

· 药学基础 ·

## 基于UPLC-QE-Orbitrap-MS技术的芪蛭降糖胶囊 化学成分分析

史静超, 张淑蓉\*, 柴智\*, 陈相君, 张维钲  
(山西中医药大学 中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619)

**[摘要]** 目的:为系统分析芪蛭降糖胶囊的化学组成,采用超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-QE-Orbitrap-MS)对该复方的化学成分进行鉴定。方法:采用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),以乙腈(A)-水(B)为流动相梯度洗脱(0~13 min, 1%~25%A; 13~21 min, 25%~35%A; 21~28 min, 35%~85%A; 28~30 min, 85%~100%A; 30~32 min, 100%~1%A),流速设定0.2 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30 °C,进样量3 μL;运用电喷雾离子源(ESI),扫描范围 $m/z$  100~1 500,正、负离子全扫描模式采集数据。采用对照品比对、自建化合物数据库搜索、文献信息比对、诊断离子筛选及Compound Discoverer 3.0软件推测的方法快速鉴定各离子峰。结果:共鉴定了芪蛭降糖胶囊中52个化学成分,并归属了化合物的来源药材,其中氨基酸类成分主要来源于水蛭,苯丙素类成分来源于黄芪和地黄,环烯醚萜苷类成分来源于地黄,香豆素和三萜类成分来源于黄芪,黄酮类成分来源于黄芪和黄精。结论:建立的UPLC-QE-Orbitrap-MS分析方法能全面快速地分析和鉴定芪蛭降糖胶囊中的化学成分,其中多种成分经现代药理研究证明具有改善糖尿病及其并发症相关症状的作用,体现了芪蛭降糖胶囊多成分协同作用的特点,可为其药效物质基础和质量控制研究提供参考。

**[关键词]** 芪蛭降糖胶囊; 超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-QE-Orbitrap-MS); 化学成分; 裂解规律; 黄酮类; 环烯醚萜苷类; 苯丙素类

[中图分类号] R22;R28;R914;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2021)16-0116-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210851 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20210201.1759.006.html>

[网络出版日期] 2021-02-02 10:29

### Analysis of Chemical Constituents in Qizhi Jiangtang Capsules Based on UPLC-QE-Orbitrap-MS

SHI Jing-chao, ZHANG Shu-rong\*, CHAI Zhi\*, CHEN Xiang-jun, ZHANG Wei-zheng  
(School of Chinese Materia Medica and Food Engineering,  
Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

**[Abstract]** **Objective:** To systematically analyze the chemical constituents of Qizhi Jiangtang capsules by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry (UPLC-QE-Orbitrap-MS). **Method:** Analysis was conducted on a ACQUITY UPLC HSS T3 column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with acetonitrile (A)-water (B) as the mobile phase for gradient elution (0-13 min, 1%-25%A; 13-21 min, 25%-35%A; 21-28 min, 35%-85%A; 28-30 min, 85%-100%A; 30-32 min, 100%-1%A). The flow rate was 0.2 mL·min<sup>-1</sup>, the column temperature was 30 °C, and the volume of sample injection was 3 μL. Electrospray ionization (ESI) was used to collect data in the negative and positive ion modes

[收稿日期] 20201207(022)

[基金项目] 山西省科技厅应用基础研究计划项目(201601D202108);山西中医药大学科技创新团队项目(2018TD-008);中央引导地方科技发展资金项目(YDZX20201400001483)

[第一作者] 史静超,在读博士,讲师,从事中药物质基础及药理机制研究,E-mail:15834025042@139.com

[通信作者] \*张淑蓉,教授,硕士生导师,从事中药活性成分分析及其药效物质基础研究,E-mail:zhangsr62@163.com;

\*柴智,教授,从事中药方剂效用及物质基础研究,E-mail:chaizhi008@126.com

with the scanning range of  $m/z$  100-1 500. Meanwhile, a variety of MS analytic methods were used, including comparing with the information of control substances, self-built compounds database and literature references, diagnostic ion filtering, Compound Discoverer 3.0 software, for identification of the chemical components. **Result:** Based on the above strategy, a total of 52 compounds were identified in Qizhi Jiangtang capsules, and the sources of these compounds were identified. Amino acids were mainly derived from *Hirudo*, phenylpropanoids were derived from *Astragali Radix* and *Rehmanniae Radix*, iridoid glycosides were derived from *Rehmanniae Radix*, coumarins and triterpenes were derived from *Astragali Radix*, flavonoids were from *Astragali Radix* and *Polygonati Rhizoma*. **Conclusion:** The established UPLC-QE-Orbitrap-MS analytical method can comprehensively and rapidly analyze and identify of the chemical constituents in Qizhi Jiangtang capsules. Many of the ingredients have been proved by modern pharmacological studies to have the effect of improving related symptoms of diabetes and its complications, reflecting the characteristics of synergistic action of multiple components in Qizhi Jiangtang capsules. This study can provide reference for the further research on the pharmacodynamic material basis and the quality control of Qizhi Jiangtang capsules.

**[Keywords]** Qizhi Jiangtang capsules; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry (UPLC-QE-Orbitrap-MS); chemical constituents; fragmentation pattern; flavonoids; iridoid glycosides; phenylpropanoids

芪蛭降糖胶囊为2020年版《中华人民共和国药典》收录品种,由黄芪、地黄、黄精、水蛭4味中药组成,具有益气养阴、活血化瘀之功效,用于气阴两虚兼血瘀所致的消渴病,症见口渴多饮、多尿易饥、倦怠乏力、自汗盗汗、面色晦暗、肢体麻木<sup>[1]</sup>。临床研究表明,芪蛭降糖胶囊可以预防2型糖尿病患者视网膜病变<sup>[2]</sup>,并可改善糖尿病肾病患者蛋白尿症状<sup>[3-4]</sup>,减轻2型糖尿病合并冠心病心绞痛患者的症状,改善心肌缺血<sup>[5]</sup>。药理研究表明,芪蛭降糖胶囊能够改善肾组织和血管结构病理损害,减轻肾小球硬化和肾间质纤维化<sup>[6-8]</sup>。目前,关于芪蛭降糖胶囊的研究多集中于临床药效及药理机制方面,其整体化学成分及药效物质基础研究尚无相关报道,但揭示物质组成是推动中药复方质控水平全面提高和作用机制深入研究的基础,因此,全面表征并鉴定该制剂化学成分十分必要。

近年来,超高效液相色谱串联质谱法因其高分离度、高分辨率、高灵敏度、高选择性而越来越多地用于复杂中药化学体系的快速分析。因此,本研究拟采用超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-QE-Orbitrap-MS)对芪蛭降糖胶囊中化学成分进行表征,采用自建化合物数据库,Compound Discoverer 3.0及诊断离子过滤等方法得到候选化合物,再根据化合物精确相对分子质量、碎片离子等信息比对文献或MassBank数据库进行鉴定,以阐明芪蛭降糖胶囊的化学组成,为该制剂的质量控制、物质基础及作用机制研究奠定基础。

## 1 材料

Q-Exactive型超高效液相色谱-高分辨质谱仪(美国Thermo公司),Neofuge 13R型高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司),CP214型1/1万电子天平(奥豪斯公司),BT25S型1/10万电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],Milli-Q型一体化净水系统(美国Millipore公司)。芪蛭降糖胶囊(吉林一正药业集团有限公司,批号170102),毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、黄芪甲苷、山柰酚、齐墩果酸对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为MUST-16122011, MUST-1603120, MUST-16022804, MUST-17032911, MUST-17042706,纯度均>98%),芒柄花苷、刺芒柄花素对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为CHB151104, CHB151026,纯度均>98%),水为超纯水,甲醇、乙腈为质谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 供试品溶液** 取芪蛭降糖胶囊内容物(细粉状)3.0 g,精密称定,加75%甲醇100 mL超声提取30 min(频率40 kHz,功率100 W),离心(转速设定3 500  $r \cdot \text{min}^{-1}$ , 20 min,离心半径15 cm),取上清液,水浴蒸干,残渣加甲醇使溶解并定容至5 mL量瓶中,过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。

**2.1.2 对照品溶液** 取适量毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、芒柄花苷、刺芒柄花素、黄芪

甲苷、山柰酚和齐墩果酸对照品,精密称定,分别加甲醇定容至10 mL量瓶中,得质量浓度为 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品储备液。分别取各对照品储备液200  $\mu\text{L}$ ,加甲醇定容至2 mL量瓶中,过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,得混合对照品溶液。

## 2.2 检测条件

**2.2.1 色谱条件** Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~13 min, 1%~25%A; 13~21 min, 25%~35%A; 21~28 min, 35%~85%A; 28~30 min, 85%~100%A; 30~32 min, 100%~1%A),柱温30  $^{\circ}\text{C}$ ,流速0.2 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ,检测波长203 nm,进样量3  $\mu\text{L}$ ,记录32 min色谱图。

**2.2.2 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子全扫描模式,质量扫描范围 $m/z$  100~1 500,分辨率7万,毛细管温度320  $^{\circ}\text{C}$ ,加热器温度300  $^{\circ}\text{C}$ ,鞘气流速35 arb,辅助气流速10 arb,碰撞能量25~60 V,采用快速数据依赖型采集(DDA)模式,对离子强度 $>5 000$ 的前驱离子进行MS/MS采集。

**2.3 数据分析** 采用Xcalibur 3.2软件自动处理,将处理后的数据导入Compound Discoverer 3.0软件进行峰提取和归一化;质量偏差 $<5 \text{ ppm}$ (1 ppm=1 $\times 10^{-6}$ ,下同);保留时间( $t_{\text{R}}$ )阈值0.05 min;信噪比阈值1.5;负离子模式设置加合离子为 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 和 $[\text{M}+\text{HCOO}]^{-}$ ;正离子模式设置加合离子为 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 和 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 。化合物推测结果通过检索mzCloud, ChemSpider和PubChem得到。

**2.4 自建化合物数据库和裂解规律分析** 通过检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP), Web of Science和中国知网(CNKI),快速建立包含芪蛭降糖胶囊中4味药材(黄芪、地黄、黄精和水蛭)的化学成分库,见增强出版附件材料。该化学成分库包含了190个化合物的名称、分子式和精确相对分子质量信息,其中有42个黄酮类化合物,37个环烯醚萜苷类化合物,23个苯乙醇苷类化合物,22个三萜皂苷类化合物,15个紫罗兰酮类化合物,14个氨基酸类化合物,11个甾体皂苷类化合物和26个其他类化合物(糖、有机酸、核苷酸)。同时,根据文献和对照品分析了化合物的裂解规律,以黄酮类化合物为例,将黄酮类化合物对照品包括毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、芒柄花苷、刺芒柄花素和山柰酚注入UPLC-QE-Orbitrap-MS系统,在正、负离子2种模式下扫描分析,结合文献中黄酮类化合物的裂解规律<sup>[9-10]</sup>,发现黄酮类化合物的特征

裂解模式主要有逆狄尔斯-阿尔德(RDA)裂解,中性丢失一分子 $\text{CO}$ ,  $\text{CH}_3$ 或葡萄糖等分子。黄酮类化合物在负离子模式下发生RDA裂解的特征产物离子为 $m/z$  119, 133, 135, 151,中性丢失一分子 $\text{CO}$ ,  $\text{CH}_3$ 或葡萄糖分别减少28, 15, 162 Da。以上述碎片离子作为诊断离子并结合中性丢失可快速鉴定黄酮类化合物。

**2.5 化学成分分析** 在正、负离子扫描模式下,从芪蛭降糖胶囊共鉴定了52个化合物,包含3个氨基酸类,4个苯丙素类,8个环烯醚萜苷类,3个香豆素类,3个三萜类,19个黄酮类,6个脂肪酸类及6个其他类(生物碱、内酯、有机酸等)。其中毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、芒柄花苷、刺芒柄花素、黄芪甲苷、山柰酚、齐墩果酸7个化合物通过与对照品对比 $t_{\text{R}}$ ,精确相对分子质量和碎片离子鉴定得到。其他化合物通过采用自建化合物库比对,Compound Discoverer 3.0软件推测,诊断离子过滤,再与文献[9-20]或MassBank数据库中精确相对分子质量、分子式、碎片离子等信息比对鉴定。芪蛭降糖胶囊的化学成分鉴定结果见表1。

**2.5.1 氨基酸类化合物鉴定** 氨基酸类化合物含有氨基和羧基官能团,容易发生 $\alpha$ -裂解失去氨基或羧基基团。该类化合物由Compound Discoverer 3.0软件推测得到。以化合物5为例说明其质谱裂解规律,化合物5的 $t_{\text{R}}=3.00 \text{ min}$ ,推测该化合物极性较大,利用Xcalibur 3.2计算其分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ,正离子模式下得到准分子离子 $m/z$  182.081 7  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ ,连续失去 $\text{HCOOH}$ 和 $\text{NH}_3$ 后得到二级碎片离子 $m/z$  136.076 2, 119.044 6,通过与文献记载的精确相对分子质量、碎片离子和分子式比对推测该化合物为酪氨酸<sup>[11]</sup>。同理,确定化合物2,4分别为苯丙氨酸和亮氨酸<sup>[11]</sup>。

**2.5.2 苯丙素类化合物鉴定** 从芪蛭降糖胶囊中共鉴定出了4个苯丙素类化合物,此类化合物通过和自建化学成分库匹配得到,其中包括3个酚酸类化合物和1个苯丙酸苷。酚酸类化合物容易失去 $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ 得到质量亏损28, 44, 18 Da的碎片离子,以化合物6为例,负离子模式下可见准分子离子 $m/z$  169.013 8  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ ,依次脱去 $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ 生成碎片离子 $m/z$  125.023 7, 107.049 3,通过与文献信息比对推断化合物6为没食子酸<sup>[12]</sup>。具有相同裂解规律的还有化合物7和24,化合物7的准分子离子为 $m/z$  179.034 4  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ ,产生碎片离子 $m/z$  151.039 4  $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^{-}$ ,  $m/z$  134.987 3  $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^{-}$ ,化合物

表1 芪蛭降糖胶囊中化学成分的UPLC-QE-Orbitrap-MS

Table 1 Identification of chemical constituents in Qizhi Jiangtang capsules by UPLC-QE-Orbitrap-MS

化合物	$t_R$ /min	名称	分子式	$\delta$ /ppm	母离子 $m/z$	碎片离子	主要来源
1	1.53	甜菜碱	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	0.06	118.086 8 [M+H] <sup>+</sup>	90.066 7, 70.065 8, 59.073 7	黄芪
2	1.63	苯丙氨酸	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	0.27	166.086 5 [M+H] <sup>+</sup>	120.081 3	水蛭
3	2.74	琥珀酸	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	-1.57	117.018 6 [M-H] <sup>-</sup>	99.007 9, 73.028 6	水蛭
4	2.88	亮氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	-1.03	130.086 7 [M-H] <sup>-</sup>	115.002 9, 88.039 5, 71.012 9	水蛭
5	3.00	酪氨酸	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	0.53	182.081 7 [M+H] <sup>+</sup>	136.076 2, 119.044 6	水蛭
6	3.52	没食子酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	-0.49	169.013 8 [M-H] <sup>-</sup>	125.023 7, 107.049 3	黄芪
7	6.04	咖啡酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	-3.53	179.034 4 [M-H] <sup>-</sup>	151.039 4, 134.987 3	黄芪
8	7.98	5-羟甲基糠醛	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	2.59	127.039 4 [M+H] <sup>+</sup>	109.029 0, 81.034 2	地黄、黄精
9	8.06	异秦皮定	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	0.49	223.061 7 [M+H] <sup>+</sup>	206.081 6, 178.087 0, 163.063 6	黄芪
10	8.29	地黄苷A	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	-1.11	523.166 3 [M-H] <sup>-</sup>	323.099 4, 199.072 2	地黄
11	8.67	桃叶珊瑚苷	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	3.51	345.119 1 [M-H] <sup>-</sup>	183.065 8, 165.059 3	地黄
12	8.78	地黄苷D	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>20</sub>	0.73	685.219 1 [M-H] <sup>-</sup>	505.156 4, 179.055 7	地黄
13	9.12	蜜力特苷	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	1.15	523.166 3 [M-H] <sup>-</sup>	463.146 7, 343.102 5	地黄
14	10.07	梓果次苷	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	4.15	362.122 8 [M] <sup>+</sup>	200.071 4, 70.065 9	地黄
15	10.35	龙胆苦苷	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	-4.62	357.116 4 [M+H] <sup>+</sup>	195.063 3, 137.060 1, 111.044 5	地黄
16	10.52	地黄苷C	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	2.55	509.187 8 [M-H] <sup>-</sup>	449.167 3, 179.055 6	地黄
17	11.24	益母草苷	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	-0.72	347.133 5 [M-H] <sup>-</sup>	329.122 7, 167.070 4	地黄
18	11.44	杨梅素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	0.54	317.030 5 [M-H] <sup>-</sup>	299.020 5, 255.029 6, 163.003 2, 151.003 2	黄芪
19	12.21	毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>1)</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	-2.13	447.127 6 [M+H] <sup>+</sup>	285.076 4, 270.053 0, 257.081 5, 137.023 5	黄芪
				1.15	445.115 4 [M-H] <sup>-</sup>	283.061 6, 268.038 0, 151.003 1, 135.021 1	
20	12.23	芦丁	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	1.51	609.147 0 [M-H] <sup>-</sup>	300.028 0, 271.024 9, 255.029 7, 151.003 0	黄芪
21	12.63	毛蕊花糖苷	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	0.25	623.198 3 [M-H] <sup>-</sup>	461.167 4, 179.033 9, 161.023 9	黄芪
22	12.65	8-表番木鳖酸	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	-1.28	375.128 1 [M-H] <sup>-</sup>	213.075 6, 169.086 0	地黄
23	12.88	4-羟基香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	-2.78	161.024 0 [M-H] <sup>-</sup>	133.028 9, 116.927 8	黄芪
24	12.95	阿魏酸	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	-0.89	193.050 5 [M-H] <sup>-</sup>	178.026 8, 164.963 7	黄芪、地黄
25	13.32	4-甲基儿茶酚	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	-1.26	123.044 5 [M-H] <sup>-</sup>	108.021 0, 94.028 9, 61.987 4	黄芪
26	13.92	橙皮苷	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	0.40	633.180 5 [M+Na] <sup>+</sup>	483.112 7, 331.100 8, 272.966 1, 169.047 4, 119.785 2	黄芪
27	14.33	香豆素二甲醚	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	1.91	207.065 6 [M+H] <sup>+</sup>	178.809 5, 163.020 3	黄芪
28	15.24	芒柄花苷 <sup>1)</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	0.53	431.134 2 [M+H] <sup>+</sup>	269.081 5, 254.057 8, 137.024 1	黄芪
				1.78	429.119 5 [M-H] <sup>-</sup>	267.066 6, 252.042 9, 135.024 3	
29	16.34	野菰酸	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	1.15	267.233 4 [M-H] <sup>-</sup>	223.170 0, 96.959 2	地黄
30	16.67	甘草素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	0.85	255.066 5 [M-H] <sup>-</sup>	153.018 8, 135.008 2, 119.049 5	黄精
31	16.96	黄豆黄素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	0.93	283.061 5 [M-H] <sup>-</sup>	268.038 0, 240.042 5, 135.008 0	黄芪
32	16.98	毛蕊异黄酮 <sup>1)</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	2.35	285.076 4 [M+H] <sup>+</sup>	257.049 9, 137.023 7	黄芪
				1.72	283.040 9 [M-H] <sup>-</sup>	255.030 6, 151.003 1, 135.018 0	
33	17.28	4',5,7-三羟基高异黄酮	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	-0.31	285.076 5 [M-H] <sup>-</sup>	239.165 3, 153.018 6, 135.008 1	黄精
34	17.92	槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	1.41	301.035 9 [M-H] <sup>-</sup>	151.003 1, 107.013 1	黄芪
35	18.80	根皮素	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	3.02	273.077 7 [M-H] <sup>-</sup>	235.101 0, 151.003 6, 136.016 1, 109.029 0	黄芪
36	18.81	染料木素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	1.09	269.045 8 [M-H] <sup>-</sup>	225.056 0, 151.003 1, 117.033 8	黄芪
37	19.20	异鼠李素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	1.16	315.051 5 [M-H] <sup>-</sup>	300.027 9, 151.003 1	黄芪
38	19.37	山柰酚 <sup>1)</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	1.61	285.040 9 [M-H] <sup>-</sup>	257.056 0, 151.003 3	黄芪
				1.41	287.055 3 [M+H] <sup>+</sup>	258.051 4, 241.049 3, 153.018 2, 121.028 5	

续表 1

化合物	$t_R/\text{min}$	名称	分子式	$\delta/\text{ppm}$	母离子 $m/z$	碎片离子	主要来源
39	19.59	木犀草素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	1.72	285.041 0 [M-H] <sup>-</sup>	285.041 1, 151.003 1	黄芪
40	19.72	黄芪甲苷 <sup>1)</sup>	$\text{C}_{41}\text{H}_{68}\text{O}_{14}$	-0.86	807.451 8 [M+Na] <sup>+</sup>	627.388 9, 495.345 3, 335.095 0	黄芪
				2.08	783.454 7 [M-H] <sup>-</sup>	536.507 5, 489.360 1	
41	20.29	异甘草素	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	0.74	255.066 5 [M-H] <sup>-</sup>	153.018 8, 119.049 5	黄精
42	20.92	刺芒柄花素 <sup>1)</sup>	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	2.40	269.081 5 [M+H] <sup>+</sup>	254.057 3, 213.091 3, 137.023 8	黄芪
				4.04	267.066 5 [M-H] <sup>-</sup>	252.043 0, 223.040 0, 135.021 0	
43	21.44	柚皮素	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	1.41	271.061 6 [M-H] <sup>-</sup>	243.066 2, 227.071 3, 153.018 8, 135.008 2	黄芪
44	23.69	6,8-二甲基-4',5,7-三羟基高异 黄烷酮	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5$	0.10	313.108 3 [M-H] <sup>-</sup>	207.066 2, 179.071 0, 135.044 4	黄芪
45	24.12	黄芪皂苷 I	$\text{C}_{45}\text{H}_{72}\text{O}_{16}$	2.78	891.473 5 [M+Na] <sup>+</sup>	831.447 6, 651.386 5, 477.367 4	黄芪
46	25.42	亚麻酸	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	0.32	277.217 6 [M-H] <sup>-</sup>	259.207 1, 233.227 2, 83.049 3	-
47	26.08	齐墩果酸 <sup>1)</sup>	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	0.81	455.353 9 [M-H] <sup>-</sup>	407.332 9, 391.254 2, 247.283 2	地黄
				-0.68	457.367 3 [M+H] <sup>+</sup>	411.362 4, 203.179 5, 163.148 2, 149.132 5	
48	26.83	棕榈油酸	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$	0.93	253.217 5 [M-H] <sup>-</sup>	235.207 3, 130.063 4, 71.012 8	-
49	27.62	亚油酸	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	1.38	279.233 3 [M-H] <sup>-</sup>	261.222 4, 59.012 9	-
50	28.29	亚麻酸乙酯	$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$	3.59	305.249 2 [M-H] <sup>-</sup>	287.237 3, 84.641 8, 59.012 9	-
51	29.14	棕榈酸	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	0.73	255.233 1 [M-H] <sup>-</sup>	212.859 8, 121.045 1	-
52	29.87	亚油酸乙酯	$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$	1.97	307.264 9 [M-H] <sup>-</sup>	238.899 2, 101.113 0, 59.013 0	-

注:<sup>1)</sup>通过对照品比对后鉴定;“-”表示无专属来源药材。

24 准分子离子为  $m/z$  193.050 5 [M-H]<sup>-</sup>, 二级碎片离子为  $m/z$  178.026 8 [M-H-CH<sub>3</sub>]<sup>-</sup>,  $m/z$  164.963 7 [M-H-CO]<sup>-</sup>, 根据裂解规律结合文献碎片离子信息推断化合物 **7**, **24** 分别为咖啡酸、阿魏酸<sup>[12]</sup>。化合物 **21** 的化学式为  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ , 准分子离子为  $m/z$  623.198 3 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子为  $m/z$  461.167 4, 179.033 9, 161.023 9, 其中  $m/z$  461.167 4 与准分子离子相差 162 Da, 推测可能为丢失一分子葡萄糖所得, 而  $m/z$  161.023 9 的存在也佐证了葡萄糖基的存在,  $m/z$  179.033 9 为典型的咖啡酰基碎片离子, 故推测结构中含有咖啡酰基, 基于对上述碎片离子的分析并结合文献信息推测化合物 **21** 为毛蕊花糖苷<sup>[13]</sup>。

**2.5.3 环烯醚萜苷类化合物鉴定** 环烯醚萜苷类化合物是由单萜与糖结合成的糖苷, 其糖苷键非常容易断裂, 得到丢失一分子或几分子糖的碎片离子, 由于环烯醚萜苷类结构中常常有羟基存在, 也容易中性丢失 H<sub>2</sub>O 产生质量损失 18 Da 的碎片离子。以化合物 **11** 为例, 利用 Xcalibur 3.2 计算其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_9$ , 负离子模式下准分子离子为  $m/z$  345.119 1 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  183.065 8 为准分子离子中性丢失一分子葡萄糖产生,  $m/z$  165.059 3 为丢失一分子葡萄糖再丢失一分子 H<sub>2</sub>O 产生, 将化合物 **11** 的精确相对分子质量和碎片离子等信息和文献比对初步推断化合物 **11** 为桃叶珊瑚苷<sup>[13]</sup>。化

合物 **14** 的  $t_R=10.07$  min, 利用 Xcalibur 3.2 计算其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ 。准分子离子为  $m/z$  362.122 8 [M]<sup>+</sup>, 脱去一分子葡萄糖得到  $m/z$  200.071 4 碎片离子, 进一步发生  $\alpha$ -断裂得到  $m/z$  70.065 9 碎片离子, 将碎片离子、分子式、精确性对分子质量等信息与文献比对, 鉴定该化合物为梓果次苷<sup>[14]</sup>。对于化合物 **17**, 其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_9$ , 负离子模式下的准分子离子为  $m/z$  347.133 5 [M-H]<sup>-</sup>, 得到碎片离子  $m/z$  329.122 7 [M-H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>,  $m/z$  167.070 4 [M-H-H<sub>2</sub>O-Glu]<sup>-</sup>, 结合文献裂解规律推测化合物 **17** 为益母草苷。根据上述裂解规律并结合文献信息还鉴定了其他 4 个环烯醚萜苷类化合物 **10**, **12**, **13**, **16**, **22**<sup>[14-15]</sup>。

**2.5.4 香豆素类化合物鉴定** 香豆素类化合物具有邻羟基桂皮酸内酯结构, 其内酯环容易中性丢失 CO, CO<sub>2</sub> 产生质量损失 28 Da 和 44 Da 的碎片离子。以化合物 **23** 为例, Xcalibur 3.2 计算其分子式为  $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$ , 负离子模式下准分子离子为  $m/z$  161.024 0 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  133.028 9, 116.927 8 为准分子离子中性丢失 CO 和 CO<sub>2</sub> 产生, 与文献信息比对, 初步推断化合物 **23** 为 4-羟基香豆素<sup>[16]</sup>。根据上述香豆素类化合物的裂解规律, 结合精确相对分子质量和碎片离子初步鉴定化合物 **9** 和 **27** 分别为异秦皮定、香豆素二甲醚。

**2.5.5 三萜类化合物鉴定** 三萜类化合物由数个异戊二烯结构单元相连而成,结构中联合的多个六元环的骨架不易断键,环上连接的羟基、羧基或糖基容易发生 $\alpha$ -裂解而丢失。通过和对照品比对相对分子质量、二级碎片和 $t_R$ 等信息确认化合物**47**为齐墩果酸,其在负离子模式下产生准分子离子 $m/z$  455.353 9  $[M-H]^-$ ,得到碎片离子 $m/z$  407.332 9  $[M-H-HCOOH-2H]^-$ ,  $m/z$  391.254 2  $[M-H-HCOOH-H_2O]^-$ ,其裂解规律与文献[17]相同。同样,对于化合物**40**,其在正离子模式下准分子离子为 $m/z$  807.451 8  $[M+Na]^+$ ,准分子离子中性丢失葡萄糖基和一分子水得到碎片离子 $m/z$  627.388 9,继续失去木糖基得到碎片离子 $m/z$  495.345 3,经与对照品比对相对分子质量、二级碎片和 $t_R$ 等信息确认化合物**40**为黄芪甲苷,同理,根据上述裂解规律并对比文献数据推断化合物**45**为黄芪皂苷I<sup>[18]</sup>。

**2.5.6 黄酮类化合物鉴定** 黄酮类化合物有2-苯基色原酮结构,容易发生RDA裂解开C环,得到151, 135, 133, 119 Da等特征碎片离子。以这些碎片离子为诊断离子可筛选出一系列结构骨架相同的化合物。其中,化合物**19, 28, 32, 38, 42**经与对照品比对相对分子质量、二级碎片及 $t_R$ 等信息后确认,

分别为毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、山柰酚和刺芒柄花素。以化合物**19**为例说明黄酮类化合物的裂解规律,其在正离子模式下的准分子离子为 $m/z$  447.127 6  $[M+H]^+$ ,碎片离子 $m/z$  285.076 4为准分子离子脱去一分子葡萄糖所得,之后再脱去 $CH_3$ 得到碎片离子 $m/z$  270.053 0,脱CO得到碎片离子 $m/z$  257.081 5,发生RDA裂解反应得到碎片离子 $m/z$  137.023 5,该化合物在正离子模式下裂解途径见图1。化合物**28**在正离子模式下准分子离子峰为 $m/z$  431.134 2  $[M+H]^+$ ,损失162 Da得碎片离子 $m/z$  269.081 5,为脱葡萄糖基所得苷元离子,继续脱 $CH_3$ 得到 $m/z$  254.057 8碎片离子,发生RDA裂解反应得 $m/z$  137.024 1碎片离子。化合物**38**在负离子模式下准分子离子为 $m/z$  285.040 9  $[M-H]^-$ ,C环脱CO得到 $m/z$  257.056 0碎片离子,发生RDA裂解得到 $m/z$  151.003 3碎片离子。化合物**42**在正离子模式下准分子离子为 $m/z$  269.081 5  $[M+H]^+$ ,脱 $CH_3$ 得到 $m/z$  254.057 3碎片离子,发生RDA裂解得 $m/z$  137.023 8碎片离子。通过采用诊断离子筛选的方法得到候选化合物,再结合文献信息<sup>[9-10,19-20]</sup>,从芪蛭降糖胶囊中还鉴定了其他14个黄酮类化合物。

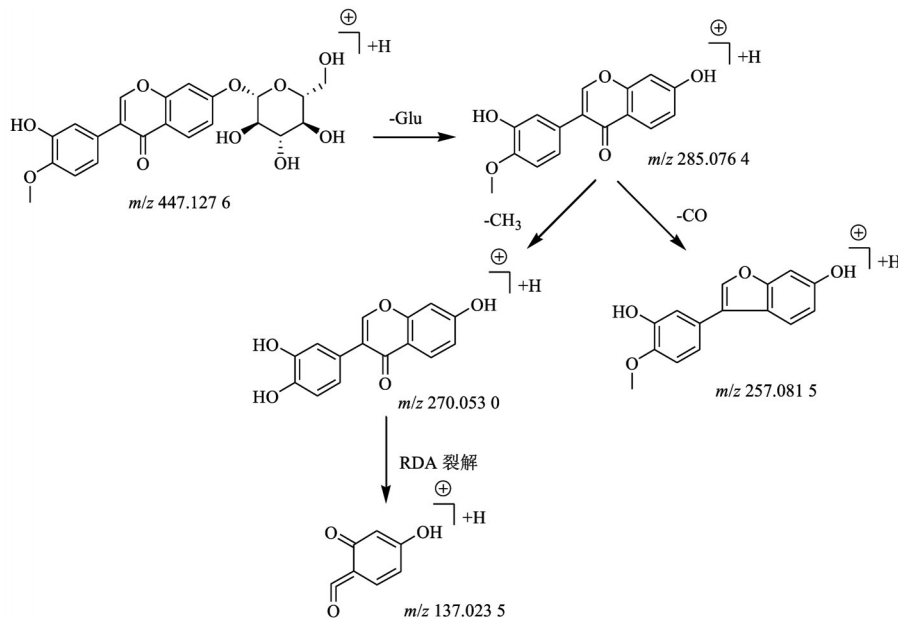


图1 毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷的裂解途径

Fig. 1 Fragment pathways of calycosin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

**2.5.7 脂肪酸类化合物鉴定** 脂肪酸类化合物结构包含脂肪链和羧基或酯基基团,容易发生 $\alpha$ -裂解产生 $[M-H-CO]^-$ ,  $[M-H-CO_2]^-$ ,  $[M-H-H_2O]^-$ ,  $[M-H-COOH]^-$ ,  $[M-H-CH]^-$ ,  $[M-H-CH_2]^-$ ,

$[M-H-C_nH_{2n+1}]^-$ 等类型的特征碎片离子。脂肪酸类化合物主要由Compound Discoverer 3.0软件推测得到。以化合物**46**为例说明该类化合物的裂解规律,化合物**46**分子式为 $C_{18}H_{30}O_2$ ,准分子离子为 $m/z$

277.217 6 [M-H]<sup>-</sup>,中性丢失 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub>生成碎片离子 *m/z* 259.207 1, 233.227 2, 通过将 these 特征离子与 MassBank 数据库比对,推断化合物 46 为亚麻酸。同理,根据相对分子质量、碎片离子与 MassBank 数据库比对结果,推断化合物 48~52 分别为棕榈油酸、亚油酸、亚麻酸乙酯、棕榈酸和亚油酸乙酯。

**2.5.8 其他化合物** 化合物 3 经 Xcalibur 3.2 计算其分子式为 C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>,负离子模式下得到准分子离子 *m/z* 117.018 6 [M-H]<sup>-</sup>,碎片离子 *m/z* 99.007 9 [M-H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>和 *m/z* 73.028 6 [M-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>,根据其裂解规律并结合 MassBank 数据库碎片离子信息推测该化合物为琥珀酸。化合物 8 在正离子模式下准分子离子为 *m/z* 127.039 4 [M+H]<sup>+</sup>,碎片离子为 *m/z* 109.029 0, 81.034 2, 通过和文献二级碎片离子比对鉴定其为 5-羟甲基糠醛<sup>[14]</sup>。

### 3 讨论

为更加全面地表征芪蛭降糖胶囊中化学成分,预试验考察了体积分数为 100%, 75%, 50% 的甲醇作为提取溶剂,以及回流、索氏提取及超声提取 3 种提取方法,分别采用甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水为流动相,根据总峰数、总峰面积及各峰的分离子情况,选择 75% 甲醇超声提取的方法制备供试品溶液,乙腈-水为流动相,并优化了梯度洗脱条件,使得样品在正、负离子 2 种模式下均表现出良好的灵敏度。

本研究发现芪蛭降糖胶囊中主要化学成分有黄酮类、环烯醚萜苷类、苯丙素类、香豆素类和三萜类等。其中黄酮类化合物主要来源于黄芪,研究表明黄酮类化合物能够通过调节糖脂代谢酶活性降低晚期糖基化终末产物(AGEs)的沉积,降低血糖、尿白蛋白和提高肾小球滤过率<sup>[21]</sup>。例如,槲皮素可通过调节沉默信息调节因子 1/核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3(SIRT1/NLRP3)通路发挥神经保护作用,从而改善糖尿病脑病(DE)<sup>[22]</sup>;山柰酚能通过促进骨骼肌糖代谢和抑制肝脏糖异生发挥抗糖尿病作用<sup>[23]</sup>。环烯醚萜苷类成分主要来源于地黄,现代药理研究表明地黄中环烯醚萜苷类成分可通过抑制 2 型糖尿病小鼠肾脏 AGEs/晚期糖基化终末产物受体(RAGE)/鞘氨醇激酶 1(SphK1)信号通路的激活,显著抑制血清胰岛素水平降低和尿胰岛素水平升高;下调空腹血糖、血肌酐和尿素氮水平,降低蛋白尿;并能防止细胞外基质(ECM)沉积、改善肾脏组织结构损伤,从而发挥治疗糖尿病的作用<sup>[24]</sup>。此外,苯丙素类化合物阿魏酸可通过 Toll 样受体 4/核

转录因子-κB(TLR4/NF-κB)信号通路降低 2 型糖尿病小鼠血糖水平,减轻心肌细胞损伤及心肌纤维化<sup>[25]</sup>。还有研究表明三萜类化合物齐墩果酸能通过预防肝内脂肪堆积、降低肝脏炎症从而降低糖尿病前期相关的非酒精性脂肪性肝病的发生风险<sup>[26]</sup>。香豆素类化合物能通过激活蛋白激酶 B(Akt)或腺嘌呤核糖核苷酸依赖的蛋白激酶(AMPK)促进葡萄糖转运蛋白 4 转位和葡萄糖转运,对 2 型糖尿病相关的生化指标和组织病变发挥改善作用<sup>[27]</sup>。上述不同类别活性成分协同作用,体现了芪蛭降糖胶囊多成分、多靶点的作用特点,也可为中药治疗 2 型糖尿病提供参考。

本研究采用 UPLC-QE-Orbitrap-MS 技术对芪蛭降糖胶囊的化学成分进行了分析,较为全面地鉴定了该制剂的主要化学成分,为芪蛭降糖胶囊中化学成分的定性分析提供了一种高效、快速的分析方法,也为进一步开展该制剂的质量控制标准提升、药效物质基础及药理作用机制研究提供了物质基础支撑。但本研究尚有部分峰未能鉴定,还需进一步挖掘,同时,本研究鉴定的化合物主要为复方中次生代谢产物,后续将采用核磁共振(NMR)技术针对初生代谢产物进行鉴定,以期更加全面地反映芪蛭降糖胶囊的化学组成。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:991.
- [2] 孟凡辰,郭兆安,于春江,等. 芪蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾组织血管内皮细胞生长因子及细胞外基质的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2014,15(8):676-681.
- [3] 彭琳,陈远美,黄映红. 芪蛭降糖胶囊联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病的疗效观察[J]. 中药导报,2014,20(7):37-38.
- [4] 郭兆安,于春江,柳刚,等. 芪蛭降糖胶囊治疗糖尿病肾脏疾病 3b 期大量蛋白尿的多中心、随机对照研究[J]. 中国中西医结合杂志,2014,34(9):1047-1052.
- [5] 倪青,闫秀峰,林兰. 芪蛭降糖胶囊治疗 2 型糖尿病合并冠心病心绞痛 128 例临床观察[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(10):9-11.
- [6] 李悦,于春江,郭兆安,等. 芪蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾实质小动脉内膜/中膜厚度比与炎症因子的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2013,14(10):858-863.
- [7] 郭兆安,孟凡辰,于春江,等. 芪蛭降糖胶囊对糖尿病

- 肾病大鼠肾脏结构和功能的影响[J]. 中国医药科学, 2015, 5(1):31-36.
- [ 8 ] 武帅,郭兆安,于春江,等. 芪蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾组织BMP-7及TGF- $\beta_1$ /smads信号传导通路的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(4): 297-301.
- [ 9 ] 李伟,冯育林,黎田儿,等. UPLC-Q-TOF/MS技术结合诊断离子方法快速分析连钱草中黄酮类化合物[J]. 质谱学报, 2016, 37(6):504-516.
- [ 10 ] 李行诺. 山豆根化学成分及其黄酮类化合物在电喷雾质谱中的裂解规律研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2009.
- [ 11 ] ZHANG L Q, WANG J, LI T, et al. Determination of the chemical components and phospholipids of velvet antler using UPLC/QTOF-MS coupled with UNIFI software[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(5):3789-3799.
- [ 12 ] 刘香易,曾锐,杨长传,等. 基于UPLC-ESI-HRMS<sup>n</sup>技术的三草保肝汤化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(7):141-147.
- [ 13 ] 张波泳,江振作,王跃飞,等. UPLC/ESI-Q-TOFMS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.
- [ 14 ] 李存满,骆亚薇,田宝勇. 环烯醚萜类化合物的质谱裂解规律研究进展[J]. 河北师范大学学报:自然科学版, 2015(6):522-526.
- [ 15 ] 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.
- [ 16 ] 席海为. 香豆素类化合物检测方法及应用研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2010.
- [ 17 ] XU T Y, ZUO L H, SUN Z, et al. Chemical profiling and quantification of Shenkang injection, a systematic quality control strategy using ultra high-performance liquid chromatography with Q Exactive hybrid quadrupole orbitrap high-resolution accurate mass spectrometry[J]. J Sep Sci, 2017, 40(24):4872-4879.
- [ 18 ] 胡英还,许文倩,秦雪梅,等. UHPLC-Q Exactive轨道阱高分辨质谱在线快速识别黄芪建中汤的化学成分[J]. 药学学报, 2017, 52(6):964-970.
- [ 19 ] 王燕,李晓波,李俊杰,等. 5,6,7,4'-四羟基黄酮和5,6,7,4'-四甲氧基黄酮高分辨电喷雾串联质谱裂解规律对比研究[J]. 质谱学报, 2016, 37(5):385-392.
- [ 20 ] 吴新安,都模勤. 黄酮碳苷类化合物ESIMS-MS裂解规律初探[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(6): 1085-1087.
- [ 21 ] 顾丽媛,唐海涛,孙云,等. 中药黄酮类化合物治疗糖尿病肾病的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(12):1729-1732.
- [ 22 ] HU T, LU X Y, SHI J J, et al. Quercetin protects against diabetic encephalopathy via SIRT1/NLRP3 pathway in db/db mice[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(6):3449-3459.
- [ 23 ] ALKHALIDY H, MOORE W, WANG Y, et al. The flavonoid kaempferol ameliorates streptozotocin induced diabetes by suppressing hepatic glucose production[J]. Molecules, 2018, 23(9):2338.
- [ 24 ] LYU X, DAI G Y, LYU G H, et al. Synergistic interaction of effective parts in Rehmanniae Radix and *Cornus officinalis* ameliorates renal injury in C57BL/KsJ-db/db diabetic mice: involvement of suppression of AGEs/RAGE/SphK1 signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 185:110-119.
- [ 25 ] 王一春,王丽娟,刘萍. 阿魏酸对2型糖尿病小鼠心肌损伤的影响[J]. 天津医药, 2020, 48(3):182-187.
- [ 26 ] GAMEDE M, MABUZA L, NGUBANE P, et al. Plant-derived oleanolic acid ameliorates markers associated with non-alcoholic fatty liver disease in a diet-induced pre-diabetes rat model [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2019, 12:1953-1962.
- [ 27 ] YAO Y F, ZHAO X Q, XIN J X, et al. Coumarins improved type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin in mice via antioxidation [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2018, 96(8):765-771.

[责任编辑 刘德文]