

· 实验研究 ·

## 高效液相色谱-三重四极杆质谱法同时测定藏药制剂 吉尼德协中 12 种成分的含量

彭芳<sup>1</sup>, 赵紫薇<sup>2</sup>, 罗玉婷<sup>1</sup>, 易欢<sup>1</sup>, 伍金丹增<sup>3</sup>, 范刚<sup>1,2</sup>

(1 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2 成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137;

3 德格县藏医院(藏医药研究所), 德格 627250)

**[摘要]** **目的:** 建立同时测定吉尼德协中小檗碱、木兰花碱、姜黄素等 12 种成分含量的方法。**方法:** 以 WondaSil C<sub>18</sub>-WR 色谱柱, 流动相为 0.1% 甲酸(A)-甲醇(B)进行梯度洗脱; 采用高效液相色谱-三重四极杆质谱(HPLC-QqQ-MS)仪, 电喷雾离子源(ESI)温度为 300 ℃, 带电离子在正、负离子模式同时扫描, 多重反应监测模式下检测; 依据 12 种对照品线性方程计算 5 批样品中 12 种成分的含量。**结果:** 吉尼德协中 12 种成分在检测范围内线性关系良好。5 个批次吉尼德协中木兰花碱、药根碱、小檗碱、姜黄素、去甲氧基姜黄素、没食子酸、诃黎勒酸、阿魏酸 4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、羟基红花黄色素 A、芦丁、阿魏酸、鞣花酸的平均含量分别为 3.18, 0.20, 1.71, 0.52, 0.22, 15.93, 7.56, 3.29, 0.07, 0.20, 1.47, 2.89 mg·g<sup>-1</sup>。**结论:** 本研究所建立的分析方法专属性强、灵敏度高, 可为吉尼德协的质量控制提供参考。

**[关键词]** 藏药; 吉尼德协; 高效液相色谱-三重四极杆质谱; 含量测定

**[中图分类号]** R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)19-2001-08

## Simultaneous determination of 12 components in Ji-Ni De-Xie by HPLC-QqQ-MS

PENG Fang<sup>1</sup>, ZHAO Zi-wei<sup>2</sup>, LUO Yu-ting<sup>1</sup>, YI Huan<sup>1</sup>, WU Jin-dan-zeng<sup>3</sup>, FAN Gang<sup>1,2</sup>

(1 College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2 College of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

3 Dege Tibetan Institute of Tibetan Hospital, Dege 627250, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the method of simultaneous determination of 12 major chemical components (such as berberine, magnolflorine and curcumin) in Tibetan medicine Ji-Ni De-Xie. **Methods:** The separation was achieved on a WondaSil C<sub>18</sub>-WR column. High performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (HPLC-QqQ-MS) was used with the mobile phase 0.1% formic acid solution (A)-methanol (B) under gradient elution. The temperature of Electron Spray Ionization (ESI) was 300 ℃. The charged ions were scanned in positive and negative ion modes at the same time with multiple reaction monitoring. The contents of 12 components in 5 batches of samples were calculated according to the linear equation of 12 reference substances. **Results:** The 12 components of the Ji-Ni De-Xie have a good linear relationship within the detection range. The average contents

**[基金项目]** 四川省重点研发项目(2022YFS0434)

**[作者简介]** 彭芳,女,硕士,主要从事药物化学成分分析与质量标准研究。E-mail: 2671302590@qq.com。

**[通讯作者]** 范刚,男,博士生导师,教授,主要从事民族药质量控制及药效物质基础研究。联系电话:(028)61656141,E-mail: fangang1111@163.com。

of magnolflorine, jatrorrhizine, berberine, curcumin, demethoxycurcumin, gallic acid, chebulagic acid, ferulic acid 4-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, hydroxysafflor yellow A, rutin, ferulic acid, and ellagic acid are 3.18, 0.20, 1.71, 0.52, 0.22, 15.93, 7.56, 3.29, 0.07, 0.20, 1.47, 2.89 mg·g<sup>-1</sup>, respectively. **Conclusion:** The established analytical method is highly selective with high sensitivity. providing reference for the quality control of the Tibetan medicine Ji-Ni De-Xie.

[ **Key words** ] Tibetan medicine; Ji-Ni De-Xie; HPLC-QqQ-MS; content determination

吉尼德协,又名糖尿康,为四川南派藏医药治疗“京尼萨库”病(糖尿病)的代表性复方制剂,在临床上治疗糖尿病已有10余年,疗效确切。吉尼德协处方是名老藏医热巴主任医师在经典名方四味姜黄汤的基础上经长期临床实践总结而成的经验方<sup>[1]</sup>,目前为四川省甘孜州德格县藏医院的医院制剂(川药制字Z20060121)。吉尼德协由小檗皮、姜黄、余甘子、蒺藜、诃子、红花、多花黄芪、鸭嘴花8味药材组成,在临床用于治疗糖尿病引起的口干、多饮多食、多汗、消瘦、足脚麻木、瘙痒、皮肤出疹、视物昏花等。目前,关于吉尼德协化学成分的定性和定量分析研究较少。课题组前期采用薄层色谱法对制剂中小檗皮、诃子、余甘子和姜黄进行鉴别,采用HPLC法测定了盐酸小檗碱的含量<sup>[2]</sup>,还利用UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术定性鉴定了制剂中的85种化学成分<sup>[3]</sup>。然而,吉尼德协主要化学成分的含量依然不清楚,严重影响其质量控制和开发利用。

本研究利用高效液相色谱串联三重四极杆质谱(HPLC-QqQ-MS),具有灵敏度高和专属性强的技术优势<sup>[4]</sup>,首次对吉尼德协处方中小檗皮含有的木兰花碱、药根碱、小檗碱和阿魏酸4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷,红花含有的羟基红花黄色素A,诃子、余甘子含有的诃黎勒酸,姜黄含有的姜黄素和去甲氧基姜黄素,余甘子、诃子含有的没食子酸、鞣花酸,余甘子、红花和蒺藜含有的芦丁,以及诃子、蒺藜含有的阿魏酸共12种化学成分进行了含量测定,旨在为其质量控制和开发利用提供方法学参考。

## 材 料

### 1 仪器

Agilent 1260 HPLC仪、6460C三重四极杆质谱仪(美国安捷伦公司);BAS 124S型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);CQ-250超声清洗器(上海必能信有限公司)。

### 2 标准品、试剂与样品

小檗碱(四川赛因斯特生物科技有限公司,批号:Y-035-150818,纯度 $\geq 98\%$ );姜黄素(维克奇生物科技有限公司,批号:150824,纯度 $\geq 98\%$ );木兰花碱、药根碱、去甲氧基姜黄素、诃黎勒酸(成都德思特生物技术有限公司,批号分别为:DSTDM000402, DST220209-287, DSTDQ003001, DST200927-064, 纯度 $\geq 98\%$ );鞣花酸和羟基红花黄色素A(成都普思生物科技股份有限公司,批号分别为:PSO10827, PS000745, 纯度 $\geq 98\%$ );阿魏酸和芦丁(中国食品药品检定研究院,批号分别为:0773-9910, 080-9303, 纯度 $\geq 98\%$ );没食子酸(成都曼斯特生物科技有限公司,批号:MUST-15042910, 纯度 $\geq 98\%$ );阿魏酸4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷(课题组自制<sup>[5]</sup>);色谱级甲醇(美国Sigma公司);色谱级甲酸(成都市科隆化学有限公司);蒸馏水(广州屈臣氏有限公司);吉尼德协(S1~S5)样品由四川省德格县藏医院(藏医药研究所)提供。

## 方法与结果

### 1 色谱与质谱条件

WondaSil C<sub>18</sub>-WR色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m);柱温:25  $^{\circ}$ C;流速:0.5 mL·min<sup>-1</sup>;进样量:5  $\mu$ L;以0.1%甲酸溶液(A)-甲醇(B)为流动相,进行梯度洗脱(0~1.0 min:10% B $\rightarrow$ 45% B;1.0~3.0 min:45% B $\rightarrow$ 70% B;3.0~4.0 min:70% B $\rightarrow$ 70% B;4.0~5.0 min:70% B $\rightarrow$ 75% B;5.0~7.0 min:75% B $\rightarrow$ 75% B;7.0~10.0 min:75% B $\rightarrow$ 95% B;10.0~20.0 min, 95% B)。

电喷雾离子源(ESI),多重反应监测(MRM)模式下正负离子同时测定,电喷雾电压:4 000 V(+)和2 500 V(-);干燥气:高纯氮气;流速:11 L·min<sup>-1</sup>;离子源温度:300  $^{\circ}$ C;压力:15 psi。12种待测成分的质谱信息见表1。

表 1 12 种化学成分的质谱信息

化学成分	母离子 ( $m/z$ )	子离子 ( $m/z$ )	碎裂电压 ( $f$ )/V	碰撞能量 (CE)/eV	电离模式	保留时间/min
木兰花碱	342.1	264.9	130	24	$[M+H]^+$	7.96
药根碱	338.0	322.0	140	27	$[M+H]^+$	8.94
小檗碱	336.0	320.1	135	27	$[M+H]^+$	9.21
姜黄素	369.4	177.1	83	23	$[M+H]^+$	15.98
去甲氧基姜黄素	339.1	146.8	160	19	$[M+H]^+$	15.93
没食子酸	169.0	124.9	120	12	$[M-H]^-$	8.06
诃黎勒酸	953.1	301.0	270	36	$[M-H]^-$	8.46
阿魏酸 4- $O$ - $\beta$ - $D$ -吡喃葡萄糖苷	355.1	193.2	130	6	$[M-H]^-$	8.52
羟基红花黄色素 A	611.1	490.7	160	32	$[M-H]^-$	8.80
芦丁	609.1	299.9	220	34	$[M-H]^-$	10.19
阿魏酸	193.0	134.0	90	10	$[M-H]^-$	10.42
鞣花酸	300.9	144.9	170	40	$[M-H]^-$	11.44

## 2 对照品溶液的制备

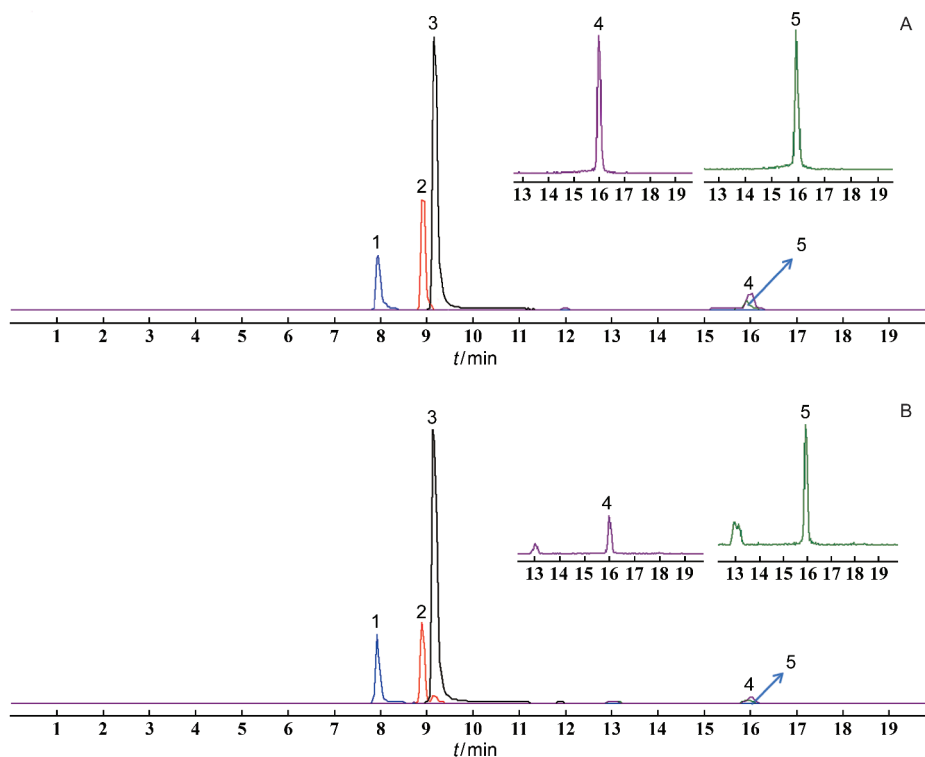
分别取木兰花碱、药根碱、小檗碱、姜黄素、去甲氧基姜黄素、没食子酸、诃黎勒酸、阿魏酸 4- $O$ - $\beta$ - $D$ -吡喃葡萄糖苷、羟基红花黄色素 A、芦丁、阿魏酸、鞣花酸对照品适量,精密称定,分别置于 10 mL 容量瓶,甲醇定容至刻度即得各单一对照品母液。分别精密吸取上述 12 个对照品母液适量,混合,加甲醇制成浓度依次为 13 140, 2 300, 9 410, 1 820, 1 920, 50 960, 35 700, 22 000, 11 600, 1 210, 9 480, 11 655  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液。

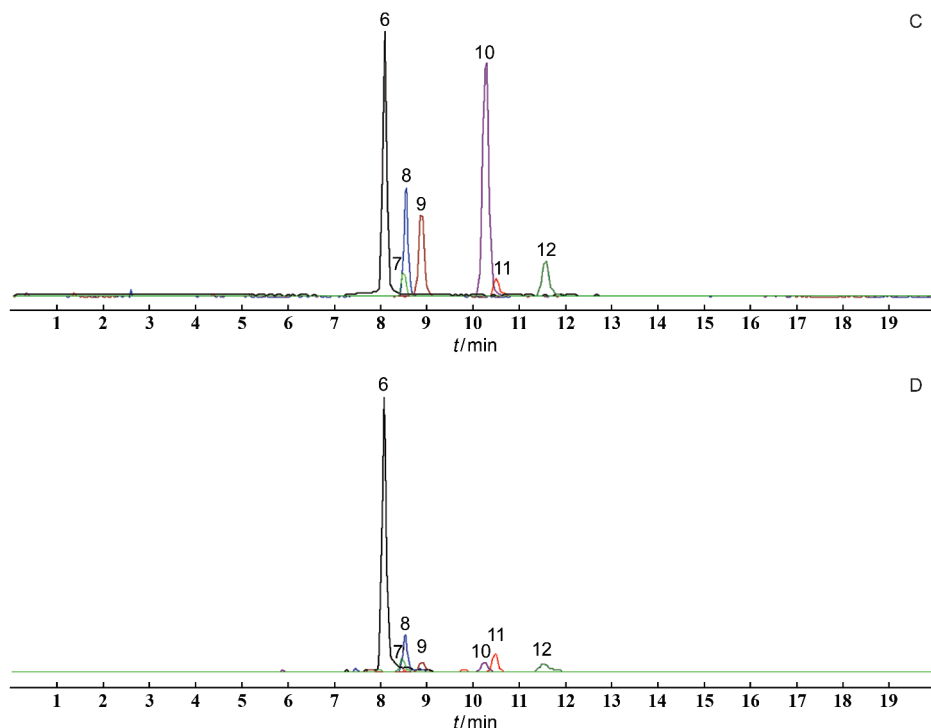
## 3 供试品溶液的制备

取研磨并过 3 号筛的吉尼德协粉末 (S2) 约 0.1 g, 精密称定, 至 100 mL 锥形瓶中, 加入 50 mL 的 50% 甲醇, 称重, 超声处理 30 min (功率 200 W, 频率 40 kHz), 待冷却后, 用 50% 甲醇补足重量, 摇匀, 取上清液用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 即得。

## 4 方法学考察

**4.1 专属性** 分别取对照品溶液、供试品溶液按“1”项下色谱与质谱条件测定, 比较供试品溶液与对照品溶液中各成分的 MRM 色谱图, 12 种待测物保留时间一致且峰形良好, 见图 1。





1: 木兰花碱; 2: 药根碱; 3: 小檗碱; 4: 姜黄素; 5: 去甲氧基姜黄素; 6: 没食子酸; 7: 河黎勒酸; 8: 阿魏酸  
4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷; 9: 羟基红花黄色素 A; 10: 芦丁; 11: 阿魏酸; 12: 鞣花酸

图 1 正离子模式对照品(A)及样品(B)、负离子模式对照品(C)及样品(D)色谱图

**4.2 线性关系** 精密量取“2”项混合对照品溶液适量,用甲醇稀释成系列浓度对照品溶液,0.22  $\mu$ m微孔滤膜过滤,以“1”项下的色谱及质谱条件进样,记录其峰面积。以各对照品溶液的不同浓度为横坐标

( $x$ ),对应的峰面积为纵坐标( $y$ ),进行线性回归,得到线性回归方程。根据  $S/N = 3$  及  $S/N = 10$  获得各成分的检测限及定量限。结果表明,各成分在相应的浓度范围内线性关系较好( $r \geq 0.99$ ),见表 2。

表 2 12 种化合物的线性关系、定量限及检测限结果

成分	线性方程	$r$	线性范围/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	定量限/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	检测限/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$
木兰花碱	$y = 21.422x + 28.672$	0.999 6	1 314 ~ 13 140	6.80	2.04
药根碱	$y = 30.172x + 53.310$	0.999 7	230 ~ 2 300	1.20	0.36
小檗碱	$y = 116.492x + 512.041$	0.997 0	941 ~ 9 410	3.07	0.92
姜黄素	$y = 11.111x - 693.45$	0.996 7	182 ~ 1 820	30.22	9.06
去甲氧基姜黄素	$y = 11.386x + 1 320.4$	0.999 5	274 ~ 1 918	22.7	6.8
没食子酸	$y = 8.097x + 121.552$	0.994 5	5 096 ~ 50 960	26.92	8.08
河黎勒酸	$y = 1.596 5x - 14 764$	0.999 6	9 520 ~ 35 700	105.10	31.80
阿魏酸 4- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	$y = 2.314x - 251.71$	0.999 6	1 100 ~ 22 000	36.97	11.09
羟基红花黄色素 A	$y = 3.187 7x - 1 325$	0.999 9	1 160 ~ 11 600	205.55	61.67
芦丁	$y = 37.993x - 1 117.6$	0.999 7	121 ~ 1 210	3.24	0.97
阿魏酸	$y = 3.009 3x - 1 043.4$	0.999 4	948 ~ 9 480	50.56	15.16
鞣花酸	$y = 2.491 2x + 5 049.4$	0.999 5	1 295 ~ 11 655	76.31	22.89

**4.3 精密度** 精密称取吉尼德协粉末 1 份 (S2), 按“3”项下方法制备供试品溶液, 以“1”项下色谱及质谱条件于 1 d 内连续进样 6 次, 记录各成分的峰面积并计算相对标准偏差 (RSD)。各待测物 RSD 结果均 < 3.0%, 表明该仪器精密度良好。

**4.4 重复性** 取吉尼德协粉末 6 份 (S2), 按“3”项下方法制备供试品溶液, 按“1”项下色谱及质谱条件进样测定, 记录峰面积, 根据线性方程计算含量及 RSD。各待测物 RSD 结果均 < 3.0% ( $n = 6$ ), 结果表明该方法重复性良好。

**4.5 稳定性** 取吉尼德协粉末 1 份 (S2), 按“3”项下方法制备供试品溶液, 于室温下放置 0, 2, 4, 8, 10, 12, 24 h 后按“1”项下色谱及质谱条件分别进样测定, 记录峰面积, 根据线性曲线计算含量及 RSD。各待测物 RSD 测定结果均 < 3.0%, 结果表明供试品溶液于室温下放置 24 h 内稳定性较好。

**4.6 加样回收率** 取已知含量的吉尼得协粉末 6 份 (S2), 每份约 0.05 g, 精密称定, 分别按已知含量 100% 的质量加入木兰花碱 ( $1\ 304\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 125  $\mu\text{L}$ 、药根碱 ( $275\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 40  $\mu\text{L}$ 、小檗碱 ( $1\ 680\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 50  $\mu\text{L}$ 、姜黄素 ( $500\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 50  $\mu\text{L}$ 、去甲氧基姜黄素 ( $250\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 44  $\mu\text{L}$ 、没食子酸 ( $1\ 376\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 500  $\mu\text{L}$ 、河黎勒酸 ( $1\ 288\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 375  $\mu\text{L}$ 、阿魏酸 4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 ( $1\ 336\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 125  $\mu\text{L}$ 、羟基红花黄色素 A ( $1\ 100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 30  $\mu\text{L}$ 、芦丁 ( $1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 10  $\mu\text{L}$ 、阿魏酸 ( $285\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 200  $\mu\text{L}$ 、鞣花酸 ( $616\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 250  $\mu\text{L}$  的对照品母液, 再按“2”项下制备供试品溶液, 按“1”项下色谱及质谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算含量和回收率, 详见表 3。12 种化学成分的加样回收率在 95.8% ~ 116.1%, 且 RSD 测定值均 < 3.0%。

表 3 12 种化合物加样回收实验结果

 $n = 6$ 

待测物	称样量/g	含有量/ $\mu\text{g}$	加入量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
木兰花碱	0.050 8	163.34	163.00	335.11	105.4	105.6	1.9
	0.050 5	162.37	163.00	333.40	104.9		
	0.050 7	163.02	163.00	333.22	104.4		
	0.050 3	161.73	163.00	337.89	108.1		
	0.050 8	163.34	163.00	338.81	107.7		
	0.050 6	162.70	163.00	330.58	103.0		
药根碱	0.050 8	11.42	11.00	21.63	92.8	95.8	1.9
	0.050 5	11.35	11.00	21.75	94.5		
	0.050 7	11.40	11.00	22.00	96.4		
	0.050 3	11.31	11.00	21.89	96.2		
	0.050 8	11.42	11.00	22.11	97.2		
	0.050 6	11.38	11.00	22.14	97.8		
小檗碱	0.050 8	84.06	84.00	166.61	98.3	98.1	2.7
	0.050 5	83.56	84.00	166.70	99.0		
	0.050 7	83.89	84.00	167.87	100.0		
	0.050 3	83.23	84.00	161.37	93.0		
	0.050 8	84.06	84.00	166.52	98.2		
	0.050 6	83.73	84.00	167.92	100.2		
姜黄素	0.050 8	25.85	25.00	50.30	97.8	102.2	2.5
	0.050 5	25.70	25.00	50.93	100.9		
	0.050 7	25.80	25.00	51.71	103.6		
	0.050 3	25.59	25.00	51.81	104.9		
	0.050 8	25.85	25.00	51.48	102.5		
	0.050 6	25.75	25.00	51.63	103.5		
去甲氧基姜黄素	0.050 8	11.47	11.00	23.50	104.9	106.4	1.9
	0.050 5	11.40	11.00	23.15	106.8		

待测物	称样量/g	含有量/ $\mu\text{g}$	加入量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%		
没食子酸	0.050 7	11.44	11.00	22.98	104.9	100.7	0.8		
	0.050 3	11.35	11.00	23.15	107.3				
	0.050 8	11.47	11.00	22.85	103.5				
	0.050 6	11.42	11.00	23.11	106.3				
	0.050 8	688.87	688.00	1 377.63	100.1				
	0.050 5	684.80	688.00	1 383.01	101.5				
	0.050 7	687.52	688.00	1 374.87	99.9				
	0.050 3	682.09	688.00	1 382.40	101.8				
诃黎勒酸	0.050 8	688.87	688.00	1 377.95	100.2	99.7	2.8		
	0.050 6	686.16	688.00	1 378.65	100.7				
	0.050 8	483.47	483.00	959.79	98.6				
	0.050 5	480.62	483.00	985.41	104.5				
	0.050 7	482.52	483.00	968.87	100.7				
	0.050 3	478.71	483.00	943.66	96.3				
	0.050 8	483.47	483.00	960.04	98.7				
	0.050 6	481.57	483.00	961.07	99.3				
阿魏酸 4-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷	0.050 8	167.67	167.00	326.53	95.1	96.2	0.8		
	0.050 5	166.68	167.00	326.01	95.4				
	0.050 7	167.34	167.00	327.80	96.1				
	0.050 3	166.02	167.00	328.58	97.3				
	0.050 8	167.67	167.00	329.01	96.6				
	0.050 6	167.01	167.00	327.98	96.4				
	0.050 8	32.95	33.00	65.64	99.1			103.2	2.1
	0.050 5	32.76	33.00	66.58	102.5				
0.050 7	32.89	33.00	67.38	104.5					
0.050 3	32.63	33.00	67.26	104.9					
0.050 8	32.95	33.00	67.26	104.0					
0.050 6	32.82	33.00	67.26	104.4					
芦丁	0.050 8	10.21	10.00	19.86	96.5	96.5	1.1		
	0.050 5	10.15	10.00	19.86	97.1				
	0.050 7	10.19	10.00	19.77	95.8				
	0.050 3	10.11	10.00	19.68	95.7				
	0.050 8	10.21	10.00	19.77	95.6				
	0.050 6	10.17	10.00	20.01	98.4				
	0.050 8	57.03	57.00	119.29	109.2			105.7	2.2
	0.050 5	56.70	57.00	115.80	103.7				
0.050 7	56.92	57.00	115.48	102.7					
0.050 3	56.47	57.00	116.93	106.1					
0.050 8	57.03	57.00	117.18	105.5					
0.050 6	56.81	57.00	117.63	106.7					
鞣花酸	0.050 8	154.49	154.00	311.55	102.0	99.3	2.0		
	0.050 5	153.57	154.00	308.86	100.8				
	0.050 7	154.18	154.00	303.78	97.1				
	0.050 3	152.96	154.00	307.05	100.1				
	0.050 8	154.49	154.00	304.93	97.7				
	0.050 6	153.88	154.00	305.01	98.1				

## 5 样品含量测定

取吉尼德协样品(S1~S5)约0.1 g,精密称定,每批次平行制样3份,按“2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,并计算样品中各成分的含量,见表4。结果显示,吉尼德协中的木兰花碱、药根碱、小檗碱、姜黄素、去甲氧基姜黄素、没食子酸、河黎勒酸、阿魏酸4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷、羟基

红花黄色素A、芦丁、阿魏酸、鞣花酸的含量范围分别为2.98~3.27,0.10~0.25,1.55~1.80,0.44~0.65,0.17~0.27,11.55~18.23,4.98~13.02,2.70~4.29,0.06~0.08,0.17~0.22,0.73~1.89,2.27~3.17 mg·g<sup>-1</sup>,平均含量分别为3.18,0.20,1.71,0.52,0.22,15.93,7.56,3.29,0.07,0.20,1.47,2.89 mg·g<sup>-1</sup>。

表4 5个批次样品含量测定结果

mg·g<sup>-1</sup>, n=3

化合物	S1	S2	S3	S4	S5	平均含量
木兰花碱	3.27	3.21	2.98	3.24	3.22	3.18
药根碱	0.25	0.23	0.19	0.25	0.10	0.20
小檗碱	1.80	1.66	1.55	1.77	1.78	1.71
姜黄素	0.44	0.51	0.50	0.51	0.65	0.52
去甲氧基姜黄素	0.17	0.23	0.20	0.21	0.27	0.22
没食子酸	18.11	13.61	11.55	18.23	18.14	15.93
河黎勒酸	4.98	9.68	13.02	4.97	5.16	7.56
阿魏酸4- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	3.07	3.31	4.29	2.70	3.08	3.29
羟基红花黄色素A	0.06	0.07	0.08	0.06	0.06	0.07
芦丁	0.20	0.20	0.22	0.17	0.20	0.20
阿魏酸	1.83	1.13	0.73	1.89	1.77	1.47
鞣花酸	3.17	3.10	2.69	3.21	2.27	2.89

## 讨 论

吉尼德协来源于名老藏医临床经验方,是四川南派藏医药治疗糖尿病的代表性复方制剂,临床疗效确切、安全可靠。吉尼德协方中含多种藏药材,化学成分复杂,影响了其质量控制和药效物质基础研究。课题组前期曾尝试使用HPLC法测定吉尼德协的主要化学成分,但各化合物的分离度较差,难以达到含量测定的要求。因此,本研究进一步利用HPLC-QqQ-MS技术的方法学优势,同时测定吉尼德协中12种主要化学成分的含量。针对12种化学成分的不同结构和极性特点,采用MRM扫描模式,正负离子同时检测,各成分均有较好的响应。在流动相优化时,考察了不同水相(10 mmol·L<sup>-1</sup>乙酸铵、0.1%甲酸、0.2%甲酸)和有机相(甲醇、乙腈),结果发现0.1%甲酸水-甲醇体系更能实现色谱峰的分离且峰形更优。此外,考察了提取方式(超声、加热、回流)、提取溶剂(20%,50%,70%,100%甲醇)、溶剂用量(10,25,40,50,75 mL)对化学成分提取率的影响,综合响应值和提取率的结果,最终确定供试品溶液

制备方法为:取吉尼得协粉末约0.1 g,精密称定,用50%甲醇50 mL超声提取30 min。

本研究首先用对照品比对鉴定了吉尼德协的20种化学成分,但其中8种成分的响应值很低,最终选择12种含量较高且具有与吉尼德协功能主治相关生物活性的化学成分作为测定指标。其中,河黎勒酸、鞣花酸可改善胰岛素抵抗<sup>[6-7]</sup>;药根碱具有抗炎、改善胰岛素抵抗和抗糖尿病活性<sup>[8]</sup>;木兰花碱可促进胰岛素分泌、降低空腹血糖并抑制餐后血糖水平升高<sup>[9]</sup>;小檗碱可抑制糖异生、促进葡萄糖摄取和糖酵解等发挥抗糖尿病作用<sup>[10]</sup>;姜黄素可调节胰岛 $\beta$ 细胞功能,改善胰岛素抵抗<sup>[11]</sup>;羟基红花黄色素A可改善胰岛 $\beta$ 细胞的凋亡<sup>[12]</sup>。本研究首次采用HPLC-QqQ-MS方法测定了吉尼德协的12种主要成分的含量,其方法学考察结果准确、稳定性良好,可有效测定吉尼德协中的主要化学成分。研究结果对吉尼德协的质量控制具有参考价值,也可为其药效物质基础研究奠定基础。

## [参 考 文 献]

[1] 第司·桑杰嘉措,蓝琉璃[M].毛继祖,卡洛,毛韶玲,译.上

- 海:上海科学技术出版社,2012:381-382.
- [2] 李艳, 雄呷, 吕秀梅, 等. 藏药复方“吉尼德协”的质量标准研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(7): 1551-1555.
- [3] 罗玉婷, 曾宇骄, 彭家艳, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术的藏药吉尼德协化学成分分析研究[J]. 中国新药杂志, 2022, 31(17): 1727-1735.
- [4] 于颖洁, 黄海伟, 张龙浩, 等. 高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定盐酸雷尼替丁和尼扎替丁中 *N*-亚硝基二甲胺[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(6): 1019-1023.
- [5] 李琪, 杜欢, 文焕松, 等. 藏族药小檗皮中 6 种成分的含量测定及不同品种比较研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 968-974.
- [6] VASU G, SUNDARAM R, MUTHU K. Chebulagic acid attenuates HFD/streptozotocin induced impaired glucose metabolism and insulin resistance via up regulations of PPAR  $\gamma$  and GLUT 4 in type 2 diabetic rats[J]. *Toxicol Mech Methods*, 2022, 32(3): 159-170.
- [7] 张龔之, 陈艳梅, 张燕, 等. 鞣花酸改善 2 型糖尿病小鼠脂肪组织胰岛素抵抗的实验研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(5): 544-547.
- [8] ZHONG FR, CHEN Y, CHEN J, *et al.* Jatrorrhizine: a review of sources, pharmacology, pharmacokinetics and toxicity[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 783127.
- [9] XU T, KUANG TT, DU H, *et al.* Magnoflorine: a review of its pharmacology, pharmacokinetics and toxicity[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 152: 104632.
- [10] XU XM, YI H, WU JS, *et al.* Therapeutic effect of berberine on metabolic diseases: both pharmacological data and clinical evidence[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 110984.
- [11] PIVARI F, MINGIONE A, BRASACCHIO C, *et al.* Curcumin and type 2 diabetes mellitus: prevention and treatment[J]. *Nutrients*, 2019, 11(8): 1837.
- [12] 赵颖. 羟基红花黄色素 A 改善高糖诱导胰岛  $\beta$  细胞氧化应激的机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.

编辑:刘卓越/接受日期:2022-11-17