

肾康注射液中化学成分的上PLC-Q-TOF-MS分析

刘芳¹, 郭丝影², 柴士伟¹, 瞿晶田¹, 李宇¹

1. 天津中医药大学第一附属医院 药学部, 天津 300193

2. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193

摘要: **目的** 建立肾康注射液中的化学成分的高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱仪 (UPLC-Q-TOF-MS) 分析方法。**方法** 采用 Waters Acquity HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量为 0.4 mL/min; 柱温为 40.0 °C; 进样量为 2.00 μL。质谱检测采用正、负离子模式, 电压分别为 3.0、2.9 kV; 离子源温度 120 °C; 脱溶剂气体温度 450 °C; 脱溶剂气体体积流量 900 L/h。**结果** 鉴定出了肾康注射液中 10 个化合物, 分别为没食子酸、芦荟大黄素-8-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、丹参素、原儿茶醛、苯乙醛、芦荟大黄素、毛蕊异黄酮、云杉鞣酚-3'-*O*-葡萄糖苷、白藜芦醇-4'-*O*-葡萄糖苷、大黄素, 并结合文献报道对其药材来源进行了归属。**结论** 建立了一种简单、快速、高效的 UPLC/Q-TOF-MS 方法对肾康注射液中化学成分进行了鉴定, 为阐明肾康注射液的物质基础提供了参考。

关键词: 肾康注射液; 超高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱仪; 芦荟大黄素-8-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷; 云杉鞣酚-3'-*O*-葡萄糖苷; 白藜芦醇-4'-*O*-葡萄糖苷

中图分类号: R286.01 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2017)06-0975-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.06.003

Analysis on chemical constituents in Shenkang Injection by UPLC-Q-TOF-MS

LIU Fang¹, GUO Si-ying², CHAI Shi-wei¹, QU Jing-tian¹, LI Yu¹

1. Department of Pharmacy, First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China

2. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish a method for the analysis on the chemical constituents in Shenkang Injection by UPLC-Q-TOF-MS. **Methods** The method was performed on Waters Acquity HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), and the mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile with gradient elution program. The injection volume was 2.00 μL at the flow rate of 0.4 mL/min. The column temperature was 40.0 °C. Both positive and negative modes were selected for qualitative analysis. The capillary voltages were set at 3.0 and 2.9 kV. The ion source temperature and atomization temperature were 120 and 450 °C. The flow rate of nebulization gas was 900 L/h. **Results** Ten compounds in Shenkang Injection were identified as gallic acid, aloe-emodin-8-*O*-β-*D*-glucopyranoside, salvianic acid, protocatechualdehyde, phenylacetaldehyde, aloe-emodin, calycosin, piceatannol 3'-*O*-β-*D*-glucopyranoside, resveratrol-4'-*O*-β-*D*-glucopyranoside, and emodin, and the source of medicinal materials was assigned according to the literature. **Conclusion** The established method for the determination of the chemical constituents in Shenkang Injection by UPLC-Q-TOF-MS is simple, rapid, and reliable, and provide a reference for clarifying the material basis of Shenkang Injection.

Key words: Shenkang Injection; UPLC-Q-TOF-MS; aloe-emodin-8-*O*-β-*D*-glucopyranoside; 3'-*O*-β-*D*-glucopyranoside; resveratrol-4'-*O*-β-*D*-glucopyranoside

肾康注射液是临床治疗慢性肾功能衰竭常用的中药注射剂^[1], 具有降逆泄浊、益气活血、通腑利湿的功效, 主要适应症为慢性肾功能衰竭证属湿浊血瘀者^[2]。肾康注射液主要由大黄、丹参、红花和

黄芪 4 味中药提取精制而成, 其化学成分复杂, 难以分离和鉴定。目前, 针对大黄、丹参、红花和黄芪化学成分的研究颇多, 而对肾康注射液化学成分的研究还未深入展开^[3], 肾康注射液发挥药理作用

收稿日期: 2017-01-03

作者简介: 刘芳, 工作于天津中医药大学第一附属医院药学部。

的物质基础有待阐释。本研究利用超高效液相色谱和四级杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 联用技术, 根据色谱峰的精确分子质量、二级碎片离子峰以及各峰保留时间, 结合大黄、丹参、红花和黄芪化学成分的相关文献, 对肾康注射液的化学成分进行分析, 并归属其药物来源, 阐释肾康注射液发挥药理作用的物质基础。

1 仪器和材料

Waters Acquity UPLC 系统 (包括四元泵、真空脱气缸、自动进样器等); Waters SYNAPT HDMSQ-TOF-MS 系统; Millipore 超纯水系统。

肾康注射液由西安世纪盛康药业有限公司提供, 规格 20 mL/支, 产品批号 201609052; 乙腈、甲酸 (色谱纯); 甲醇 (分析纯)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

吸取肾康注射液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 以 50% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液, 备用。

2.2 色谱条件

Waters Acquity HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱, 0~5 min, 5%B; 5~10 min, 10%~35%B; 10~15 min, 35%~50%B; 15~20 min, 50%~55%B; 20~30 min, 55%~85%B; 30~33 min, 85%~90%B; 33~35 min, 90%~5%B; 体积流量为 0.4 mL/min; 柱温为 40.0 °C; 进样量为 2.00 μL。

2.3 质谱条件

采用电喷雾离子源 (ESI), 离子源温度 120 °C, 正、负离子模式扫描检测, 质荷比扫描范围为 m/z : 50~1 000; 毛细管电压分别为 3 kV (正离子模式) 和 2.9 kV (负离子模式); 样品锥电压 40 V; 提取锥电压 4 V; 脱溶剂气体温度为 450 °C; 脱溶剂气体体积流量为 900 L/h, 准确质量数用亮氨酸脑啡肽作校正液。数据的采集由 MassLynx V4.1 软件控制。

2.4 成分的鉴定

取供试品溶液注入 UPLC-Q-TOF-MS, 采用负离子模式和正离子模式检测分析, 得到如图 1 所示负离子模式总离子流图, 其中没有可归属的正离子模式扫描信号响应。负离子模式检测分析得到 26 个色谱峰, 通过软件辅助分析, 结合比对文献数据库的方法, 确定了其中 10 个峰及其归属药材, 见表 1。

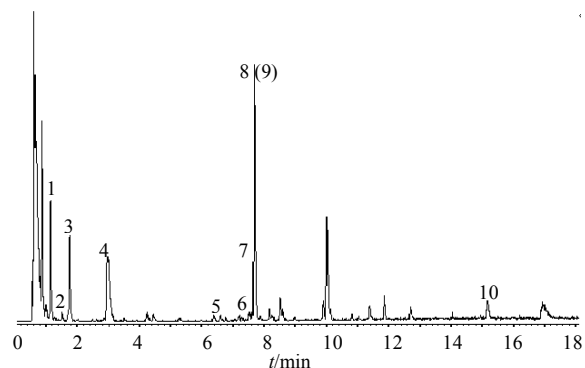


图 1 负离子模式下肾康注射液的 UPLC-Q-TOF-MS 图
Fig. 1 UPLC-Q-TOF-MS chromatogram of Shenkang Injection under negative ion (B) mode

表 1 肾康注射液中化学成分的鉴定结果

Table 1 Identification of chemical constituents of Shenkang Injection

编号	t_R /min	名称	分子式	MS m/z	MS ² 碎片 m/z	成分归属	参考文献
1	1.14	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	169.014 0	169、125	大黄	4
2	1.70	芦荟大黄素-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 0	431、269	大黄	5
3	1.74	丹参素	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.045 5	197、179、135、123、73	丹参	6
4	2.97	原儿茶醛	C ₇ H ₆ O ₃	137.023 7	137、108、92	丹参	6
5	6.33	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	119.049 4	119、97、89	红花	7
6	7.52	芦荟大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 8	269、201、146、113	大黄	8
7	7.56	毛蕊异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.059 8	283、269、236、146、116、96	黄芪	9
8	7.61	云杉鞣酚-3'-O-葡萄糖苷	C ₂₀ H ₂₂ O ₉	405.117 9	405、283、243、201、147、112、341、373	大黄	10
9	7.61	白藜芦醇-4'-O-葡萄糖苷	C ₂₀ H ₂₂ O ₉	405.117 9	405、283、243、191、116、326	大黄	11
10	15.17	大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.044 4	269、201、116、112	大黄	8

3 讨论

目前肾康注射液的相关研究多集中在其临床疗效和药理作用方面,其相关化学成分的研究多集中在其蒽醌类成分^[3, 12]。UPLC-Q-TOF-MS 是一种综合分析技术,其操作简单便利,分离度高,检测信号反应灵敏,便于准确的鉴别各个成分。故本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 对肾康注射液中的化学成分进行分析。肾康注射液由大黄、丹参、红花和黄芪组成,通过查阅文献发现,大黄多用负离子模式分析,而红花、丹参和黄芪则正负离子模式分析均有。为了对肾康注射液做全面的成分分析,避免错漏重要成分,本文对肾康注射液既进行了负离子模式分析,又进行了正离子模式分析,结果显示肾康注射液的色谱峰主要集中在负离子模式下,正离子模式扫描模式下,没有出现信号响应。

综上所述,本研究应用 UPLC-Q-TOF-MS 对肾康注射液中的化学成分进行了的鉴定及归属,为进一步阐明肾康注射液的药效物质基础提供了有力证据。

参考文献

- [1] 邓金华, 张奉莲, 王定勇, 等. 肾康注射液治疗慢性肾衰竭的 Meta 分析 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(5): 595-599.
- [2] 楚加元. 肾康注射液药理及临床研究进展综述 [J]. 现代中药研究与实践, 2014, 28(2): 76-78.
- [3] 徐守竹, 谢艳华, 张晓卫, 等. RP-HPLC 法同时测定肾康注射液中 5 种蒽醌类成分 [J]. 中成药, 2013, 35(1): 90-93.
- [4] 蒋海强, 容 蓉, 吕青涛. 大黄化学成分的液相色谱-质谱联用鉴别 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(7): 1705-1706.
- [5] 李军林, 王爱芹, 李家实, 等. 河套大黄的蒽醌类成分研究 [J]. 中草药, 2000, 31(5): 321-324.
- [6] 董 昕, 徐 立, 娄子洋. 丹参药材中水溶性及脂溶性成分的电喷雾离子阱质谱研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(14): 1048-1054.
- [7] Yang Z, Yang J, Jia Y, *et al.* Pharmacokinetic properties of hydroxysafflor yellow A in healthy Chinese female volunteers [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 124(3): 635-638.
- [8] 马小红, 沈少林, 韩凤梅, 等. 大黄蒽醌类化合物电喷雾质谱研究 [J]. 湖北大学学报: 自然科学版, 2006, 28(4): 403-406.
- [9] 芮 雯, 冯毅凡, 石忠峰, 等. 不同产地黄芪药材的 UPLC/Q-TOF-MS 指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 607-611, 642.
- [10] ZHENG Q X, WU H F, GUO J, *et al.* Review of rhubarbs: chemistry and pharmacology [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(1): 9-32.
- [11] 王春霖. 大黄的研究进展 [J]. 甘肃科技, 2013, 29(14): 147-149.
- [12] 万 丽, 刘友平, 李明权. 肾康注射液中蒽醌类成分含量测定 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(4): 244-245.