

基于UPLC-Q-TOF/MS的渴络欣胶囊化学成分研究

刘彦玲, 刘传鑫, 田悦, 陈亚红, 张晨宁, 孙璐, 李正坤, 张丛, 王强, 王铭爽, 何涛, 王文鑫, 袁付丽, 黄建梅*

北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

摘要: **目的** 采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对中药复方渴络欣胶囊中的化学成分进行研究。**方法** 采用ACQUITY UPLC HSS T3 C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 以甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱, 体积流量为0.3 mL/min; 采用ESI源在正、负离子模式下分别采集数据。根据化合物精确相对分子质量及二级碎片离子信息, 结合参考文献数据, 鉴定渴络欣胶囊的主要化学成分。**结果** 从渴络欣胶囊中分离和鉴定出54个化学成分, 包括蒽醌类化合物10个、黄酮类化合物10个、萜类化合物7个、酚类化合物16个等。**结论** 首次采用UPLC-Q-TOF/MS联用技术研究渴络欣胶囊中化学成分, 进一步明确了其物质基础。

关键词: 渴络欣胶囊; UPLC-Q-TOF/MS; 黄酮类; 酚类; 萜类

中图分类号: R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2019)04-0622-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.04.004

Analysis of chemical constituents of Ke-Luo-Xin capsules extract by UPLC-Q-TOF-MS

LIU Yanling, LIU Chuanxin, TIAN Yue, CHEN Yahong, ZHANG Chenning, SUN Lu, LI Zhengkun, ZHANG Cong, WANG Qiang, WANG Mingshuang, HE Tao, WANG Wenxin, YUAN Fuli, HUANG Jianmei

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: **Objective** The study aims to qualitatively analyze the chemical composition of Ke-Luo-Xin Capsules extract by using UPLC-Q-TOF-MS. **Methods** The analysis was performed on Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) column. The mobile phase consisted of methanol and 0.1% formic acid-water was used as gradient elution. The flow rate was 0.3 mL·min⁻¹ and column temperature was 35. The mass spectrometry was acquired in both positive and negative ion modes using ESI. The components were identified by the precise mass-to-charge ratio, secondary fragmentation and other information combined with reference substance and literature data. **Results** 54 compounds were identified, including 16 phenols, 10 flavonoids and their glycosides, 7 terpenoids, 10 anthraquinones and so on. **Conclusion** The results provide reference for the study of active constituents and quality control research for Ke-Luo-Xin capsules and lay the foundation for elucidating the active components mechanism.

Key words: Ke-Luo-Xin Capsules; UPLC-Q-TOF-MS; flavonoids; phenols; terpenoid

糖尿病肾病是糖尿病主要微血管并发症之一, 发病率30%~40%, 是近年来逐渐增多的终末期肾病的病因之一^[1-3]。渴络欣胶囊作为国内首个用于糖尿病肾病(微血管病变)治疗的复方中药制剂, 具有益气养阴、活血化瘀的功效, 用于糖尿病肾病气阴两虚兼夹血瘀症^[4]。渴络欣胶囊由黄芪、大黄、枸杞子、水蛭、女贞子、太子参6味中药组成, 其化学成分复杂, 目前对其药效及机制的研究颇为丰富, 对

于其治疗糖尿病肾病的物质基础方面研究较弱^[5-7]。超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术具有高灵敏度、高分辨率和精确相对分子质量测定等优点, 现已广泛应用于中药复杂体系成分的定性鉴别研究^[8]。本实验首次采用UPLC-Q-TOF-MS法, 并结合相关文献和化合物质谱信息, 快速分析鉴定渴络欣胶囊中的化学成分, 并对其行药材归属, 为明确药效物质基础、阐明体内药理

收稿日期: 2018-11-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81774014)

第一作者: 刘彦玲(1994—), 女, 中药分析研究生, 研究方向糖尿病肾病代谢组学。Tel: 18810612286 E-mail: liuyanling@bucm.edu.cn

*通信作者: 黄建梅, 研究方向为中药质量控制及药物代谢研究。Tel: (010)326797 E-mail: hjm70@139.com

作用机制、提升质量控制水平、确保临床用药安全有效等提供研究基础。

1 材料

1.1 主要仪器

Waters-ACQUITY™ I-Class SYNAPT G2-Si MS UPLC-Q-TOF-MS 仪[美国 Waters 公司产品,配有电喷雾离子源(ESI)及 Mass-Lynx 4.1 工作站];电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);KQ-500DV 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药物及主要试剂

色谱级甲醇、质谱级甲酸(美国 ROE 公司);渴络欣胶囊(成都康弘制药有限公司,产品批号 1712003);色谱用水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

精密称取渴络欣胶囊 0.5 g,加入 10 mL 甲醇超声提取 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL,用甲

醇稀释 10 倍后,过 0.22 μm 的微孔滤膜即得。

2.2 色谱条件

ACQUITY UPLC HSS T3 C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-甲醇(B),柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,体积流量 0.3 mL/min,进样量 1 μL 。洗脱程序 0~15 min, 98%A~2%A; 15.0~16.5 min, 2%A~98%A; 16.5~18.0 min, 98%A。

2.3 质谱条件

ESI 正负离子两种模式扫描;毛细管电压和锥孔电压分别为 3 kV、40 V;离子源温度 100 $^{\circ}\text{C}$;锥孔气体积流量 50 L/h;去溶剂气温度 400 $^{\circ}\text{C}$;去溶剂气体积流量 800 L/h,采集不校正。低能量扫描 trap 电压为 6 V,高能量扫描 trap 电压为 10~65 V,扫描范围为 50~1 500 Da。

2.4 UPLC-Q-TOF/MS 成分鉴定

考虑到渴络欣胶囊中复杂的化学成分,采用正、负两种电离模式对渴络欣胶囊中的成分进行全扫描,以期鉴定出尽可能多化学成分。基峰色谱图(BPI)见图 1。

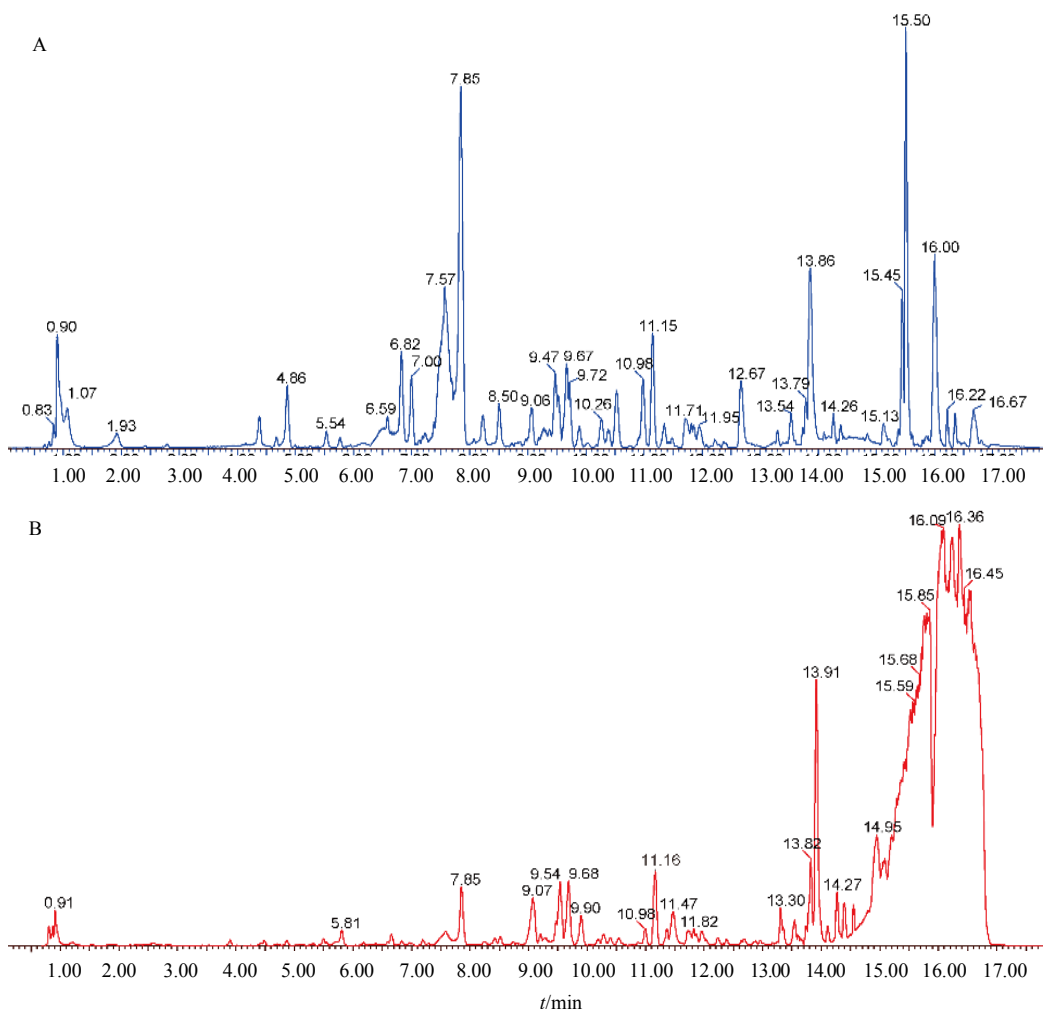


图1 UPLC-Q-TOF/MS ESI 模式(A)和 ESI⁺模式(B)下渴络欣胶囊的 BPI 图

Fig. 1 The BPI chromatograms with negative (A) and positive (B) ion mode for KLX capsules extracting solution by UPLC-Q-TOF/MS

2.5 渴络欣胶囊化学成分分析

通过UPLC-Q-TOF/MS检测得到渴络欣胶囊化
学成分的保留时间和质谱信息,再根据质谱准分子

离子峰、碎片离子等信息,并结合相关文献数据比
对进行化学成分确认,鉴定出54种成分,结果见
表1、2。

表1 渴络欣胶囊UPLC-Q-TOF/MS化学成分鉴定(ESI⁻模式)Table 1 Identification of chemical constituents of KLX capsules by UPLC-ESI-Q-TOF-MS (ESI⁻)

编号	保留时 间/min	[M-H] ⁻ m/z		误差/ (×10 ⁻⁶)	分子式	特征碎片离子	化合物鉴定结果	来源
		实测值	理论值					
1	7.041	477.144 1	477.140 2	8.17	C ₂₃ H ₂₅ O ₁₁	313.056 9	莲花掌素	大黄 ^[9]
2	7.420	555.156 1	555.150 8	9.55	C ₂₈ H ₂₇ O ₁₂	255.063 2, 227.073 1	去甲氧基桥联蛋白-6"-O-没食子 酸盐	大黄 ^[9]
3	8.220	445.079 6	445.077 1	5.62	C ₂₁ H ₁₇ O ₁₁	283.022 1, 239.032 7	大黄素-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	大黄 ^[9]
4	8.820	861.187 7	861.188 4	-0.81	C ₄₂ H ₃₇ O ₂₀	386.096 9, 224.048 7	番泻苷B	大黄 ^[9]
5	9.330	487.083 2	487.087 7	-9.24	C ₂₃ H ₁₉ O ₁₂	283.022 1, 239.032 7	大黄酸衍生物	大黄 ^[9]
6	9.363	431.096 9	431.098 4	-3.48	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀	269.041 8, 240.041 8	芦荟大黄素-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	大黄 ^[9]
7	9.720	623.179	623.177 0	3.21	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₃	459.088 8	4-(4'-羟基苯基)-2-丁酮-4'-O-β- D-(2'-O-没食子酸-6'-O- pcoumaroyl)-吡喃葡萄糖苷	大黄 ^[9]
8	10.39	415.099 9	415.103 5	-8.67	C ₂₁ H ₁₉ O ₉	225.057 1, 253.053 8	大黄酚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	大黄 ^[9]
9	10.54	431.096 9	431.098 4	-3.48	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀	269.041 8, 268.039 3	芦荟大黄素-3-CH ₂ -O-β-D-葡萄糖苷	大黄 ^[9]
10	10.87	473.106 0	473.108 9	-6.13	C ₂₃ H ₂₁ O ₁₁	269.041 8, 225.057 1	大黄素-8-O-(6'-O-乙酰基)-吡喃 葡萄糖	大黄 ^[9]
11	10.93	609.198 7	609.197 2	2.46	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₂	443.099 9, 162.995 9	苯基丁酮	大黄 ^[9]
12	10.96	607.188 4	607.182 1	2.64	C ₃₂ H ₃₁ O ₁₂	443.099 9, 169.019 4	4-(4'-羟基苯基)-2-丁酮-40-O-β- D-(2"-O-没食子酸-6"-O-己氨 酰)吡喃葡萄糖苷	大黄 ^[9]
13	11.29	445.116 4	445.114 0	5.39	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₀	283.058 8, 240.040 3	8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	大黄 ^[9]
14	12.58	487.121 7	487.124 6	-5.95	C ₂₄ H ₂₃ O ₁₁	487.121 7	儿茶素衍生物	大黄 ^[9]
15	12.66	283.022 1	283.024 8	-9.54	C ₁₅ H ₇ O ₆	239.032 7	大黄酸	大黄 ^[9]
16	2.950	337.096 0	337.092 9	9.23	C ₁₆ H ₁₇ O ₈	191.016 4	链球菌酸	枸杞 ^[10]
17	2.558	515.122 3	515.119 5	5.44	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	174.955 6	1,5二甲酰奎宁酸	枸杞 ^[10]
18	2.736	169.013 7	169.013 7	0.00	C ₇ H ₆ O ₅	125.027 5	没食子酸	枸杞 ^[11]
19	4.005	153.017 7	153.018 8	-7.19	C ₇ H ₆ O ₄	109.027 5	原儿茶	枸杞 ^[11]
20	5.566	577.138 6	577.136 4	3.81	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	125.022 7, 289.074 3	原花青素B2	枸杞 ^[11]
21	5.267	353.084 9	353.087 3	-6.80	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.052 7	绿原酸	枸杞 ^[11]
22	7.256	193.050 9	193.050 1	4.14	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	134.037 0	阿魏酸	枸杞 ^[11]
23	7.227	121.029 4	121.029 0	3.30	C ₇ H ₆ O ₂	121.029 4	苯甲酸	枸杞 ^[11]
24	11.512	285.039 9	285.039 7	0.70	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	255.059 5, 151.008 3	山柰酚	枸杞 ^[11]
25	8.147	137.022 8	137.023 9	-8.03	C ₇ H ₆ O ₃	137.022 8	水杨酸	枸杞 ^[11]
26	10.236	299.054 1	299.055 6	-5.02	C ₁₆ H ₁₁ O ₆	284.030 0, 268.075 1, 239.999 7	单羟基化毛蕊花素	黄芪 ^[12]
27	8.718	475.122 9	475.124 0	-2.32	C ₂₃ H ₂₅ O ₁₁	113.0236, 284.03, 299.046 6	(6aR, 11aR)-3-3-羟基-9, 10-二甲 氧基-紫檀素-3-O-葡糖醛酸	黄芪 ^[12]
28	11.141	267.067 4	267.065 7	6.37	C ₁₆ H ₁₁ O ₄	135.457 1, 195.047 3, 252.040 0, 223.036 2	芒柄花素	黄芪 ^[13]
29	0.932	341.111 0	341.108 9	6.16	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	179.053 7	二糖	黄芪 ^[13]
30	1.246	503.163 4	503.162 1	2.58	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	161.043 8	棉子糖	黄芪 ^[13]
31	4.047	153.017 7	153.019 0	-8.50	C ₇ H ₆ O ₄	109.027 5	原儿茶酸	黄芪 ^[13]

续表1

编号	保留时间/min	[M-H] m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	分子式	特征碎片离子	化合物鉴定结果	来源
		实测值	理论值					
32	5.823	193.050 9	193.050 1	4.14	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	178.026 2, 149.060 2 134.037 0	异阿魏酸	黄芪 ^[13]
33	6.686	193.050 9	193.050 1	4.14	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	178.026 2, 149.066 5, 134.037 1	阿魏酸	黄芪 ^[13]
34	3.927	153.055 5	153.055 7	-1.31	C ₈ H ₁₀ O ₃	123.047	羟基酯醇	女贞子 ^[14]
35	3.941	315.108 9	315.108 5	1.27	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	153.055 5, 123.047	羟基酯醇葡萄糖苷	女贞子 ^[14]
36	7.905	447.091 3	447.093 3	-4.47	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285.039 7, 284.032 3	木犀草素-7-O-葡萄糖苷	女贞子 ^[14]
37	8.368	577.159 6	577.156 3	5.72	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	311.057 8, 269.041 8	芹菜素-7-O-芸香糖苷	女贞子 ^[14]
38	10.507	431.096 9	431.098 4	-3.48	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	269.041 8, 268.039 3	芹菜素-7-O-葡萄糖苷	女贞子 ^[14]
39	3.941	389.107 6	389.108 9	-3.34	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	345.117 2, 209.044 1, 183.063 3, 121.067 9	四乙酰开联番木鳖苷	女贞子 ^[14]
40	7.876	685.231 1	685.234 9	-5.55	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇	523.186 2, 453.135 3, 421.148 6, 299.114 6	特女贞苷	女贞子 ^[14]
41	15.326	617.389 8	617.384 8	8.10	C ₃₉ H ₅₄ O ₆	145.023	3β-O-反式-P-香豆素酸	女贞子 ^[14]
42	15.391	513.358 6	513.358 6	0.00	C ₃₂ H ₅₀ O ₅	495.349 7, 453.339 0	19α-羟基-3-乙酰熊果酸	女贞子 ^[14]
43	4.64	299.114 6	299.113 1	5.01	C ₁₄ H ₁₉ O ₇	119.033 2, 299.114 6	红景天苷	女贞子 ^[15]
44	4.369	433.095 1	433.098 2	-7.16	C ₁₇ H ₂₁ O ₁₃	401.075 0, 389.107 6, 221.011 4, 209.044 1	10-羟基硫苷	女贞子 ^[15]
45	7.413	555.172 3	555.171 4	1.62	C ₂₅ H ₃₁ O ₁₄	555, 537, 523, 393, 375, 361, 343, 307, 239	10-羟基促红霉素异构体	女贞子 ^[15]
46	7.769	553.156 1	553.155 7	0.72	C ₂₅ H ₂₉ O ₁₄	553, 509, 477, 391, 347	川芎嗪酸	女贞子 ^[15]
47	8.55	539.177 1	539.176 5	1.11	C ₂₅ H ₃₁ O ₁₃	539, 377, 345, 327, 307	橄榄苦苷	女贞子 ^[15]

表2 渴络欣胶囊化学成分分析(ESI⁺模式)

Table 2 Identification of chemical constituents of KLX capsules by UPLC-ESI-Q-TOF-MS(ESI⁺)

编号	保留时间/min	[M+H] (m/z)		误差/ ($\times 10^{-6}$)	分子式	特征碎片	化合物鉴定结果	来源
		实测值	理论值					
1	7.19	447.129 4	447.129 1	0.67	C ₂₂ H ₂₃ O ₁₀	285.073 9, 270.055 9, 253.042 8, 137.056 9, 225.076 1, 229.089 1, 429.182 9, 415.172 1	毛蕊-7-O-β-D-葡萄糖	黄芪 ^[12]
2	8.73	431.133 5	431.134 2	-1.62	C ₂₂ H ₂₃ O ₉	269.081 1, 237.100 4, 213.090 6	芒柄花苷	黄芪 ^[12]
3	8.82	301.103 9	301.106 1	-9.96	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	268.136 7, 191.067 7, 178.051 5	(6aR, 11aR)-3-羟基-9, 10-二甲氧基紫檀素	黄芪 ^[16]
4	9.35	303.122 3	303.123 2	-2.97	C ₁₇ H ₁₉ O ₅	167.070 7, 152.047 7, 133.028 9	7, 2'-二羟基-3', 4'- 二甲氧基异戊二烯	黄芪
5	5.78	182.081 9	182.081	4.94	C ₉ H ₁₁ NO ₃	165.051	酪氨酸	黄芪
6	11.83	274.276 4	274.274 5	6.93	C ₁₅ H ₁₅ NO ₄	106.087 2, 256.261 3	甲腺原氨酸	大黄 ^[17]
7	4.38	435.118 2	435.113 9	9.88	C ₁₇ H ₂₃ O ₁₃	273.055 8, 255.046 8, 241.049 2, 223.024 3	二甲基醚	女贞子 ^[15]

2.6 主要类别化合物色谱峰的快速鉴定和归属

2.6.1 蒽醌类化合物的鉴定 蒽醌类化合物主要出现在大黄中,在负离子模式下,一级质谱图中给出 m/z 455.097 6,为准分子离子峰 $[M-H]^-$, $C_{21}H_{17}O_{11}$, 质量偏差为 5.62×10^{-6} ;在二级质谱中,发生裂解依次丢失1分子葡萄糖和 H_2O 分子,产生 $[M-H-Glu]^-$, $C_{15}H_7O_6$, m/z 283.022 1 和 $[M-H-Glu-H_2O]^-$, $C_{14}H_7O_4$, m/z 239.032 7 的特征碎片离子。根据负离子模式下精确分子量和二级质谱碎片信息,鉴定化

合物为大黄素-8-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷,裂解规律见图2。

2.6.2 酚类成分的鉴定 酚类成分主要存在于枸杞和女贞子中,以没食子酸为例,负离子模式下,一级质谱图给出 m/z 169.013 7 的化合物峰,为准分子离子峰 $[M-H]^-$ ($C_7H_6O_5$),质量偏差为0,在二级质谱图中,主要表现为脱水(-18)和脱羧基(-44)的反应,产生 m/z 151.002 9 和 m/z 125.022 7 的特征碎片,裂解规律见图3。

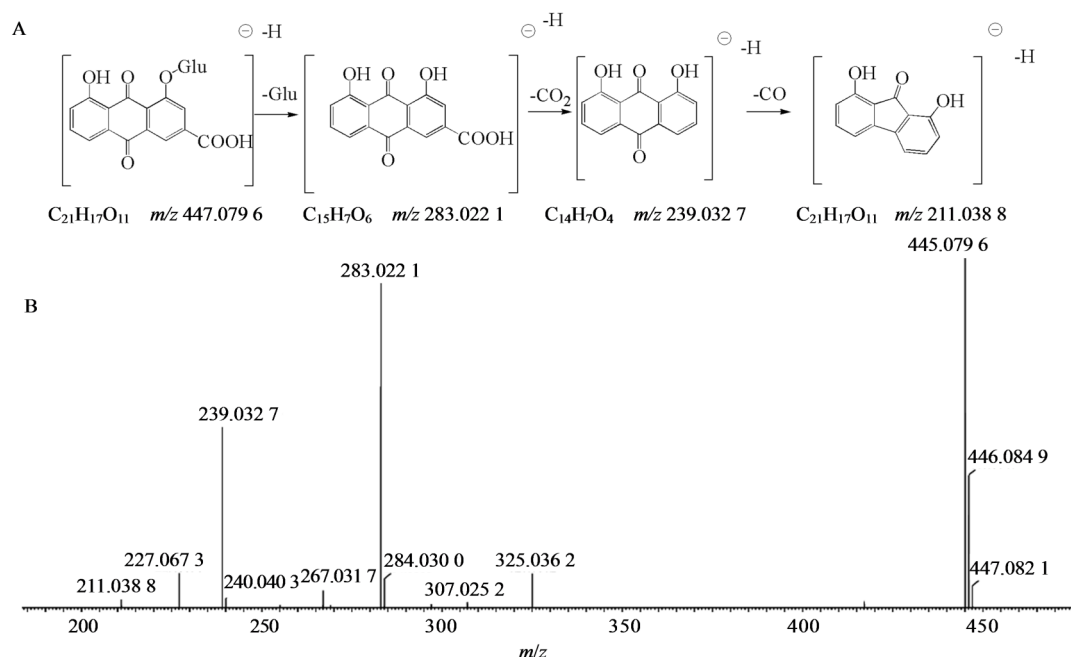


图2 化合物大黄素-8-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷负离子模式下ESI-MS²的结构裂解式(A)和质谱图(B)

Fig. 2 Proposed fragmentation pathways (A) and ESI-MS²(-) spectrum (B) of Rhein-8-*O*- β -D-glucopyranoside

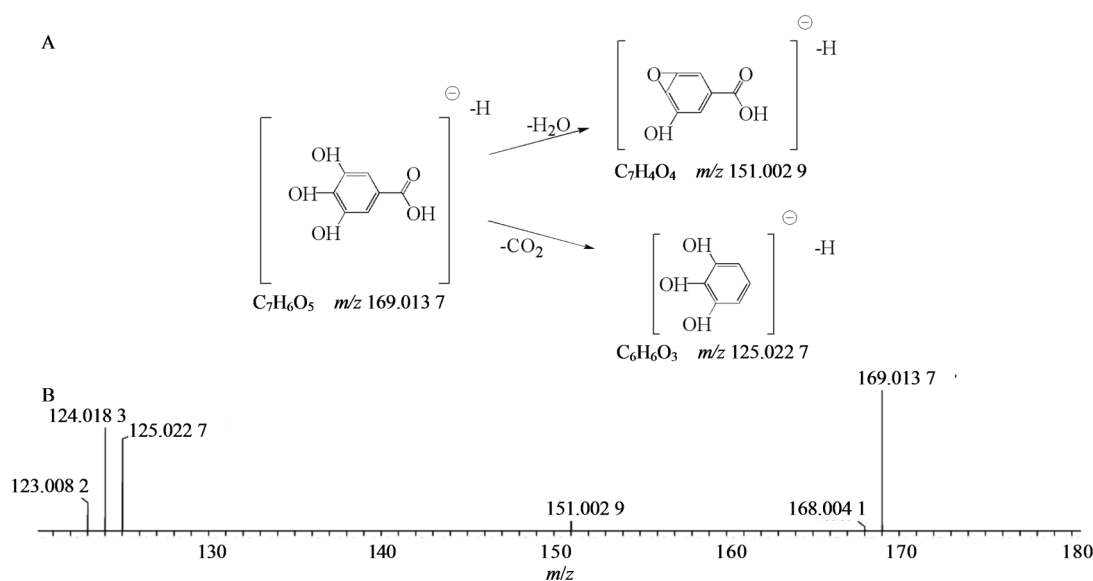


图3 化合物没食子酸负离子模式下ESI-MS²的结构裂解式(A)和质谱图(B)

Fig. 3 Proposed fragmentation pathways (A) and ESI-MS²(-) spectrum (B) of gallic acid

2.6.3 黄酮类化合物的鉴定 黄酮类化合物主要存在于黄芪、女贞子和枸杞中,正离子模式下,一级质谱中给出 m/z 431.1342,准分子离子峰 $[M+H]^+$, $C_{22}H_{23}O_9$,质量偏差为 -1.62×10^{-6} ,二级质谱图中,丢失

一分子葡萄糖,产生 $[M+H-Glu]^+$, m/z 269.0811 的特征碎片,根据正离子模式下精确分子量和二级质谱碎片信息,判定其化合物可能为成分芒柄花苷。见图4。

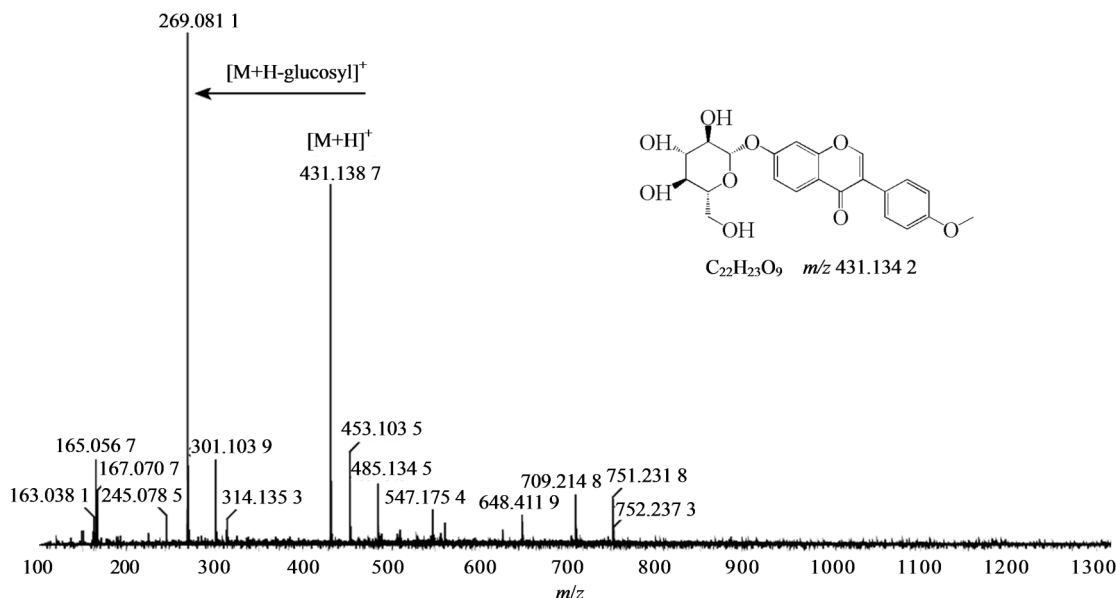


图4 化合物芒柄花苷正离子模式下ESI-MS²的结构裂解式和质谱图

Fig. 4 Proposed fragmentation pathways and ESI-MS²(+) spectrum of ononin

2.6.4 萜类成分 萜类化合物主要存在于女贞子中,例如橄榄苦苷、齐墩果酸、女贞子酸等,在负离子模式,一级质谱图中给出 m/z 685.2311,准分子离子峰 $[M-H]^-$, ($C_{31}H_{41}O_{17}$),依次失去1分子 C_4H_6O 和1分子 CH_3OH ,形成碎片离子 m/z 453.1353, ($C_{27}H_{35}O_{16}$), m/z 421.1486, ($C_{26}H_{31}O_{15}$),根据根据负离子模式下精确分子量和二级质谱碎片信息,判定其化合物可能为特女贞苷。见图5。

2.6.5 其他 复方中一些其他的成分,例如苯丁酮类、木脂素、糖类、鞣质以及氨基酸类成分,在负离子模式下,一级质谱图中给出 m/z 477.1441,为准分子离子峰 $[M-H]^-$, $C_{23}H_{25}O_{11}$,质量偏差为 8.17×10^{-6} ;在二级质谱中,丢失1个中性分子 $C_{10}H_{10}O$ 和1分子 H_2O ,产生 m/z 313.056 的碎片, $[M-H-C_{10}H_{10}O-H_2O]^-$,随后失去1个中性分子 $C_6H_8O_4$ 和1分子 CO_2 ,出现 m/z 169.0137 和 125.0227 的特征碎片离子。根据负离子模式下精确分子量和二级质谱碎片信息,鉴定化合物为异莲花掌苷,裂解规律见图6。

3 讨论

目前已有很多文献对渴络欣胶囊中单味药的化学成分进行研究,但对渴络欣胶囊化学成分的系統研究很少,本研究采用UPLC-Q-TOF/MS技术对渴络欣胶囊提取液通过正负离子两种模式扫描,结

合质谱信息和文献报道,快速鉴定出复方中的化学成分,为渴络欣胶囊治疗糖尿病肾病的物质基础方面研究提供了参考。文献报道,大黄酸和大黄素能够抑制人肾小管上皮细胞增殖,并且大黄酸可以抑制系膜细胞葡萄糖转运体1产生及其功能活性,减少血清转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)的产生,从而下调抗I型转化生长因子 β 受体和抗II型转化生长因子 β 受体的表达,降低肾内TGF- $\beta 1$ 系统活性,延缓糖尿病肾病的发生发展^[18]。黄芪多糖I、II可以增强患者免疫功能和减少炎症反应,从而能改善患者肾功能以达到治疗糖尿病肾病的功效,毛蕊异黄酮通过抑制内皮细胞向肌成纤维细胞转化来实现防治肾脏纤维化,黄芪甲苷能阻断肾内皮质纤维化因子TGF- β 和IV型胶原(Collgen IV)的基因高表达,保护STZ糖尿病大鼠的肾脏功能^[19]。女贞子中所含的齐墩果酸还有助于改善肾内灌注,降低肾小球入球小动脉压力,保护肾单位^[20],枸杞多糖能降低血糖,增加机体对Ins的敏感性,改善周围组织对葡萄糖的利用,降低肾脏醛糖还原酶(AR)活性,减少体内白细胞介素-8(IL-8)的分泌和血清晚期糖基化终产物(AGEs-P)的形成,并有可能影响肾素-血管紧张素系统,改善高血糖引起的早期肾小球高灌注、高滤过状况^[21]。

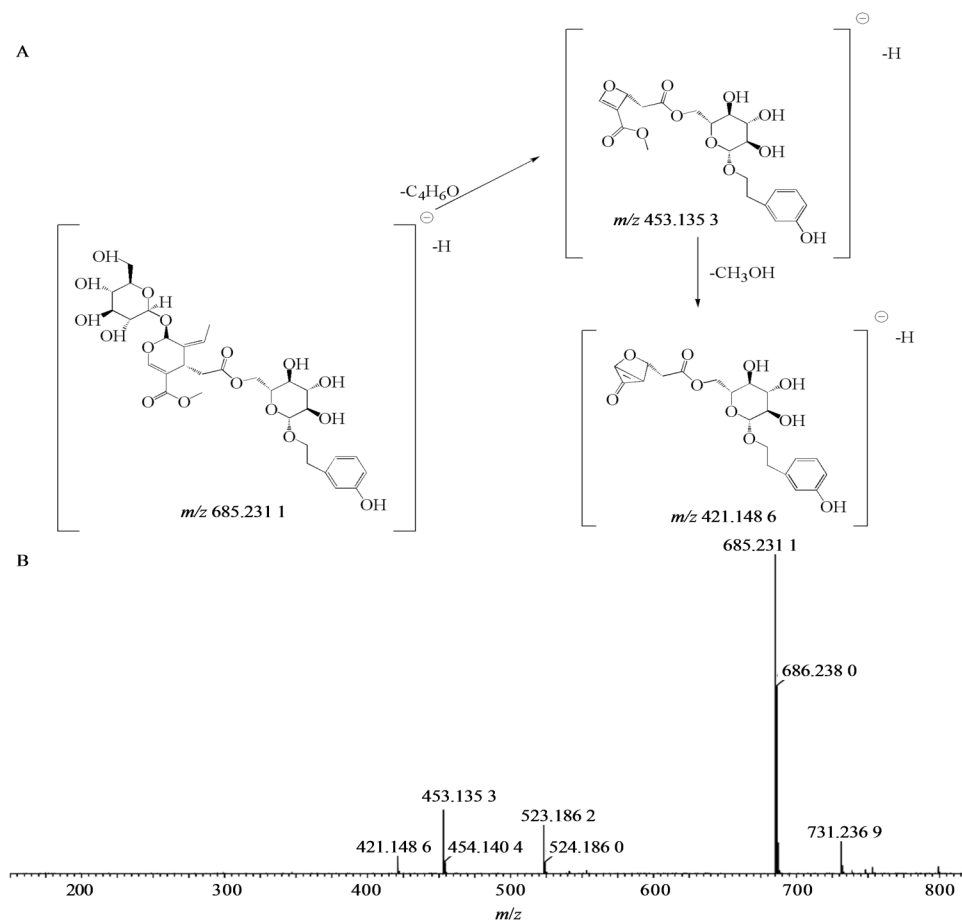


图5 化合物特女贞苷负离子模式下ESI-MS²的结构裂解式(A)和质谱图(B)
Fig. 5 Proposed fragmentation pathways (A) and ESI-MS²(-) spectrum (B) of Specnuezhenide

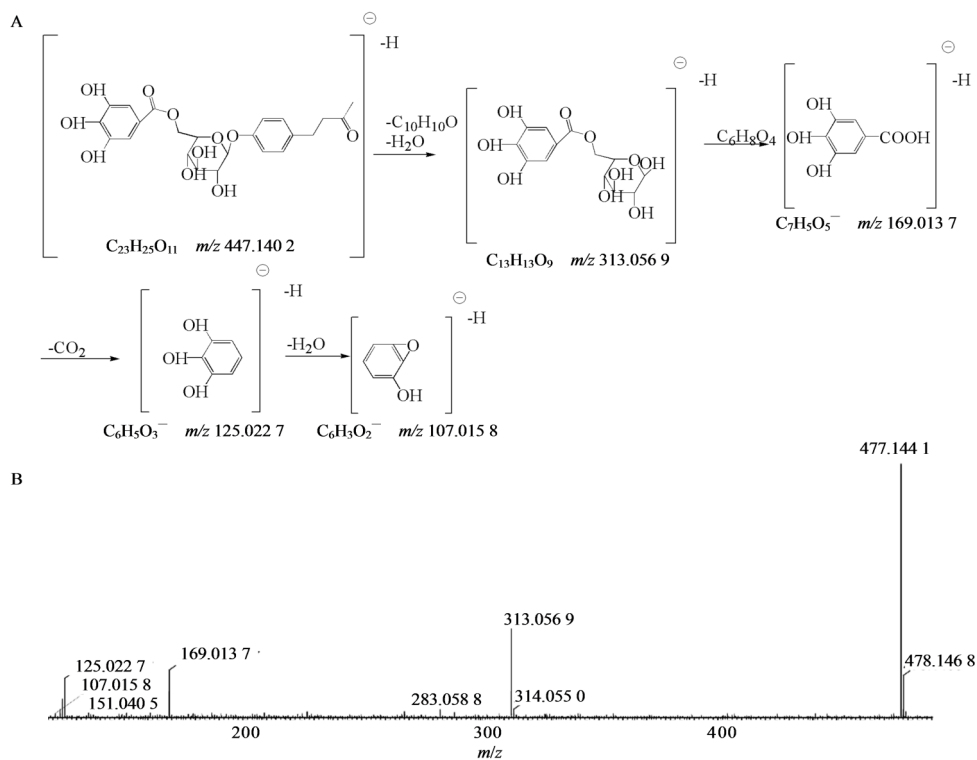


图6 化合物异莲花掌苷负离子模式下ESI-MS²的结构裂解式(A)和质谱图(B)
Fig. 6 ESI-MS²(-) spectrum and Proposed fragmentation pathways of Isolindleyin

本文首次采用UPLC-Q-TOF/MS联用技术对渴络欣胶囊中化学成分进行系统的研究,共分离和鉴定出54个化学成分,包括蒽醌类化合物10个、黄酮类化合物10个、萜类化合物7个、酚类化合物16个等。这为渴络欣胶囊中化学成分的定性分析和质量控制提供了一种高效、快速的分析方法,进一步明确了渴络欣胶囊的物质基础,以其为渴络欣胶囊的药效及代谢研究提供科学依据和方法参考。

参考文献

- [1] Groop P H, Thomas M C, Moran J L, et al. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes [J]. Diabetes, 2009, 58(7): 1651-1658.
- [2] Soldatos G, Cooper M E. Diabetic nephropathy: important pathophysiologic mechanisms [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 82(Suppl 1): S75-S79.
- [3] Tapp R J, Shaw J E, Harper C A, et al. The prevalence of and factors associated with diabetic retinopathy in the Australian population [J]. Diabetes Care, 2003, 26(6): 1731-1737.
- [4] 吴建明, 张志荣, 张鸿程, 等. 渴络欣胶囊的血清药物化学研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(8): 1784-1788.
- [5] 谭洪. 渴络欣减少糖尿病肾病尿微量白蛋白的临床观察 [J]. 中医临床研究, 2013,(4): 12-13.
- [6] 赵豫梅, 吴于滨, 宋滇平. 渴络欣胶囊联合ARB类药物治疗糖尿病肾病有效性及安全性的系统评价 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017,18(7): 610-613.
- [7] 黎国红, 贺嵘, 秦齐齐. 渴络欣胶囊联合替米沙坦治疗2型糖尿病肾病的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(9): 1439-1442.
- [8] 孙宁宁, 张可佳, 耿婉丽, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS的加参片提取物化学成分分析 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 293-304.
- [9] Liu Y, Li L, Xiao Y Q, et al. Global metabolite profiling and diagnostic ion filtering strategy by LC-QTOF MS for rapid identification of raw and processed pieces of *Rheum palmatum* L [J]. Food Chem, 2016, 192: 531-540.
- [10] Mocan A, Moldovan C, Zengin G, et al. UHPLC-QTOF-MS analysis of bioactive constituents from two Romanian Goji (*Lycium barbarum* L.) berries cultivars and their antioxidant, enzyme inhibitory, and real-time cytotoxicological evaluation [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 115: 414-424.
- [11] Zhang G, Chen S S, Zhou W, et al. Rapid qualitative and quantitative analyses of eighteen phenolic compounds from *Lycium ruthenicum* Murray by UPLC-Q-Orbitrap MS and their antioxidant activity [J]. Food Chem, 2018, 269: 150-156.
- [12] Jung J Y, Jung Y, Kim J S, et al. Assessment of peeling of *Astragalus* roots using ¹H NMR - and UPLC-MS-based metabolite profiling [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(43): 10398-10407.
- [13] Liu M H, Li P L, Zeng X, et al. Identification and pharmacokinetics of multiple potential bioactive constituents after oral administration of radix astragali on cyclophosphamide-induced immunosuppression in Balb/c mice [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(3): 5047-5071.
- [14] Li H, Yao W F, Liu Q N, et al. Application of UHPLC-ESI - Q-TOF-MS to identify multiple constituents in processed products of the herbal medicine *ligustri lucidi fructus* [J]. Molecules, 2017, 22(5): E689.
- [15] Song J, Zhao L, Rui W, et al. Identification and fragmentation pattern analysis of iridoid glycosides from *fructus ligustri lucidi* by UPLC/ESI-QTOF-MS [J]. J liq chromatogr R T, 2014, 37(12): 1763-1770.
- [16] Duan Y, Pei K, Cai H, et al. Bioactivity evaluation-based ultra high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and novel distinction of multi-subchemome compatibility recognition strategy with *Astragali Radix-Fructus Corni* herb-pair as a case study [J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 129: 514-534.
- [17] 侯娅, 马阳, 邹立思, 等. 基于UPLC-Triple TOF-MS/MS技术分析不同产地太子参的差异化学成分 [J]. 质谱学报, 2015, 36(4): 359-366.
- [18] 何紫阳, 蓝家荣, 晏子友. 大黄治疗糖尿病肾病的研究近况 [J]. 陕西中医, 2015, 36(4): 503-505.
- [19] Liu G Y, Song J M, Guo Y L, et al. *Astragalus* injection protects cerebral ischemic injury by inhibiting neuronal apoptosis and the expression of JNK₃ after cerebral ischemia reperfusion in rats [J]. Behav Brain Funct, 2013, 9: 36.
- [20] 郭从容, Guo Congrong. 中西医结合治疗糖尿病肾病40例临床观察 [J]. 河南中医学院学报, 2003, 18(3): 54-55.
- [21] Zhao Q, Li J, Yan J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides ameliorates renal injury and inflammatory reaction in alloxan-induced diabetic nephropathy rabbits [J]. Life SCI, 2016, 157: 82-90.