

DART-MS 法快速检测姜黄属中药中姜黄素类化合物的适用性研究

罗霄¹, 肖思远^{2#}, 张良¹, 俞佳⁵, 梁恒兴¹, 李及¹, 代琪¹, 李锐^{2,4*}, 肖洪涛^{3*}

1. 成都市药品检验研究院 国家药品监督管理局中药材质量监测评价重点实验室, 四川 成都 610045

2. 成都中医药大学 西南特色中药资源国家重点实验室, 药学院, 四川 成都 611137

3. 四川省肿瘤医院药学部, 四川 成都 610072

4. 四川锦弘科优生物科技有限责任公司, 四川 成都 611137

5. 泸州老窖股份有限公司, 四川 泸州 646000

摘要: **目的** 建立实时直接分析质谱 (direct analysis in real-time-mass spectrometer, DART-MS) 法检测姜黄属中药中姜黄素类化合物的分析方法, 并探究该方法在中药领域应用的可行性。**方法** 利用 DART-MS 技术, 通过单因素实验, 优化进样速度、格栅电压、提取溶剂等实验参数条件, 获得最佳检测限。与采用超高效液相色谱-电喷雾串联质谱 (ultra performance liquid chromatography- electric spray ion source-mass spectrometer, UPLC-ESI-MS) 技术检测的结果作比较, 并进行方法学验证, 以此评价采用 DART-MS 技术进行快速检测姜黄素类化合物的可行性。**结果** 优化后的 DART 检测条件: 电离源气体温度 300 °C, 格栅电压 (grid voltage, GV) 100 V, 进样速度 0.2 mm/s, 并以 60% 丙酮水溶液作为提取剂, 以获得最佳信号强度。结果表明, 在负离子模式下, 姜黄素 (curcumin, CUR)、去甲氧基姜黄素 (demethoxycurcumin, DMC)、双去甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin, BDMC) 的标准曲线呈现良好线性关系, 检测限分别为 0.08、0.10、0.07 ng/mL, 定量限分别为 0.22、0.34、0.19 ng/mL, 3 种化合物的平均回收率处于 98.75%~100.61%, 相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 均小于 5%。采用 DART-MS 和 UPLC-ESI-MS 对 3 种姜黄素检测的结果一致。**结论** 该方法精确度高、准确度高、重复性好, 能快速、准确、有效地检测姜黄属中药中姜黄素类化合物, 在中药等领域具有潜在的应用价值。

关键词: 姜黄素类化合物; 姜黄素; 去甲氧基姜黄素; 双去甲氧基姜黄素; 实时直接分析质谱; 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱; 快速检测

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)15-5256-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.15.025

Rapid detection of applicability of curcuminoids in *Curcuma* using DART-MS

LUO Xiao¹, XIAO Siyuan², ZHANG Liang¹, YU Jia⁵, LIANG Hengxing¹, LI Ji¹, DAI Qi¹, LI Rui^{2,4}, XIAO Hongtao³

1. Key Laboratory of Quality Monitoring and Evaluation of Traditional Chinese Medicinal Materials, National Medical Products Administration, Chengdu Institute for Drug Control, Chengdu 610045, China

2. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

3. Pharmacy Department of Sichuan Cancer Hospital, Chengdu 610072, China

4. Sichuan Jinhong Keyou Biotechnology Co., Ltd., Chengdu 611137, China

5. Luzhou Laojiao Group Co., Ltd., Luzhou 646000, China

Abstract: Objective To establish a method using direct analysis in real-time-mass spectrometer (DART-MS) for detecting

收稿日期: 2024-03-04

基金项目: 国家重点研发计划-中医药现代化专项 (2023YFC3504101); 国家自然科学基金面上项目 (82073994); 成都中医药大学杏林学者学科人才科研提升计划 (QJJ2021002)

作者简介: 罗霄, 男, 副主任中药师, 研究方向为中药、民族药质量监测与评价。E-mail: 76209608@qq.com

#共同第一作者: 肖思远, 男, 硕士研究生, 从事中药药剂学、中药及天然药物的分析与研究工作。E-mail: 1321791611@qq.com

***通信作者:** 肖洪涛, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新药研发与药剂学研究。E-mail: xiaohongtao@scszlly.org.cn

李锐, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药的化学分析与体内代谢研究。E-mail: lirui@cdutcm.edu.cn

curcuminoids in *Curcuma*, and explore the feasibility of the method in the field of traditional Chinese medicine. **Methods** By using DART-MS technology and conducting single-factor experiments, the experimental parameters such as injection speed, grid voltage (GV), and extraction solvent were optimized to obtain the optimal limit of detection. Comparing the results detected by ultra performance liquid chromatography-electric spray ion source-mass spectrometer (UPLC-ESI-MS) technology and conducting methodological validation to evaluate the feasibility of using DART-MS technology for rapid detection of curcuminoids. **Results** To obtain the optimal signal intensity, the optimized DART detection conditions are as follows: the ion source gas temperature is 300 °C, the GV is 100 V, the sample injection speed is 0.2 mm/s, and a 60% acetone aqueous solution is used as the extraction solvent. The results showed that in negative ion mode, the standard curves of curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC), and bisdemethoxycurcumin (BDMC) showed a good linear relationship, with detection limits of 0.08, 0.10, and 0.07 ng/mL, and quantification limits of 0.22, 0.34, and 0.19 ng/mL, respectively. The average recovery rates of the three compounds were between 98.75% and 100.61%, and the relative standard deviation (RSD) was less than 5%. The results of detecting three curcuminoids using DART-MS and UPLC-ESI-MS are almost consistent. **Conclusion** The method has high precision, high accuracy and good repeatability, and can quickly, accurately and effectively detect curcuminoids in *Curcuma*, which has potential application value in traditional Chinese medicine and other fields.

Key words: curcuminoids; curcumin; demethoxycurcumin; bisdemethoxycurcumin; DART-MS; UPLC-ESI-MS; rapid detection

姜黄 *Curcuma Longae Rhizoma* 长期以来在西方和许多亚洲国家被用作主要食品辅料, 在中国被用作草药也有数千年的历史。它主要分布在亚洲, 包括印度、泰国、印度尼西亚和中国^[1]。姜黄素类化合物是姜黄属植物中的主要生物活性成分, 主要以姜黄素 (curcumin, CUR)、去甲氧基姜黄素 (demethoxycurcumin, DMC)、双去甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin, BDMC) 为代表^[2]。先前的研究表明, 姜黄素类化合物表现出广泛的生物活性, 但最重要且临床相关的属性是其抗炎活性^[3], 它们还可以通过激活内源性细胞防御机制充当有效的抗氧化剂^[4], 姜黄还被证明具有抗肿瘤发生、抗阿尔茨海默病以及抗糖尿病等多种益处^[5]。

姜黄素类化合物含量作为姜黄类产品质量评价的标准之一^[6-7], 其检测方式已经有了大量的研究报告, 包括但不限于薄层色谱法、紫外分光光度法、高效液相色谱法和液质联用法 (liquid chromatography-mass spectrometer, LC-MS)、超高效液相色谱-电喷雾串联质谱 (ultra performance liquid chromatography-electric spray ion source-mass spectrometer, UPLC-ESI-MS)^[8]。高效液相色谱法分离度效果好, 灵敏度也较高, 是目前主要的测定姜黄素类化合物的方法。色谱质谱联用法与高效液相色谱法相比, 以 UPLC-ESI-MS 为例, 该法能显著提高检测的灵敏度和特异性, 从而产生较低的检测限^[9], 但其劣势在于色谱柱分离时间和柱再生时间太长, 且分离过程中会产生大量废弃流动相^[10]。该方法并不适用于日常的分析检测工作, 因此, 需要开发一种快速评估加工产品中姜黄素类化合物水

平的检测方法。

实时直接分析质谱 (direct analysis in real-time-mass spectrometer, DART-MS) 发明于 2002 年^[11], DART 是一种大气压气体吸附的离子源^[12], 当外接 He 或 N₂ 等气体进入 DART 内部时, 通过高压放电针产生辉光放电形成离子体, 然后气体进入加热管获得动能, 再经过栅格电极除去亚稳态物质与异电荷, 最后产生的样品离子进入质谱, 从而实现快速分析^[13]。ESI 则是通过高压将液体样品雾化成小液滴的离子源, 再在电场作用下使其蒸发并且离子化^[14]。DART 相较于 ESI, 其优点在于无需溶剂辅助, 直接接触样品形成离子^[15]。现有研究表明, DART-MS 检测技术已经被用于各个领域, 例如乳香中乳香酸含量的测定^[16], 茶叶中咖啡碱的含量测定^[17], 以及化妆品中违禁品尿嘧啶的测定等^[18]。DART-MS 不需要色谱分离, 并且可以提供几乎即时的结果。到目前为止, DART-MS 一直被认为是一种高通量工具, 可用于复杂基质的目标和非目标分析, 因此本研究旨在利用 DART-MS 技术, 建立一种快速检测中药及其制品中姜黄素类化合物含量的方法, 并与 UPLC-ESI-MS 方法进行全面比较。

1 材料与仪器

1.1 药品与溶剂

对照品 CUR、DMC、BDMC (质量分数>98%, 普思生物科技有限公司); 本实验中所采用的 3 种不同姜黄属中药, 其中姜黄、黄丝郁金于 2023 年 2 月采自四川乐山犍为县; 蓬莪术于 2023 年 2 月采自四川成都温江区, 药材经成都中医药大学中药化学系李锐教授鉴定, 姜黄为姜科姜黄属植物姜黄

Curcuma longa L. 的干燥根茎; 黄丝郁金为姜科姜黄属植物郁金 *C. aromatica* Salisb. 的干燥块根; 蓬莪术为姜科姜黄属植物蓬莪术 *C. phaeocaulis* Val. 的干燥块根。以姜黄为原料制备的姜黄制品, 包括姜黄面条 (湖南福祥生物科技有限公司)、姜黄饮料 (娃哈哈集团有限公司)、咖喱粉 (泰州春和源食品有限公司)。色谱级乙腈、甲醇、丙酮 (Sigma-Aldrich 公司)。超纯水由 Mill-Q 系统 (Millipore, MA, 美国) 制备。

1.2 仪器

TripleQuad™ 3500 质谱仪配有 ESI 电离源 (SCIX 公司, 美国)、Acquity UPLC H-Class (Waters 公司, 美国)、DART 离子源 (IonSense, Saugas, 美国)。色谱柱: Analytical DB C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.9 μm)。

2 方法

2.1 样品溶液的制备

姜黄、黄丝郁金和蓬莪术, 风干后磨成细粉。每 0.01 克用 5 mL 不同溶剂 (丙酮水溶液、乙腈水溶液、甲醇水溶液) 在室温下超声提取 30 min。对于姜黄制品, 其采用与前述的相同程序进行处理, 对应为姜黄制品 1~3。提取物全部储存在 4 °C, 并在进样前通过 0.22 μm 滤膜滤过。

2.2 标准溶液的制备

用 60% 丙酮水溶液制备 CUR、DMC 和 BDMC 的储备溶液, 目标质量浓度分别为 14.813、10.100、10.075 μg/mL, 并分开储存。为了制备标准曲线, 将储备溶液稀释为标准工作溶液 (CUR、DMC 和 BDMC 的混合物, 质量浓度范围分别为 463~14 813、315.8~10 100、315~10 075 ng/mL)。所有的储备溶液以及标准工作液全部在 4 °C 环境中保存, 平衡至室温后使用。

2.3 DART-MS/MS 分析

参考刘芳^[19]研究方法, 略作修改。DART-MS/MS 分析系统由 DART 离子源耦合 TripleQuad™ 3500 质谱仪组成。采用 12 位扫描自动进样器将标准品溶液或样品溶液以 0.2 mm/s 的速度输送至 DART 电离区, 随后样品通过 DART 出口处的氦气流进入质谱仪。

使用高纯度氦气 (99.999%) 和高纯氮气 (99.999%) 分别作为运行气体和备用气体, 通过真空连接管, 使样品离子进入质谱仪, 进行后续扫描分析。每个样品分别进行 2 次平行分析。DART-MS/MS 仪器在负离子模式下进行^[20], 设置如下: 离

子源参数: 氦气体积流量 3.0 L/min; 格栅电压 (Grid Voltage, GV): 100 V; 离子源气体温度设置为 300 °C。DART 离子源孔口和质谱仪的入口的距离为 1 cm。质谱参数: 离子喷雾电压: -4 500 V, 扫描速率为 2 000 Da/s。

2.4 UPLC-ESI-MS 分析

超高效液相色谱仪耦合到相同的带 ESI 的 TripleQuad™ 3500 质谱仪, 并在负离子模式下进行, 使用分析型 DB C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 实现样品分离^[21]。柱温 35 °C, 体积流量 0.3 mL/min, 平衡时间 1.5 min。流动相: 乙腈 (A) -0.1% 甲酸水溶液 (B)。梯度洗脱: 0~4 min, 90%~50% B; 4~5 min, 50%~10% B; 5~10 min, 10%~90% B。

ESI 为负离子模式, 用于定量分析的离子源参数优化如下: 离子源温度, 330 °C; 气帘气, 241 kPa; 离子化电压, -4 500 V; 离子源 (Gas1), 110 kPa; 离子源 (Gas2), 124 kPa; 碰撞气体, 41 kPa, 采用质谱多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式扫描。并优化 MRM 参数和每个待测物的母离子裂解为子离子的离子跃迁方式^[22], 数据的采集和分析在 Analyst 软件版本 1.5.1 (AB Sciex) 上进行。

2.5 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS 17.0 软件进行统计与分析。P<0.05, 具有统计学差异。

3 结果与分析

3.1 DART 电离源的气体温度

研究发现, DART 中气体温度对分析物的电离有显著影响。通过测量 CUR、DMC 和 BDMC 在 60% 丙酮水溶液中的信号强度, 评价了气体温度对其电离的影响。温度测试范围为 100~400 °C。图 1-A 显示了 CUR、DMC 和 BDMC 信号强度与气体温度的关系。在 100~300 °C, CUR 的信号强度随着温度的升高而显著增加, 而温度 300 °C 以上, 随着温度的升高, 信号强度逐渐降低。从 100 °C 到 300 °C, 基质金属离子的信号强度随着温度的升高而逐渐增强, 当温度超过 300 °C 时, 信号强度开始下降。当温度从 100 °C 升高到 300 °C 时, BDMC 的信号强度随着温度的升高而增加, 而在 300~400 °C, 信号强度变化不大。CUR、DMC 和 BDMC 信号可以在低气体温度下被检测到, 但响应性低。因此, 在进一步的研究中, 气体温度被设置为 300 °C。

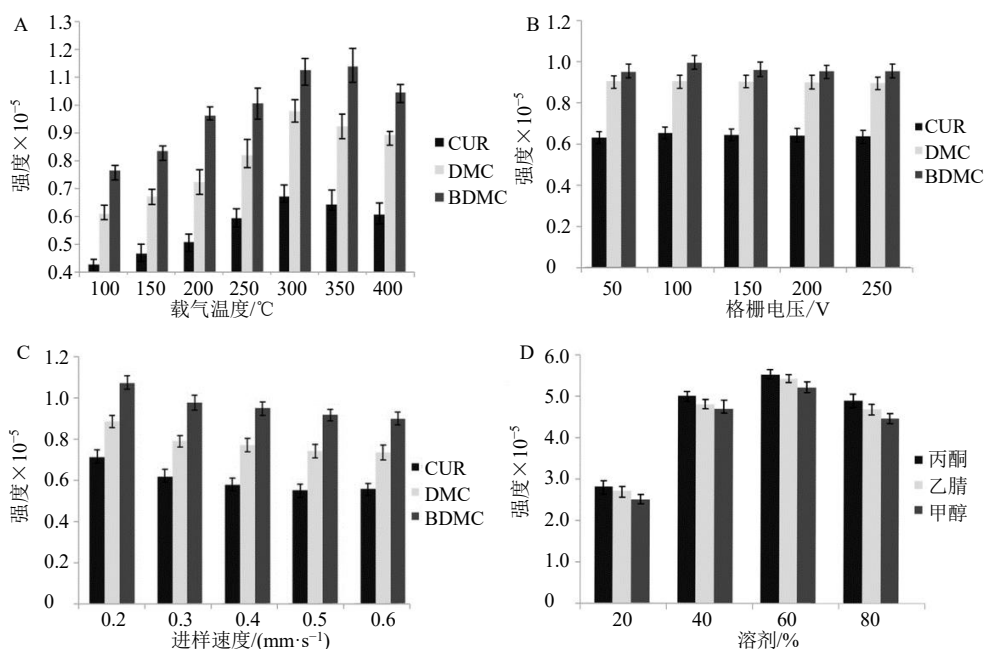


图 1 DART-MS 中不同载气温度 (A)、格栅电压 (B)、进样速度 (C)、溶剂 (D) 的响应强度

Fig. 1 Response intensities under different gas heater temperature (A), grid voltage (B), injection speed (C), and solvent (D) in DART-MS

3.2 格栅电压优化

研究了在 60% 丙酮水溶液中，格栅电压对 CUR、DMC 和 BDMC 信号强度的影响 ($n=3$)。当 GV 值从 50 V 变化到 100 V 时，CUR、DMC 和 BDMC 的信号强度变化不大，但随着 GV 值从 100 V 到 250 V 变化，CUR、DMC 和 BDMC 的信号强度下降；当 GV 值为 100 V 时，响应强度达到最大 (图 1-B)。DART 陶瓷绝缘帽中的格栅电离源由许多分布均匀的圆形金属薄片组成。格栅具有多种功能，如用作离子排斥器，去除相反极性的离子，从而防止离子键合造成的信号损失。在后续实验中，GV 值被设置为 100 V。

3.3 进样速度优化

进样器是商用 DART 电离源的一部分，它允许玻璃尖端以 0.2~1.0 mm/s 的控制速度通过电离区。实验研究了在 0.2~0.6 mm/s 的速率下，进样速度对 CUR、DMC 和 BDMC 响应的影响，如图 1-C 所示。当轨道速度为 0.2 mm/s 时，信号强度最高，随着进样速度的增加，信号强度逐渐降低。这是因为进样速度越慢，分析物分子与碰撞气体接触的可能性就越大，从而产生更好的电离效果和更好的信号强度。根据结果选择速度为 0.2 mm/s 进行进一步分析。

3.4 提取溶剂的优化

研究不同溶剂对检测信号强度的影响。采用

20%~80% 的丙酮、乙腈、甲醇水溶液作为提取溶剂，结果发现，无论何种浓度，采用丙酮作为提取溶剂的检测组信号强度都优于乙腈、甲醇 (图 1-D)。其中，采用 60% 丙酮水溶液作为提取的试验组，信号强度最大。因此，本实验采用 60% 丙酮水溶液作为提取溶剂。

3.5 3 种姜黄素类化合物在 DART-MS 和 UPLC-ESI-MS 中的表征

CUR、DMC 和 BDMC 标准溶液的负离子模式比正离子模式具有更好的电离效率和信号强度，因此，所有后续分析均在负离子模式下进行监测。DART-MS/MS 和 UPLC-ESI-MS/MS 中 CUR、DMC 和 BDMC 的全扫描光谱如图 2 所示。采用 DART-MS/MS 的 MRM 模式进行定性分析： m/z 366.9→148.8 为 CUR (图 2-A)， m/z 336.5→118.8 为 DMC (图 2-B)， m/z 306.7→118.9 为 BDMC (图 2-C)。采用 UPLC-ESI-MS 检测结果为： m/z 366.8→216.8 为 CUR (图 2-D)， m/z 336.7→118.9 为 DMC (图 2-E)， m/z 306.8→186.8 为 BDMC (图 2-F)。参考文献报道^[19]，推测其可能的裂解途径见图 2-G。

3.6 方法学验证

3.6.1 标准曲线的建立、检测限和定量限的测定
姜黄素类化合物的检测限 (limit of detection, LOD)

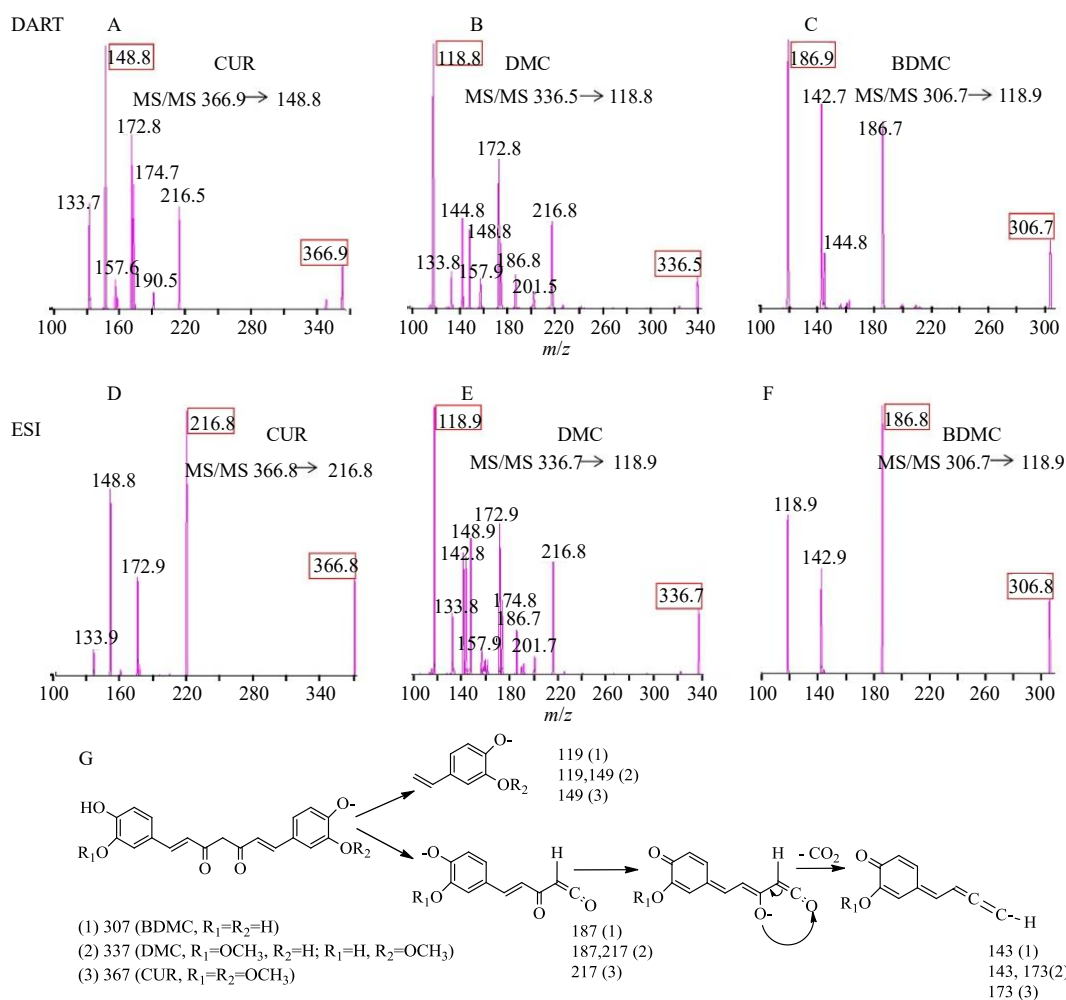


图 2 3 种姜黄素类化合物在 DART-MS (A~C) 和 UPLC-ESI-MS (D~F) 中的结构表征及裂解规律 (G)

Fig. 2 Characterization of three curcuminoids in DART-MS (A—C) and UPLC-ESI-MS (D—F) and fragmentation patterns (G)

和定量限 (limit of quantification, LOQ) 分别以 3 : 1 和 10 : 1 的信噪比 (S/N) 定义。通过绘制峰面积 (y) 与质量浓度 (x) 之间的关系来构建六点校准曲线。使用 R^2 评估了该分析方法的线性关系。在 DART-MS 中, 3 种姜黄素类化合物的标准曲线均呈

良好的线性关系 ($R^2 > 0.99$)。CUR、DMC、BDMC 的 LOD 分别为 0.08、0.10、0.07 ng/mL, 其 LOQ 分别为 0.22、0.34、0.19 ng/mL, 表明该方法具有较高的灵敏度, 如表 1 所示。在 UPLC-ESI-MS 中, 姜黄素类化合物的标准曲线同样具有良好的线性关系

表 1 姜黄素类化合物的线性方程、LOD 和 LOQ

Table 1 Linear equation, LOD and LOQ of curcuminoids

方法	分析物	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	线性方程	线性范围 ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	R^2	LOD/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOQ/ ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
DART-MS	CUR	366.9	148.8	$y = 69\,531.404\,5x - 49\,552.225\,0$	463~14\,813	0.996\,5	0.08	0.22
	DMC	336.5	118.8	$y = 90\,802.941\,1x - 46\,264.787\,6$	315.8~10\,100	0.995\,6	0.10	0.34
	BDMC	306.7	118.9	$y = 111\,064.455\,9x - 58\,746.580\,5$	315~10\,075	0.994\,9	0.07	0.19
UPLC-ESI-MS	CUR	366.8	216.8	$y = 642.587\,6x + 79\,881.328\,4$	463~14\,813	0.999\,6	0.05	0.11
	DMC	336.7	118.9	$y = 1\,170.297\,2x + 71\,378.592\,1$	315.8~10\,100	0.999\,5	0.07	0.25
	BDMC	306.8	186.8	$y = 1\,503.282\,8x + 134\,441.530\,2$	315~10\,075	0.999\,4	0.06	0.21

($R^2 > 0.99$)。CUR、DMC、BDMC 的 LOD 分别为 0.05、0.07、0.06 ng/mL, 其定量限分别为 0.11、0.25、0.21 ng/mL, 表明该方法具有较高的灵敏度。

3.6.2 精密度试验 1 d 内使用相同的标准溶液重复测量 6 次, 以确定日内精密度。CUR、DMC 和 BDMC 浓度的 RSD 分别为 1.25%、0.86% 和 1.22%; 连续 3 d 对同一样品溶液进行日间精密度测定, RSD 分别为 1.50%、1.21% 和 1.71%, RSD 均小于 5%, 表明该方法具有良好的精密度。对 UPLC-ESI-MS 方法测试结果进行计算得出, 其日间测量 3 种不同姜黄素化合物浓度的 RSD 为 1.18%~2.34%, 日内测量的 RSD 为 1.25%~2.73%, 也同样小于 5%, 表明具有良好的精密度。

3.6.3 稳定性试验 按“2.1”项下方法制备姜黄药材样品溶液, 在室温下 0、4、8、12、18、24 和 48 h 内分别测定, DART-MS 法和 UPLC-ESI-MS 法测定 RSD 均小于 2.06%, 说明该分析样品在 48 h 内相对稳定。

3.6.4 重复性试验 按“2.1”项下方法制备姜黄药材样品溶液 5 份, 按上述条件测定 3 个化合物的质量分数, 计算其 RSD 并以之作为评价测定方法重复性的标准, 结果显示, DART-MS 方法中 CUR、DMC、BDMC 3 个化合物的 RSD 分别为 0.84%、1.05%、0.73%, UPLC-ESI-MS 中, RSD 则分别为 1.89%、0.94%、1.63%。结果表明, 这 2 种方法的重复性良好。

3.6.5 加样回收率试验 向已测定的姜黄样品中加入一定质量的对照品, 然后进行提取和分析, 分别重复测定 3 次, 按照公式[回收率=(加标样品测得量-样品测得量)/加标量], 计算平均加样回收率。计算出 3 种分析物平均回收率, DART-MS 法测得 3 种供试品平均回收率分别为 100.61%、101.75%、100.78%。RSD 分别为 1.38%、1.90%、1.57%, UPLC-MS 的平均回收率结果分别为 101.19%、101.51%、100.99%, RSD 分别为 2.65%、1.11%、2.73%。结果表明此 2 种方法的准确度良好。

3.7 DART-MS 与 UPLC-ESI-MS 对姜黄属中药中姜黄素类化合物定量检测结果的比较

为评价 DART-MS 法测定姜黄、黄丝郁金、蓬莪术中姜黄素类化合物含量的可行性, 将 DART-MS 外标法测定结果与 UPLC-ESI-MS 法测定结果进行比较。采用优化后的 DART-MS 参数进行测定, 首先利用 BDMC、CUR、DMC 的对照品绘制出 3 种不同姜黄素类成分的标准曲线, 在图 3-A1、A2、A3

中可见, CUR (质量浓度范围 0.463、0.926、1.852、3.703、7.406、14.813 $\mu\text{g/mL}$)、DMC (质量浓度范围 0.315、0.631、1.263、2.525、5.05、10.1 $\mu\text{g/mL}$) 及 BDMC (质量浓度范围 0.315、0.629、1.259、2.519、5.038、10.075 $\mu\text{g/mL}$) 3 种对照品的标准曲线呈现良好线性关系; 此外, 在图 3-B1、B2、B3 中, 对目标中药进行 2 次平行检测, 检测结果取平均值, 为进一步验证检测方法的适用性, 本研究增加了以中药姜黄为原料制备的 3 种不同姜黄制品, 将其作为检测样本, 采用本研究建立的 DART-MS 法进行姜黄素类成分的含量测定, 结果如图 3 所示。样品中不同姜黄素类化合物的 DART-MS 和 UPLC-ESI-MS 测定结果见表 2, CUR、BDMC、DMC 的测定结果均无显著差异。

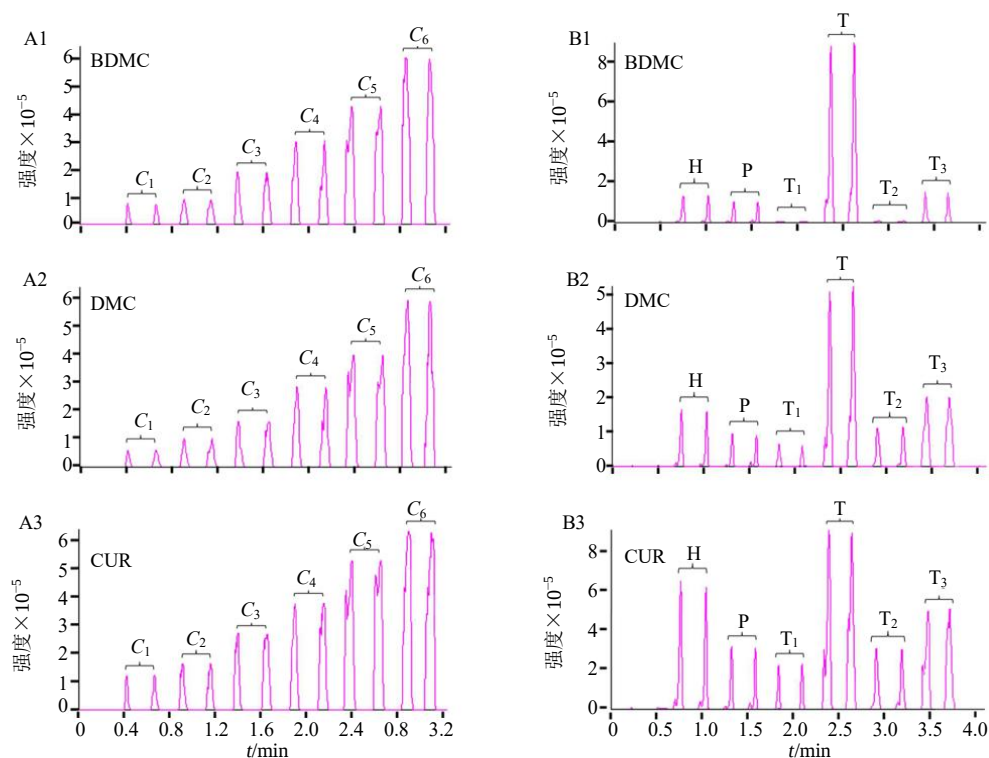
3.8 基质效应

样品中的目标分析组分除外, 其他组分在离子化过程产生的对目标组分产生离子增强或抑制的效应叫做基质效应, 会对定量检测结果造成影响, 因此实验中采用标准曲线法对基质效应进行了计算。本研究采用近似空白的基质, 即采用样品提取液直接溶解 CUR、BDMC、DMC 的对照品, 然后再使用样品提取液进行连续稀释。

在 DART-MS 条件下, 6 种不同样品的基质效应范围处于-61.3%~18.6%, 在 UPLC-ESI-MS 条件下, 其基质效应范围为-54.6%~16.3%。结果表明, 尽管前者没有经过色谱分离, 但是样品在 DART-MS 条件下的基质效应明显低于 UPLC-ESI-MS 条件下, 其原因可能是 DART 电离源使用气态等离子体在环境气氛下对样品微滴充电^[23], 而不是像 UPLC-ESI-MS 那样用电喷雾电荷探测样品。此外, 姜黄药材在 2 种条件下的基质效应均为正值, 这表明姜黄药材可能受到基质离子化的抑制。

4 讨论

DART-MS 在负离子模式下通过外标法可以测定含姜黄素类化合物的中药材中的 CUR、DMC 和 BDMC 的含量。实验还通过优化 DART 离子源的操作参数来获得最佳的检测灵敏度。采用 DART-MS 方法测定的中药中 CUR、DMC 和 BDMC 的含量与传统 UPLC-ESI-MS 方法的测定结果一致。与传统 UPLC-ESI-MS 方法相比, DART-MS 方法具有以下优势: (1) DART-MS 用于分析相对分子质量小于 1 000 的分子, 样品制备简单, 不需要复杂的衍生化, 其质谱图中不会出现碱金属的加合峰, 简化了



A1~A3 分别为 BDMC、DMC、CUR 的 MRM 色谱图, B1~B3 分别为不同样品中 BDMC、DMC、CUR 含量测定; H-黄丝郁金; T-姜黄; P-蓬莪术; T₁-姜黄制品 1; T₂-姜黄制品 2; T₃-姜黄制品 3; C₁~C₆ 为标准曲线的 6 个工作浓度。
A1—A3 represents the MRM chromatograms of BDMC, DMC and CUR, B1—B3 is the determination of BDMC, DMC and CUR content in different samples. H-*C. aromatica*; T-*C. longa*; P-*C. phaeocaulis*; T₁-turmeric products 1; T₂- turmeric products 2; T₃-turmeric products 3; C₁—C₆ are six working concentrations of the standard curve.

图 3 DART-MS 法测定姜黄属中药样品中 3 种姜黄素类成分的含量

Fig. 3 Content of three types of curcumin in traditional Chinese medicine samples determined by DART-MS

表 2 DART-MS 和 UPLC-ESI-MS 检测的中药中姜黄素类化合物含量

Table 2 Curcuminoids content in traditional Chinese medicine samples determined by DART-MS and UPLC-ESI-MS

样品	DART-MS/(mg·g ⁻¹)				UPLC-ESI-MS/(mg·g ⁻¹)			
	CUR	DMC	BDMC	总计	CUR	DMC	BDMC	总计
黄丝郁金	1.53±0.13	0.25±0.03	0.08±0.02	1.86±0.18	1.62±0.11	0.23±0.02	0.06±0.02	1.91±0.15
蓬莪术	0.86±0.05	0.14±0.02	0.06±0.01	1.06±0.08	0.77±0.03	0.15±0.02	0.07±0.01	0.99±0.06
姜黄	58.96±0.12	12.57±0.13	7.61±0.11	79.14±0.36	61.31±0.14	13.52±0.09	8.02±0.15	82.85±0.38

未知化合物的质谱图。(2) DART-MS 定量测定 CUR、DMC 和 BDMC, 而不需要色谱分离, 有效地减少了检测时间, 减少了质谱分析中污染。用 DART-MS 方法对 6 个样品中的 3 个组分进行了分析, 分析时间约为 3 min, 可以实现实时定性分析。(3) 测量过程中不需要其他溶剂, 降低了实验成本, 是一种环保型的实验方法。但其在实际应用中也存在一些局限性, 首先, DART-MS 在检测时环境因素对其干扰较大, 中药有效成分容易疏漏; 其次, 由于易受基质效应的影响, 对化学成分进行定量分析

时, 需要优化离子源条件等。
综上, 通过优化提取溶剂、提取时间、离子源温度和进样速率等参数, 首次建立了一套采用 DART-MS/MS 的定量方法对 3 种姜黄属药材中的姜黄素类化合物进行测定, 并对建立的方法进行精密度、稳定性、重复性、灵敏度等方面的评估。实验结果表明该方法具有简便、高效、准确的特点, 能够有效用于姜黄素类化合物的定量分析, 并具有成为姜黄药材快速质量评价方法的应用潜力。并有潜力成为一种快速评价姜黄药材质量的分析方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 仇瑜, 张洪兵, 郭虹, 等. 姜黄的研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4700-4710.
- [2] 郭玉勤, 舒洪珍, 谯明鸣, 等. 姜黄中 1 个新的裂环没药烷型倍半萜成分 [J]. 中草药, 2021, 52(19): 5814-5818.
- [3] 赵明明. 姜黄素类化合物的功能性研究 [D]. 石家庄: 河北科技大学, 2020.
- [4] Larasati Y A, Yoneda-Kato N, Nakamae I, *et al.* Curcumin targets multiple enzymes involved in the ROS metabolic pathway to suppress tumor cell growth [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2039.
- [5] 王薪淇, 方玉秋, 尚瑞鹏, 等. 姜黄素及其与化疗药物的纳米递药系统协同抗肿瘤作用研究 [J]. 天津中医药, 2024, 41(1): 123-129.
- [6] 黄博. 姜黄对照药材标定技术及质量评价研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [7] Zhang J, Ma X R, Wang W, *et al.* Three new sesquiterpenes from roots of *Curcuma longa* [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(3): 470-474.
- [8] 段雪芹. 姜黄属药用植物姜黄素的提取、含量测定及抗氧化活性研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [9] 孔文茹, 李菲菲, 尤钰琳, 等. HPLC 同时测定姜黄醒酒饮料中 3 种姜黄素含量 [J]. 食品与药品, 2022, 24(6): 523-526.
- [10] 郭芳, 顾哲, 贾训利, 等. 药用植物姜黄的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2022, 50(16): 14-19.
- [11] 周培培. 姜黄中姜黄素类化合物的提取分离研究 [D]. 天津: 天津大学, 2015.
- [12] Antal B, Kuki Á, Nagy L, *et al.* Rapid detection of hazardous chemicals in textiles by direct analysis in real-time mass spectrometry (DART-MS) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(19): 5189-5198.
- [13] 王星宇, 顾文怡, 张方丽, 等. 实时直接分析质谱技术在中药分析中的应用 [J]. 质谱学报, 2023, 44(4): 461-475.
- [14] 胡超, 李璵杰, 毛自欣, 等. HPLC-ESI-MS 法检测香菇中甲基硒代半胱氨酸硒代蛋氨酸硒代半胱氨酸含量 [J]. 农产品加工, 2023(24): 59-62.
- [15] 吴志华, 马丽, 陈剑, 等. 基于 UPLC-ESI-MS/MS 技术黑豆种皮的化学成分分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(1): 111-113.
- [16] 孙磊, 胡晓茹, 金红宇, 等. 实时直接分析-串联质谱法快速分析乳香中多种乳香酸 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1320-1323.
- [17] 潘剑蕾, 王瑞, 张晓鸿, 等. 实时直接分析质谱法在茶叶品质评价中的应用研究进展 [J]. 南方农业, 2023, 17(17): 199-203.
- [18] 姜涛, 杜连云, 朱爽, 等. 实时直接分析电离质谱法快速检测化妆品中的 3 种成分 [J]. 应用化学, 2020, 37(11): 1333-1339.
- [19] 刘芳. 中药姜黄及其制剂的质量控制与体内代谢研究 [D]. 成都: 西华大学, 2019.
- [20] Li W L, Wu X Y, Yuan X, *et al.* Rapid evaluation of γ -aminobutyric acid in foodstuffs by direct real-time mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2019, 277: 617-623.
- [21] Osorio-Tobón J F, Carvalho P I N, Barbero G F, *et al.* Fast analysis of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa* L.) by high-performance liquid chromatography using a fused-core column [J]. *Food Chem*, 2016, 200: 167-174.
- [22] 贾帅龙. 基于 LC-MS/MS 技术的姜黄素类化合物系统表征及内源性含羰基甾体激素定性分析 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2021.
- [23] 张佳玲, 霍飞凤, 周志贵, 等. 实时直接分析质谱的原理及应用 [J]. 化学进展, 2012, 24(1): 101-109.

[责任编辑 王文倩]