1 为标准筛选差异成分。

相对含量方法基于组分的内标归一化, 各皂苷成分的相对含量计算方法如下:

$$\text{相对含量} = \frac{f \times A_{\text{皂苷}}}{A_{\text{内标}}} \times 100\%$$

其中: $A_{\text{皂苷}}$ 表示皂苷成分的质谱峰面积; $A_{\text{内标}}$ 表示内标物的质谱峰面积; f 表示皂苷与内标物的相对校正因子。

1.2.5 统计学处理

利用 GraphPad Prism 8.0.2 软件, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 方式记录。多组间比较若数据符合正态分布且方差齐性, 则采用双尾单因素 ANOVA 分析, 若不符合正态分布, 则采用非参数 Kruskal-Wallis 检验, 以 $P < 0.05$ 认为有统计学差异。

2 结果

2.1 不同产地桔梗的正离子模式下总离子流图

对 3 个产地的桔梗进行 UHPLC-Q-TOF/MS 分析, 正离子模式下的总离子流图见图 1。结果显示, 正离子模式下 3 个产地桔梗的总离子流图相似, 但是个别色谱峰的相应强度存在明显的差别, 这表明来自 3 个产地的桔梗所含的成分类似, 但是在含量上存在差异。

2.2 不同产地桔梗所含皂苷类成分的鉴定

利用 Mass Hunter 10.0、MS DIAL 4.60 和 MS FINDER 3.50 等软件, 结合对照品及构建的数据库对目标化合物的一、二级质谱信息进行比对, 对不同产地桔梗中皂苷类成分进行鉴定。在正离子模式下共鉴定出 3 个产地桔梗的 28 种皂苷类成分(见表 1), 有 8 种成分为经对照品比对所得(见图 2); 其中桔梗皂苷型化合物最多, 共 14 种, 远志皂苷型化合物次之, 此外还含有少量桔梗皂苷内酯型、桔梗二酸型、其他非典型三萜皂苷等成分(表 1)。这 28 种成分在各产地桔梗中均被识别到, 表明不同产地桔梗在皂苷成分的种类上具有一定的相似性。

桔梗所含的皂苷类成分在质谱正离子模式下以 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 为主, 裂解方式主要以糖苷键的断裂, 丢失糖分子为主; 断裂后形成的苷元主要有桔梗皂苷型、远志皂苷型、桔梗内酯型。

桔梗皂苷型成分以去芹糖桔梗皂苷 D2 为例, 化合物 6 在保留时间 11.490 min 处被检出, 其一级质谱信息中可观察到分子离子峰 m/z 1277.5774 $[M+Na]^+$ 与 m/z 1293.5509 $[M+K]^+$ (见图 3A)。在二级质谱信息中, 该化合物通过逐级断裂糖苷键丢失糖分子, 产生特征碎片离子 799.684 $[M+H-C_{17}H_{28}O_{14}]^+$ 。将其与去芹糖桔梗皂苷 D2 对照品

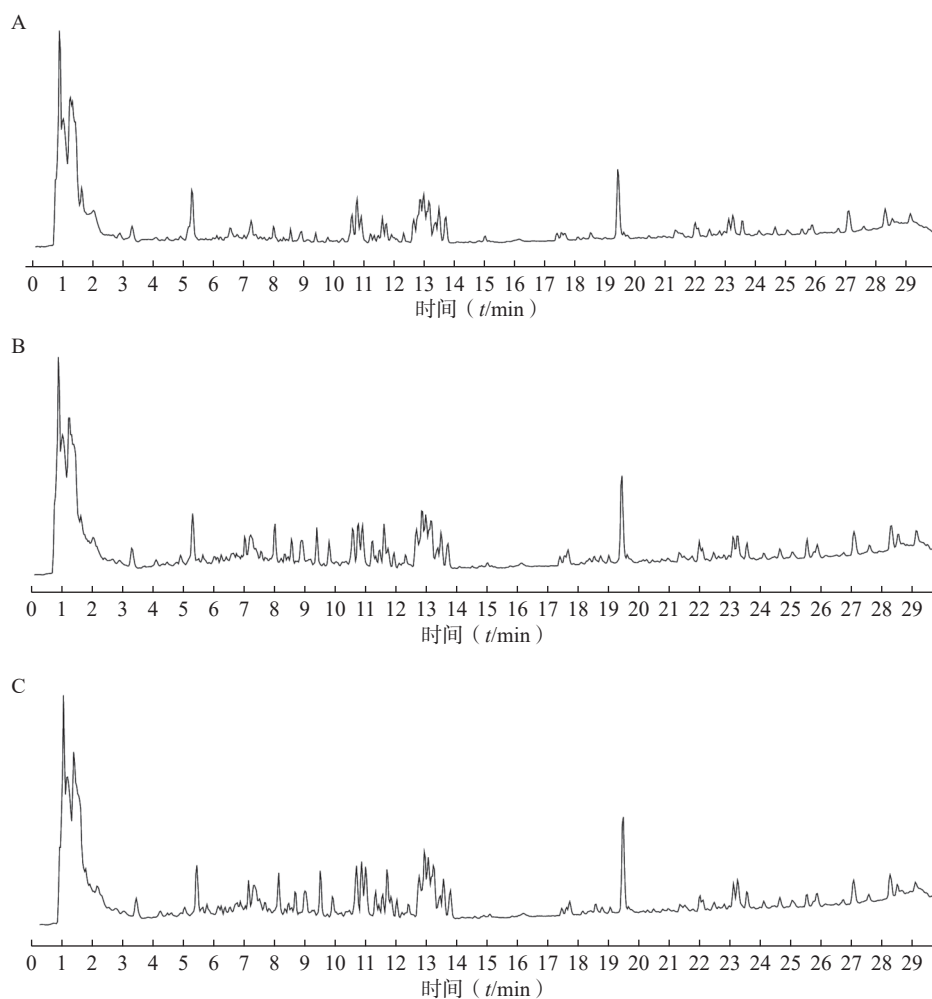


图 1 正离子模式下不同产地桔梗的总离子流图

A.安徽桔梗(药材编号: AH3); B.河南桔梗(药材编号: HN6); C.吉林桔梗(药材编号: JL8)

(保留时间 11.493 min) 比对, 二者保留时间差值 < 0.15 min, 且二级碎片离子(图 3B) 完全一致, 故推测化合物 6 为桔梗皂苷型成分去芹糖桔梗皂苷 D2(裂解途径图 3C), 二级碎片由该化合物 C-3 位和 C-28 位糖苷键断裂产生。桔梗皂苷型成分的裂解途径具有共性, 例如桔梗皂苷 E 二级质谱信息中可观察到特征碎片 m/z 1439.317 $[M+Na-C_5H_8O_4]^+$, 桔梗皂苷 B2 二级质谱信息中可观察到特征碎片 m/z 659.721 $[M+Na-C_6H_{10}O_5]^+$, 均为该类型化合物 C-3、C-28 位糖苷键断裂后产生的典型碎片。

远志皂苷型成分以远志皂苷 D 为例, 化合物 21 在保留时间 13.033 min 处被检出, 一级质谱信息呈现分子离子峰 m/z 1231.5717 $[M+Na]^+$ 。二级质谱信息显示, 该化合物产生特征碎片离子 m/z 469.286 $[M+H-C_{20}H_{46}O_4]^+$ 与 m/z 637.322 $[M+H-C_{22}H_{36}O_{17}]^+$; 与远志皂苷 D 对照品(保留时间 13.097 min) 比对, 二者保留时间差值 < 0.15 min, 且二级碎片离子完全匹配(见图 4), 故推测化合物 21 为远志皂苷型成分远志皂苷 D(其质谱信息及裂解

途径见图 4C), 二级质谱信息中的特征碎片离子为该化合物 C-28 位糖酯链优先脱落产生。远志皂苷型成分的裂解与远志皂苷 D 相似, 例如远志皂苷 J 通过 C-28 位酯糖链优先脱落产生特征碎片, m/z 469.320 $[M+H-C_{37}H_{46}O_{23}]^+$ 。

桔梗内酯型成分以桔梗二酸 A 内酯为例, 化合物 22 可在 13.089 min 观察到 m/z 1243.5356 $[M+Na]^+$ 见(图 5A), 二级质谱信息可见 m/z 517.482 $[M+H-C_{27}H_{44}O_{21}]^+$ (图 5B), 为该化合物优先断裂 C-3 位糖苷键, 产生 C-28 位含有内酯环的碎片离子; 推测该化合物为桔梗皂苷内酯型成分—桔梗二酸 A 内酯(化合物质谱信息及裂解途径见图 5C); 桔梗内酯型成分的裂解途径具有共性, 例如桔梗皂苷 M-1 的二级质谱信息中可观察到特征碎片 m/z 517.377 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$, 均为该类型化合物 C-3 位糖苷键断裂后的典型碎片离子。

2.3 多元统计分析不同产地桔梗皂苷类成分差异

2.3.1 主成分分析

利用 MS DIAL 软件对识别出的桔梗皂苷类成

表1 不同产地桔梗皂苷类化学成分鉴定表

序号	名称	分子式	相对保留时间(<i>t</i> /min)	<i>m/z</i>	加合离子	MS/MS	质量	误差(±ppm)	类型
1	桔梗皂苷A	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₆	10.511	851.4460	[M+Na] ⁺	667.324[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	828.4486	-2.31	其他非典型三萜化合物
2	桔梗皂苷G2	C ₅₉ H ₉₆ O ₃₀	10.578	1307.587	[M+Na] ⁺	1029.344[M+Na-C ₁₁ H ₁₈ O ₈] ⁺ , 521.331[M+H-C ₂₉ H ₄₈ O ₂₃] ⁺	1284.5971	-1.18	桔梗皂苷型
3	去芹糖桔梗皂苷E	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₃₄	10.619	1439.6305	[M+Na] ⁺	520.94[C ₃₀ H ₄₈ O ₇] ⁺	1416.64	-0.65	桔梗皂苷型
4	桔梗皂苷E	C ₆₉ H ₁₁₂ O ₃₈	10.759	1587.6449	[M+Na] ⁺	1439.317[M+Na-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺	1571.48	1.04	桔梗皂苷型
5	远志皂苷I	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₃₃	10.779	1423.6349	[M+Na] ⁺	1029.286[M+K-C ₁₆ H ₃₆ O ₁₂] ⁺ , 469.320[M+H-C ₃₇ H ₄₆ O ₂₃] ⁺	1400.6461	0.05	远志皂苷型
6*	去芹糖桔梗皂苷D2	C ₅₈ H ₉₄ O ₂₉	11.490	1277.5774	[M+Na] ⁺	799.684[M+H-C ₁₇ H ₂₈ O ₁₄] ⁺	1254.5873	-0.62	桔梗皂苷型
7*	桔梗皂苷D3	C ₆₃ H ₁₀₂ O ₃₃	11.647	1409.6212	[M+Na] ⁺	867.113[M+Na-C ₂₁ H ₃₄ O ₁₆] ⁺	1386.6308	0.30	桔梗皂苷型
8*	远志酸A内酯	C ₃₀ H ₄₄ O ₇	11.723	517.3165	[M+H] ⁺	480.601 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 462 [M+H-2H ₂ O] ⁺	516.309	0.52	桔梗皂苷内酯型
9	桔梗皂苷H	C ₅₈ H ₉₄ O ₂₈	11.784	1261.5813	[M+Na] ⁺	829.632[M+H-C ₁₆ H ₂₆ O ₁₂] ⁺ , 527.796[M+Na-C ₂₈ H ₄₆ O ₂₂] ⁺	1238.5909	-1.84	桔梗皂苷型
10	3"-O-乙酰桔梗皂苷D2	C ₆₅ H ₁₀₄ O ₃₃	11.795	1451.6289	[M+Na] ⁺	851.721[M+Na-C ₂₃ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1428.6351	-4.03	桔梗皂苷型
11*	桔梗皂苷G3	C ₆₃ H ₁₀₂ O ₃₂	11.931	1393.6238	[M+Na] ⁺	851.733[M+Na-C ₂₁ H ₃₄ O ₁₆] ⁺	1370.6327	-1.99	桔梗皂苷型
12	桔梗皂苷M-1	C ₃₆ H ₅₄ O ₁₂	12.655	679.3689	[M+H] ⁺	517.377[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	678.3608	-1.01	桔梗皂苷内酯型
13	桔梗皂苷F	C ₄₇ H ₇₆ O ₂₀	12.698	983.4817	[M+Na] ⁺	705.354[M+H-C ₁₁ H ₂₀ O ₈] ⁺	960.492	-1.04	桔梗皂苷型
14	去芹糖桔梗皂苷D	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₄	12.729	1115.5254	[M+Na] ⁺	521.374[M+H-C ₂₂ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1092.5353	0.02	桔梗皂苷型
15*	桔梗皂苷C	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₅	12.857	1157.5354	[M+Na] ⁺	683.654[M+H-C ₁₈ H ₂₈ O ₁₃] ⁺ , 521.372[M+H-C ₂₄ H ₃₈ O ₁₈] ⁺	1134.5455	-0.30	桔梗皂苷型
16*	桔梗皂苷D	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₈	12.862	1247.5669	[M+Na] ⁺	705.322[M+Na-C ₂₁ H ₃₄ O ₁₆] ⁺	1224.5768	-0.54	桔梗皂苷型
17	桔梗皂苷B2	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₅	12.866	799.4468	[M+H] ⁺	659.721[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	798.4409	-1.87	其他非典型三萜化合物
18	远志皂苷J	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₃	12.891	1099.5289	[M+Na] ⁺	505.432[M+H-C ₂₂ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1076.54	-0.27	远志皂苷型
19	桔梗皂苷C	C ₅₉ H ₉₄ O ₂₉	12.997	1289.5788	[M+Na] ⁺	705.397[M+Na-C ₂₃ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1266.5887	0.50	桔梗皂苷型
20	3"-O-乙酰远志皂苷D2	C ₆₅ H ₁₀₄ O ₃₃	12.997	1435.636	[M+Na] ⁺	867.132[M+Na-C ₂₃ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1412.6508	3.39	远志皂苷型
21*	远志皂苷D	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₇	13.033	1231.5717	[M+Na] ⁺	469.286[M+H-C ₂₀ H ₄₆ O ₄] ⁺ , 637.322[M+H-C ₂₂ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1208.5828	0.20	远志皂苷型
22	桔梗二酸A内酯	C ₅₇ H ₈₈ O ₂₈	13.089	1243.5356	[M+Na] ⁺	517.482[M+H-C ₂₇ H ₄₄ O ₂₁] ⁺	1220.5459	-0.25	桔梗二酸型
23	桔梗皂苷J	C ₅₇ H ₉₀ O ₂₉	13.098	1261.5464	[M+Na] ⁺	697.529[M+H-C ₂₁ H ₃₄ O ₁₆] ⁺	1238.5558	-0.95	桔梗皂苷型
24	3"-O-乙酰远志皂苷D	C ₅₉ H ₉₄ O ₂₈	13.163	1273.582	[M+Na] ⁺	843.566[M+Na-C ₂₃ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1250.592	-0.94	远志皂苷型
25	桔梗皂苷B	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₅	13.337	1157.5337	[M+Na] ⁺	723.651[M+Na-C ₁₈ H ₂₈ O ₁₃] ⁺ , 557.681[M+H-C ₂₄ H ₃₈ O ₁₈] ⁺	1134.5431	-2.42	桔梗皂苷型
26*	16-氧代桔梗皂苷D	C ₅₇ H ₉₀ O ₂₈	13.403	1245.5486	[M+Na] ⁺	823.18[M+Na-C ₁₆ H ₂₆ O ₁₂] ⁺	1222.5577	-3.41	其他非典型三萜化合物
27	桔梗皂苷L	C ₅₉ H ₉₂ O ₃₀	13.740	1303.5548	[M+Na] ⁺	687.03[M+Na-C ₂₃ H ₃₆ O ₁₇] ⁺	1280.5621	-4.09	桔梗皂苷型
28	远志酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	16.240	527.3331	[M+Na] ⁺	343.21[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	504.3438	-2.64	远志皂苷型

注: *通过对照品比对。

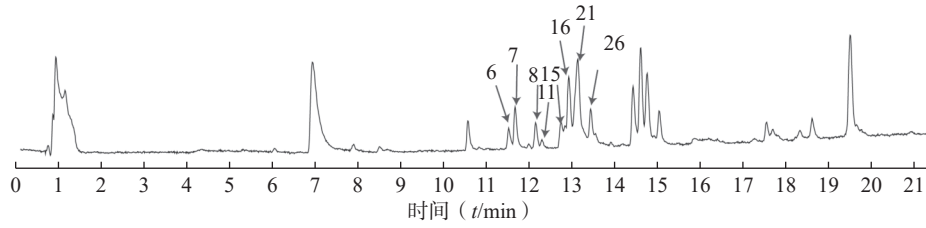


图2 桔梗皂苷混和对照品总离子流图

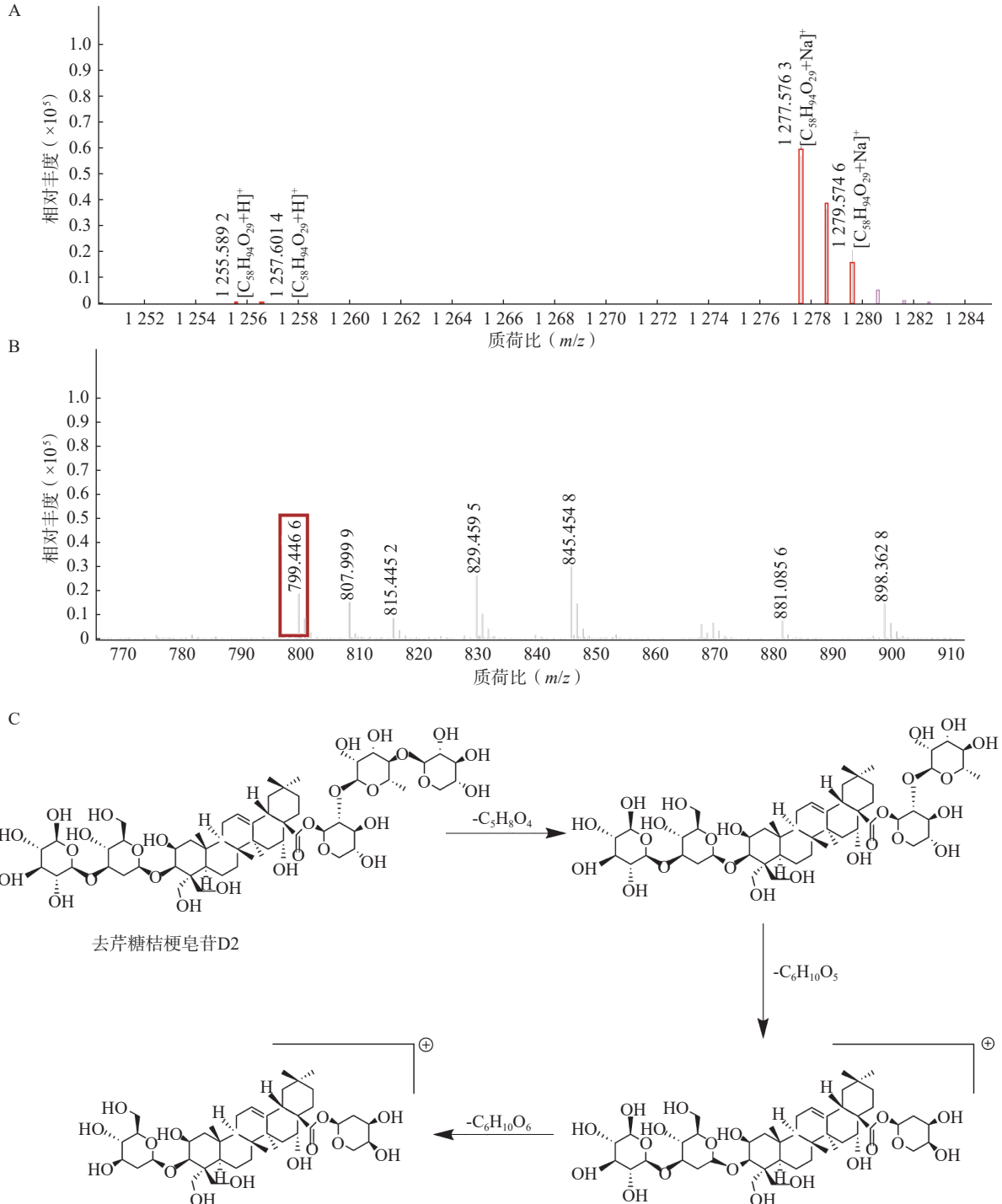


图3 去芹糖桔梗皂苷 D2 的质谱信息及裂解途径

A.一级质谱信息; B.二级质谱信息; C.裂解途径

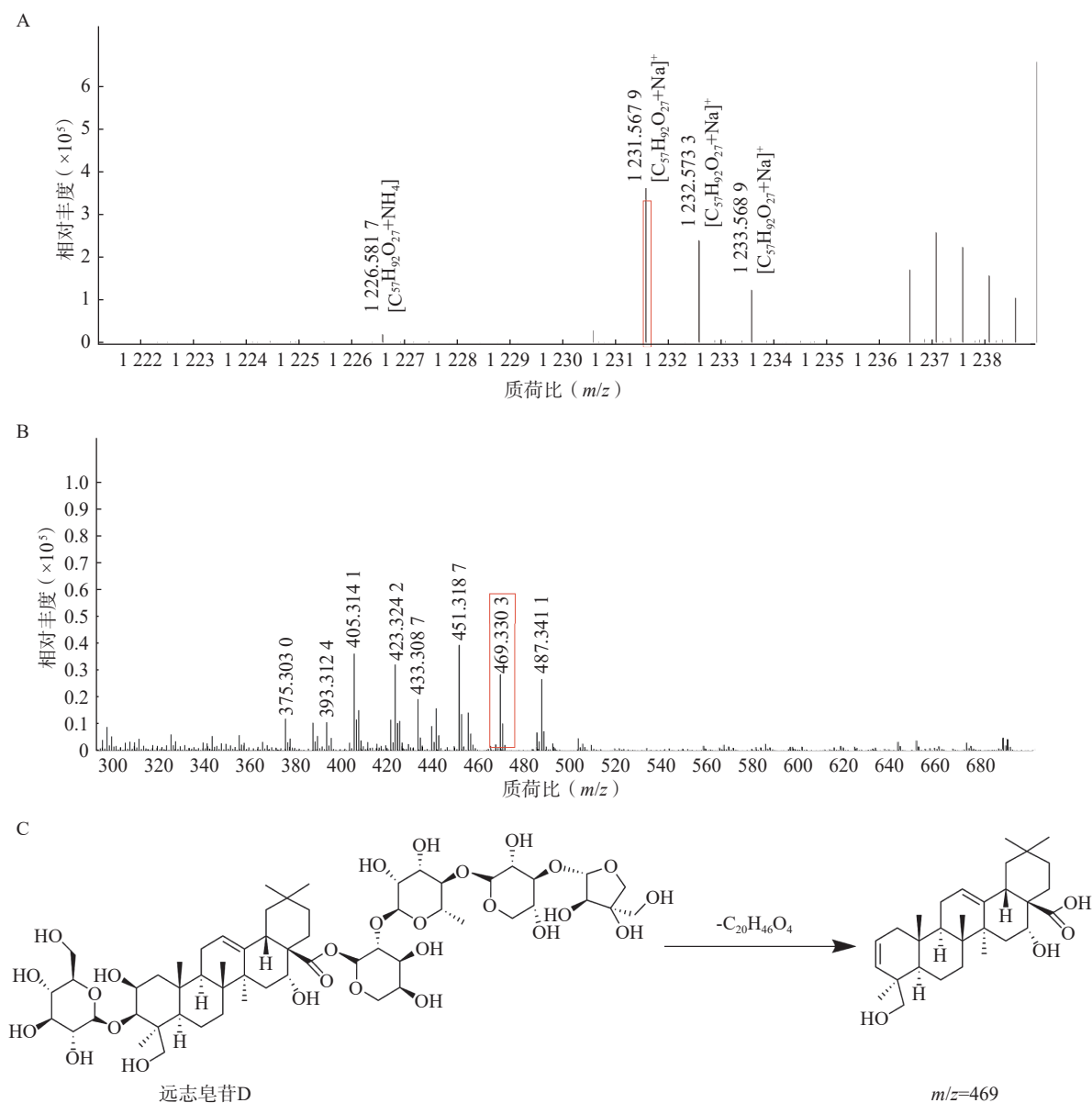


图4 远志皂苷D的质谱信息和裂解途径

A.一级质谱信息; B.二级质谱信息; C.裂解途径

分进行归一化处理,并将数据导入 metaboanalyst 5.0 中进行主成分分析。主成分分析结果显示(图6),安徽产地桔梗与河南、吉林产地桔梗差异明显,而河南、吉林产地桔梗差异较小,表明不同产地桔梗皂苷类成分存在差异。

2.3.2 热图分析

通过 MetaboAnalyst 5.0 软件对3个产地45批样本进行热图分析,以比较不同产地桔梗的所含皂苷类成分的相对含量。结果显示(图7),安徽产桔梗中3"-O-乙酰远志皂苷D2、桔梗皂苷H、桔梗皂苷L、3"-O-乙酰桔梗皂苷D2、远志皂苷G3等多种成分的含量高于河南、吉林桔梗;而河南桔梗与吉林桔梗具有一定相似性,桔梗皂苷F、桔梗二酸A内酯等成分的相对含量均较高,其中以吉林产区更为明

显。以上结果表明,产地对桔梗中皂苷类成分的含量确有较大影响。

2.3.3 偏最小二乘判别分析

在PCA分析的基础上,进一步对3个产地的桔梗皂苷类成分进行PLS-DA分析^[13]。结果显示(图8),不同产地桔梗样品区分明显,共得到15种VIP值>1的差异成分,并且其中以去芹糖桔梗皂苷D2、桔梗皂苷J、桔梗皂苷L、桔梗皂苷F等的差异最为明显,而桔梗皂苷D作为中国药典收录的桔梗药材的质量评价成分,在各组间差异较小。

2.3.4 差异化合物相对含量比较

从3个产地的桔梗中鉴定出了15个差异皂苷类成分,以差异成分在各组样品间内标归一化后的峰面积进行相对含量分析。来自3个产地的15种

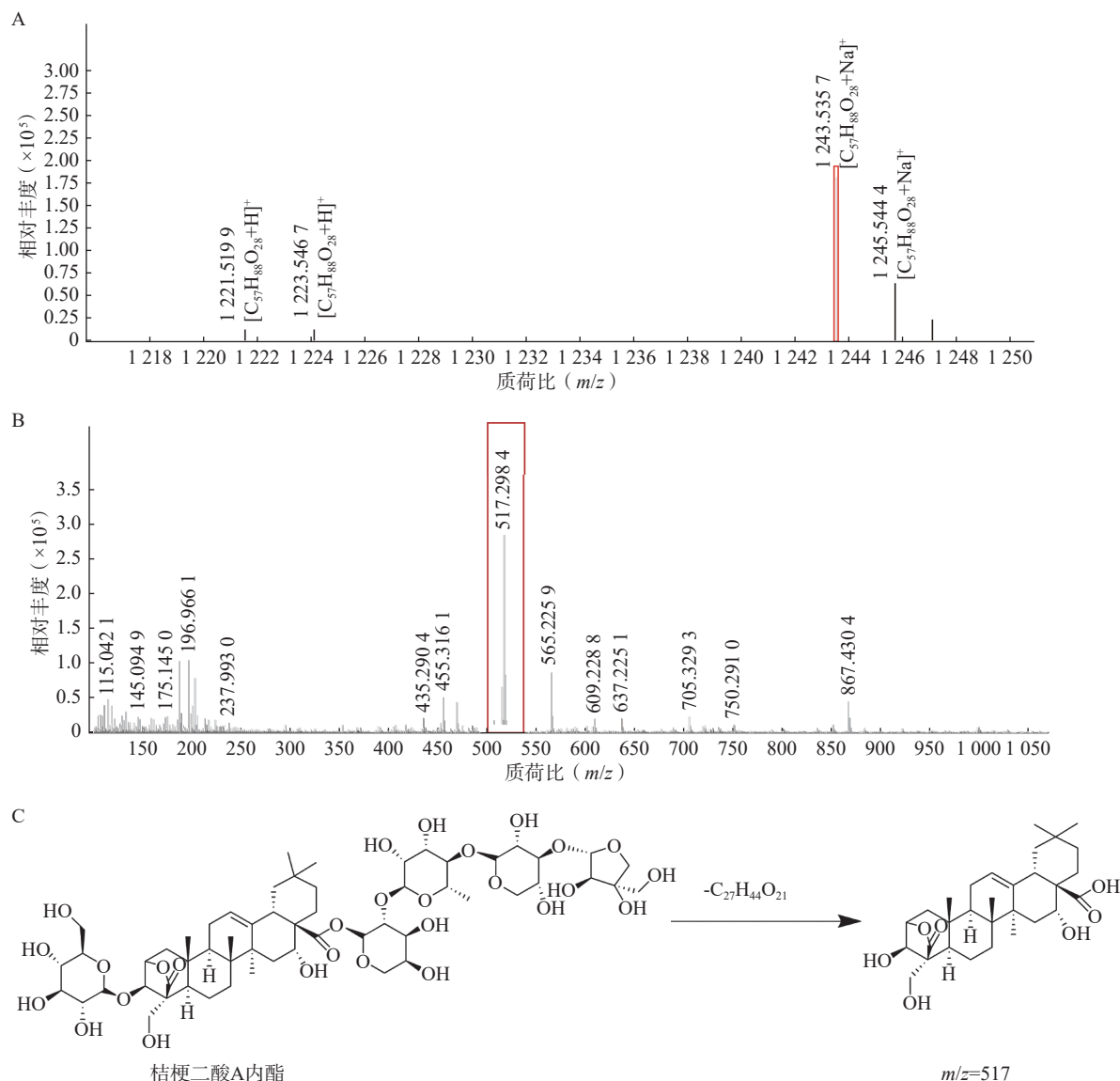


图5 桔梗二酸 A 内酯的质谱信息和裂解途径

A.一级质谱信息; B.二级质谱信息; C.裂解途径

差异性成分的含量变化如图9所示,其中多种成分如3"-O-乙酰远志皂苷 D2、桔梗皂苷 H、桔梗皂苷 L、3"-O-乙酰桔梗皂苷 D2、桔梗皂苷 G3、桔梗皂苷 E 在安徽桔梗中的含量高于河南桔梗与吉林桔梗中的含量;桔梗二酸 A 内酯在吉林桔梗中的含量高于河南桔梗以及安徽桔梗中的含量;桔梗皂苷 D3、远志皂苷 J、远志皂苷 D 等在河南桔梗中的含量高于安徽桔梗与吉林桔梗中的含量。以上数据表明不同产地桔梗的皂苷含量具有一定差异,安徽产地桔梗在皂苷类成分的含量上与河南及吉林产地桔梗存在较大差异,且皂苷类成分含量显著高于河南与吉林产地桔梗。

3 讨论

桔梗(*Platycodon grandiflorus*)为桔梗科多年生

的草本植物,具有宣肺,利咽,祛痰,排脓的功效。作为传统药食同源中药,被广泛应用于各种方剂、中成药和保健品中,是我国中药大品种之一^[14-15]。其药用价值主要源于三萜皂苷类成分,具有抗炎、免疫调节及镇咳祛痰等药理活性^[16]。由于我国桔梗资源分布广泛,不同产地的生态环境差异可能导致桔梗皂苷类成分的组成与含量显著不同,进而影响药材质量与临床疗效^[17]。本研究基于UHPLC-QTOF/MS技术,系统分析了安徽、河南、吉林3个主产区桔梗的皂苷类成分差异,为桔梗优质资源筛选与质量控制提供了科学依据。

为了全面表征桔梗中皂苷类成分,本研究首先考察了不同离子模式下桔梗皂苷类成分的代表情况,发现在正离子模式下识别到的色谱峰数目多、丰度高;而负离子模式下识别到的色谱峰数目较少

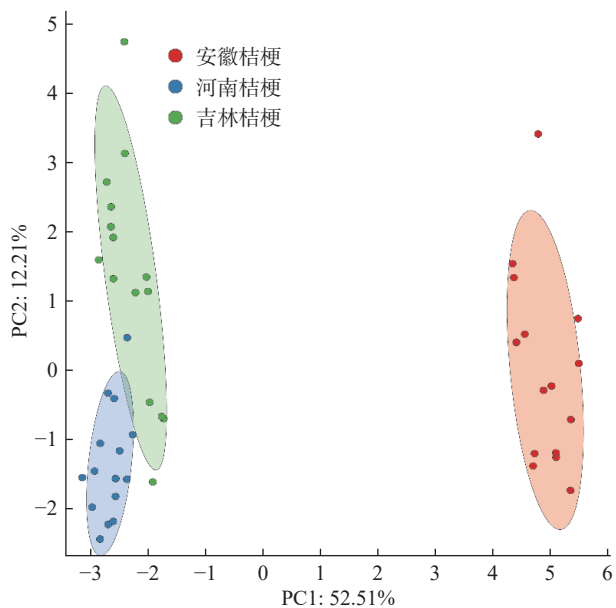


图6 不同产地桔梗皂苷类主成分分析

并且基线噪音较大,故选用正离子作为本研究的离子识别模式。进一步采用正交实验法对桔梗皂苷提取方法进行优选^[18-19]。以甲醇浓度(30%、70%、100%)、料液比(1:25、1:40、1:50)、超声提取时间(15、30、45 min)为考察因素,采用3因素3水平正交试验设计(共开展9组试验);每个样品平行提取3份,提取液进UHPLC-Q-TOF/MS分析,平行进样3次;随后利用MS-DIAL进行数据处理,以多指标综合加权评分法(满分100分)确定最佳提取工艺,正离子模式评分权重系数为50,负离子模式评分权重系数为40,桔梗皂苷D相对含量评分权重系数为10;其中每种离子模式评分采用最大值归一化方法进行确认,则该样品正离子模式评分=该样品正离子模式下离子数目/实验组最多的正离子数量×100%,该样品负离子模式评分=该样

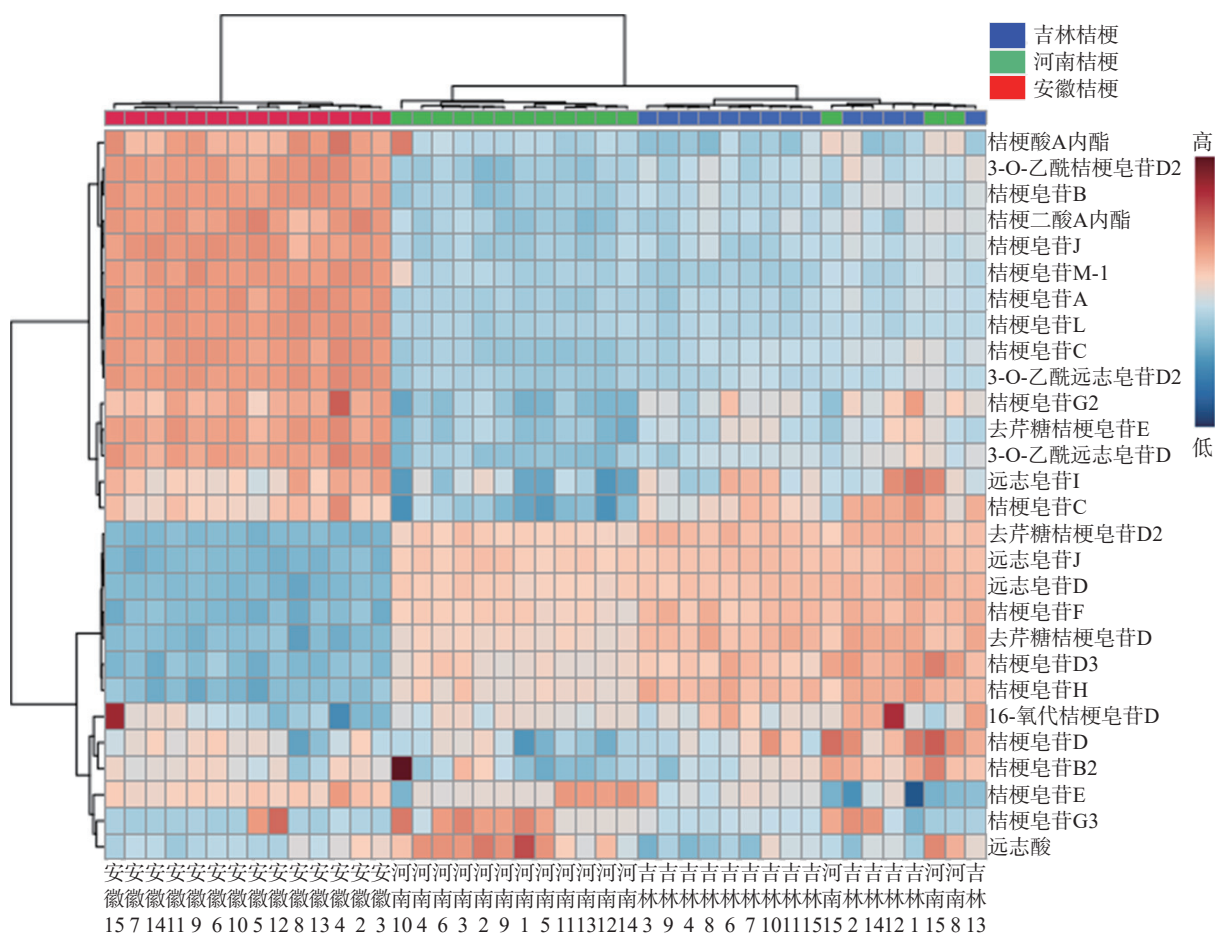


图7 桔梗皂苷类成分热图分析

品负离子模式下离子数目/实验组最多的负离子数量×100%;桔梗皂苷D相对含量评分=桔梗皂苷D峰高/内标峰高。

正交试验结果显示,甲醇浓度、料液比、超声提取时间3个因素的极差R值分别为8.363、12.836、

4.883,表明3个因素对试验指标影响的主次顺序依次是料液比>甲醇浓度>超声提取时间;K值(因素各水平对试验指标的综合影响)最大作为该因素的最优水平,甲醇浓度30%、70%、100%对应的K值依次是36.70、45.06、38.73;料液比1:25、

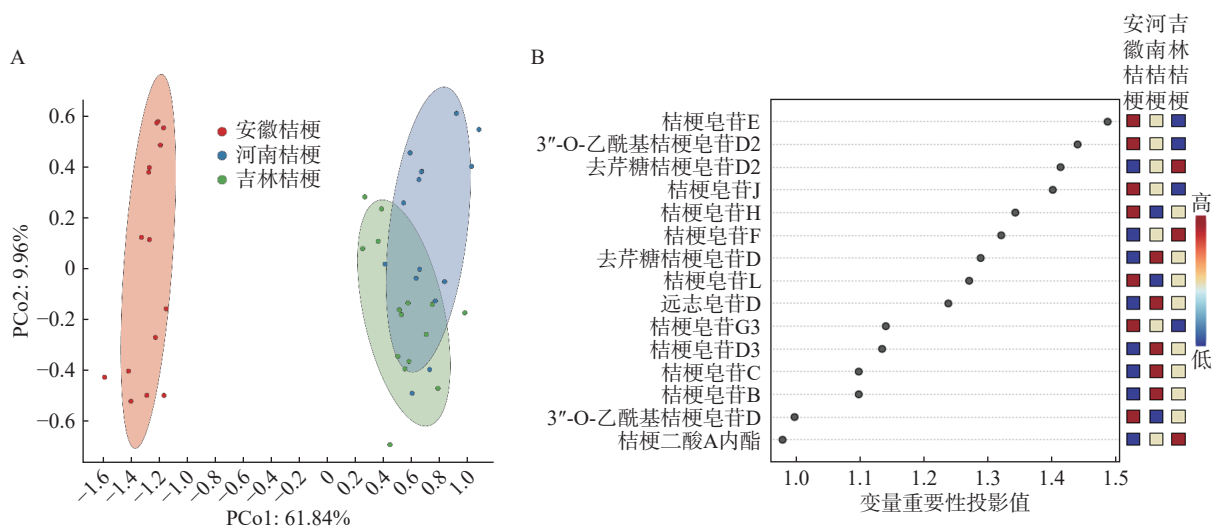


图8 不同产地桔梗皂苷类成分偏最小二乘判别分析(PLS-DA)图及投影重要性变量(VIP)得分图

A.PLS-DA; B.VIP得分

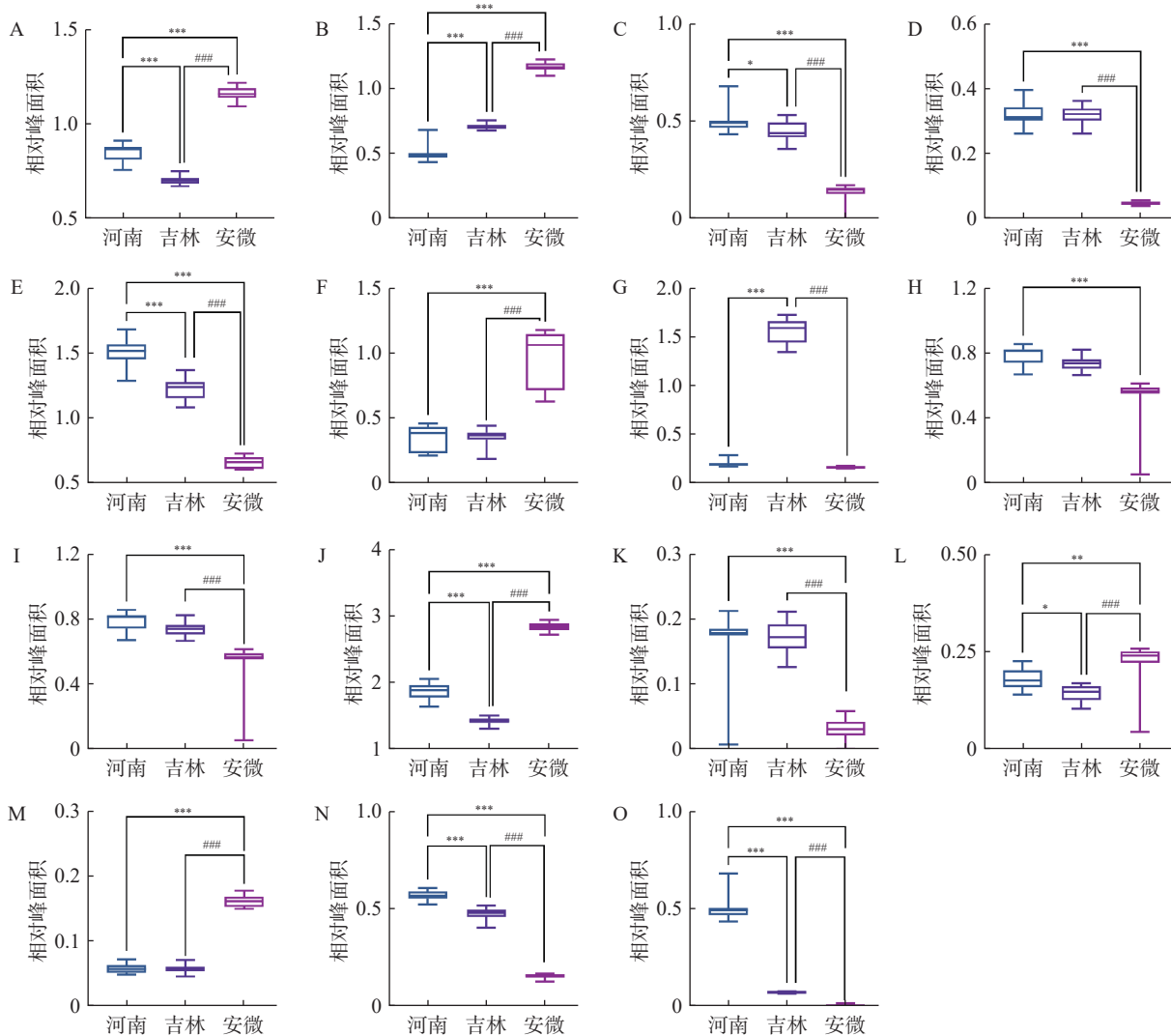


图9 不同产地桔梗的差异皂苷类成分相对含量比较图

A.3''-O-乙酰基桔梗皂苷 D2; B.3''-O-乙酰基远志皂苷 D; C.去芹糖桔梗皂苷 D; D.去芹糖桔梗皂苷 D2; E.桔梗皂苷 D3; F.桔梗皂苷 L; G.桔梗二酸 A 内酯; H.桔梗皂苷 B; I.桔梗皂苷 C; J.桔梗皂苷 E; K.桔梗皂苷 F; L.桔梗皂苷 G3; M.桔梗皂苷 H; N.远志皂苷 D; O.远志皂苷 J
注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 吉林/安徽与河南比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, 吉林与安徽比较。

1:40、1:50对应的K值依次是47.95、37.43、35.11;超声提取时间15 min、30 min、45 min对应的K值依次是37.79、40.03、42.68,据此确定各因素最优水平分别为甲醇浓度70%、料液比1:25、超声提取时间45 min。方差分析进一步验证,甲醇浓度、料液比、超声提取时间的偏差平方和依次为114.06、280.76、35.85(自由度均为2),F比依次为8.31、20.47、2.61;以F临界值19为判定标准,仅料液比的F比(20.47)>临界值且 $P<0.05$,为显著影响因素,甲醇浓度与超声提取时间的影响未达显著水平,因此料液比为主要因素,甲醇浓度及因素C超声提取时间为次要因素。综上所述,桔梗皂苷的最佳提取工艺确定为:采用70%甲醇水溶液,料液比1:25(g/ml),超声提取45 min,该条件下可检测的桔梗皂苷类成分最多。

本研究采用UHPLC-Q-TOF/MS技术结合多元统计分析,克服了传统HPLC-MS分辨率不足的限制。通过二级质谱碎片比对及对照品验证,共鉴定出28种皂苷类成分,其中桔梗皂苷D,去蔗糖桔梗皂苷E、远志皂苷D以及去蔗糖桔梗皂苷D等为多项研究所关注^[20-21]。从皂苷类成分数量上,3个产地的桔梗未见地区差异。PCA与PLS-DA显示,桔梗皂苷D在各地区间差异较小,而桔梗皂苷B、E、C、D、D2、去蔗糖及3'-O-乙酰化衍生物等多个成分表现出显著产地差异性($P<0.05$),当前药典以桔梗皂苷D作为质量控制指标,但本研究结果表明,不同产地桔梗的活性成分谱存在显著差异,提示单一指标成分可能不足以全面评价桔梗质量。具体而言,安徽桔梗中桔梗皂苷H、桔梗皂苷L、桔梗皂苷G3及3'-O-乙酰化衍生物含量较高,这些成分具有显著抗炎活性,可能与该产区气候温和、土壤有机质丰富有关^[22]。河南桔梗富含的桔梗皂苷D3、远志皂苷J、远志皂苷D等,可能与甲羟戊酸焦P酸脱羧酶、异戊烯基焦P酸异构酶等桔梗皂苷合成过程中的主要关键酶表达有关。吉林桔梗远志酸含量突出,或与其传统去皮晒干产地加工工艺有关^[23]。

桔梗中所含的丰富的皂苷类成分对桔梗药材的质量控制也有十分关键的作用,有研究表明桔梗皂苷D、远志皂苷^[24-25]可以通过多种机制发挥抗炎、抗氧化应激以及抗癌作用,远志皂苷还有保护神经细胞的作用;去蔗糖桔梗皂苷D桔梗皂苷D3、远志皂苷D通过抗炎、免疫功能调节等多种机制发挥镇咳祛痰的作用^[26-27]。鉴于多种桔梗皂苷(E、H、L、G3等)较强的抗炎活性,若以抗炎活性为导

向,安徽桔梗可能更具优势^[28-29];而以镇咳祛痰为目标时,河南产地或为优选^[30]。

本研究通过高分辨质谱与化学计量学,揭示了安徽、河南、吉林桔梗的皂苷类成分差异,为桔梗药材的产地选择、质量标准化及临床应用提供了数据支撑。未来需结合多组学技术,深入探究环境-成分-药效的关联性,推动桔梗资源的精准开发利用。

【参考文献】

- [1] 刘春娟,张波.桔梗的真伪鉴别和质量评价方法研究进展[J].中国药房,2021,32(11):1403-1408.
- [2] 邓亚玲,任洪民,叶先文,等.桔梗的炮制历史沿革、化学成分及药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(2):190-202.
- [3] 李超,张欢,汲晨峰.桔梗化学成分、药理作用及现代应用研究进展[J].中国药理学杂志,2025,60(1):9-20.
- [4] 方香香,黄碧涛,曾金祥,等.不同产地桔梗药材中总皂苷及桔梗皂苷D的含量比较[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(1):78-81.
- [5] 谭玲玲,侯晓敏,胡正海.不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷D的测定[J].中草药,2015,46(11):1682-1684.
- [6] 张迟,黄戎婕,曾金祥,等.不同产地桔梗HPLC指纹图谱及化学模式识别研究[J].天然产物研究与开发,2020,32(8):1269-1277.
- [7] 洪挺,章瑛,周志强,等.HPLC-ELSD测定桔梗合剂中桔梗皂苷D含量[J].药品评价,2022,19(7):394-398.
- [8] 赵新悦,刘蕊,冯红,等.基于化学计量学结合HPLC指纹图谱评价桔梗药材质量[J].天然产物研究与开发,2020,32(9):1491-1498.
- [9] 秦艳,陶佳佳,沈赞,等.三色片醇提取物抗补体活性物质的UPLC-Q-TOF-MS/MS研究[J].药学实践杂志,2021,39(4):322-330.
- [10] 陶朝阳,邢心睿,陈思,等.联用超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱技术对扶正化痰胶囊化学成分快速鉴别[J].药学实践杂志,2019,37(5):406-415.
- [11] 刘红霞,孙延文,韩菲,等.UPLC-MS/MS法测定复方地黄合剂中10种指标性成分的含量[J].药学实践与服务,2025,43(8):390-394.
- [12] 赵雪,顾妍秋,楚皓文,等.基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的麻杏石甘汤化学成分分析[J].药学实践与服务,2025,43(11):548-554,571.
- [13] 刘哲,刘孟奇,黄艳梅,等.基于多指标成分定量结合化学计量学评价不同产地和不同采收期桔梗质量[J].中草药,2024,55(13):4516-4525.
- [14] 徐善传.桔梗的生态习性及其林下栽培技术[J].现代农业科技,2021(9):71-72.
- [15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)2020年版[S].北京:中国医药科技出版社,2020:289.
- [16] 郑亚文,杨潇,严一字,等.桔梗皂苷的研究进展[J].食品与机械,2025,41(2):206-215.
- [17] 刘长蕾,朴泓洁,文字萍,等.不同产地桔梗片的营养成分分析[J].延边大学农学学报,2025,47(1):8-15.

- [13] Sancheti S, Sancheti S, Seo SY. Ameliorative effects of 7-methyl coumarin and 7-methoxycoumarin against CCl₄-induced hepato toxicity in rats [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2013, 36: 42-47.
- [14] Kuo CY, Chiu V, Hsieh PC, et al. Chrysophanol attenuates hepatitis B virus X protein-induced hepatic stellate cell fibrosis by regulating endoplasmic reticulum stress and ferroptosis[J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 144: 172-182.
- [15] Zhang YL, Gan ML, Li S, et al. Chemical constituents of stems and branches of *Adina polycephala* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2010, 35: 1261-1271.
- [16] MAREI H E, ALTHANI A, AFIFI N, et al. p53 signaling in cancer progression and therapy[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21: 703.
- [17] CHEN M, QU X S, ZHANG Z Q, et al. Cross-talk between Arg methylation and *Ser phosphorylation* modulates apoptosis signal-regulating kinase 1 activation in endothelial cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2016, 27(8): 1358-1366.
- [18] APTE R N, VORONOV E. Is interleukin-1 a good or bad ‘guy’ in tumor immunobiology and immunotherapy?[J]. *Immunol Rev*, 2008, 222: 222-241.
- [19] GONSALVES W I, BRONIOWSKA K, JESSEN E, et al. Metabolomic and lipidomic profiling of bone marrow plasma differentiates patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance from multiple myeloma[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10250.
- [20] GROENENDIJK F H, DE JONG J, FRANSEN VAN DE PUTTE E E, et al. ERBB2 mutations characterize a subgroup of muscle-invasive bladder cancers with excellent response to neoadjuvant chemotherapy[J]. *Eur Urol*, 2016, 69(3): 384-388.
- [收稿日期] 2025-01-13 [修回日期] 2025-05-10
[本文编辑] 齐春会

(上接第 199 页)

- [18] SHANG Y F, CHEN H, NI Z J, et al. *Platycodon grandiflorum* saponins: Ionic liquid-ultrasound-assisted extraction, antioxidant, whitening, and antiaging activity[J]. *Food Chem*, 2024, 451: 139521.
- [19] 孙萍, 徐慧, 王珊珊, 等. 响应面法优化桔梗总皂苷微波提取工艺及其抗炎活性分析 [J]. *粮食与油脂*, 2024, 37(8): 94-99.
- [20] 阿丽娅·阿卜杜热依木. 基于味觉指标的桔梗道地性评价研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2024.
- [21] 黄澜, 张金瑞. 不同产地中药桔梗中 5 种桔梗皂苷含量的测定 [J]. *中国药物评价*, 2022, 39(6): 473-477.
- [22] 孙雨默, 程林, 韩梅, 等. 不同产地桔梗皂苷生物合成与土壤元素关系的研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(15): 4844-4852.
- [23] 邓怡芳, 刘权震, 田甜, 等. 不同产地加工方式对桔梗质量的影响 [J]. *中国现代中药*, 2024, 26(8): 1374-1381.
- [24] 傅增辉, 金艳, 王春影, 等. 桔梗皂苷 D 对 A β ₂₅₋₃₅ 诱导的 SH-SY5Y 细胞线粒体自噬和凋亡的保护作用 [J]. *医学研究与创伤救治*, 2024, 37(12): 1292-1298.
- [25] 穆秉桃, 郭敏芳, 于婧文, 等. 远志皂苷元改善脂多糖诱导的 BV2 小胶质细胞炎症反应的机制 [J/OL]. *解放军医学杂志*, 2024: 1-13[2024-09-06]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=JFY20240905001&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [26] 钟渊涵, 王玲珑, 邱自超, 等. 基于代谢组学的去芹糖桔梗皂苷 D 镇咳祛痰机制研究 [J]. *药学报*, 2022, 57(10): 3186-3194.
- [27] LIU L L, YAO Z H, ZHANG H Y, et al. Deapi-platycodin D3 attenuates osteoarthritis development via suppression of PTP1B[J]. *J Bone Miner Res*, 2024, 39(11): 1673-1687.
- [28] 刘艳, 王宇瑄, 刘培, 等. 桔梗中三萜皂苷类化学成分研究 [J]. *中药材*, 2024, 47(8): 1957-1965.
- [29] 笔雪艳, 胡畔, 张胜波, 等. 用超高效液相色谱蒸发光散射检测桔梗流浸膏指纹图谱的研究 [J]. *药学实践杂志*, 2015, 33(2): 153-155.
- [30] 井亚江, 王七龙, 黄建萍, 等. 桔梗质量标志物筛选 [J]. *中成药*, 2024, 46(10): 3393-3399.
- [收稿日期] 2025-06-22 [修回日期] 2026-01-22
[本文编辑] 崔俐俊