

九味熄风颗粒 UPLC-Q-TOF-MS/MS 定性分析及 HPLC-QAMS 酚类成分定量分析

黄丽姣^{1,2,3}, 王佳^{2,4}, 康雨^{2,4}, 胡军华⁴, 韩明书^{2,4*}, 王振中^{1,3,4*}

1. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室 (江苏康缘药业股份有限公司/南京中医药大学), 江苏 南京 210000
2. 江苏省海洋药物和现代中药创制重点实验室, 江苏 连云港 222001
3. 南京中医药大学 康缘中药学院, 江苏 南京 210023
4. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术解析九味熄风颗粒化学成分并建立 5 种酚酸类成分 (天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A) 一测多评 (QAMS) 定量测定方法。方法 应用 Waters UPLC HSS T₃ 色谱柱, 以甲醇-0.1% 甲酸水为流动相洗脱梯度, 体积流量 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 采用电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子模式扫描, 根据质谱数据结合文献报道进行成分鉴定。采用 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱, 乙腈-0.1% 磷酸水为流动相梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 220 nm, 以天麻素为内参物, 建立其与 4 种酚类成分的相对校正因子, 计算各待测组分的含量, 比较外标法 (ESM) 和 QAMS 这 2 种方法的差异。结果 从九味熄风颗粒中共推断和鉴定出 92 个化学成分, 包括 20 个生物碱类、20 个有机酸及其酯类、12 个环烯醚萜类、6 个酚类、6 个氨基酸类、6 个苯乙醇苷类、6 个三萜类及 16 个其他类 (糖类、黄酮类、核苷类等) 成分。QAMS 法和 ESM 法测得的各成分含量无显著性差异, 5 种成分相对误差 (RE) 均低于 5%。结论 通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术可实现对九味熄风颗粒化学成分的快速鉴定, 建立的 ESM 与 QAMS 法联用的多指标定量方法可为该制剂酚类成分的质量一致性评价提供技术支撑。

关键词: 九味熄风颗粒; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 外标法 (ESM); 一测多评 (QAMS) 法; 天麻素; 巴利森苷 E; 巴利森苷 B; 巴利森苷 C; 巴利森苷 A

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)05-1245-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.05.016

Qualitative analysis of chemical compositions in Jiuwei Xifeng Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS and quantitative analysis of phenolic components by HPLC-QAMS

HUANG Lijiao^{1,2,3}, WANG Jia^{2,4}, KANG Yu^{2,4}, HU Junhua⁴, HAN Mingshu^{2,4}, WANG Zhenzhong^{1,3,4}

1. State Key Laboratory of Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd. & Nanjing University of Chinese Medicine), Nanjing 210000, China.
2. Jiangsu Key Laboratory on Innovation for Marine Medicine and Modern Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China
3. Kanion School of Chinese Materia Medica, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
4. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective The chemical compositions of Jiuwei Xifeng Granules were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS/MS technology, and a quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) method was established for the determination of five phenolic acid components (gastrodin, parishin E, parishin B, parishin C, and parishin A). **Methods** The analysis was performed on a Waters UPLC HSS T₃ column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) using a mobile phase of methanol-0.1% formic acid aqueous solution with

收稿日期: 2025-01-02

基金项目: 江苏省基础研究计划自然科学基金-前沿引领技术基础研究专项 (BK20232014)

作者简介: 黄丽姣 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物制剂与产品研发。E-mail: hlj9979@163.com

*通信作者: 王振中, 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药新药研发及应用。E-mail: kyywzz@163.com

韩明书, 女, 博士, 主管中药师, 研究方向为中药药效物质基础及质量标准。E-mail: hanmingshu99@163.com

gradient elution. The flow rate was $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, and the column temperature was maintained at 35°C . Electrospray ion source (ESI) was used to scan in positive and negative ion modes, and the components were identified according to the mass spectrometry data combined with literature reports. For quantification, a Phenomenex Luna C_{18} column ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) was used with a mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution) at a flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and a column temperature of 30°C . Detection was performed at 220 nm . Using gastrodin as the internal reference substance, relative correction factors were established for four phenolic compounds, and their contents were calculated. The differences between the external standard method (ESM) and QAMS were compared. **Results** A total of 92 chemical constituents were tentatively identified in Jiuwei Xifeng Granules, including 20 alkaloids, 20 organic acids and their esters, 12 iridoids, six phenols, six amino acids, six phenylethanoid glycosides, six triterpenoids, and 16 other components (such as sugars, flavonoids, nucleosides, etc.). The QAMS method and ESM showed no significant differences in the content determination of each component, with relative errors (RE) of all five components below 5%. **Conclusion** The UPLC-Q-TOF-MS/MS technique enables rapid identification of chemical components in Jiuwei Xifeng Granules, while the established multi-index quantitative method combining ESM and QAMS can provide technical support for the quality consistency evaluation of phenolic compounds in this preparation.

Key words: Jiuwei Xifeng Granules; UPLC-Q-TOF-MS/MS; external standard method (ESM); quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS); gastrodin; parishin E; parishin B; parishin C; parishin A

九味熄风颗粒是由天麻、熟地黄、钩藤、牡蛎、龙胆、龟甲、僵蚕、青礞石、法半夏 9 味中药组成的中药复方制剂，全方具有滋阴补肾，平肝熄风，化痰宁神的功效，临床上主要用于治疗肾阴亏损、肝风内动型小儿抽动症^[1]。目前，对该制剂的研究主要集中在临床疗效方面^[2]，其化学成分解析及质量标准研究尚未见报道。鉴于中药复方多药味配伍后，化学成分复杂，系统阐释其药效物质基础并建立科学质量评价体系，对推动中药现代化发展具有重要意义。

尽管中药复方成分复杂，质量控制采用 1~2 个指标，难以实现对制剂整体质量的全面评估。天麻作为九味熄风颗粒的君药，具有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络的功效，其主要活性成分为天麻素和巴利森苷等酚类化合物^[3-4]。研究表明，天麻素和巴利森苷是天麻有效入血成分^[5]，其中天麻素对抽动症的刻板行为展现出显著抑制作用并缓解症状，是该制剂发挥疗效的主要活性成分之一^[6]。基于母核结构与生物活性的关联性，巴利森苷类作为天麻素或其衍生物经羧基化后与柠檬酸缩合而成的多酚类物质，可以通过体内代谢为天麻素而发挥同样的药效作用^[5]。可见单一成分的含量测定已不足以反映复方制剂的整体质量，建立同类成分整体分析方法，对提升该制剂的质量控制水平、保障临床疗效具有重要意义。

本研究首先通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术，对九味熄风颗粒的化学成分进行系统研究。同时，基于 HPLC 技术采用一测多评 (QAMS) 法实现对九

味熄风颗粒中 5 个酚类成分 (天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A) 的同步定量分析，旨在为该制剂的整体质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent1290 型 UPLC 色谱仪、Agilent 6538 型 Q-TOF 质谱仪，美国 Agilent 公司；Waters Arc 高效液相色谱仪、Waters e2695 高效液相色谱仪，美国沃特世公司；Mettler Toledo XP6 型电子分析天平 (百万分之一)、Mettler Toledo MS204 电子分析天平 (万分之一)，瑞士梅特勒公司；KQ-500DB 型超声清洗器，昆山市超声仪器有限公司；Milli-Q 纯水仪，美国密理博公司；TG16WM 型台式高速离心机，湖南赫西仪器装备有限公司；HH 数显恒温水浴锅，常州国宇仪器制造有限公司。

1.2 试剂

对照品天麻素 (质量分数 95.5%，批号 110807-202010)、原儿茶酸 (质量分数 97.5%，批号 110809-202207)、龙胆苦苷 (质量分数 98.1%，批号 110770-202219)、马钱苷酸 (质量分数 97.5%，批号 111865-202005)、绿原酸 (质量分数 96.3%，批号 110753-202119)、阿魏酸 (质量分数 99.4%，批号 110773-201915)、钩藤碱 (批号 112028-201801)、异钩藤碱 (批号 111927-201804)、去氢钩藤碱 (批号 112088-202101) 质量分数均 $\geq 98\%$ ，均购自中国食品药品检定研究院；焦地黄苯乙醇苷 B_1 (质量分数 95%，批号 8184)、去氢毛钩藤碱 (批号 16634)、毛钩藤碱

(批号 16635)、缝籽嗉甲醚(批号 16636)、隐绿原酸(批号 3208)、巴利森苷 A(批号 14652)、巴利森苷 B(批号 16928)、巴利森苷 C(批号 17097)、巴利森苷 E(批号 16889),质量分数均>98%,均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司;獐芽菜苦苷(质量分数 99.76%,批号 S392701)购自 Selleck 公司。甲醇为质谱纯(德国默克公司);乙腈为色谱纯(北京迈瑞达科技有限公司);甲酸为质谱纯(赛默飞世尔科技有限公司);磷酸为分析纯(国药化学试剂有限公司);超纯水(Milli-Q 纯水仪制备);9 批九味熄风颗粒由江苏康缘药业股份有限公司提供(批号 190701、200501、200502、200503、210401、211101、220301、220501、241201)。

2 方法与结果

2.1 九味熄风颗粒化学成分分析

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取天麻素、原儿茶酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、绿原酸、阿魏酸、钩藤碱、异钩藤碱、去氢钩藤碱、焦地黄苄乙醇苷 B₁、獐芽菜苦苷、去氢毛钩藤碱、毛钩藤碱、缝籽嗉甲醚、隐绿原酸、巴利森苷 A、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 E 各 1 mg 于 20 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解,摇匀,定容,制成对照品质量浓度均为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液制备 取本品(批号 220501)适量,研细,取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 10 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,加 50%甲醇补足减失的质量,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 色谱条件 采用 Waters UPLC HSS T₃ 型(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm)色谱柱;以甲醇(A)-0.1%甲酸水(B)为流动相,梯度洗脱 0~3 min, 5%~10%A; 3~15 min, 10%~35%A; 15~25 min, 35%~60%A; 25~32 min, 60%~100%A; 32~35 min, 100%A; 体积流量 0.3 mL $\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;进样量 2 μL 。

2.1.4 质谱条件 采用 ESI 离子源,正、负离子模式检测,毛细管电压 4 000 V;干燥气温度 350 $^{\circ}\text{C}$;干燥气体积流量 10.0 L $\cdot\text{min}^{-1}$;雾化压力 275.80 kPa;锥孔电压 65 V;裂解电压 135 V;碰撞能量 10~50 eV;质量扫描范围 m/z 50~1 500。

2.1.5 化学成分分析 取对照品溶液、供试品溶液,按“2.1.3”项下的色谱条件与“2.1.4”项下的

质谱参数进行测定,获得正、负离子模式下的总离子流图(TIC),见图 1。通过 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 10.0 软件(美国 Agilent 公司)对数据进行分析处理,根据一级质谱获得可能的准分子离子峰,并结合二级质谱裂解信息、对照品、参考文献及自建数据库进行解析,共鉴定得到九味熄风颗粒的化学成分 92 个,包括 20 个生物碱类、20 个有机酸及其酯类、12 个环烯醚萜类、6 个酚类、6 个氨基酸类、6 个苯乙醇苷类、6 个三萜类及 16 个其他类(糖类、黄酮类、核苷类等)成分,其中 19 种成分经过与对照品比对后确认,具体信息见表 1。

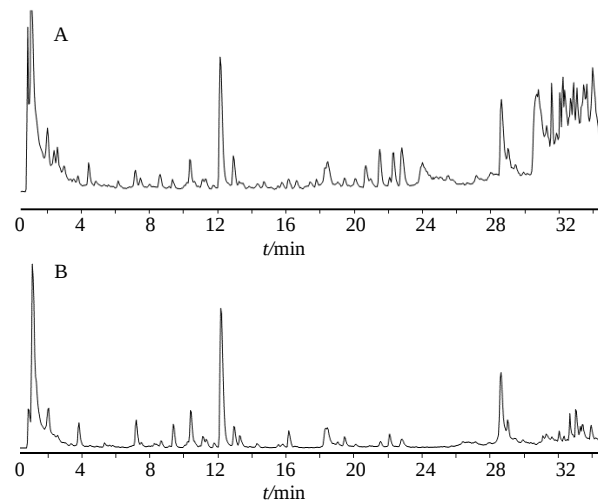


图 1 九味熄风颗粒正离子(A)、负离子(B)模式下总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of Jiwei Xifeng Granules in positive ion (A) and negative ion (B) modes

2.2 九味熄风颗粒酚类成分含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A 适量,甲醇溶解,置于 25 mL 量瓶中,配制成质量浓度分别为 0.074、0.034、0.037、0.012、0.045 mg $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取已研细的本品约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 25 mL,密塞称质量,超声处理 30 min(功率 500 W、频率 40 kHz),取出后放冷,称质量,加入 50%甲醇补足减失的质量,摇匀,离心(12 000 r $\cdot\text{min}^{-1}$ 、5 min),取上清液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按照处方和工艺,制成缺天麻的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备,即得阴性样品溶液。

表 1 九味熄风颗粒 UPLC-Q-TOF-MS/MS 成分分析
Table 1 Composition analysis of Jiuwei Xifeng Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	t _R / min	离子 模式	化合物	分子式	实测值 m/z	理论值 m/z	误差/ (×10 ⁻⁶)	离子碎片	来源
1	1.06	[M+Na] ⁺	蔗糖 ^[4]	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	365.105 6	365.105 4	0.49	203.050 9	a、b、e
2	1.16	[M+Na] ⁺	龙胆三糖 ^[7]	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	527.159 2	527.158 3	1.87	365.106 1、347.094 5、 203.052 1	e
3	1.18	[M-H] ⁻	龙胆二糖 ^[7]	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.108 4	341.108 9	-1.56	179.055 0、161.040 9	e
4	1.23	[M-H] ⁻	水苏糖 ^[8]	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁	665.215 2	665.214 6	0.93	341.109 0、179.056 9	b
5	1.27	[M+H] ⁺	缬氨酸 ^[9]	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 2	118.086 3	-1.32	72.080 9	f、g、d
6	1.40	[M+H] ⁺	腺嘌呤 ^[10]	C ₅ H ₅ N ₅	136.061 6	136.061 7	-0.53	119.035 5、92.024 4	a、b
7	1.73	[M+H] ⁺	烟酸 ^[11]	C ₆ H ₅ NO ₂	124.039 1	124.039 3	-1.67	78.033 4	a
8	2.02	[M+H] ⁺	L-焦谷氨酸 ^[12]	C ₅ H ₇ NO ₃	130.049 4	130.049 9	-3.64	84.044 8	a
9	2.05	[M-H] ⁻	柠檬酸 ^[13]	C ₆ H ₈ O ₇	191.020 1	191.019 7	1.95	173.048 4、129.019 4、 111.009 0	a、b、c
10	2.34	[M-H] ⁻	尿苷 ^[8]	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	243.062 2	243.062 3	-0.24	110.025 0	a、b、d、 g
11	2.41	[M+H] ⁺	L-酪氨酸 ^[14]	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	182.081 1	182.081 2	-0.38	119.052 0、91.054 0	a、d、f、 g
12	2.44	[M-H] ⁻	琥珀酸 ^[15]	C ₄ H ₆ O ₄	117.019 9	117.019 3	4.81	99.009 3、73.030 0	a、g、h
13	2.46	[M+H] ⁺	异亮氨酸 ^[14]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.101 8	132.101 9	-0.80	86.096 9	f、g、d
14	2.60	[M+H] ⁺	亮氨酸 ^[14]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.102 5	132.101 9	4.54	86.096 6、69.068 3	f、g、d
15	3.04	[M+H] ⁺	腺苷 ^[12]	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	268.104 9	268.104 0	3.26	136.061 5	a、b、d
16	3.73	[M+ COOH] ⁻	天麻素 ^{[13]*}	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	331.102 7	331.103 5	-2.64	285.096 8、161.047 4、 123.045 7	a
17	4.43	[M+H] ⁺	苯丙氨酸 ^[14]	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.086 5	166.086 3	1.48	120.080 8	f、g、d
18	4.53	[M+H] ⁺	5-羟甲基糠醛 ^[15]	C ₆ H ₆ O ₃	127.038 4	127.038 9	-4.53	109.028 4、97.936 9、 81.033 9	a、c、b
19	5.32	[M-H] ⁻	地黄苷 D ^[16]	C ₂₇ H ₄₂ O ₂₀	685.221 3	685.219 7	2.38	505.149 3	b
20	5.61	[M+ COOH] ⁻	蜜力特苷 ^[16]	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₅	569.173 9	569.172 3	3.01	523.165 1、343.095 3、 179.055 0	b
21	6.00	[M-H] ⁻	原儿茶酸 ^{[18]*}	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 8	153.019 3	-3.64	109.023 9	a、b、c
22	7.13	[M+Na] ⁺	柠檬酸二甲酯 ^[4]	C ₈ H ₁₂ O ₇	243.048 0	243.047 5	2.16	243.048 0	a
23	7.16	[M-H] ⁻	新绿原酸 ^[17]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.088 2	353.087 8	1.11	191.057 6	c
24	8.41	[M-H] ⁻	1-caffeoyl-β-D-glucose ^[14]	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	341.089 5	341.087 8	4.95	179.033 8	e
25	8.65	[M+ COOH] ⁻	断氧化马钱子苷 ^[18]	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	449.129 7	449.130 0	-0.90	241.069 2、359.136 4	e
26	9.37	[M-H] ⁻	巴利森苷 E ^[12]	C ₁₉ H ₂₄ O ₁₃	459.113 9	459.114 4	-1.12	173.009 9、129.019 9、 111.009 2、87.009 5	a
27	10.09	[M-H] ⁻	对羟基苯甲醛 ^[12]	C ₇ H ₆ O ₂	121.030 1	121.029 5	4.89	93.033 6	a
28	10.21	[M+H] ⁺	伞形酮 ^[9]	C ₉ H ₆ O ₃	163.038 9	163.039 0	-0.44	77.038 8、78.042 9、 105.033 3、135.034 2	c
29	10.24	[M-H] ⁻	绿原酸 ^{[13]*}	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.088 2	353.087 8	1.11	191.057 4、173.047 3、 135.044 8	c
30	10.38	[M-H] ⁻	马钱苷酸 ^{[20]*}	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	375.127 9	375.129 7	-4.71	237.071 2、213.072 4、 191.039 0、185.039 9、 169.086 8、143.032 7	e
31	10.62	[M+ COOH] ⁻	Gentiascabraside A ^[21]	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	449.128 9	449.130 0	-2.88	211.090 4	e
32	10.62	[M-H] ⁻	龙胆酸 ^[22]	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 8	153.019 3	-3.46	109.026 9、108.022 5、 81.033 5	e

表 1 (续)

峰号	t _R / min	离子 模式	化合物	分子式	实测值 m/z	理论值 m/z	误差/ (×10 ⁻⁶)	离子碎片	来源
33	10.91	[M-H] ⁻	隐绿原酸 ^{[17]*}	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.0882	353.087 8	1.11	191.055 7	c
34	11.11	[M-H] ⁻	8-表番木鳖酸 ^[10]	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	375.128 3	375.129 7	-3.64	213.075 0、169.083 5、 151.072 7	b
35	11.15	[M+ COOH] ⁻	6-O-β-D-葡萄糖 基龙胆苦苷 ^[18]	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	563.163 9	563.161 8	4.13	149.058 3	e
36	11.32	[M+Na] ⁺	獐芽菜苦苷 ^{[21]*}	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	397.109 7	397.110 5	1.87	213.088 0	e
37	11.78	[M+ COOH] ⁻	3,5-二甲氧基苯甲 酸4-O-β-D-吡 喃葡萄糖苷 ^[15]	C ₁₅ H ₂₀ O ₉	389.110 3	389.108 9	3.97	165.054 2	a
38	12.19	[M+H] ⁺	龙胆苦苷 ^{[7]*}	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	357.117 4	357.118 0	-1.71	177.054 0、149.059 4	e
39	12.96	[M+H] ⁺	当药苷 ^[7]	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	359.134 2	359.133 7	1.51	197.080 6、179.069 9	e
40	13.27	[M-H] ⁻	巴利森苷 B ^{[13]*}	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₉	727.209 6	727.209 1	0.68	423.087 0、397.111 4、 161.044 1、129.018 1、 111.007 4、85.029 0	a
41	13.49	[M+Na] ⁺	地黄苦苷 ^[10]	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	369.152 4	369.152 0	1.19	207.098 6、162.088 5	b
42	13.51	[M+H] ⁺	18,19- dehydrocorynox inicacid ^[14]	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₄	369.179 7	369.180 9	-3.33	351.173 0、319.142 6、 160.074 5	c
43	14.19	[M-H] ⁻	对羟基肉桂酸 ^[23]	C ₉ H ₈ O ₃	163.039 8	163.040 1	-1.63	119.052 4、93.034 7	c
44	14.29	[M-H] ⁻	巴利森苷 C ^{[13]*}	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₉	727.210 0	727.209 1	1.23	423.091 5、129.018 6、 111.008 3	a
45	14.37	[M+H] ⁺	异钩藤酸 ^[24]	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₄	371.195 5	371.196 5	-2.79	353.181 8、241.132 9、 187.067 8、160.075 0、 108.082 8	c
46	14.61	[M+H] ⁺	卡丹宾碱 ^[7]	C ₂₇ H ₃₂ N ₂ O ₁₀	545.212 8	545.213 0	-0.32	383.159 9、365.149 2、 144.080 9	c
47	14.69	[M+H] ⁺	异二氢卡丹宾碱/ 二氢卡丹宾碱 ^[7]	C ₂₇ H ₃₄ N ₂ O ₁₀	547.228 4	547.228 6	-0.41	385.174 2、367.163 2	c
48	15.08	[M+H] ⁺	异二氢卡丹宾碱/ 二氢卡丹宾碱 ^[7]	C ₂₇ H ₃₄ N ₂ O ₁₀	547.228 6	547.228 6	-0.04	385.175 0、367.167 1	c
49	15.44	[M-H] ⁻	阿魏酸 ^[7]	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 1	193.050 6	-2.74	149.058 5	a、b、c、 e
50	15.54	[M+ COOH] ⁻	2-戊基呋喃 ^[25]	C ₉ H ₁₄ O	183.102 4	183.102 7	-1.94	137.096 8	a
51	15.82	[M+H] ⁺	帽柱木碱 ^[24]	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₄	369.180 2	369.180 9	-1.86	337.149 4、160.075 0	c
52	15.83	[M-H] ⁻	焦地黄苯乙醇苷 A1/A2 ^[10]	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	799.265 5	799.266 6	-1.40	623.216 3、193.047 2、 175.039 2	b
53	16.16	[M-H] ⁻	巴利森苷 A ^{[12]*}	C ₄₅ H ₅₆ O ₂₅	995.303 7	995.303 8	-0.09	727.203 4、423.089 8、 397.110 9	a
54	16.53	[M+Na] ⁺	地黄紫罗兰苷 A ^[4]	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	413.215 8	413.214 6	3.10	211.905 1	b
55	16.62	[M+H] ⁺	去氢钩藤碱 ^{[17]*}	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄	383.197 4	383.196 5	2.27	351.170 7、267.148 6、 224.126 9、108.082 4	c
56	16.91	[M+H] ⁺	钩藤酸 ^[24]	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₄	371.195 5	371.196 5	-2.79	353.185 0、160.074 5、 142.060 9、110.095 9	c
57	17.08	[M+H] ⁺	育亨宾 ^[7]	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃	355.200 5	355.201 6	-3.16	251.153 0、144.080 2	c

表 1 (续)

峰号	t _R / min	离子 模式	化合物	分子式	实测值 m/z	理论值 m/z	误差/ (×10 ⁻⁶)	离子碎片	来源
58	17.36	[M+H] ⁺	异钩藤碱 ^{[17]*}	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₄	385.212 0	385.212 2	-0.48	353.186 0、160.076 0、 110.097 2	c
59	17.46	[M-H] ⁻	毛蕊花糖苷 ^[10]	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.196 2	623.198 1	-3.11	461.149 6、161.021 8	b
60	17.57	[M+H] ⁺	钩藤碱 ^{[17]*}	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₄	385.212 3	385.212 2	0.30	353.186 2、269.159 5、 160.073 7、110.096 3	c
61	17.83	[M+H] ⁺	阿桔米精 ^[24]	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₃	353.185 6	353.186 0	-1.05	210.111 8、144.080 6	c
62	18.04	[M-H] ⁻	焦地黄苯乙醇苷 B1 ^{[26]*}	C ₃₇ H ₅₀ O ₂₀	813.282 4	813.282 3	0.16	193.049 1、175.037 6	b
63	18.26	[M+Na] ⁺	地黄紫罗兰苷 B ^[14]	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	413.215 0	413.214 6	1.05	175.505 0	b
64	18.45	[M+H] ⁺	3-乙酰基当药苷 ^[14]	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	401.145 2	401.144 2	2.44	197.085 0、179.069 6	e
65	18.68	[M+H] ⁺	槲皮素 ^[17]	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.050 1	303.049 9	0.57	201.052 1、165.014 1、 121.025 7、111.009 6	c、e、g
66	18.72	[M+H] ⁺	芦丁 ^[21]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.161 7	611.160 7	1.70	303.046 5、129.052 8、 85.025 1	c、e
67	18.86	[M-H] ⁻	异毛蕊花糖苷 ^[10]	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.197 4	623.198 1	-1.19	179.030 2、161.022 6	b
68	19.05	[M-H] ⁻	7-O-(4"-O- glucosyl)- coumaroyl loganic acid ^[14]	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₇	683.220 6	683.219 3	1.94	521.162 9、315.125 9	e
69	19.91	[M+H] ⁺	柯楠因碱 ^[17]	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₃	367.201 1	367.201 6	-1.42	144.080 1	c
70	20.22	[M+H] ⁺	ajmalicine ^[14]	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₃	353.186 6	353.186 0	1.79	210.111 0、144.080 2	c
71	20.67	[M+H] ⁺	去氢毛钩藤碱 ^{[17]*}	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₃	367.202 7	367.201 6	2.95	224.129 0、144.080 8、 108.079 7	c
72	20.79	[M-H] ⁻	米团花苷 A ^[10]	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₅	637.214 1	637.213 8	0.48	193.047 3、175.031 9	b
73	20.96	[M+H] ⁺	corynanthine ^[14]	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃	355.202 1	355.201 6	1.36	144.080 4、251.152 3	c
74	21.10	[M+H] ⁺	异牡荆黄素 ^[21]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433.113 1	433.112 9	0.41	271.057 4、272.068 1	e
75	21.49	[M+H] ⁺	缝籽嗉甲醚 ^{[17]*}	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₃	367.202 2	367.201 6	1.59	144.080 6、224.128 7	c
76	21.75	[M-H] ⁻	6-O-E-阿魏酰基 筋骨草醇 ^[16]	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₂	523.181 3	523.182 1	-1.53	175.042 7	b
77	22.09	[M-H] ⁻	4-hydroxy-1- prenyl-5-(3-O-β-D- glucopyranosyl)- benzoic acid ^[14]	C ₁₈ H ₂₄ O ₉	383.135 3	383.134 8	1.42	221.082 2、177.092 1	e
78	22.30	[M+H] ⁺	毛钩藤碱 ^{[17]*}	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	369.218 5	369.217 3	3.34	226.143 4、144.080 8、 110.095 8	c
79	22.81	[M-H] ⁻	地黄苷/异地黄苷 ^[10]	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₅	651.237 5	651.229 4	-2.98	193.047 3、175.040 1	b
80	25.24	[M+H] ⁺	斯垂特萨米碱 ^[24]	C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₈	499.207 4	499.207 5	-0.19	337.155 6	c
81	27.12	[M+H] ⁺	喜果苷 ^[24]	C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₈	499.207 4	499.207 5	-0.19	144.081 3	c
82	27.92	[M-H] ⁻	pinellic acid ^[27]	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.233 1	329.233 4	-0.75	229.142 9、211.133 9	b
83	29.48	[M+H] ⁺	钩藤苷元 B ^[14]	C ₃₀ H ₄₄ O ₃	453.336 8	453.336 3	1.06	435.328 2	c
84	29.51	[M-H] ⁻	甘草酸 ^[14]	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	821.394 2	821.396 5	-2.81	645.355 5、469.326 5	h
85	30.23	[M-H] ⁻	23-醛-3β,6β,19α- 三羟基乌苏酸 ^[14]	C ₃₀ H ₄₆ O ₆	501.319 8	501.322 2	-4.70	457.270 5	c
86	30.42	[M-H] ⁻	3β, 6β, 19α, 23- tetrahydroxyurs-12- en-28-oic acid/3β, 6β, 19α, 24- tetrahydroxyurs-12- en-28-oic acid ^[14]	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	503.335 8	503.337 8	-3.99	405.269 4	c

表 1 (续)

峰号	t _R / min	离子 模式	化合物	分子式	实测值 m/z	理论值 m/z	误差/ (×10 ⁶)	离子碎片	来源
87	30.57	[M-H] ⁻	3β, 6β, 19α, 23- tetrahydroxyurs-12- en-28-oic acid/3β, 6β, 19α, 24- tetrahydroxyurs-12- en-29-oic acid ^[4]	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	503.336 0	503.337 8	-3.59	405.269 4	c
88	30.65	[M+Na] ⁺	邻苯二甲酸二丁 酯 ^[28]	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	301.141 8	301.141 0	2.77	171.106 6	c
89	32.67	[M+Na] ⁺	单棕榈酸甘油酯 ^[28]	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	353.267 0	353.266 2	2.33	75.053 2	c
90	33.02	[M-H] ⁻	亚油酸 ^[15]	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.231 7	279.233 0	-4.47	261.225 1	a、c、g
91	33.43	[M+Na] ⁺	单硬脂酸甘油酯 ^[4]	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	381.298 0	381.297 5	1.31	91.054 0	a
92	33.63	[M+H] ⁺	邻苯二甲酸二辛 酯 ^[28]	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	391.284 5	391.284 2	0.55	149.023 4、121.028 9、 71.086 2、57.070 7	c

“*”表示通过与对照品比对后确定该化合物；a-天麻；b-熟地黄；c-钩藤；d-牡蛎；e-龙胆；f-龟甲；g-僵蚕；h-法半夏。

“**” means a compound is determined by comparison with a control substance; a-*Gastrodiae Rhizoma*; b-*Rehmanniae Radix Praeparata*; c-*Uncariae Ramulus Cum Uncis*; d-*Ostreae Concha*; e-*Gentianae Radix et Rhizoma*; f-*Testudinis Carapax et Plastrum*; g-*Bombyx Batryticatus*; h- *Pinelliae Rhizoma Praeparatum*.

2.2.4 色谱条件 采用 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱；流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸(B)，梯度洗脱 0~10 min, 3% A；10~20 min, 3%~5% A；20~30 min, 5%~12% A；30~40 min, 12%~14% A；40~55 min, 14%~17% A；55~65 min, 17%~18% A；体积流量为 1.0 mL·min⁻¹；柱温 30 ℃；检测波长 220 nm；进样量 5 μL。

2.2.5 专属性考察 取“2.2”项下对照品、供试品(批号 220501)、阴性样品溶液适量，在“2.2.4”项色谱条件下进样测定，结果见图 2，各成分色谱峰分离度良好，阴性样品溶液未见干扰峰，表明该方法专属性良好。

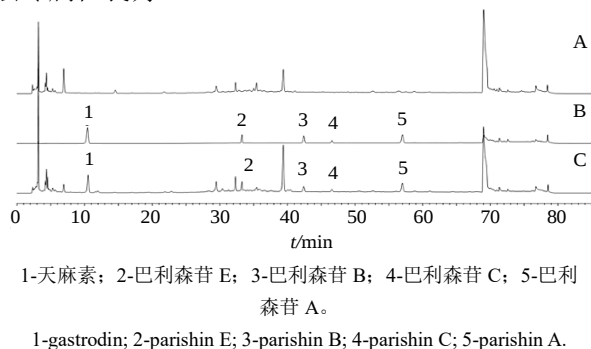


图 2 阴性样品 (A)、混合对照品 (B)、供试品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of negative sample (A), mixed reference standard (B), and test sample (C)

2.2.6 线性关系考察 取各对照品适量，加甲醇制成混合对照品母液（各成分质量浓度为：天麻素 182.7 μg·mL⁻¹，巴利森苷 A 96.2 μg·mL⁻¹，巴利森苷 B 94.6 μg·mL⁻¹，巴利森苷 C 52.0 μg·mL⁻¹，巴利森苷 E 95.5 μg·mL⁻¹），依次稀释成系列质量浓度，在“2.2.4”项色谱条件下进样测定。

以对照品质量浓度为横坐标 (X)，峰面积平均值为纵坐标 (Y) 进行线性回归，得回归方程为天麻素 $Y=10\,306\,X-14\,081$ ， $r=1.000\,0$ ，线性范围 18.3~182.7 μg；巴利森苷 A $Y=8\,727.9\,X-11\,194$ ， $r=0.999\,9$ ，线性范围 9.6~96.2 μg；巴利森苷 B $Y=8\,241.2\,X-8\,989.9$ ， $r=0.999\,9$ ，线性范围 9.5~94.6 μg；巴利森苷 C $Y=8\,485.5\,X+7\,534.5$ ， $r=0.999\,9$ ，线性范围 5.2~52.0 μg；巴利森苷 E $Y=6\,890\,X-6\,907.3$ ， $r=0.999\,9$ ，线性范围 9.5~95.5 μg。

2.2.7 精密度考察 取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量，在“2.2.4”项色谱条件下连续进样 6 次，测得天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A 的峰面积 RSD 分别为 0.17%、0.22%、0.35%、0.23%、0.15%，表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性考察 取“2.2.2”项下供试品(批号 220501)溶液适量，分别于 0、3、6、9、12、15、18、24 h 在“2.2.4”项色谱条件下进样检测，测得天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A 的峰面积 RSD 分别为 0.21%、0.34%、0.70%、

0.63%、0.30%，表明 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.2.9 重复性试验 取同一批样品（批号 220501），按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.2.4”项色谱条件下进样检测，测定天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A 含量的 RSD 分别为 0.65%、0.74%、0.72%、0.88%、1.05%，表明该方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率考察 取各成分含量已知的样品（批号 220501）9 份，每份约 0.5 g，分为 3 组，每组 3 份，分别按低、中、高比例加入混合对照品溶液（含天麻素 0.43 mg·mL⁻¹、巴利森苷 E 0.13 mg·mL⁻¹、巴利森苷 B 0.13 mg·mL⁻¹、巴利森苷 C 0.06 mg·mL⁻¹、巴利森苷 A 0.25 mg·mL⁻¹）1、2、3 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.4”项色谱条件下进样检测，计算各成分回收率。天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 A 的加样回收率分别为 96.72%、100.92%、96.80%、102.04%、107.50%，RSD 分别为 2.25%、4.33%、4.26%、3.92%、1.76%，表明该方法准确度良好。

2.3 QAMS 法建立

2.3.1 相对校正因子 ($f_{s/i}$) 的确定 采用多点校正法，取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量，按“2.2.4”项色谱条件下进样检测，以天麻素为内标，计算其他 4 种成分的 $f_{s/i}$ ，结果见表 2。

$$f_{s/i} = (C_i/A_i) / (C_s/A_s)$$

C_i 为待测成分含量， A_i 为待测成分峰面积， C_s 为内标含量， A_s 为内标峰面积

表 2 各成分相对校正因子

Table 2 Relative correction factors of various constituents

序号	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 E}}$	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 B}}$	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 C}}$	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 A}}$
	苷 E	苷 B	苷 C	苷 A
1	1.535	1.302	1.244	1.165
2	1.538	1.307	1.237	1.163
3	1.534	1.310	1.244	1.165
4	1.538	1.306	1.237	1.165
5	1.536	1.310	1.240	1.164
6	1.538	1.307	1.239	1.166
平均值	1.537	1.307	1.240	1.165
RSD/%	0.11	0.20	0.25	0.09

2.3.2 $f_{s/i}$ 耐用性考察 取“2.2.1”项下对照品溶液适量，分别考察 Phenomenex Luna C₁₈、Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈、Agilent 5 TC-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），体积流量（0.90、0.95、1.00、1.05、1.10 mL·min⁻¹）、柱温（28、30、32 °C），在 Waters Arc、Waters e2695 型 HPLC 系统进样检测，结果见表 3，不同仪器及色谱柱对相对 $f_{s/i}$ 值影响不显著（RSD≤1.37%），表明本方法耐用性良好。

2.3.3 色谱峰定位 取“2.2.1”项下对照品溶液适量，分别在“2.3.2”项仪器、色谱柱上测定保留时

表 3 各因素对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 3 Effects of each factor on $f_{s/i}$

仪器	色谱柱	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 E}}$	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 B}}$	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 C}}$	$f_{\text{天麻素/巴利森苷 A}}$
Waters Arc	Phenomenex Luna C ₁₈	1.537	1.307	1.240	0.939
	Agilent Eclipse Plus C ₁₈	1.533	1.298	1.245	0.935
	Agilent 5 TC-C ₁₈	1.538	1.306	1.227	0.943
Waters e2695	Phenomenex Luna C ₁₈	1.504	1.285	1.238	0.921
	Agilent Eclipse Plus C ₁₈	1.532	1.295	1.230	1.150
	Agilent 5 TC-C ₁₈	1.532	1.296	1.224	1.156
柱温/°C	28	1.542	1.317	1.275	1.170
	30	1.535	1.302	1.244	1.165
	32	1.550	1.316	1.299	1.173
	平均值	1.504	1.317	1.284	1.172
	RSD/%	0.41	0.51	1.75	0.25
体积流量/(mL·min ⁻¹)	0.90	1.512	1.317	1.284	1.169
	0.95	1.547	1.321	1.290	1.210
	1.00	1.535	1.302	1.244	1.165
	1.05	1.559	1.321	1.277	1.190
	1.10	1.544	1.310	1.269	1.179
	平均值	1.539	1.314	1.273	1.183
	RSD/%	1.02	0.56	1.24	1.37

间,采用保留时间差法计算 Δt 进行待测成分色谱峰定位,如表 4 所示,各成分相对保留时间波动较小 ($RSD \leq 2.20\%$),结果表明用待测成分与内参物的相对保留时间值来定位具有可行性。

$$\Delta t = t_i - t_s$$

t_i 为待测成分保留时间, t_s 为内标保留时间

2.3.4 含量测定结果比较 取 9 批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.2.4”项色谱条件下进样检测,分别采用外标法 (ESM) 和 QAMS 法计算含量,结果见表 5,2 种方法结果接近,相对误差 ($RE \leq 4.60\%$),表明 QAMS 法可用于九味熄风颗粒酚类成分的含量测定。

表 4 不同仪器、色谱柱下各组分测得的 Δt
Table 4 Δt of each component in different instruments and columns

仪器	色谱柱	$\Delta t/\text{min}$			
Waters Arc	Phenomenex Luna C ₁₈	22.768	31.804	35.891	46.173
	Agilent Eclipse Plus C ₁₈	23.101	31.695	35.534	45.638
	Agilent 5 TC-C ₁₈	22.119	32.507	36.867	47.873
Waters e2695	Phenomenex Luna C ₁₈	23.081	32.380	36.548	47.016
	Agilent Eclipse Plus C ₁₈	23.811	32.595	36.433	46.701
	Agilent 5 TC-C ₁₈	22.794	33.430	37.872	49.166
平均值		22.946	32.002	36.524	46.561
RSD/%		2.20	1.12	1.54	2.05

表 5 各成分含量测定的结果
Table 5 Content determination results of various constituents

批号	天麻素/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	巴利森苷 E/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		巴利森苷 B/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		巴利森苷 C/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		巴利森苷 A/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	ESM	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
211101	1.795	0.828	0.854	0.772	0.807	0.241	0.233	1.269	1.244
220301	1.600	0.777	0.802	0.680	0.710	0.249	0.242	1.310	1.284
220501	1.761	0.771	0.796	0.663	0.693	0.276	0.268	1.193	1.169
190701	1.561	1.052	1.086	0.992	1.037	0.319	0.312	1.814	1.783
200501	1.582	0.427	0.441	0.262	0.274	0.141	0.139	0.748	0.735
200502	1.810	0.455	0.470	0.301	0.314	0.170	0.166	0.790	0.776
200503	3.463	0.987	1.019	0.638	0.666	0.281	0.276	1.565	1.538
210401	1.865	0.282	0.292	0.174	0.182	0.135	0.132	0.111	0.109
241201	2.475	1.041	1.075	0.778	0.813	0.328	0.321	1.224	1.203

3 讨论

鉴于中药复方制剂具有药味多、不同药味制备工艺存在差异、有效成分不明确以及所含成分含量较低等特点,如何选择合适的指标成分来控制中药复方制剂的质量至关重要。在选择中药复方制剂质控指标时,通常需综合考虑制剂所含的活性成分、君药中的特征性成分以及含量是否具有可测性等因素,进而选择合适的指标进行含量测定,以此实现对中药复方制剂质量的全面评估。天麻作为九味熄风颗粒的君药,其药效成分在整体方剂中具有重要作用。天麻素是天麻的主要活性成分之一,具有

显著的神经保护、镇静、抗惊厥等药理作用^[29]。有研究表明,天麻素能够通过多巴胺系统和五羟色胺 (5-HT) 系统相互作用,显著减轻 3,3-亚氨基二丙腈 (IDPN) 模型大鼠中的典型抽动症行为,是改善抽动症的重要功效成分^[6]。此外,酚类成分是天麻特有的成分,巴利森苷类成分在体内能够代谢转化为天麻素,且其总含量高于天麻素,因此,选择以天麻素为代表的酚类成分作为质控指标,不仅具有专属性还具有良好的药效活性,能更较好地控制九味熄风颗粒的质量。另具文献报道,钩藤碱可以降低纹状体中多巴胺水平和多巴胺受体 D2 的表

达,从而改善抽动症^[30]。在九味熄风颗粒中,生物碱类成分数量较多,然而,通过研究发现,含量相对较高的 7 个生物碱类成分在成品的含量均低于万分之一,难以确保批次间的稳定性,不宜作为质控指标。基于此,本研究重点探究了酚类成分的含量测定方法,通过建立一类专属性活性成分的测定方法,对九味熄风颗粒进行质量控制。这一研究不仅为九味熄风颗粒的质量控制方法提供了参考依据,也为后续相关研究奠定了基础。

QAMS 法又叫替代对照品法^[31],它通过测定一种价廉易得、性质稳定的内参物来实现其他多个成分含量的同步测定,尤其适用于同类成分或者紫外吸收相近的不同化学成分的定量分析,具有经济、高效、适用性广泛等优点^[32-33]。天麻素具有价廉易得、性质稳定的特点,目前已有多项 QAMS 研究选择天麻素作为内标成分^[34-35],因其在九味熄风颗粒中含量相对较高,因此本研究选择天麻素作为内标。

本研究采用 ESM 和 QAMS 法同时对天麻素、巴利森苷 A、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 E 共 5 个酚类成分的含量进行测定。结果表明,QAMS 法推算的含量与外标法所得含量并无明显差异($RE < 5\%$),提示本实验建立的相对校正因子具有较高的可靠性,能够实现在对照品缺乏的情况下,利用巴利森苷 A、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 E 与内标天麻素的相对校正因子快速测定其含量。

待测成分色谱峰的准确定位是 QAMS 法成功应用的关键。QAMS 法中各成分色谱峰定位常用的两种方法分别是相对保留时间法和保留时间差法^[36-37]。本实验分别考察了两种方法的耐用性,结果发现不同仪器和色谱柱上各成分的保留时间有所波动,相比之下,保留时间差法的 RSD 变化较小,因此本研究选择应用保留时间差法对九味熄风颗粒中 5 个酚类成分进行色谱峰定位。

本实验采用 ESM 和 QAMS 法同时对 9 批九味熄风颗粒中 5 个活性成分(天麻素、巴利森苷 A、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷 E)含量进行测定,结果表明,ESM 和 QAMS 法都适用于九味熄风颗粒中上述成分的含量测定,该方法具有较好的稳定性、准确性和耐用性。这不仅为九味熄风颗粒基于活性成分的整体质量评价提供了新方法,即便在缺少对照品的情况下,也能够实现对九味熄风

颗粒酚类活性成分的含量测定。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杜春雁,胡思源,赵宾江,等.九味熄风颗粒治疗小儿抽动障碍肾阴亏损、肝风内动证的疗效观察[J].现代药物与临床,2017,32(4):718-722.
Du C Y, Hu S Y, Zhao B J, et al. Clinical observation of Jiuwei Xifeng Granules in treatment of tic disorder in children with kidney-Yin deficiency and liver-wind stirring [J]. Drugs Clin, 2017, 32(4): 718-722.
- [2] 蔡秋晗,钟成梁,胡思源,等.九味熄风颗粒(以牡蛎替代龙骨)治疗儿童抽动障碍的随机、双盲、平行对照、多中心、等效性临床试验[J].中国中药杂志,2025,50(6):1699-1705.
Cai Q H, Zhong C L, Hu S Y, et al. Randomized, double-blind, parallel-controlled, multicenter, equivalence clinical trial of Jiuwei Xifeng granules (Os Draconis replaced by Ostreae Concha) for treating tic disorder in children [J]. China J Chin Mater Med, 2025, 50(6): 1699-1705.
- [3] 张成宸,石京山.天麻的酚类成分及其中枢神经药理作用研究进展[J].中药药理与临床,2019,35(2):167-174.
Zhang C C, Shi J S. A review on phenolic components in *Gastrodia elata* Blume and its pharmacological effects on the central nervous system [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2019, 35(2): 167-174.
- [4] 于涵,张俊,陈碧清,等.天麻化学成分分类及其药理作用研究进展[J].中草药,2022,53(17):5553-5564.
Yu H, Zhang J, Chen B Q, et al. Research progress on classification of chemical constituents from *Gastrodia elata* and their pharmacological effects [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(17): 5553-5564.
- [5] 张菊,宋娜丽,马克坚.天麻中巴利森苷类成分药理作用、体内过程研究进展[J].中成药,2022,44(7):2223-2229.
Zhang J, Song N L, Ma K J. Research progress on pharmacological action and *in vivo* process of balisenoside in *Gastrodia elata* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(7): 2223-2229.
- [6] Wang Y, Zhao L, Li A Y. Gastrodin - A potential drug used for the treatment of Tourette Syndrome [J]. J Pharmacol Sci, 2021, 145(3): 289-295.
- [7] 罗君,赵琳璐,包江平,等.UPLC-Q-TOF-MS 分析苗族药红花龙胆化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(24):89-94.
Luo J, Zhao L J, Bao J P, et al. Analysis of chemical compositions in *Gentiana rhodantha* by UPLC-Q-TOF-

- MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2018, 24(24): 89-94.
- [8] 刘爽, 戴宇滢, 赵爽同, 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术分析桂附地黄丸的化学成分及入血成分 [J]. 中南药学, 2023, 21(8): 2069-2075.
- Liu S, Dai Y Y, Zhao S T, et al. Chemical constituents of Guifu Dihuang pills and absorbed components in the plasma based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS technology [J]. Cent South Pharm, 2023, 21(8): 2069-2075.
- [9] 代春美, 廖晓宇, 叶祖光. 海洋中药牡蛎的化学成分、药理活性及开发应用 [J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(3): 471-474, 437.
- Dai C M, Liao X Y, Ye Z G. Review on chemical composition, pharmacological activity and application of marine traditional Chinese medicine oyster [J]. Nat Prod Res Dev, 2016, 28(3): 471-474, 437.
- [10] 周菲, 林美斯, 李锐, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析百合地黄汤的化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(7): 15-22.
- Zhou F, Lin M S, Li R, et al. Analysis of chemical constituents in Baihe dihuangtang by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(7): 15-22.
- [11] 杨成, 胡锴, 韩鹏昭, 等. 天智颗粒的化学成分及入血成分定性分析 [J]. 中国药房, 2022, 33(24): 2973-2977, 2984.
- Yang C, Hu K, Han P Z, et al. Analysis of chemical constituents of Tianzhi Granules and their constituents absorbed into blood [J]. China Pharm, 2022, 33(24): 2973-2977, 2984.
- [12] 李云, 王志伟, 耿岩玲, 等. 基于 HPLC-ESI-TOF/MS 法分析测定乌天麻和红天麻中化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(11): 1758-1763.
- Li Y, Wang Z W, Geng Y L, et al. Determination of Chemical Constituents in *Gastrodia elata* f. *Glauca* and *Gastrodia elata* f. *Elata* by HPLC-ESI-TOF/MS [J]. Nat Prod Res Dev, 2016, 28(11): 1758-1763.
- [13] 张少强, 杜武勋, 董红彦. 基于 UPLC/Q-TOF MS 技术的天麻钩藤饮体外及大鼠血中移行成分的研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(5): 1115-1119.
- Zhang S Q, Du W X, Dong H Y. Study on the migrating components of Tianma Gouteng Yin *in vitro* and in rat blood based on UPLC/Q-TOF MS technology [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(5): 1115-1119.
- [14] Wang J J, Cao L, Gao X, et al. Discovery of the material basis of Jiuwei Xifeng Granules using pharmacology and pharmacokinetics [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 313: 116504.
- [15] 徐男, 王淑玲, 时海燕. 半夏白术天麻汤的化学成分及效应机制研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(8): 4802-4808.
- Xu N, Wang S L, Shi H Y. Research progress on chemical constituents and effect mechanism of Banxia Baizhu Tianma Decoction [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(8): 4802-4808.
- [16] 张波泳, 江振作, 王跃飞, 等. UPLC/ESI-Q-TOF MS 法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(5): 1104-1108.
- Zhang B Y, Jiang Z Z, Wang Y F, et al. Analysis of chemical constituents in fresh, dried and prepared *Rehmanniae Radix* by UPLC/ESI-Q-TOF MS [J]. Chin Tradit Pat Med, 2016, 38(5): 1104-1108.
- [17] 龙红萍, 易健, 蔺晓源, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术的复方钩藤降压片化学成分分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(3): 396-403.
- Long H P, Yi J, Lin X Y, et al. Study on chemical constituents from compound *Uncaria* antihypertensive tablets based on UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2023, 34(3): 396-403.
- [18] 王薛, 陈卓, 向光芳. UPLC-Q-TOFMS 法分析中药龙胆和秦艽的化学成分 [J]. 解放军药学报, 2018, 34(1): 43-47.
- Wang X, Chen Z, Xiang G F. Chemical compositions in *Gentiana scabra* and *Gentiana macrophylla* by UPLC-Q-TOFMS [J]. Pharm J Chin People's Liberation Army, 2018, 34(1): 43-47.
- [19] 杨岱琳, 佟玲, 李晓稳, 等. UPLC-Q-TOF/MSE 方法分析养血清脑颗粒的化学成分 [J]. 药学报, 2016, 51(5): 797-805.
- Yang D L, Tong L, Li X W, et al. Identification of chemical constituents in Yangxue Qingnao Granule by UPLC-Q-TOF/MSE [J]. Acta Pharm Sin, 2016, 51(5): 797-805.
- [20] 董丽萍, 倪梁红, 赵志礼, 等. 龙胆属环烯醚萜类化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2116-2128.
- Dong L P, Ni L H, Zhao Z L, et al. Research progress on iridoids in *Gentiana* L [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(10): 2116-2128.
- [21] 叶繁庆, 孙雨颀, 范春雨, 等. 龙胆化学成分、生物活性及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6497-6510.
- Ye F Q, Sun Y J, Fan C Y, et al. Research progress on chemical constituents, biological activities and clinical applications of *Gentianae Radix et Rhizoma* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(19): 6497-6510.
- [22] 于莹, 孙海珍, 蔡宇宇, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 技术的尖叶假龙胆全成分分析 [J]. 中医药学报, 2022, 50(12): 38-46.
- Yu Y, Sun H Z, Cai Y Y, et al. Analysis of total composition

- of *Gentianella acuta* based on UPLC-Q/TOF-MS [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(12): 38-46.
- [23] 李春, 张建春, 赵东兴, 等. 大叶钩藤钩茎的挥发性成分 GC-MS 分析 [J]. 中药材, 2018, 41(3): 624-627.
Li C, Zhang J C, Zhao D X, et al. GC-MS analysis of volatile components in *Uncaria macrophylla* hook stem [J]. J Chin Med Mater, 2018, 41(3): 624-627.
- [24] 于潇, 祝琳琳, 刘婕, 等. 钩藤中单萜吲哚类生物碱成分及其药理活性的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(19): 6052-6065.
Yu X, Zhu L L, Liu J, et al. Research progress on monoterpene indole alkaloids in *Uncariae Ramulus Cum Uncis* and their pharmacological activities [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(19): 6052-6065.
- [25] 关萍, 石建明, 高玉琼. 天麻的挥发性成分分析 [J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2008, 31(5): 615-618.
Guan P, Shi J M, Gao Y Q. Study on the volatile components of *Gastrodia elata* [J]. J Sichuan Norm Univ Nat Sci, 2008, 31(5): 615-618.
- [26] 高家荣, 朱梦情, 汪小莉, 等. UPLC-Q-TOF-MSE 技术结合 UNIFI 软件分析黄地安消胶囊化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2395-2405.
Gao J R, Zhu M Q, Wang X L, et al. Identification of chemical constituents in Huangdi Anxiao Capsules by UPLC-Q-TOF-MSE combined with UNIFI software [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(10): 2395-2405.
- [27] 张蕾, 邹妍, 续洁琨, 等. 地黄地上部分化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(16): 3214-3219.
Zhang L, Zou Y, Xu J K, et al. Chemical constituents from aerial part of *Rehmannia glutinosa* [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(16): 3214-3219.
- [28] 高晓宇, 丁茹, 王道平, 等. 钩藤化学成分及药理作用研究进展 [J]. 天津医科大学学报, 2017, 23(4): 380-382.
Gao X Y, Ding R, Wang D P, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Uncaria rhynchophylla* [J]. J Tianjin Med Univ, 2017, 23(4): 380-382.
- [29] 段昊, 闫文杰. 天麻生物活性成分及功效研究进展 [J]. 食品科学, 2023, 44(17): 332-340.
Duan H, Yan W J. Research progress on bioactive components in *Gastrodia elata* bl. and their biological activity [J]. Food Sci, 2023, 44(17): 332-340.
- [30] Long, H, Ruan, J, Zhang, M, et al. Rhynchophylline attenuates tourette syndrome via bdnf/nf-kb pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. Neurotoxicity Research, 2019, 36(4): 756-763.
- [31] 逢瑜, 孙磊, 金红宇, 等. 替代对照品法在中药多指标含量测定中的应用与技术要求探讨 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(1): 169-177.
Pang Y, Sun L, Jin H Y, et al. Discussion on application and technical requirements of substitute reference substance method for simultaneous determination of multi-components in traditional Chinese medicine [J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33(1): 169-177.
- [32] 方宝霞, 李湘, 滚代芬, 等. 一测多评法应用于化学药及中药的化学药成分质量控制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(6): 1382-1388.
Fang B X, Li X, Gun D F, et al. Research progress of quantitative analysis of multi-components with single marker in quality control of chemical drug compositions [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(6): 1382-1388.
- [33] 秦昆明, 杨冰, 胡静, 等. 一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 725-731.
Qin K M, Yang B, Hu J, et al. Application status and thinking of quantitative analysis of multi-components by single marker in quality control of multi-components traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(3): 725-731.
- [34] 唐爽, 包永睿, 孟宪生, 等. 基于一测多评法评价天麻活性成分的质量控制方法 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(9): 1135-1138, 1152.
Tang S, Bao Y R, Meng X S, et al. Study on QAMS method for quality control of total glycosides in *Gastrodia elata* [J]. Mod Chin Med, 2016, 18(9): 1135-1138, 1152.
- [35] 徐晓雪, 李晓鹏, 韩伟健, 等. 一测多评法测定手参中不同类型成分的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18): 40-43.
Xu X X, Li X P, Han W J, et al. Determination of five components in *gymnadeniae conpseae rhizoma* based on QAMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2015, 21(18): 40-43.
- [36] 刘世欣, 陈良妮, 王晗雪, 等. 一测多评法同时测定肾康宁胶囊中 5 种酚酸 [J]. 中成药, 2023, 45(7): 2153-2157.
Liu S X, Chen L N, Wang H X, et al. Simultaneous determination of five phenolic acids in Shenkangning Capsules by QAMS [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(7): 2153-2157.
- [37] 梁洁, 梁炎丽, 陈辉华, 等. 基于一测多评法对止咳颗粒中 7 种成分的质量控制 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(7): 6-10.
Liang J, Liang Y L, Chen H H, et al. Quality control of 7 components in Zhideke Granules based on QAMS method [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(7): 6-10.

[责任编辑 孙英杰]