

基于UHPLC-Q-TOF-MS分析茛苳花提取物在H9c2心肌细胞中效应物质

向文英, 梅朝叶, 孙慧园, 覃小丽, 谢玉敏, 巩仔鹏, 郑林, 李月婷, 黄勇*
(贵州医科大学药学院, 贵州省药物制剂重点实验室, 国家苗药工程技术研究中心, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:利用H9c2心肌细胞和UHPLC-Q-TOF-MS技术筛选茛苳花抗心肌缺血作用的活性成分。方法:用心肌细胞选择性地结合茛苳花提取液中的活性成分,洗去未结合的其他成分后,使细胞靶点失活,被结合的活性成分从心肌细胞中释放出来,采用Eclipse Plus C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm),流动相0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~2 min,95%~79% A;2~5 min,79% A;5~6.5 min,79%~60% A;6.5~7.5 min,60%~55% A;7.5~9.5 min,55%~0% A;9.5~10 min,0%~95% A),电喷雾离子源(ESI)正、负离子模式下扫描采集数据,通过采用对照品比对及二级碎片离子对化学成分进行鉴定。结果:检测出茛苳花提取物中可与心肌细胞结合的17个成分,采用对照品比对后,确定8个色谱峰所表征的化学成分,依次为原儿茶酸,儿茶素,山柰素-3-O-β-D-葡萄糖苷,槲皮素3-O-α-L-鼠李糖苷,山柰素-3-O-α-L-鼠李糖苷,N-p-香豆酰酪胺,槲皮素和山柰酚。结论:通过分析心肌细胞破碎液中与活性细胞相结合的成分,筛选出了茛苳花提取物中能与心肌细胞有相互作用的成分,为明确茛苳花的药效物质基础提供了科学依据。

[关键词] UHPLC-Q-TOF-MS; 茛苳花提取物; 活性成分; 山柰素-3-O-β-D-葡萄糖苷; 山柰素-3-O-α-L-鼠李糖苷; 药效物质基础

[中图分类号] R283.6;R945;R284.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0090-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120090

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1403.010.html>

[网络出版时间] 2017-03-24 14:03

Identification of Effective Substances from *Polygonum orientale* Flower Extract in H9c2 Myocardial Cells by UHPLC-Q-TOF-MS

XIANG Wen-ying, MEI Chao-ye, SUN Hui-yuan, QIN Xiao-li, XIE Yu-min, GONG Zi-peng,
ZHENG Lin, LI Yue-ting, HUANG Yong*

(National Engineering Research Center of Miao's Medicines, Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou Province, School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To screen effective substances from *Polygonum orientale* flower extract by UHPLC-Q-TOF-MS technology for H9c2 myocardial cells. **Method:** The active substances in *P. orientale* flower extract were combined with H9c2 myocardial cells under imitated physiological environments, then the unattached substances were washed off by phosphate buffer solution (PBS) with pH of 7.4. After that, the conjugated compounds were eluted by PBS with pH of 4.0. These compounds released from target sites were collected and handled through Oasis HLB solid phase extraction column to be condensed. The separation was performed on a Eclipse Plus C₁₈ column, mass sepectrometric data were obtained in electrospray ionization (ESI) positive and negative modes. Meanwhile, the chemical components were identified by comparing the retention times with

[收稿日期] 20161214(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360664,81560630);贵州省研究生卓越人才计划项目(黔教研合 ZYRC字[2014]012)

[第一作者] 向文英,在读硕士,从事药物代谢动力学研究,Tel:0851-86908899,E-mail:852017994@qq.com

[通讯作者] *黄勇,博士,教授,从事中药活性成分及新药开发研究,Tel:0851-86908899,E-mail:Hujie51619@sina.cn

standard substance and secondary fragment ions. **Result:** Seventeen compounds from *P. orientale* flower extract were identified preliminarily, and eight compounds were identified as protocatechuic acid, cianidanol, kaempferol, kaempferol-3-*O*- β -*D*-glucoside, quercetin, quercetin-3-*O*- β -*D*-glucoside, kaempferol-3-*O*- α -*L*-rhamnoside, paprazine. **Conclusion:** Through analysis of the fracture fluid compounds from the H9c2 cells extraction combined with active cells, the bioactive constituents from *P. orientale* flower extract interacted with myocardial cells are screened, this research provides a scientific fundament for material basis of effectiveness of *P. orientale* flower.

[**Key words**] UHPLC-Q-TOF-MS; *Polygonum orientale* flower extract; effective substances; kaempferol-3-*O*- β -*D*-glucoside; kaempferol-3-*O*- α -*L*-rhamnoside; pharmacodynamic basis

生物活性筛选/化学在线分析技术是由生命科学与色谱、质谱分离鉴定技术交叉形成的一种综合技术,利用药物产生作用一般通过药物与靶点结合的原理,将酶、受体、离子通道、神经介质等在生命活动中起重要生理作用的活性生物大分子、活性细胞膜甚至活性细胞作为靶标,建立中药药效物质基础的生物活性筛选/化学成分在线分析方法^[1]。细胞萃取可利用细胞的选择性筛选与细胞结合的成分,与细胞结合的成分同效应成分之间具有显著的相关性^[2],不同效应成分作用程度的差别或与靶标具有不同的结合性能,所以根据这种差别并结 UHPLC-Q-TOF-MS 技术,筛选研究以 H9c2 心肌细胞为作用靶点的中药效应成分。

荜草为贵州省道地药材,具有行气活血、消积、止痛的功效,民间常用于胸痛、胸闷、气短、风湿疼痛、中风偏瘫(嘴角歪斜)等疾病的治疗^[3-8]。课题组前期对荜草各部位药理研究中发现荜草花水提醇沉后的正丁醇萃取部位比全株荜草有着更明显的抗心肌缺血作用,是荜草的主要药用有效部位^[9-10],但其在体内的药效物质基础尚不明确。故本实验选择与其临床适应症心血管疾病相关的 H9c2 心肌细胞为载体,开展心肌细胞萃取试验,通过化学成分与靶细胞亲和力筛选试验和 UHPLC-Q-TOF-MS 技术分离荜草花的药理活性成分。

1 材料

1290 Infinity 型超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),micro TOF-Q II 型电喷雾-四极杆-飞行时间质谱仪(德国 Bruker 公司),Allegra 64R 型低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司),8000DH 型 CO₂ 细胞培养箱(Thermo Scientific 公司),DL-CJ-1ND II 型超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司),Allegra 64R 型低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司),EL204 型 1/1 万电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],WP-UP-II-

20 型超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司),MTN-2800D 型氮吹浓缩装置(天津奥特塞恩斯仪器有限公司)。

荜草花药材采于贵州省鹿关冲植物园,经贵州医科大学药用植物与生药学教研室龙庆德副教授鉴定为蓼科植物红蓼 *Polygonum orientale* 的干燥花序,标本存于贵州省中药民族药研究开发中心;H9c2 心肌细胞株(中国科学院细胞库),DMEM 高糖培养基(Gibco 公司),胎牛血清(Biochrom 公司),胰蛋白酶(Solarbio 公司),原儿茶酸、儿茶素、山柰素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷对照品(自制,纯度均 $\geq 95\%$),槲皮素-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷对照品(大连美仑生物科技有限公司,批号 MB6680,纯度 $\geq 98\%$),槲皮素对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号 1166-101216,纯度 $\geq 98\%$),*N-p*-香豆酰酪胺、山柰酚对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 151222,150328,纯度均 $\geq 98\%$),甲酸、甲醇及乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品制备 取荜草干燥花序 15 kg,加 10 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h,滤过,减压浓缩至生药质量浓度 1 g·mL⁻¹,加 95% 乙醇使含醇量达 65%,搅拌均匀,静置 12 h,回收乙醇,浓缩至相对密度 1.05(于 50 °C 测定)。用 0.5 倍量水饱和的正丁醇提取 3 次,合并正丁醇液,减压回收正丁醇,用 80% 乙醇溶解,溶液上聚酰胺柱;加 5 倍量 80% 乙醇洗脱,收集洗脱液,减压回收乙醇,残留物微波真空干燥,得荜草花提取物^[8-9,11]。取荜草花提取物溶于磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4)中,得荜草花提取物质量浓度 2 g·L⁻¹的溶液,经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,取滤液用于细胞萃取试验;另取荜草花提取物滤液适量,用盐酸调 pH 4,经 Oasis HLB 固相萃取小柱(用甲醇 5 mL 活化 Oasis HLB 小柱,用水 2 mL 冲洗至无醇味

后上样)富集除盐后,加 50% 甲醇 1.5 mL 洗脱,收集洗脱液供细胞萃取试验及 UHPLC-Q-TOF-MS 分析。

2.2 DMEM 培养基的配制^[1] 每袋培养基加水 600 mL,加入碳酸氢钠 3.7 g,丙酮酸钠 0.11 g,加入一定量青霉素和链霉素(二者终浓度均调整为 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$),加入适量两性霉素,充分搅拌,加水定容至 1 L,用盐酸调节 pH 7.0~7.2,采用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤器过滤除菌,分装于 4 °C 冰箱保存备用。

2.3 H9c2 心肌细胞的培养^[1,12] 取冻存于液氮中的 H9c2 细胞 1 株,置 37 °C 水浴中迅速溶解后移入装有含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 1 mL 的离心管中,充分混合,于 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,弃去上清液,沉淀用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 3 mL 重悬后置于 37 °C,5% CO_2 的条件下静置培养,生长 2~3 d,细胞达到融合时用含 0.25% 胰蛋白酶和 $0.53 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸(EDTA)的消化液传代,将细胞继续置于 37 °C,5% CO_2 的条件下静置培养。取对数生长期的 H9c2 心肌细胞,以每孔 $100 \mu\text{L}$, $6 \times 10^5 \sim 8 \times 10^5$ 个/mL 接种于 96 孔培养板中,使用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基于 37 °C,5% CO_2 培养箱中培养 48 h 后,选择胞浆饱满、生长状态良好的细胞进行后续试验。

2.4 心肌细胞萃取试验

2.4.1 细胞培养 选择处于对数生长期的 H9c2 心肌细胞,用含 0.25% 胰蛋白酶和 $0.53 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA 的消化液铺板,接种到 6 孔板中(共 20 个孔),每孔 2 mL,继续培养 48 h,选均匀铺满瓶底、排列整齐、胞浆饱满、生长状态良好均一的细胞供试验用。试验时用经 37 °C 温浴的 PBS(pH 7.4)轻轻冲洗细胞表面,以去除残留在细胞表面的死细胞及杂质。弃去 PBS,加入 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 荳草花提取物磷酸盐缓冲液 2 mL,在 37 °C,5% CO_2 的培养箱中培养 1 h,去除含有荳草花提取物的缓冲盐溶液,用 37 °C 温浴的 PBS(pH 7.4)轻轻浸洗 4 次,每次 3 min,留下最后 1 次清洗液作为阴性样品溶液。向洗过的细胞中加入 PBS(pH 4)2 mL,置于 37 °C 恒温水浴振荡器中振摇 30 min,使细胞膜上受体变性释放化合物,将上清液收集备用。向 6 孔板中加入 37 °C 温浴的 PBS(pH 7.4),反复冻融 3 次破碎细胞, $1 \text{ 万} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,用盐酸调 pH 4。合并上述 2 种上清液,得细胞破碎液。不加药物,以 37 °C 温浴的 PBS(pH 7.4)代替荳草花提取物缓冲盐溶液,同法进行空白对照试验,得空白溶液。用盐酸调节阴

性样品溶液、细胞破碎液、空白溶液 pH 至 4 后备用。

2.4.2 生物样品处理 取阴性样品溶液、细胞破碎液、空白溶液(pH 均为 4)分别过 Oasis HLB 小柱,使样品保留在小柱上。用 0.1% 甲酸水溶液约 5 mL 清洗小柱,除去样品中的磷酸盐缓冲液;量取甲醇 1.5 mL 冲洗小柱,收集洗脱液,用氮吹仪低温吹干,加 50% 甲醇定容至 $500 \mu\text{L}$,于 $15000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分别取上清液用于 UHPLC-Q-TOF-MS 检测分析。

2.5 对照品溶液的制备 精密称取原儿茶酸、儿茶素、山柰素-3-O- β -D-葡萄糖苷、山柰素-3-O- α -L-鼠李糖苷、槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷、槲皮素、山柰酚及 *N*-*p*-香豆酰酪胺对照品适量,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容,得质量浓度分别为 1.160,1.010,1.100,0.980 1,1.101,1.221,1.109,1.031 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液。分别精密量取上述 8 种对照品储备液 30 μL 混合,得混合对照品溶液,置冰箱 -20 °C 保存,备用。

2.6 分析条件

2.6.1 色谱条件 采用 Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm,1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~2 min,95%~79% A;2~5 min,79% A;5~6.5 min,79%~60% A;6.5~7.5 min,60%~55% A;7.5~9.5 min,55%~0% A;9.5~10 min,0%~95% A),柱温 40 °C,流速 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量 1 μL 。

2.6.2 质谱条件 电喷雾离子源,扫描方式为正、负离子扫描(ESI⁺,ESI⁻,*m/z* 50~1000),毛细管电压 4 kV(正离子模式)和 3.5 kV(负离子模式),锥孔电压 80 V,离子源温度 110 °C,雾化气(N_2)压力设置 0.13 MPa,流速 $6.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,温度 180 °C,准确质量测定采用甲酸钠校正标准液,校正模式选用 enhanced quadratic,数据分析采用 Data Analysis 软件、质量亏损过滤(MDF)技术和 Metabolite ToolsTM 软件。

2.7 荳草花提取物中化学成分鉴定 利用 UHPLC-Q-TOF-MS 对荳草花提取物中化学成分进行检测分析,运用 Metabolite Detect 软件将空白心肌细胞萃取溶液色谱图从荳草花提取物在 H9c2 心肌细胞萃取溶液色谱图中扣除,得到差异图谱,见图 1。结果发现除去心肌细胞萃取溶液中的固有成分,荳草花提取物在 H9c2 心肌细胞萃取溶液中出现 17 个移行成分。通过与混合对照品溶液的保留时间和质谱数据比较,确定了 8 个色谱峰所表征的化学成

分为原型成分,分别为原儿茶酸(1号),儿茶素(2号),山柰素-3-O-β-D-葡萄糖苷(8号),槲皮素 3-O-α-L-鼠李糖苷(9号),山柰素-3-O-α-L-鼠李糖苷(11号),N-p-香豆酰酪胺(12号),槲皮素(14号)和山柰酚(16号);另通过参考文献[12]和分析质谱二级碎片信息,推测峰 3 为槲皮素-3-O-(2"-O-α-L-鼠李糖基)-β-D-葡萄糖醛酸苷,峰 4 为山柰酚-3-O-(2"-O-α-L-鼠李糖基)-β-D-葡萄糖醛酸苷,峰 13 为N-反式-对羟基苯乙基阿魏酰胺,见表 1。

2.8 根据质谱信息推测成分

2.8.1 峰 3 在 t_R 3.6 min 时,准分子离子峰为 $[M - H]^- m/z$ 623.126 0 ($C_{27}H_{27}O_{17}$), $[M + H]^+ m/z$ 625.140 1 ($C_{27}H_{29}O_{17}$, 误差 -1.0 ppm), 碎片离子为 $[M + H]^+ m/z$ 479.079, 303.051 1。进一步作 MS^2 分析,准分子离子峰 $[M + H]^+ m/z$ 625.139 9 ($C_{27}H_{27}O_{17}$, 误差 0.1 ppm), 发现 $[M + H]^+ m/z$ 479.082 5 ($C_{21}H_{19}O_{13}$, 误差 -1.0 ppm), $[M + H]^+ m/z$ 303.051 3 ($C_{15}H_{11}O_7$, 误差 -4.6 ppm) 的碎片离子。据参考文献[13],结合质谱相关数据对比,推测峰 3 为槲皮素-3-O-(2"-O-α-L-鼠李糖基)-β-D-葡萄糖醛酸苷,见图 2。

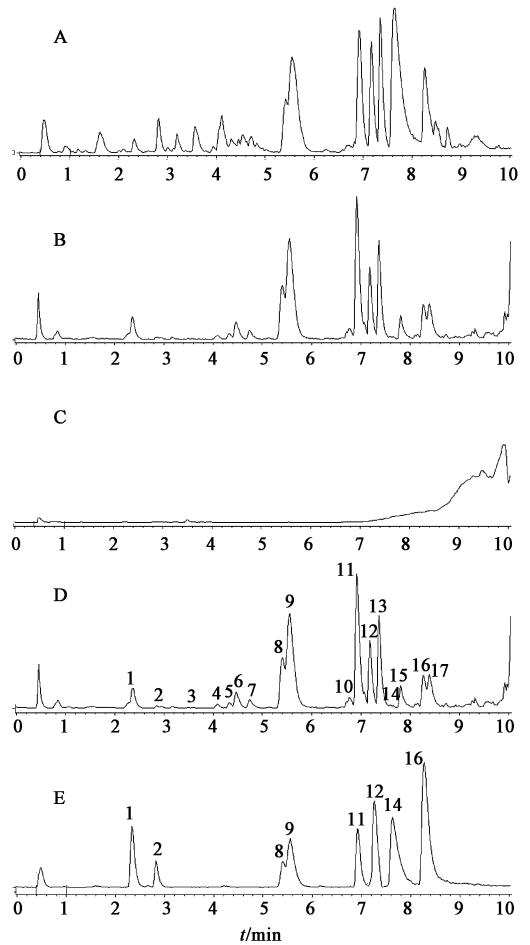
2.8.2 峰 4 在 t_R 4.1 min 时,准分子离子峰为 $[M - H]^- m/z$ 607.132 3 ($C_{27}H_{27}O_{16}$, 误差 -3.0 ppm), $[M + H]^+ m/z$ 609.144 4 ($C_{27}H_{29}O_{16}$, 误差 0.9 ppm), 碎片离子为 $[M + H]^+ m/z$ 463.086 2, 287.055。 MS^2 质谱分析,准分子离子峰为 $[M + H]^+ m/z$ 609.146 1 ($C_{27}H_{29}O_{16}$, 误差 -1.8 ppm), 显

表 1 荜草花提取物在 H9c2 心肌细胞萃取液中的化学成分分析

Table 1 Identification of components from *Polygonum orientale* flower extract in H9c2 myocardial cell extract

No.	t_R /min	m/z		化学式	δ /ppm	化学成分
		实际值	理论值			
1 ¹⁾	2.3	153.019 6	153.019 3	$C_7H_5O_4$	-1.7	原儿茶酸
2 ¹⁾	2.8	289.072 5	289.071 8	$C_{15}H_{13}O_6$	-2.7	儿茶素
3	3.6	623.126 0	623.125 4	$C_{27}H_{27}O_{17}$	-1.0	槲皮素-3-O-(2"-O-α-L-鼠李糖基)-β-D-葡萄糖醛酸苷 ^[12]
4	4.1	607.132 3	607.130 5	$C_{27}H_{27}O_{16}$	-3.0	山柰酚-3-O-(2"-O-α-L-鼠李糖基)-β-D-葡萄糖醛酸苷 ^[12]
5	4.3	463.089 7	463.088 2	$C_{21}H_{19}O_{12}$	-3.3	未知
6	4.5	491.081 7	491.083 1	$C_{22}H_{19}O_{13}$	2.9	未知
7	4.7	303.050 8	303.051 0	$C_{15}H_{11}O_7$	0.8	未知
8 ¹⁾	5.4	447.093 6	447.093 3	$C_{21}H_{19}O_{11}$	-0.7	山柰素-3-O-β-D-葡萄糖苷
9 ¹⁾	5.6	447.093 7	447.093 3	$C_{21}H_{19}O_{11}$	-0.9	槲皮素-3-O-α-L-鼠李糖苷
10	6.8	282.113 9	282.113 6	$C_{17}H_{16}NO_3$	-1.2	未知
11 ¹⁾	6.9	431.097 8	431.098 4	$C_{21}H_{19}O_{10}$	1.4	山柰素-3-O-α-L-鼠李糖苷
12 ¹⁾	7.2	282.113 6	282.113 6	$C_{17}H_{16}NO_3$	0	N-p-香豆酰酪胺
13	7.4	312.124 7	312.124 1	$C_{18}H_{18}NO_4$	-1.8	N-反式-对羟基苯乙基阿魏酰胺 ^[12]
14 ¹⁾	7.6	301.035 0	301.034 5	$C_{15}H_9O_7$	1.3	槲皮素
15	7.8	329.030 6	329.030 3	$C_{16}H_9O_8$	-0.8	未知
16 ¹⁾	8.3	285.040 7	285.040 5	$C_{15}H_9O_6$	-1.0	山柰酚
17	8.4	285.039 8	285.040 5	$C_{15}H_9O_6$	2.4	未知

注:检测模式均为 $[M - H]^-$; ¹⁾表示通过与对照品比较而获得。



A. 荜草花提取物; B. 供试品; C. 空白 H9c2 心肌细胞萃取液; D. B 与 C 的差异图谱; E. 混合对照品

图 1 荜草花提取物在 H9c2 心肌细胞萃取液中的 ESI⁻ 总离子流
Fig. 1 TIC of *Polygonum orientale* flower extract in H9c2 myocardial cell extract under ESI⁻

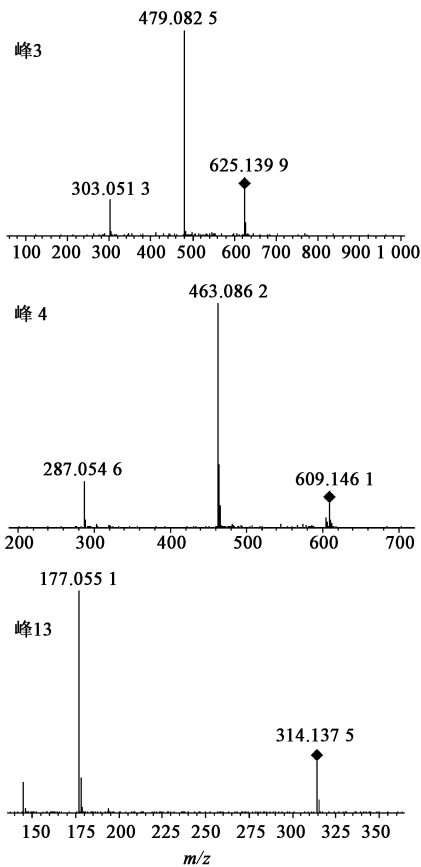


图 2 峰 3,4,13 的 ESI⁺ 模式 MS²
Fig. 2 MS² spectra of peak 3,4 and 13 under ESI⁺ mode

示 $[M + H]^+$ m/z 463.086 2 ($C_{21}H_{19}O_{12}$, 误差 1.9 ppm), $[M + H]^+$ m/z 287.054 6 ($C_{15}H_{11}O_6$, 误差 1.3 ppm) 的碎片离子。据参考文献[13], 结合质谱相关数据, 故推测峰 4 为山柰酚-3-O-(2''-O- α -L-鼠李糖基)- β -D-葡萄糖醛酸苷, 见图 2。

2.8.3 峰 13 在 t_R 7.4 min 时, 准分子离子峰为 $[M - H]^-$ m/z 312.124 7 ($C_{18}H_{18}NO_4$), $[M + H]^+$ m/z 177.054 9 ($C_{10}H_9O_3$, 误差 -1.4 ppm)。MS² 显示离子峰为 $[M + H]^+$ m/z 314.137 5 ($C_{18}H_{20}NO_4$, 误差 3.2 ppm), $[M + H]^+$ m/z 177.055 1 ($C_{10}H_9O_3$, 误差 -2.5 ppm) 的碎片离子。查阅文献[13], 对比质谱数据及化学元素组成, 推测峰 13 为 N-反式-对羟基苯乙基阿魏酰胺, 见图 2。

3 讨论

细胞色谱法的基本原理是根据药物与靶点(受体、通道、酶等)结合产生的效应来进行研究的, 通过模拟生理或病理状态下药物在体内与靶点的选择性结合^[14], 旨在直接取用效应器官的细胞对效应成分进行特异性结合, 由于心肌细胞上有多种受体, 能够特异地、有选择性地与活性成分结合, 采用 H9c2

心肌细胞能够特异地、有选择性地与荜草花提取物中的活性成分结合, 可以满足中药作用多靶点的活性成分筛选^[1], 且采用 UHPLC-Q-TOF-MS 系统建立了生物样品中可靠的定性分析方法, 能够较全面地反映心肌细胞萃取溶液中的药物成分, 为荜草花的药效物质基础快速确定及代谢研究提供参考。

为了获得分离度好、灵敏性高以及信息量丰富的色谱图, 对色谱条件进行了优化, 实验中分别采用正、负离子扫描方式对混合对照品溶液及荜草花提取物样品液进行全扫描, 结果发现在负离子模式下荜草花提取物样品液中的化合物响应相对较高, 各色谱峰之间都实现了较好的分离, 这可能与所检测到的色谱峰中含有多个羟基、大量代谢峰中连有葡萄糖醛酸基团等有关, 故本研究选择了负离子模式为测试模式。建立 UHPLC-Q-TOF-MS 对细胞萃取液进行分析, 具有离子传输效率高、传输离子质量范围宽、灵敏度高、错误率低、重复性高等优点, 为荜草花提取物的药效物质基础研究提供有利依据。

心肌缺血是指心脏的血液灌注减少, 导致心脏的供氧减少, 心肌能量代谢不正常, 不能支持心脏正常工作的一种病理状态。研究采用溶有荜草花提取物的培养基培养心肌缺血细胞, 具有抗心肌缺血作用的成分选择性地与心肌细胞结合, 利用 UHPLC-Q-TOF-MS 检测出与心肌细胞结合的成分, 最终通过质谱离子峰及碎片离子初步检测出荜草花提取物中可与心肌细胞结合的 17 个成分, 采用对照品比对, 确定了 8 个色谱峰所表征的化学成分多为黄酮类, 研究结果与课题组前期药理实验研究发现的荜草花具有抗心肌缺血作用相互论证。大量文献报道黄酮类化合物广泛存在于食用或药用植物中, 具有抗氧化、抗动脉粥样硬化、抗突变或抑制血小板凝聚等多种生物学活性^[15-17], 且黄酮类化合物有明显的抗心肌缺血作用^[18]。本文研究发现荜草花提取物在 H9c2 心肌细胞萃取溶液中的成分有可能为其具有心肌活性的成分, 也可能是其发挥药理作用的相关效应物质, 为明确荜草花与抗心肌缺血作用相关的作用物质提供依据。

[参考文献]

- [1] 郑林. 参芎葡萄糖注射液药效物质基础及作用机制研究[D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2015.
- [2] 杨珍, 王媛, 张艳军, 等. 基于细胞萃取及分子对接的淫羊藿中雌激素样作用成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 62-66.
- [3] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 267.

- [4] 黄勇,何峰,郑林,等.水菝花药材中 8 个指标成分的 UPLC-MS/MS 法测定[J].中国医药工业杂志,2012,43(8):693-696.
- [5] 黄勇,郑林,何峰,等.UPLC-PDA-ESI/MS 分析菝草中化学成分[J].中国中药杂志,2011,36(1):57-59.
- [6] 李勇军,何迅,刘志宝,等.菝草花化学成分的研究[J].中国中药杂志,2009,34(20):2613-2615.
- [7] 黄勇,胡杰,陆苑,等.UPLC-MS 法测定大鼠血浆中菝草花的 3 个指标成分及其药动学研究[J].中国药理学通报,2015,31(9):1314-1318.
- [8] 李勇军,何迅,刘志宝,等.菝草花水溶性化学成分的研究[J].时珍国医国药,2010,21(1):14-15.
- [9] 黄勇,郑林,王爱民,等.菝草不同药用部位抗心肌缺血作用及化学成分比较研究[J].时珍国医国药,2010,21(10):2520-2522.
- [10] 王爱民,迟明艳,王永林,等.UPLC 同时测定菝草药材中 8 种指标成分的含量[J].中国中药杂志,2010,35(13):1723-1727.
- [11] 谢玉敏,杨武,陆苑,等.菝草花提取物中 5 种成分在大鼠体内的肠吸收动力学[J].中成药,2016,38(4):770-776.
- [12] 王雪晶,罗鑫,周建明,等.大株红景天化学成分及其心肌细胞保护活性研究[J].中草药,2015,47(16):2822-2826.
- [13] 李勇军,李翠兵,何迅,等.菝草化学成分研究 II [J].中国中药杂志,2011,36(4):456-461.
- [14] 洪敏,马宏宇,朱荃.肝细胞萃取-HPLC 分析法的建立及其在栀子保肝效应物质初步分析中的应用[J].中国中药杂志,2009,34(4):450-453.
- [15] 王立萍,王新春.黄酮类化合物的代谢研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(11):226-229.
- [16] 赵雪巍,刘培玉,刘丹,等.黄酮类化合物的构效关系研究进展[J].中草药,2015,46(21):3264-2-3271.
- [17] 杨丽霞,姜良恩,王志程,等.中草药黄酮类化合物防治糖尿病肾病的实验研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(5):230-234.
- [18] 刘敏.槲皮素-3-葡萄糖苷对心肌缺血及再灌注损伤的保护作用[D].合肥:安徽医科大学,2003.

[责任编辑 刘德文]

《中国实验方剂学杂志》2014—2016 年度优秀审稿专家名单

田元祥教授(中国中医科学院中医临床基础医学研究所)
刘春生教授(北京中医药大学)
沈祥春教授(贵阳医学院药学院)
王长虹教授(上海中医药大学)
倪艳教授(山西省中医药研究院)
倪健教授(北京中医药大学)
赵艳玲研究员(解放军 302 医院)
李孝栋教授(福建中医药大学)
康文艺教授(河南大学)
张艳教授(辽宁中医药大学)
任钧国研究员(中国中医科学院西苑医院)
蔡宇教授(暨南大学药学院)
王冰副教授(上海中医药大学)
袁子民副教授(辽宁中医药大学)
张华副教授(山东中医药大学)

获奖的优秀审稿专家是在 2014—2016 年度一贯积极支持编辑部工作,能认真负责、按时完成审稿任务,且审稿数量较多的专家,由责任编辑推荐,编委会年会通过并颁发了获奖证书及奖金。