基于串联质谱多重反应监测的进口血竭与国产龙血竭中17种成分的含量测定

王怜星[#], 娄　佳[#], 孙梦冉, 徐晓艳, 王　宇, 王跃飞, 杨文志[*]

(天津中医药大学, 现代中药创制全国重点实验室, 天津 301617)

摘要: 为了有效测定进口血竭与国产龙血竭中特征成分的含量, 本研究基于超高效液相色谱−三重四极杆−线性离子阱质谱技术, 构建了多重反应监测方法, 采用ACQUITY UPLC BEH C_{18}色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 在30 ℃柱温下以0.1%甲酸水−乙腈为流动相、0.3 mL·min^{-1}的流速进行梯度洗脱, 在22 min内同时实现了血竭中6个特征成分与龙血竭中11个特征成分的分离与含量测定。该方法专属性好, 可以快速、高效地测定血竭和龙血竭中共17种特征成分的含量, 各成分均呈现良好的线性关系 (R^2 > 0.99), 平均加样回收率为93.58%～105.82%。结果表明, 进口血竭中血竭素、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基黄烷和 (2*S*)-7-羟基-5-甲氧基-6-甲基黄烷等成分含量较高, 国产龙血竭中龙血素B、龙血素D和紫檀芪等成分含量显著, 但不同批次间存在较大差异。这些结果可为血竭和龙血竭药材的质量控制和标准制定提供参考, 同时也可为区分其他相近中药的质量控制研究提供思路。

关键词: 血竭; 龙血竭; 超高效液相色谱−三重四极杆−线性离子阱质谱; 多重反应监测; 多成分含量测定

中图分类号: R917　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2025)07-2316-08

Content determination of seventeen components in Dragon's Blood and Chinese Dragon's Blood based on multiple reaction monitoring tandem mass spectrometry

WANG Lian-xing[#], LOU Jia[#], SUN Meng-ran, XU Xiao-yan, WANG Yu, WANG Yue-fei, YANG Wen-zhi[*]

(*National Key Laboratory of Chinese Medicine Modernization, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China*)

Abstract: To effectively determine the content of characteristic components in imported Dragon's Blood (DB) and domestic Chinese Dragon's Blood (CDB), this study established a multiple reaction monitoring (MRM) method based on ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry (UHPLC-Q-Trap-MS). Chromatographic separation was achieved using an ACQUITY UPLC BEH C_{18} column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) at 30 ℃ with a mobile phase consisting of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile at a flow rate of 0.3 mL·min^{-1} under gradient elution. The method successfully separated and quantified six characteristic components in DB and eleven in CDB within 22 minutes. The developed approach demonstrated excellent specificity, enabling rapid and efficient determination of 17 components. All analytes exhibited strong linearity (R^2 > 0.99), and the average recovery rate was 93.58%−105.82%. Results revealed that imported Dragon's Blood contained higher levels of dracorhodin, (2*S*)-5-methoxyflavan-7-ol and (2*S*)-5-methoxy-6-methylflavan-7-

收稿日期: 2025-02-25;　修回日期: 2025-05-09.

基金项目: 现代中药新质生产力科技创新工程专项 (24ZXZKSY00010); 现代中医药海河实验室项目 (22HHZYSS00012).

[#]共同第一作者.

*通讯作者 E-mail: wzyang0504@tjutcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0188

ol, while domestic Chinese Dragon's Blood was rich in loureirin B, loureirin D and pterostilbene, albeit with significant variations among different batches. These findings provide critical references for quality control and standardization of DB and CDB, as well as the insights for distinguishing similar traditional Chinese medicines.

Key words: Dragon's Blood; Chinese Dragon's Blood; UHPLC-Q-Trap-MS; multiple reaction monitoring; multicomponent content determination

血竭即进口血竭, 又名“麒麟竭”, 为棕榈科植物麒麟竭 *Daemonorops draco* Bl. 果实渗出的树脂经加工制成[1], 主要分布于东南亚地区如印度尼西亚、马来西亚等, 目前我国的血竭绝大多数是由印度尼西亚进口的原装血竭经过再加工制成的[2]。血竭性平味甘咸, 主归心肝二经, 是活血定痛、化瘀止血、生肌敛疮的传统名贵中药, 用于跌打损伤、心腹瘀痛、外伤出血、疮疡不敛等, 被称为“活血圣药”[3]。龙血竭即国产血竭, 为百合科植物剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的含脂木材经提取得到的树脂[4], 主产于我国广西、海南、云南等地。两者都属于活血化瘀药, 在中医临床中被广泛应用于活血化瘀、止血生肌、抗炎镇痛等治疗。

龙血竭与血竭均为树脂, 虽然外观相似、颜色相近, 但其活性成分、药理活性和临床应用均有所差异。研究发现, 血竭的主要活性成分包括黄酮类、黄烷类和三萜类化合物[5], 如血竭素、去甲基血竭红素等, 具有抗菌、镇痛、双向调节血液循环和止血等作用[6], 临床多用于跌打损伤、褥疮治疗[3]。龙血竭主要活性成分则以二氢查尔酮类、高异黄酮类和酚类成分为主[7], 如龙血素A、龙血素B、紫檀芪等, 具有抗血栓、降糖降脂、抗炎抗菌、抗肝纤维化、保护心肌等多种作用[8], 临床多应用于心血管疾病、皮肤科疾病、妇科疾病、消化系统疾病[3]。然而, 由于二者在外观和颜色上相近, 常出现混淆现象[9-11], 导致药材质量参差不齐, 严重影响了临床疗效和用药安全。

目前, 血竭和龙血竭的质量控制主要依赖于高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 和高效液相色谱−质谱联用 (high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS) 技术。中国药典 (2020年版) 采用HPLC法对血竭中的血竭素进行定量分析[1]。Yi等[12]建立了一种超高效液相色谱 (ultra high performance liquid chromatography, UHPLC) 结合光电二极管阵列检测 (photodiode array detection, PDA) 和电喷雾电离质谱 (electrospray ionization-mass spectrometry, ESI-MS) 方法, 对血竭中6种黄酮类化合物进行了表征和测定。Sun等[13]建立了UHPLC-PDA分析方法, 对51批龙血竭样品中12种酚类化合物进行了定量分析。Yang等[14]采用HPLC-MS法对龙血竭中的酚类化合物进行了分析, 并从中准确鉴定了10种酚类化合物。然而, 现有方法多局限于单一药材或少数几种成分的分析, 尚未有方法能够同时测定血竭和龙血竭中多种特征成分的含量差异。此外, 由于血竭和龙血竭中某些成分含量较低, 传统HPLC方法的灵敏度和选择性难以满足微量成分的精准定量需求。因此, 建立一种高效、准确的分析方法以区分和定量其特征成分, 对于确保药材质量具有重要意义。

在先前的研究中, 本课题组采用超高效液相色谱/离子淌度−四级杆飞行时间质谱结合非靶标代谢组学差异分析技术鉴别了血竭和龙血竭的差异标志物[15]。基于此, 本研究针对性地深入研究二者差异成分的含量, 采用超高效液相色谱−三重四极杆−线性离子阱质谱技术, 建立了正负离子模式下多重反应监测的方法, 同时测定血竭 (8批) 和龙血竭 (13批) 中共17种特征化合物{血竭素、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基黄烷、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基-6-甲基黄烷、去甲基血竭红素、血竭红素、(2*S*)-8-反-[2-(6-苯甲酰氧基-4-羟基-2-甲氧基-3-甲基苯基)乙烯基]-5-甲氧基黄烷-7-羟基、7,4′-二羟基黄酮、7,4′-二羟基高异黄烷、柚皮素、龙血素A、龙血素B、龙血素C、龙血素D、7-羟基黄酮、7,4′-二氢高异黄酮、松属素、紫檀芪}的含量。该研究为血竭和龙血竭的质量控制、真伪鉴别及药效物质基础研究提供了科学依据, 同时也为其他成分相近中药的质量评价提供了新的思路。

材料与方法

仪器 AB SCIEX QTRAP® 4500超高效液相色谱−三重四极杆−线性离子阱质谱仪 (加拿大Applied Biosystems-SCIEX Scientific公司); KQ-250E超声波清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); 5804R低温高速离心机 (德国Eppendorf公司); Vortex-2旋涡混匀仪 (上海泸析实业有限公司); AX205十万分之一天平和BP121S万分之一天平 (瑞士Mettler Toledo公司)。

样品与试剂 异槲皮苷 (**1**, 内标, 批号DSTDY000604)、7,4′-二羟基黄酮 (**2**, 批号DST231017-

052)、柚皮素 (**5**, 批号 DST200109-100)、龙血素 C (**6**, 批号 DST221212-171)、龙血素 D (**7**, 批号 DST250403-074)、7-羟基黄酮 (**8**, 批号 DST221210-537) 均购自成都乐美天生物技术有限公司; 7,4′-二氢高异黄酮 (**3**, 批号 STG3130120)、血竭素 (**4**, 批号 ST14070120)、7,4′-二羟基高异黄烷 (**9**, 批号 STG3180120)、松属素 (**10**, 批号 STC9770105) 均购自上海诗丹德生物技术有限公司; 龙血素 A (**11**, 批号 RFS-205711809005)、龙血素 B (**12**, 批号 RFS-205811810026)、紫檀芪 (**13**, 批号 RFS-0204202006019) 购自成都瑞芬思生物科技有限公司; (2*S*)-7-羟基-5-甲氧基黄烷 (**14**)、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基-6-甲基黄烷 (**15**)、去甲基血竭红素 (**16**)、血竭红素 (**17**)、(2*S*)-8-反-[2-(6-苯甲酰氧基-4-羟基-2-甲氧基-3-甲基苯基)乙烯基]-5-甲氧基黄烷-7-羟基 (**18**) 为实验室自制; 以上对照品纯度均在95%以上, 结构见图1。乙腈、甲醇、甲酸 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司) 均为 LC-MS 级。去离子水经 Milli-Q 系统 (美国 Millipore 公司) 纯化。血竭和龙血竭药材分别购自品真堂中药材、康隆药业、诚亿堂中药材、诚信实业、诚善堂中药材、妙生堂中药材、益草堂中药材、宜美康中药批发、圣禾堂药业、龙源堂药业、道地中药材、天津市药品检定研究院等, 经天津中医药大学李先宽副教授鉴定血竭为棕榈科植物麒麟竭 *Daemonorops draco* Bl. 果实中的树脂, 龙血竭为百合目龙舌兰科剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的树脂, 药材样品保存于天津中医药大学中医药研究院药学部中药标准化技术实验室。详细药材信息见表1。

色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 流动相 0.1% 甲酸水 (A)−乙腈 (B), 洗脱梯度如下: 0～5 min, 25%～30% B; 5～

Table 1 Information on multiple batches of Chinese Dragon's Blood (CDB) and Dragon's Blood (DB)

Sample No.	Origin
CDB-1	Pin Zhen Tang Zhong Yao Cai
CDB-2	Kang Long Yao Ye (Guangxi)
CDB-3	Kang Long Yao Ye (Yunnan)
CDB-4	Cheng Yi Tang Zhong Yao Cai (Guangxi)
CDB-5	Cheng Yi Tang Zhong Yao Cai (Yunnan)
CDB-6	Cheng Xin Shi Ye
CDB-7	Cheng Shan Tang Zhong Yao Cai
CDB-8	Yang Xin Zhong Yao Cai
CDB-9	Miao Sheng Tang Zhong Yao Cai
CDB-10	Yi Cao Tang Zhong Yao Cai
CDB-11	Yi Mei Kang Zhong Yao Pi Fa
CDB-12	Sheng He Tang Yao Ye
CDB-13	Long Yuan Tang Yao Ye
DB-1	Cheng Yi Tang Zhong Yao Cai
DB-2	Cheng Shan Tang Zhong Yao Cai
DB-3	Yang Xin Zhong Yao Cai
DB-4	Yi Mei Kang Zhong Yao Pi Fa
DB-5	Long Yuan Tang Yao Ye
DB-6	Dao Di Zhong Yao Cai
DB-7	Tian Jin Yao Wu Yan Jiu Suo 1
DB-8	Tian Jin Yao Wu Yan Jiu Suo 2

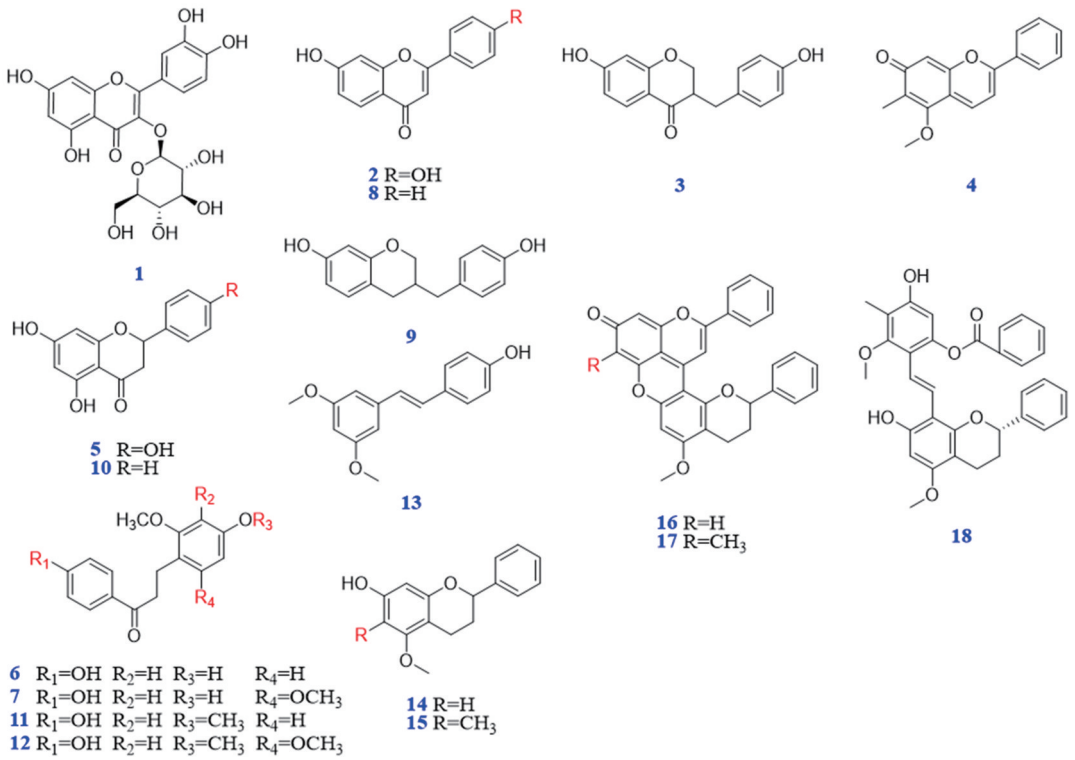


Figure 1 Chemical structures of 18 reference compounds

8 min, 30%～45% B; 8～13 min, 45%～50% B; 13～18 min, 50%～60% B; 18～19 min, 60%～95% B; 19～22 min, 95% B; 柱温为30 ℃, 流速为0.3 mL·min^{-1}, 进样量为2 μL。

质谱条件 17种化学成分和内标物均由电喷雾离子源在正负离子模式下电离。离子喷雾电压为+4 500 V/−4 500 V; 雾化气1和干燥气2设定为55 psi; 离子源温度为550 ℃; 气帘气电压为35 psi; 多重反应监测方法进行定量分析。前体−产物离子对、优化的去簇电压和碰撞能量描述见表2。

对照品溶液的制备 分别精密称取血竭素、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基黄烷、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基-6-甲基黄烷、去甲基血竭红素、血竭红素、(2*S*)-8-反-[2-(6-苯甲酰氧基-4-羟基-2-甲氧基-3-甲基苯基)乙烯基]-5-甲氧基黄烷-7-羟基、7,4′-二羟基黄酮、7,4′-二羟基高异黄烷、柚皮素、龙血素A、龙血素B、龙血素C、龙血素D、7-羟基黄酮、7,4′-二氢高异黄酮、松属素、紫檀芪, 加甲醇溶液超声涡旋使其充分溶解, 配制成1 mg·mL^{-1}的对照品储备液。取对照品储备液适量, 分别稀释并配制为1 μg·mL^{-1}的混标溶液, 按一定体积比混合稀释成对照品溶液。精密称取内标化合物异槲皮苷, 加甲醇溶液超声涡旋使其完全溶解, 配制成1 μg·mL^{-1}的异槲皮苷内标溶液。

供试品溶液的制备 分别精密称定血竭和龙血竭粉末 (过三号筛) 各10 mg, 置具塞锥形瓶中, 精密加入20 mL甲醇, 称定重量, 超声提取 (功率300 W, 频率40 kHz) 30 min, 用甲醇补足失重, 8 000 r·min^{-1}离心10 min, 取上清滤过, 取续滤液作为供试品母液。将供试品母液、甲醇溶液、异槲皮苷内标溶液按照1∶3∶1的比例进行涡旋混匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

专属性 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和空白溶液, 按上述色谱条件和质谱条件测定, 比较空白溶液、混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图。

线性、定量限及检测限 精密吸取对照品储备液适量, 用甲醇稀释为不同浓度的单一对照品溶液, 加入异槲皮苷内标溶液及甲醇适量, 混匀后制得每1 mL分别含龙血素A (7.30 μg)、龙血素B (10.09 μg)、龙血素C (5.03 μg)、龙血素D (16.08 μg)、7-羟基黄酮 (0.10 μg)、血竭素 (30.12 μg)、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基黄烷 (48.20 μg)、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基-6-甲基黄烷 (14.68 μg)、去甲基血竭红素 (2.14 μg)、血竭红素 (11.81 μg)、(2*S*)-8-反-[2-(6-苯甲酰氧基-4-羟基-2-甲氧基-3-甲基苯基)乙烯基]-5-甲氧基黄烷-7-羟基 (16.94 μg)、7,4′-二羟基黄酮 (2.85 μg)、7,4′-二羟基高异黄烷 (2.07 μg)、柚皮素 (0.44 μg)、7,4′-二氢高异黄酮 (12.05 μg)、松属素 (1.99 μg)、紫檀芪 (8.84 μg) 的混合对照品母液, 并以甲醇逐级稀释成一系列不同浓度的混合对照品溶液。按上述色谱条件和质谱条件测定。另取上述最低浓度对照品溶液, 用甲醇逐级稀释后, 同法进样2 μL, 以信噪比为10的浓度为定量限, 以信噪比为3的浓度为检测限。

Table 2 Quantitative ion pairs of the 18 compounds and optimized parameters. IS: Internal standard; DP: Declustering potential; CE: Collision energy

No.	Compound	Q1 mass/Da	Q3 mass/Da	DP/V	CE/V	Origin
1	Isoquercitrin (IS)	463.09	300.03	−176.99	−40.89	/
		465.11	303.05	193.54	22.64	/
2	7,4′-Dihydroxyflavone	255.07	227.06	165.03	37.10	CDB
3	7,4′-Dihydroxyhomoisoflavanone	271.10	165.05	103.04	18.79	CDB
4	Dracorhodin	267.10	252.08	117.52	33.18	DB
5	Naringenin	273.08	153.02	85.04	29.58	CDB
6	Loureirin C	271.10	135.05	−140.89	−26.08	CDB
7	Loureirin D	301.11	135.05	−148.89	−23.34	CDB
8	7-Hydroxyflavone	237.05	209.06	−180.07	−33.27	CDB
9	7,4′-Dihydroxyhomoisoflavane	257.12	147.08	116.20	23.93	CDB
10	Pinocembrin	257.08	153.02	93.06	30.81	CDB
11	Loureirin A	285.11	134.04	−161.59	−30.03	CDB
12	Loureirin B	315.12	134.04	−163.99	−30.98	CDB
13	Pterostilbene	257.12	152.06	84.68	84.53	CDB
14	(2*S*)-5-Methoxyflavan-7-ol	257.12	153.05	109.73	23.90	DB
15	(2*S*)-5-Methoxy-6-methylflavan-7-ol	271.13	167.07	101.46	26.90	DB
16	Nordracorubin	475.15	371.09	165.91	47.65	DB
17	Dracorubin	489.17	385.11	166.08	38.75	DB
18	(2*S*)-8-*trans*-[2-(6-Benzoyloxy-4-hydroxy-2-methoxy-3-methylphenyl)ethenyl]-5-methoxyflavan-7-ol	539.20	435.14	148.66	23.03	DB

仪器精密度 精密吸取低、中、高浓度的混合对照品溶液, 按上述色谱条件和质谱条件测定, 由低浓度到高浓度在同一天内连续进样6针, 计算17个化合物低中高三水平浓度下含量的RSD值。

稳定性 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件和质谱条件分别在0、3、6、9、12、24 h进样分析, 计算17个化合物含量及RSD值。

重复性 分别精密称定血竭 (DB-3) 和龙血竭 (CDB-8) 粉末 (过三号筛) 各10 mg, 平行6份, 按上述“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件和质谱条件进行测定, 计算17个化合物含量及RSD值。

加样回收率 精密称取血竭 (DB-3) 和龙血竭 (CDB-8) 粉末 (过三号筛) 各5 mg, 平行9份, 分别加入该样品量的50%、100%、150%的混合对照品溶液, 按上述“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件和质谱条件进行测定, 计算17种化合物的平均加样回收率及RSD值。

样品含量测定 取各批血竭和龙血竭样品适量, 按上述“供试品溶液的制备”项下方法分别对8批血竭和13批龙血竭样品进行单独制备, 按上述色谱条件和质谱条件进行分析, 采用标准曲线法计算17种化合物的含量。

结果

1 方法学考察

1.1 专属性 混合对照品溶液、供试品溶液和空白溶液的色谱图见图2。空白溶液中对应指标成分位置质谱响应极低, 无干扰峰影响定量; 混合对照品溶液与供试品溶液中17种指标成分的色谱峰与相邻峰均达到基线分离, 分离度良好, 表明该方法专属性良好。

1.2 线性、定量限及检测限 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 以对照品和内标的峰面积比为纵坐标 (Y) 进行作图, 计算各化合物的线性回归方程及相关系数 (R^2), 17种指标化合物的线性相关系数大于0.99, 表明指标化合物在各自范围内线性关系良好, 具体结果见表3。

1.3 仪器精密度 17种指标成分的低浓度对照品RSD范围为0.75%～12.71%, 中浓度对照品RSD范围为1.05%～11.67%, 高浓度对照品RSD范围为1.80%～8.71%, 不同浓度水平下的RSD值均在15%以内, 表明仪器精密度良好, 仪器状态稳定。

1.4 稳定性 17种指标成分的含量RSD值范围为0.65%～14.40%, 表明血竭和龙血竭供试品溶液在制备后24 h内稳定性良好。

1.5 重复性 17种指标成分的含量RSD值范围为1.71%～11.22%, 表明该样品制备方法重复性良好。

1.6 加样回收率 17种指标成分的平均加样回收率为93.58%～105.82%, RSD值范围为0.92%～14.31%, 表明该方法的回收率良好, 结果见表4。

2 样品含量测定

8批血竭和13批龙血竭中17种化合物的含量测定结果见表5和表6。结果显示, 血竭中6种特征成分存在一定差异, 其中血竭素、(2*S*)-7-羟基-5-甲氧基黄烷

Table 3 Regression equations, correlation coefficients, linear ranges, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of the 17 compounds

Compound	Regression equation	R^2	Linear range /ng·mL^{-1}	LOD /ng·mL^{-1}	LOQ /ng·mL^{-1}
7,4′-Dihydroxyflavone	Y = 0.363 0X + 0.003 9	0.997 9	11.50−2 852	0.046	5.859
7,4′-Dihydroxyhomoisoflavanone	Y = 0.541 6X − 0.000 7	0.998 2	32.70−2 074	7.813	15.625
Dracorhodin	Y = 118.822 5X + 5.057 3	0.993 4	83.70−6 853	0.004	0.014
Naringenin	Y = 10.472 1X − 0.005 6	0.998 5	1.70−419	0.049	0.391
Loureirin C	Y = 2.749 4X − 0.041 0	0.992 4	27.50−1 365	2.440	4.880
Loureirin D	Y = 5.327 8X − 3.174 6	0.990 6	714.80−17 188	7.813	15.625
7-Hydroxyflavone	Y = 0.853 4X + 0.000 1	0.999 4	0.90−102	0.003	0.098
7,4′-Dihydroxyhomoisoflavane	Y = 0.120 7X − 0.001 1	0.994 3	49.90−1 054	11.719	23.438
Pinocembrin	Y = 8.594 9X + 0.005 3	0.999 2	32.20−1 963	0.977	3.906
Loureirin A	Y = 5.972 0X − 0.157 3	0.996 7	45.70−7 469	0.053	0.854
Loureirin B	Y = 5.114 1X − 1.118 0	0.999 2	53.40−10 088	0.611	1.221
Pterostilbene	Y = 1.865 2X + 0.000 3	0.999 4	149.30−9 192	8.789	17.578
(2*S*)-5-Methoxyflavan-7-ol	Y = 2.976 7X − 0.635 0	0.998 1	418.80−23 042	11.719	46.875
(2*S*)-5-Methoxy-6-methylflavan-7-ol	Y = 6.036 1X − 1.094 5	0.998 1	290.20−14 678	7.324	14.648
Nordracorubin	Y = 26.664 6X − 0.773 1	0.994 5	42.40−2 141	0.122	3.906
Dracorubin	Y = 33.143 9X − 6.677 4	0.993 1	257.30−11 813	0.168	10.742
(2*S*)-8-*trans*-[2-(6-Benzoyloxy-4-hydroxy-2-methoxy-3-methylphenyl)ethenyl]-5-methoxyflavan-7-ol	Y = 19.443 8X − 6.999 8	0.992 6	421.80−16 936	4.150	16.600

Table 4 Recovery experiment results of the 17 quantitative constituents (n = 9)

Compound	Original amount/μg	Spiked amount/μg	Measured amount/μg	Recovery rate/%	Mean/%	RSD/%
7,4′-Dihydroxyflavone	2.60	1.30	4.01	108.21	100.87	6.33
	2.60	2.60	5.11	96.54		
	2.60	3.90	6.42	97.86		
7,4′-Dihydroxyhomoisoflavanone	1.40	0.75	2.12	95.74	96.28	0.92
	1.40	1.50	2.86	97.34		
	1.40	2.25	3.55	95.76		
Dracorhodin	34.00	18.00	52.73	104.08	101.68	10.83
	34.00	36.00	66.28	89.66		
	34.00	54.00	94.10	111.3		
Naringenin	0.46	0.23	0.67	95.32	93.58	4.20
	0.46	0.46	0.90	96.35		
	0.46	0.68	1.07	89.08		
Loureirin C	3.40	1.70	5.34	114.20	104.63	11.84
	3.40	3.40	6.51	91.39		
	3.40	5.10	8.92	108.31		
Loureirin D	10.80	5.20	15.53	91.01	98.98	13.52
	10.80	10.80	20.68	91.50		
	10.80	16.90	30.14	114.43		
7-Hydroxyflavone	0.04	0.02	0.06	106.67	105.00	1.59
	0.04	0.04	0.08	105.00		
	0.04	0.06	0.10	103.33		
7,4′-Dihydroxyhomoisoflavane	15.80	7.90	23.39	96.04	100.42	5.55
	15.80	15.80	31.37	98.51		
	15.80	23.70	41.09	106.69		
Pinocembrin	3.80	1.90	5.82	106.28	102.98	3.99
	3.80	3.80	7.54	98.39		
	3.80	5.70	9.74	104.28		
Loureirin A	4.20	2.20	6.72	114.36	104.18	10.04
	4.20	4.00	7.94	93.47		
	4.20	6.00	10.48	104.70		
Loureirin B	7.48	3.90	11.87	112.77	99.05	13.17
	7.48	7.40	13.90	86.79		
	7.48	11.20	18.41	97.58		
Pterostilbene	14.70	7.40	21.74	95.11	99.27	4.43
	14.70	14.80	29.33	98.82		
	14.70	22.20	37.76	103.87		
(2*S*)-5-Methoxyflavan-7-ol	36.60	18.00	54.04	96.68	101.78	8.72
	36.60	36.00	71.99	96.63		
	36.60	54.00	98.14	112.03		
(2*S*)-5-Methoxy-6-methylflavan-7-ol	14.20	8.00	21.29	88.61	97.31	14.31
	14.20	16.00	28.59	89.95		
	14.20	24.00	41.41	113.38		
Nordracorubin	3.00	1.60	4.54	96.54	104.60	6.86
	3.00	3.20	6.53	110.29		
	3.00	4.80	8.13	106.97		
Dracorubin	5.40	2.60	8.35	113.41	97.33	13.30
	5.40	5.20	10.03	89.00		
	5.40	7.80	12.65	92.97		
(2*S*)-8-*trans*-[2-(6-Benzoyloxy-4-hydroxy-2-methoxy-3-methylphenyl)ethenyl]-5-methoxyflavan-7-ol	13.10	6.50	20.20	109.26	105.82	3.53
	13.10	13.00	26.39	102.21		
	13.10	19.50	33.77	106.01		

和 (2*S*)-7-羟基-5-甲氧基-6-甲基黄烷的平均含量较高, 去甲基血竭红素的平均含量最低; 龙血竭中11种特征成分存在一定差异, 其中龙血素B、龙血素D和紫檀芪的平均含量较高, 7-羟基黄酮的平均含量最低, 且血竭和龙血竭各批次间化合物含量差异明显。

讨论

评价药材质量优劣的核心在于中药中有效成分和毒性成分的含量测定。传统的含量测定方法如HPLC法虽然操作简便, 但其优化方法缺乏普适性, 尤其对于微量且具有鉴别意义的成分, 难以实现精准定量[16,17]。

Table 5 Results of content determination of the 6 quantitative constituents in 8 batches of DB (mg·g^{-1})

Sample No.	4	14	15	16	17	18
DB-1	2.38	2.98	2.48	0.14	1.35	0.82
DB-2	2.00	2.24	2.16	0.11	1.11	0.77
DB-3	1.40	2.63	2.11	0.10	1.33	1.02
DB-4	1.25	1.92	1.93	0.12	1.22	0.92
DB-5	1.11	1.07	1.56	0.12	1.62	0.62
DB-6	1.11	1.56	1.70	0.11	1.22	0.87
DB-7	1.18	1.65	1.59	0.11	0.96	0.86
DB-8	1.76	3.07	2.33	0.17	1.57	1.09

HPLC-MS技术因其简便快捷、重现性好, 逐渐成为研究者的首选[18]。本研究采用UHPLC-Q-Trap-MS法, 结合MRM技术, 成功测定了血竭和龙血竭中17种特征成分的含量。MRM方法通过选择性地采集目标化合物的特异性母离子, 并进行碰撞诱导, 有效去除了其他子离子的干扰, 实现了对复杂基质中微量成分的高灵敏度定量分析。相比较中国药典中定量血竭素、Yi等[12]对血竭中6种黄酮类化合物进行含量测定, 以及Sun等[19]对龙血竭中11种酚类化合物的含量测定, 本研究方法能在较短的时间下以同一检测分析条件实现血竭和龙血竭共17种化学成分含量的测定, 简便高效地区分两者成分的差异。值得注意的是, 不同批次间成分含量差异较大, 这可能源于不同地域和基原、采收时间、加工工艺及储存条件等因素的影响[20]。本研究为血竭和龙血竭的质量控制提供了科学依据, 同时为其他成分相近中药的质量评价研究提供了新的思路。未来可进一步结合代谢组学和基因组学技术, 深入解析批次间差异的成因, 为药材的标准化生产和质量控制提供更全面的支持。

作者贡献: 本文由王怜星、娄佳负责实验实施和论文撰写; 孙梦冉、徐晓艳、王宇参与数据处理; 王跃飞、杨文志负责实验思路设计、稿件修改等工作。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

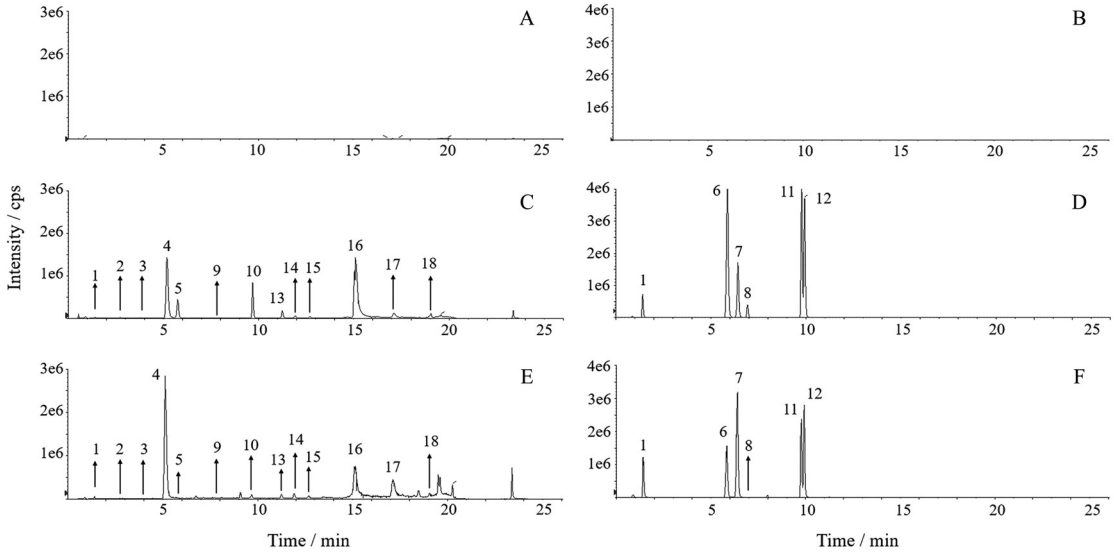


Figure 2 MRM chromatograms of blank (A, B), mixed standards (C, D) and methodology samples (E, F) in both the positive ion modes (A, C, E) and negative ion modes (B, D, F)

Table 6 Results of content determination of the 11 quantitative constituents in 13 batches of CDB (mg·g^{-1})

Sample No.	2	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13
CDB-1	0.16	0.16	0.06	0.49	3.22	0.01	0.90	0.06	0.66	1.22	1.20
CDB-2	0.16	0.14	0.04	0.32	3.12	0.01	0.66	0.05	0.45	1.04	1.10
CDB-3	0.11	0.11	0.03	0.22	2.10	0.01	0.44	0.04	0.28	0.68	0.66
CDB-4	0.13	0.16	0.04	0.32	3.13	0.01	0.61	0.05	0.45	1.03	1.06
CDB-5	0.12	0.07	0.04	0.44	2.83	0.01	0.56	0.04	0.57	1.08	0.78
CDB-6	0.15	0.08	0.04	0.68	2.66	0.01	0.96	0.05	0.88	0.77	0.98
CDB-7	0.14	0.08	0.04	0.43	2.76	0.01	0.62	0.05	0.55	1.06	0.84
CDB-8	0.12	0.08	0.03	0.42	1.89	0.01	0.76	0.04	0.49	0.69	0.63
CDB-9	0.14	0.12	0.05	0.53	3.46	0.01	0.75	0.05	0.71	1.32	0.98
CDB-10	0.17	0.16	0.06	0.43	2.84	0.01	0.98	0.06	0.56	1.05	1.20
CDB-11	0.15	0.11	0.04	0.54	2.97	0.01	0.88	0.05	0.76	0.86	1.09
CDB-12	0.14	0.11	0.03	0.22	2.13	0.01	0.49	0.04	0.29	0.68	0.80
CDB-13	0.08	0.02	0.02	0.13	2.21	0.01	0.33	0.03	0.13	0.57	0.86

References

[1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Part 1. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 149.

[2] Huang LL, Lin JK, Huang QQ, et al. Quality of Draconis Sanguis imported from Southeast Asia [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2025, 27: 420-425.

[3] Zhang L, Wang XP, Huang XW, et al. Advance of the chemical components and pharmacological effects of Draconis Sanguis and Resina Draconis [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2019, 36: 2605-2611.

[4] Zhang Y, Song MF, Li HT, et al. DNA barcoding identification of original plants of a rare medicinal material Resina Draconis and related Dracaena species [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2021, 46: 2173-2181.

[5] Zou QY, Pang DR, Pei YJ, et al. Platelet-inhibitory phenolic constituents from the fruits of *Daemonorops draco* [J]. Fitoterapia, 2023, 167: 105507.

[6] Apaza TL, Rumbero SÁ, Sánchez CJ, et al. Anti-inflammatory, pro-proliferative and antimicrobial potential of the compounds isolated from *Daemonorops draco* (Willd.) Blume [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 268: 113668.

[7] Liu Y, Gao SX, Zhang YX, et al. Transcriptomics and metabolomics analyses reveal defensive responses and flavonoid biosynthesis of *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen under wound stress in natural conditions [J]. Molecules, 2022, 27: 4514.

[8] Gandhi GR, Mohana T, Athesh K, et al. Anti-inflammatory natural products modulate interleukins and their related signaling markers in inflammatory bowel disease: a systematic review [J]. J Pharm Anal, 2023, 13: 1408-1428.

[9] Lou DQ, Du W, Huang Y, et al. New quality problems and control methods for imported Draconis Sanguis [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2019, 54: 1794-1796.

[10] Zhang MT, Liu ZR, Li DH, et al. Quality analysis of Draconis Sanguis based on national drug sampling inspection [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2024, 38: 312-319.

[11] Xue HY, Zou L, Qin Z. Identification study of Resina Draconis mixed into traditional Chinese medicine containing Draconis Sanguis [J]. World Latest Med Inf (世界最新医学信息文摘), 2019, 19: 36-38.

[12] Yi T, Tang YN, Zhang JY, et al. Characterization and determination of six flavonoids in the ethnomedicine "Dragon's Blood" by UPLC-PAD-MS [J]. Chem Cent J, 2012, 6: 116.

[13] Sun XT, Huang Q, Wu MS, et al. Metabolomics and quantitative analysis to determine differences in the geographical origins and species of Chinese Dragon's Blood [J]. Front Plant Sci, 2024, 18: 1427731.

[14] Yang TM, Wang LP, Fu HY, et al. Analysis of phenolic compounds and determination of loureirin B in Dragon's Blood by LC-MS and high performance capillary electrophoresis [J]. Asian J Chem, 2014, 26: 3774-3778.

[15] Lou J, Xu XY, Xu B, et al. Comprehensive metabolome characterization and comparison between two sources of Dragon's Blood by integrating liquid chromatography/mass spectrometry and chemometrics [J]. Anal Bioanal Chem, 2024, 416: 1571-1587.

[16] You SH, Yin HY, Yang SR, et al. Research progress of liquid chromatography-mass spectrometry technology in the chemical composition of traditional Chinese medicine [J]. Acta Neuropharmacol (神经药理学报), 2023, 13: 8-12.

[17] Liu H, Liu HJ. Application of liquid chromatography-mass spectrometry technology in drug quality analysis [J]. Lab Test (实验室检测), 2024, 2: 147-149.

[18] Zhang LY. Research progress on the quality control of Chinese herbal medicine by liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. World Chin Med (世界中医药), 2018, 13: 513-516, 521.

[19] Sun J, Huo HX, Song YL, et al. Method development and application for multi-component quantification in rats after oral administration of Longxuetongluo Capsule by UHPLC-MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 156: 252-262.

[20] Chen PQ, Ban WK, Wang WY, et al. Research progress of pharmacological effects and mechanism of Resina Draconis and its active constituents on cerebral ischemia [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 6172-6184.