

基于 UPLC-QqQ-MS/MS 法的太子参中太子参环肽 A 和环肽 B 的含量测定研究

陈娟 李薇 王莎莎 许文 黄泽豪* 严国鸿*

福建中医药大学药学院 福建福州 350122

【摘要】目的 通过 UPLC-QqQ-MS/MS 方式,对太子参药材中的环肽 A 和环肽 B 的含量进行同步检测,并且对福建、贵州、安徽等地区的太子参环肽 A 和环肽 B 含量进行测定对比,为太子参环肽成分的质量评价提供新的技术手段。**方法** 采用 UPLC-QqQ-MS/MS 法检测,采用电喷雾 (ESI) 源,离子检测模式:电喷雾离子源 (ESI) 正离子模式;毛细管电压采用 2.5 kV;色谱条件:色谱柱为 CORTECS™ UPLC® C18 1.6 μm ,流动相使用 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱,流速为 0.2 ml/min,柱温为 45 $^{\circ}\text{C}$ 。**结果** UPLC-QqQ-MS/MS 测定太子参环肽 A 和环肽 B 成分的含量分析方法符合分析要求,并应用于福建、安徽、贵州太子参的含量测定,其中福建太子参中环肽 A 的含量明显高于环肽 B,而贵州、安徽的太子参中环肽 B 的含量则高于环肽 A,三个产地的太子参中环肽 A 和环肽 B 含量存有差异,福建太子参中太子参环肽 B 含量范围为 0.0008 ~ 0.0518 mg/g,低于贵州地区的含量范围为 0.1683 ~ 0.4954 mg/g 和安徽地区的含量范围为 0.0931 ~ 0.4864 mg/g,而对于太子参环肽 A 的含量分布,福建产的太子参含量范围为 0.1527 ~ 0.3102 mg/g 高于贵州地区的含量范围为 0.0425 ~ 0.1428 mg/g 和安徽地区的含量范围为 0.0142 ~ 0.1168 mg/g。**结论** 本研究构建 UPLC-QqQ-MS/MS 法同时测定太子参中太子参环肽 A 与太子参环肽 B 的含量,测定方法快速、高效,并发现不同产地太子参环肽含量存在差异,为太子参的质量评价提供参考。

【关键词】 太子参;太子参环肽 A;太子参环肽 B;液质联用

【中图分类号】 R284.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1009-4393 (2025) 06-001-03

【基金项目】 福建省科技厅福厦泉国家自主创新示范区福建特色道地药材生产关键技术协同创新平台项目 (2023-P-005)

太子参是石竹科 (Caryophyllaceae) 植物孩儿参 (*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.) 的干燥块根,作为传统中药已有 1000 多年历史,主要分布于福建、贵州、安徽等地。其具有益气健脾、生津润肺的功效,常用于治疗脾虚倦怠、病后虚弱等症状。环肽是由 4 ~ 10 个氨基酸残基构成的小分子代谢物,具有多样结构、高稳定性、强结合亲和力及低毒性^[1-2]。环肽是太子参的重要活性成分,具有抗菌、抗炎、抗癌等多种生物活性,能通过调控免疫功能,调节肠道菌群结构,促进食欲,还能通过 SIRT1 途径缓解高葡萄糖诱导的足细胞功能障碍,对糖尿病肾病也具有潜在作用^[3,4]。太子参环肽 B 可调节突触可塑性和神经突生长,从而改善小鼠的认知功能^[5],能通过 PI3K/AKT 信号通路发挥抗氧化、抗炎作用,并在食管癌中显示出抗癌潜力^[6]。因此,本研究旨在建立 UPLC-QqQ-MS/MS 分析方法,用于同时测定太子参环肽 A 和环肽 B 的含量,并比较主产地福建、安徽、贵州含量差异,为太子参的质量评价提供新方法。

1 仪器与试剂

1.1 主要仪器

超高效液相-三重四极杆质谱仪 (ACQUITY UPLC I-Class, 美国 Waters 公司);十万分之一分析天平 (EX224ZH, Sartorius 公司);数控超声波清洗器 (KQ-500DE 型,昆山市超声仪器有限公司);超纯水仪 (MILLI-Q Direct16, Millipore 公司);自动液样处理工作站 (Auto20, 睿科集团 (厦门) 股份有限公司);离心机 (TD5Z-WS, Eppendorf 公司);研磨仪 (MM400, 德国 Retsch 公司)。

作者简介:陈娟,女,硕士研究生在读,研究方向:中药药效物质基础研究。

*通讯作者:1.黄泽豪,男,教授,研究方向:中药资源研究;2.严国鸿,男,主任药师,研究方向:中药制剂与质量评价研究。

1.2 主要试剂

甲醇 (色谱纯,阿拉丁试剂上海有限公司);甲醇 (质谱纯,阿拉丁试剂上海有限公司);蒸馏水 (质谱水);其他溶剂均为分析纯。

1.3 试剂

35 批太子参样品分别购自福建、贵州、安徽,其贵州样品批号为 S1 ~ S10、安徽样品批号为 S11 ~ S20、福建样品批号为 S21 ~ S35。其福建中医药大学范世明正高级实验师鉴定均为石竹科太子参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根。对照品:太子参环肽 B (实验室自制,经检验纯度 >99%);太子参环肽 A (实验室自制,经检验纯度 >99%)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

称适量对照品的粉末,置于锥形瓶中加入 50% 甲醇配置成浓度为 1.0 mg/mL 的对照品母液。

2.2 供试品溶液的制备

将太子参样品研磨成粉,过五号筛,精密称取 0.15 g,置具塞的锥形瓶中,再精密移入 20 mL 90% 甲醇,密闭,称定重量记为原始质量。置于超声波清洗器中超声提取 30 min (功率 250 W,频率 50 kHz),放室温下冷却,用提取溶剂补足减失重,再用离心机 12000 rpm 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,取溶液离心后的上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,用 50% 甲醇稀释 100 倍,即得太子参供试品溶液。

2.3 色谱-质谱条件

2.3.1 色谱条件

色谱柱为 CORTECS™ UPLC® C18 1.6 μm (部件编号:186007095 序列号:01403902815319),流动相使用 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B),梯度洗脱 (0 ~ 0.5 min, 10%B; 0.5 ~ 4.0 min, 10%B $\rightarrow$ 60%B; 4.0 ~ 6.0 min,

60%B → 90%B)，流速为 0.20 mL·min⁻¹，柱温为 45.0 ℃，进样量为 2 μL。

2.3.2 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI) 正离子模式；毛细管电压采用 2.5 kV；锥孔电压采用 40 V；脱溶剂温度：300 ℃；脱溶剂气大小：

600 L/h；锥孔气大小：150 L/h；喷雾器压强：7.0 bar；离子能量：0.5 eV；碰撞气流 0.12 ml/min。2 个成分的质谱测定条件详见表 1，待测成分的相关色谱图见图 1，子离子裂解二级质谱图见图 2。

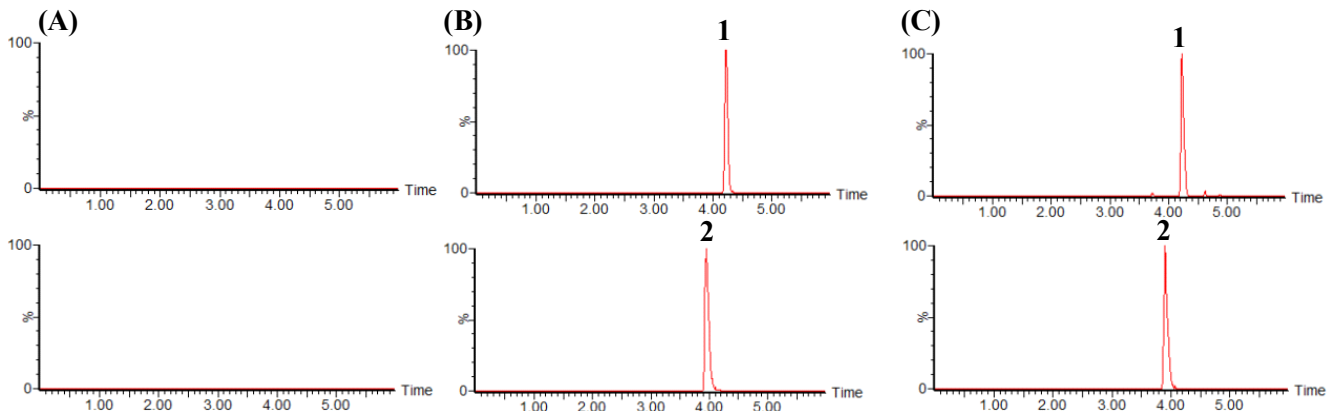


图 1：待测成分的 MRM 色谱图 (A 空白；B 对照品；C 样品)

注：1 太子参环肽 A；2 太子参环肽 B

表 1：2 个成分的质谱测定条件

成分 (component)	分子式 (molecular formula)	t _R /min	定量离子对 (quantification transition) m/z	锥孔电压 (cone voltage) /V	碰撞能量 (collision energy) /eV	离子对模式 (ionization mode)
太子参环肽 B (Heterophyllin B)	C ₄₀ H ₅₈ N ₈ O ₈	3.95	779.43 → 751.41	40	30	ESI+
太子参环肽 A (Heterophyllin A)	C ₃₇ H ₅₇ N ₇ O ₈	4.25	728.42 → 700.45	40	20	ESI+

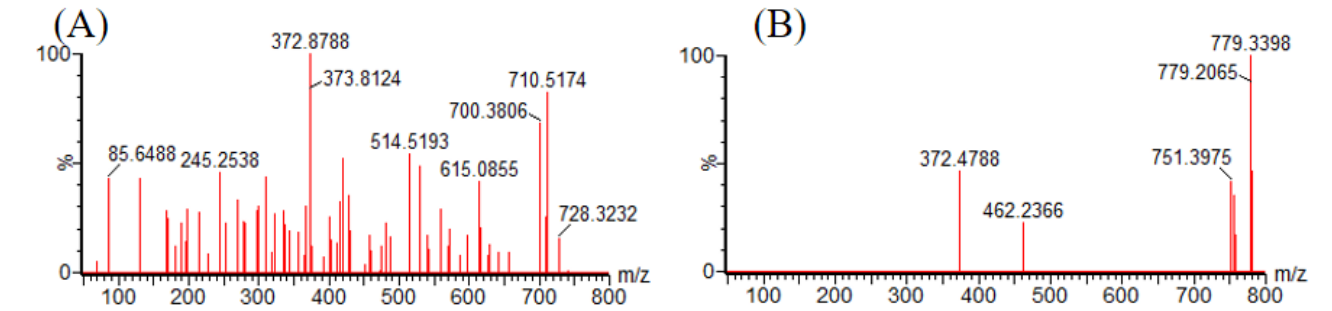


图 2：太子参环肽 A(A) 和太子参环肽 B(B) 的二级离子质谱棒状图

2.4 线性关系

利用自动液样处理工作站精密吸取“2.1”项的对照品溶液用 50% 甲醇水为溶剂制成一系列梯度的质量浓度的对照品溶

液，按“2.3”项条件对样品进行分析。以测量峰面积 (Y)，对质量浓度 (X)，绘制标准曲线，即得回归方程和相关系数 (r)，结果见表 2。

表 2：太子参环肽 A、B 成分线性关系

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/(ng/ml)
太子参环肽 A (Heterophyllin A)	y = 1474.3x + 54.622	0.999 7	25 ~ 2500
太子参环肽 B (Heterophyllin B)	y = 1889.2x + 601.64	0.993 1	50 ~ 5000

2.5 样品含量测定

分别精密称取各批次太子参粉末 0.15 g，按“2.2”项下的方法制备供试品溶液，按照“2.3”项的条件进样分析，带入标准曲线计算样品中太子参环肽 A 以及太子参环肽 B 成分的含量，结果详见表 3 和表 4。

3 讨论

太子参 (Pseudostellaria heterophylla)，在中国被用作药用食品同源植物已有数千年的历史。其主要活性成分为环肽类，本实验采用了液相串联三重四极杆质谱法 (UPLC-QqQ-MS/MS) 法进行检测。流动相体系的选择中，鉴于流动相

的选择对化合物的分离效果至关重要，分别测试了甲醇-乙腈、甲醇-酸水、乙腈-纯水以及 0.1% 酸水溶液-乙腈等不同的流动相体系，经过测试，乙腈体系表现较优。酸水溶液-乙腈系统筛选发现最终选择酸水溶液-乙腈系统作为最佳流动相，并且该体系能够提供更好的分离效果和稳定性。酸的加入有助于调节流动相的 pH 值，改善化合物的电离状态，从而提高它们在色谱柱上的保留和分离效果。在酸水溶液-乙腈系统下，选择最适合的酸水浓度。在乙腈体系中，添加不同比例的酸水 (甲酸水和醋酸水)，分别考察添加 0.1% 和 0.5% 的甲酸水，以及 0.1% 和 0.5% 的醋酸水。经过比较，发现 0.1% 的甲酸水

在乙腈体系中提供了最佳的分离和响应效果。

在质谱条件优化上，为提高质谱检测灵敏度，本实验对太子参环肽 B 与太子参环肽 A 的 MRM 分别进行优化，考察最佳母离子和子离子，优选太子参环肽 B 与太子参环肽 A 的质谱检测条件分别为 779.43 → 751.41 和 728.42 → 700.45。本研究进一步开展了分析方法学验证，包括考察了方法的线性、精密度、稳定性、重复性、加样回收率等考察，均符合质谱分析方法要求。

本次实验采用 UPLC-QqQ-MS/MS 法测定三个不同产地的太子参，分别为福建太子参、贵州太子参以及安徽太子参，测定了其中太子参 A 环肽和太子参 B 环肽的含量，结果显示，太子参中太子参 A 环肽含量在福建是最高的，在贵州次之，而在安徽的太子参环肽 A 含量是最低的；然而，太子参环肽 B 的含量在贵州最高，安徽太子参次之，福建太子参的太子参环肽 B 含量为最低。通过含量测定，35 批太子参中福建太子参环肽 B 的含量范围为 0.0008 ~ 0.0518 mg/g，安徽太子参中太子参环肽 B 的含量范围为 0.0931 ~ 0.4864 mg/g，贵州太子参中太子参环肽 B 的含量为 0.1683 ~ 0.4954 mg/g。福建太子参环肽 A 的含量范围为 0.1527 ~ 0.3102 mg/g，安徽太子参中太子参环肽 A 的含量范围为 0.0142 ~ 0.1168 mg/g，贵州太子参中太子参环肽 A 的含量为 0.0425 ~ 0.1428 mg/g。不同产地太子参环肽 B 与 A 的含量存在显著差异，这种差异可能与产地的气候、土壤、种植方式等因素有关^[7]。

本研究基于 UPLC-QqQ-MS/MS 法对不同产地的太子参 (*Pseudostellaria heterophylla*) 中太子参环肽 A 和环肽 B 的含量进行定量分析，旨在为太子参的品质评价及资源合理利用提供科学依据。实验选取安徽、贵州、福建等主要产区的太子参样本，经预处理后进行检测分析。研究结果表明，不同产地太子参中环肽 A 和环肽 B 的含量存在明显差异。其中，安徽和贵州产太子参中环肽 B 的含量较高，福建产太子参中环肽 B 的含量较低。福建产太子参中环肽 A 的含量显著高于安徽和贵州产区。通过测定太子参中这两种环肽的含量，可以为太子参中环肽的品质评价提供依据，为不同产区太子参的环肽的合理开发利用奠定基础。

参考文献：

[1]XU WY, ZHU HT, TAN NH,et al. An in vitro system to study cyclopeptide heterophyllin B biosynthesis in the medicinal plant *Pseudostellaria heterophylla*[J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2012, 108(1):137-145.

[2]Zhang H, Chen S. Cyclic peptide drugs approved in the last two decades (2001-2021)[J]. *RSC Chem Biol*, 2022, 3(1):18-31.

[3]Li H, Liu Z, Liu Q, et al. Extraction of Polysaccharides from Root of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax. and the Effects of Ultrasound Treatment on Its Properties and Antioxidant and Immune Activities[J]. *Molecules*. 2023,29(1):142.

[4]Zhang S, Kang T, Malacrinò A, et al. *Pseudostellaria heterophylla* improves intestinal microecology through modulating gut microbiota and metabolites in mice [J]. *J Sci Food Agric*. 2024,104(10):6174-6185.

[5]Xiao Q, Zhao L, Jiang C, et al. Polysaccharides from *Pseudostellaria heterophylla* modulate gut microbiota and alleviate syndrome of spleen deficiency in rats [J]. *Sci Rep*. 2022,12(1):20217.

[6]Yang Z, Zhang C, Li X, et al, 2021. Heterophyllin B,

a cyclopeptide from *Pseudostellaria heterophylla*, enhances cognitive function via neurite outgrowth and synaptic plasticity [J]. *Phytother. Res*.2021, 35 (9):5318-5329.

[7] 韩怡，巢建国，谷巍，等. 不同产地太子参环肽 B 含量测定 [J]. *现代中药研究与实践*, 2012, 26(05):69-71.

表 3：太子参中太子参环肽 A 的含量

Tab.3 Content of HeterophyllinA in *Pseudostellaria heterophylla*

编号 (No.)	含量 (content)	编号 (No.)	含量 (content)
	/ (mg/g)		/ (mg/g)
	太子参环肽 A (Heterophyllin A)		太子参环肽 A (Heterophyllin A)
S1	0.0425	S19	0.0635
S2	0.0767	S20	0.1168
S3	0.0811	S21	0.2640
S4	0.1428	S22	0.2558
S5	0.1123	S23	0.2829
S6	0.0891	S24	0.2434
S7	0.0689	S25	0.1998
S8	0.0952	S26	0.2023
S9	0.0593	S27	0.1527
S10	0.0885	S28	0.1985
S11	0.0206	S29	0.2525
S12	0.1060	S30	0.1828
S13	0.0470	S31	0.1597
S14	0.0537	S32	0.3102
S15	0.0449	S33	0.2111
S16	0.0867	S34	0.1777
S17	0.0142	S35	0.1972
S18	0.0612		

表 4：太子参中太子参环肽 B 的含量

Tab.4 Content of Heterophyllin B in *Pseudostellaria heterophylla*

编号 (No.)	含量 (content)	编号 (No.)	含量 (content)
	/ (mg/g)		/ (mg/g)
	太子参环肽 B (Heterophyllin B)		太子参环肽 B (Heterophyllin B)
S1	0.1683	S19	0.3300
S2	0.2001	S20	0.3756
S3	0.1868	S21	0.0518
S4	0.4954	S22	0.0025
S5	0.2682	S23	0.0185
S6	0.2411	S24	0.0247
S7	0.1885	S25	0.0372
S8	0.1791	S26	0.0258
S9	0.2491	S27	0.0162
S10	0.2038	S28	0.0351
S11	0.0931	S29	0.0143
S12	0.3602	S30	0.0012
S13	0.4027	S31	0.0180
S14	0.4085	S32	0.0216
S15	0.3980	S33	0.0085
S16	0.3222	S34	0.0008
S17	0.3402	S35	0.0258
S18	0.4864		