

UPLC-Q-TOF-MS 法鉴定五酯胶囊中化学成分和大鼠入血成分

王磊¹, 李嘉晨¹, 刘洪庚¹, 刘莹¹, 孙悦¹, 祝逸飞², 王玉明^{2*}

1. 天津市第五中心医院生态城医院, 天津 300467

2. 天津中医药大学, 天津 301617

摘要: **目的** 基于血清药物化学技术对五酯胶囊中成分和大鼠入血成分进行鉴定。**方法** 采用 UPLC-Q-TOF-MS 法对五酯胶囊成分组、给药组和空白组样品进行分析, 通过 MassLynx V4.1 软件对所得图谱进行数据解析, 对五酯胶囊中成分及其入血成分进行鉴定。**结果** 鉴定出五酯胶囊中 15 个化合物, 其中五味子甲素含量最高。大鼠血清中含有五酯胶囊 2 个原型成分五味子酯丁、长南酸, 筛选得到代谢物 8 个, 主要以 I 相代谢反应中的水解、氧化、去甲氧基化反应和 II 相代谢反应中的葡萄糖醛酸化结合为主。**结论** 建立了五酯胶囊中活性成分和代谢产物的鉴定方法, 为五酯胶囊的临床应用提供依据。

关键词: 五酯胶囊; 五味子甲素; 五味子酯丁; 长南酸; 代谢物; UPLC-Q-TOF-MS 法

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)05-1170-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.05.011

Identification on components in Wuzhi Capsules and rats blood components by UPLC-Q-TOF-MS method

WANG Lei¹, LI Jiachen¹, LIU Honggeng¹, LIU Ying¹, SUN Yue¹, ZHU Yifei², WANG Yuming²

1. The ECO-CITY Hospital of Tianjin Fifth Central Hospital, Tianjin 300467, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To identify the components in Wuzhi Capsules and rats blood components based on serum pharmacochrometry technology. **Methods** Samples of ingredients of Wuzhi Capsules group, Wuzhi Capsules group, and blank group were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS method. The data were analyzed by MassLynx V4.1 software, and the components in Wuzhi Capsules and rats blood components were identified. **Results** There were 15 identified components in Wuzhi Capsules, and the content of schisandrin A was the highest. The serum of rats contained two prototype components in Wuzhi Capsules, namely schisantherin D and changnanic acid, and 8 metabolites were screened out. These components were mainly composed of hydrolysis, oxidation, and demethoxylation reaction in phase I metabolic reactions, as well as glucuronidation in phase II metabolic reaction. **Conclusion** The method can identify active ingredients and metabolites in Wuzhi Capsules, providing a basis for clinical application of Wuzhi Capsules.

Key words: Wuzhi Capsules; schisandrin A; schisantherin D; changnanic acid; metabolite; UPLC-Q-TOF-MS

五酯胶囊是一种保肝类中成药, 由中华五味子醇提取物制成, 能够降低血清中的丙氨酸转氨酶水平, 修复肝脏细胞, 具有保肝降酶的作用^[1]。五酯胶囊在临床上常与他克莫司联用, 能够明显提高他克莫司在体内的血药浓度, 对器官移植患者来说是一种有效、安全、经济的方法^[2], 然而五酯胶囊是如何发挥药效的目前尚不明确^[3-4]。虽然五酯胶囊的疗效显著、临床应用广泛, 但其物质基础尚不十分明确, 而中药血清药物化学研究可以确定中药吸收

入血成分, 并且推测各成分代谢通路, 阐明其中药效成分的作用机制, 获得入血成分在体内直接作用的物质信息^[5-6]。因此, 本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS 技术对五酯胶囊体内外成分和有效成分体内代谢途径进行分析, 建立原型成分、代谢产物的鉴定方法, 明确其药效物质基础和作用机制, 为五酯胶囊的临床应用提供参考。

1 仪器与材料

Acquity UPLC 超高效液相色谱仪、Xevo G2 Q-

收稿日期: 2024-01-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903938)

作者简介: 王磊 (1990—), 女, 主管药师, 硕士, 研究方向为中药药理学、临床药学。E-mail: 1327812057@qq.com

*通信作者: 王玉明, 男, 副教授, 博士, 研究方向为中药药理学、代谢组学。E-mail: wangyuming@tjutc.edu.cn

TOF 质谱、MassLynx V4.1 质谱软件(美国 Waters 公司); JP-060S 型超声波清洗机(360 W、40 kHz, 深圳市洁盟清洗设备有限公司); H1750R 型高速冷冻离心机(1 000 W、50 Hz, 长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司); 氮吹浓缩装置(天津市军粮城常福气体有限公司); 0.45 μm 有机系(尼龙 6)过滤膜(天津市领航实验设备股份有限公司)。

五酯胶囊(批号 200603, 规格 11.25 mg/粒)购自四川禾正制药有限责任公司; 甲醇、甲酸(色谱纯, 天津渤化化学试剂有限公司); 乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司)。

Wistar 雄性大鼠, SPF 级, 鼠龄 4~6 周, 体质量在 (210 ± 20) g, 许可证编号为 SCXK(京)2016-0006, 购买自北京维通利华实验动物技术有限公司。大鼠饲养于 SPF 级动物房, 温度 (24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 40%~60%, 12 h 昼夜交替, 正常饮食、饮水。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

精密称定五酯胶囊中粉末 1.0 g, 倒入具塞锥形瓶中, 加入甲醇(色谱级) 10 mL, 加塞称量质量, 超声 45 min, 冷却至室温, 加甲醇弥补失重, 摇匀, 静置后用一次性针管吸上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2 分析样品溶液的制备

Wistar 大鼠禁食 12 h, 其中给药组按照五味子甲素 6.05 mg/kg (相当于正常人体临床上每日给药剂量的 6.3 倍) ig 五酯胶囊粉末药液, 1 次/d; 空白组按照 20.0 mL/kg ig 蒸馏水, 1 次/d, 连续给药 1 周。然后用 10%水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血, 用高速冷冻离心机以 3 000 r/min 转速离心 10 min, 吸取上清液后, 置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻, 保存备用。

取出保存的血清先放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱进行解冻, 然后分别取大鼠给药血清、空白血清 1 mL, 置于 5 mL 离心管中, 分别加入 3 mL 甲醇。将样品置于涡旋机上涡旋 90 s, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、4 500 r/min 的高速冷冻离心机上离心 10 min, 将上清液倒出后, 用氮气浓缩装置进行浓缩, 即得。测定时用甲醇复溶。

2.3 色谱条件

Beh C₁₈ 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为 0.1%甲酸的水溶液(A) - 0.1%甲酸乙腈(B), 梯度洗脱(0 $\rightarrow$ 15 min, 95% $\rightarrow$ 60% A; 15 $\rightarrow$ 17 min, 60% $\rightarrow$ 0 A; 17 $\rightarrow$ 18 min, 0 $\rightarrow$ 95% A; 18 $\rightarrow$ 20 min, 95% A); 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 0.3 mL/min;

进样量 8 μL 。色谱仪中的流出液流出后不用分流, 直接进行后续的正离子扫描检测。

2.4 质谱条件

将电喷雾设置为正离子模式, 正离子源的电压 5 500 V, 温度 550 $^{\circ}\text{C}$, 雾化气体使用氮气, 雾化气体和辅助气体的压力 379.2 kPa, 气帘气体压力 241.3 kPa, 裂解电压 ± 80 V, 碰撞能量 ± 35 eV, 扫描范围 m/z 100~1 500, 碰撞能量膨胀 15 eV。二级质谱扫描检测时, IDA 调整为 8 个响应值超过 100 cps 的峰, 产品离子扫描范围 m/z 50~1 500, 开启动态的背景扣除(如 DBS)。

2.5 数据分析方法

打开 MassLynx V4.1 软件, 导入给药组、空白组的血清质谱图, 上下缩放比较来减去血清中的内源性成分, 然后把剩下的离子峰与五酯胶囊粉末提取液的离子峰的保留时间、 m/z 和二级质谱图进行比较, 在这些记录的质谱峰中相同的部分则确定为五酯胶囊中的原型成分。在 MassLynx V4.1 软件中同时打开空白组、给药组和五酯胶囊成分组的血清质谱图, 逐步放大对比同一保留时间下空白组、给药组和五酯胶囊成分组的质谱峰差异, 以仅仅出现在给药组大鼠血清中但五酯胶囊成分组、空白组大鼠血清中都没有出现的化合物作为五酯胶囊中的原型成分在大鼠体内的代谢物, 记录各个代谢物的保留时间、 m/z , 通过查阅原型药物代谢途径再结合分析代谢物的准分子离子峰的 m/z 与原型药物之间的差值, 最后结合代谢物其他碎片离子峰来进行综合判断, 最终推断各个代谢物属于五酯胶囊中哪一个原型成分的代谢产物。

2.6 UPLC-Q-TOF-MS 质谱图采集

在正离子模式条件下采集五酯胶囊成分、空白血清、给药血清的色谱图, 见图 1。

2.7 五酯胶囊中成分分析

通过 TCMSP 数据库查询中华五味子中有效成分, 比对五酯胶囊样品色谱图中的保留时间和质谱图中的准分子离子峰、二级质谱图, 鉴定出五酯胶囊中 15 个化合物。

化合物 1: 正离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 235.173 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $t_{\text{R}}=13.04$ min, MassLynx V4.1 软件拟合分子式为 C₁₅H₂₂O₂, 此外还有碎片离子 m/z 218.100 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}]^+$ 、203.081 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-\text{CH}_3]^+$ 出现在二级质谱图中, 且两个峰都为特征峰, 鉴定为 β -花柏烯酸。

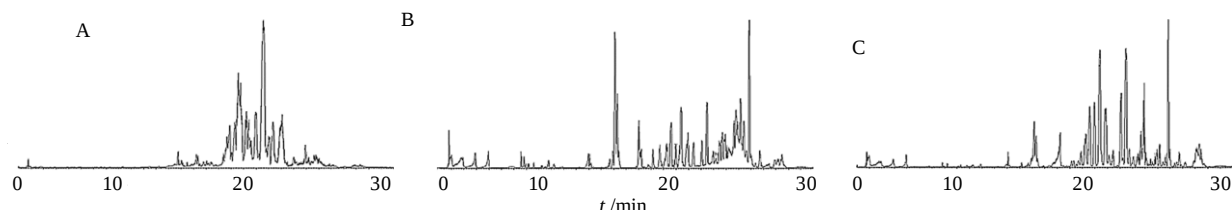


图 1 正离子模式下五酯胶囊成分 (A)、给药组 (B) 和空白组 (C) 大鼠血清的总离子流图

Fig. 1 Total ion flow chromatograms of ingredients of Wuzhi Capsules (A), serum of Wuzhi Capsules group (B), and serum of blank group (C) in ESI⁺ mode

化合物 2: 正离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 401.199 9 [M+H]⁺, t_R = 14.22 min, MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 C₂₃H₂₈O₇, 此外还有碎片离子 m/z 386.171 0 [M+H-CH₃]⁺、370.172 3 [M+H-OCH₃]⁺ 分别显示在二级质谱图里, 再结合化合物的结构, 推测为五味子乙素^[6-8]。

化合物 3、8: 在正离子模式下图中的准分子离子峰分别是 m/z 417.193 1、417.228 7 [M+H]⁺, 两者的准分子离子峰的数值比较接近, t_R 分别为 15.02、19.57 min, MassLynx V4.1 软件拟合的分子式分别是 C₂₃H₂₈O₇、C₂₄H₃₂O₆, 然而化合物 3 的二级质谱图中的碎片离子有 m/z 399.175 4 [M+H-H₂O]⁺、357.135 1 [M+H-H₂O-C₃H₆]⁺; 化合物 8 的二级质谱图中形成的碎片离子峰有 m/z 402.204 7 [M+H-CH₃]⁺、386.209 2 [M+H-OCH₃]⁺。两者的二级质谱图中显示的断裂方式不同, 且在该色谱条件下色谱图图中的出峰时间化合物 3 要早于化合物 8, 由此判断化合物 3 为五味子醇乙^[6-8], 化合物 8 为五味子甲素^[6-8], 可能的裂解途径见图 2。

化合物 4: 正离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 391.214 3 [M+H]⁺, t_R 为 16.37 min, MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 C₂₂H₃₀O₆, 此外还有碎片离子 m/z 368.160 2、340.131 8 出现在二级质谱中。根据前戈米辛的结构、断裂方式, 鉴定为前戈米辛^[8-10]。

化合物 5: 正离子模式下, 谱图中的准分子离子峰为 m/z 219.175 7 [M+H]⁺, t_R 为 17.27 min, MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 C₁₅H₂₂O, 碎片离子 m/z 189.074 5 [M+H-CO]⁺、175.066 3 [M+H-CO-CH₂]⁺ 显示在二级质谱图中, 并且该断裂方式符合醛类化合物在质谱中的断裂方法, 结合化合物 m/z 判断为恰米醛。

化合物 6: 正离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 403.211 5 [M+H]⁺, t_R 为 18.20 min, MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 C₂₃H₃₀O₆, 碎片离子有 m/z

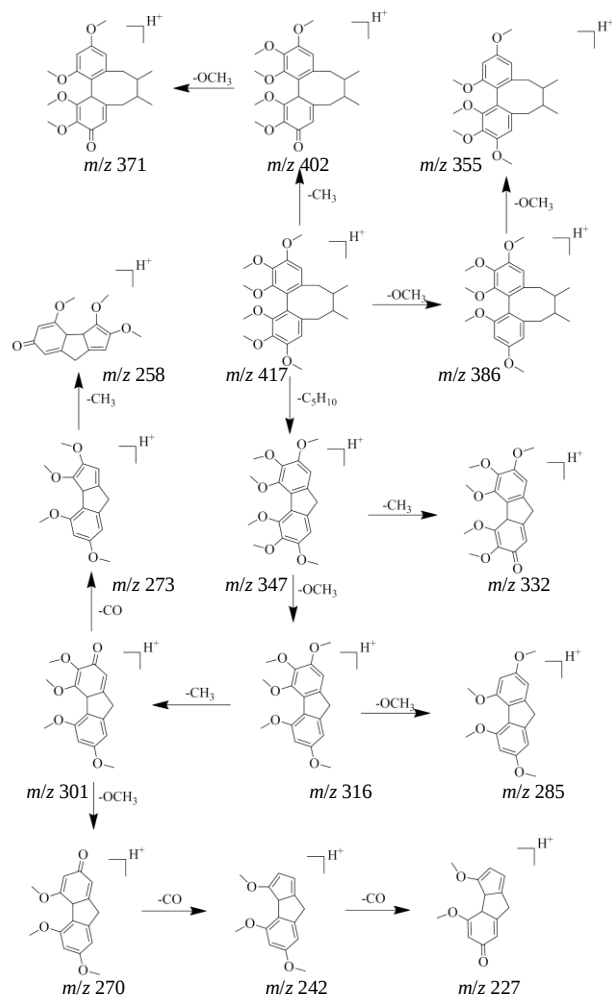


图 2 推测的五味子甲素裂解途径

Fig. 2 Fragmentation pathway of schisandrin A on supposition

371.184 3 [M+H-OH-CH₃]⁺、340.167 6 [M+H-OH-OCH₃-CH₃]⁺。该碎片离子断裂方式符合酚类化合物断裂方式, 结合 m/z 、保留时间判断, 由此判定为五味子酚^[6]。

化合物 7: 正离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 520.340 7 [M-e]⁺, t_R 为 18.57 min, MassLynx V4.1

软件拟合的分子式为 $C_{29}H_{28}O_9$ ，形成的碎片离子有 m/z 502.329 0 $[M-e-H_2O]^+$ 、184.074 7。根据 m/z 、断裂方式推测为五味子酯丁^[7]。

化合物 9：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 471.343 5 $[M+H]^+$ ， t_R 为 23.18 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{30}H_{46}O_4$ ，碎片离子有 m/z 453.336 1 $[M+H-H_2O]^+$ 、435.320 1 $[M+H-H_2O-H_2O]^+$ 。结合 TCMSP 数据库中化合物的结构以和 m/z ，判断为长南酸。

化合物 10：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 455.351 8 $[M+H]^+$ ， t_R 为 23.86 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{30}H_{46}O_3$ ，碎片离子有 m/z 437.175 8 $[M+H-H_2O]^+$ 、399.180 2。结合酸类化合物在质谱中的断裂规则鉴定为苷五酸。

化合物 11：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 454.333 4 $[M+H]^+$ ， t_R 为 22.93 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{30}H_{45}O_3$ ，形成的碎片离子有 m/z 257.190 1、184.073 2。结合南五味子内酯的结构鉴定为南五味子内酯。

化合物 12：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 469.333 8 $[M+H]^+$ ， t_R 为 22.01 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{21}H_{32}O_7$ ，形成的碎片离子有 m/z 451.321 6 $[M+H-H_2O]^+$ 、184.075 3。鉴定为南五味子内酯。

化合物 13：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 465.301 4 $[M+H]^+$ ， t_R 为 20.00 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{30}H_{40}O_4$ ，碎片离子有 m/z 447.291 0 $[M+H-H_2O]^+$ 、429.280 6 $[M+H-2H_2O]^+$ 。鉴定为五内脂甲。

化合物 14：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 415.175 6 $[M+H]^+$ ， t_R 为 24.97 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{32}H_{19}O_{10}$ ，碎片离子有 m/z 435.252 0、184.074 3。结合 TCMSP 数据库中的 angustifolin B 结构，鉴定为 angustifolin B。

化合物 15：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 563.301 1 $[M+H]^+$ ， t_R 为 17.75 min，MassLynx V4.1 软件拟合分子式 $C_{23}H_{26}O_7$ ，碎片离子有 m/z 371.149 0 $[M+H-2CH_3-CH_2]^+$ 、400.150 2 $[M+H-CH_3]^+$ 。结合 TCMSP 数据库中的新南五味子木脂宁的结构鉴定为新南五味子木脂宁。

2.8 五酯胶囊入血成分分析

根据上述对五酯胶囊中成分得到的分析数据，通过对五酯胶囊给药组大鼠血清、空白组大鼠血清

的总图谱比较，分析得到给药血清中的五酯胶囊原型成分，并根据色谱、质谱数据对这些化合物加以鉴定。结果显示五酯胶囊给药组大鼠血清中含有五酯胶囊 2 个原型成分 M1、M2。M1：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 520.332 6 $[M+H]^+$ ， t_R 为 18.55 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{29}H_{28}O_9$ ，碎片离子有 416.034 6、398.166 5。结合 TCMSP 数据库中的五味子酯丁结构和文献中的报道，鉴定化合物 M1 为五味子酯丁^[10-11]。M2：正离子模式下，准分子离子峰为 m/z 471.136 9 $[M+H]^+$ ， t_R 为 23.18 min，MassLynx V4.1 软件拟合的分子式为 $C_{30}H_{46}O_4$ ，碎片离子有 427.191 0、383.164 3。结合 TCMSP 数据库中的长南酸结构，鉴定化合物 M2 为长南酸。

以只出现在给药组大鼠血清中而五酯胶囊组、空白组大鼠血清中都没有出现的化合物作为五酯胶囊中的原型成分在大鼠体内的代谢物，筛选出后并根据质谱数据来对这些化合物进行检测鉴定，共筛选得到代谢物 8 个，分别编号为代谢物 a~h。五味子中的化合物主要以 I 相代谢反应中的水解、氧化、去甲氧基化反应和 II 相代谢反应中的葡萄糖醛酸化结合为主。

代谢物 a：五味子酯丁是五酯胶囊中成分之一。五味子酯丁是酯类化合物，在体内先发生 I 相水解反应，水解断裂苯甲酮基，剩余部分与葡萄糖醛酸结合，形成葡萄糖醛酸化后的产物。代谢物 a 在正离子模式下，在色谱图中的保留时间为 6.58 min，准分子离子峰 m/z 为 592.320 7 $[M+H]^+$ 比五味子酯丁 m/z 520.340 7 $[M+H]^+$ 多 72，提示代谢物 a 可能是五味子酯丁先水解断裂苯甲酮基后，再与葡萄糖醛酸结合，产生 m/z 为 592.320 7 $[M+H-C_7H_4O+C_6H_6O_6]^+$ 的质谱峰。再结合代谢物 a 的碎片峰 m/z 416.112 5 $[M+H-C_6H_8O_6]^+$ 可以进一步确认该代谢物 a 是五味子酯丁在大鼠体内的代谢产物^[9]。

代谢物 b：苷五酸是一类烯酸类化合物，属于五酯胶囊中成分之一。苷五酸在大鼠体内易发生 II 相结合反应，与葡萄糖醛酸结合生成葡萄糖醛酸化产物。代谢物 b 在正离子模式下的保留时间为 6.81 min，该化合物的准分子离子峰的 m/z 631.814 1 $[M+H]^+$ 比五酯胶囊中苷五酸的 m/z 455.351 8 $[M+H]^+$ 多出 176，提示代谢物 b 可能在大鼠体内与葡萄糖醛酸发生了结合反应，再结合代谢物 b 的碎片离子峰 m/z 455.331 9 $[M+H-C_6H_8O_6]^+$ 、411.113 6 $[M+$

$\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}_2]^+$, 可以进一步推断该代谢物是苷五酸在大鼠体内的代谢产物。

代谢物 **c**: 五味子乙素结构中含有多个甲氧基结构, 在大鼠体内容易发生 I 相代谢反应, 产生去甲氧基化作用, 再经氧化作用使得 C-7 或 C-8 上的甲基氧化成羧基或者醛基。代谢物 **c** 在正离子模式下, 在色谱图中的保留时间为 7.21 min, 此化合物的准分子离子峰的 m/z 385.926 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 比五酯胶囊中的五味子乙素 m/z 401.199 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 减少 16, 提示代谢物 **c** 很有可能在大鼠体内首先发生了去甲氧基化, 然后 C-7 或 C-8 上的甲基被氧化成醛基, 再根据代谢物 **c** 的其他碎片离子峰如 m/z 370.325 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 可以进一步明确该代谢物是五味子乙素在大鼠体内的代谢产物^[9-10, 12]。

代谢物 **d**: 五味子醇乙为多甲氧基结构, 其结构中含有游离羟基, 进入大鼠体内后容易发生 I 相代谢反应, 可以发生水解反应、去甲氧基化作用。代谢物 **d** 在正离子模式下, 在色谱图中的保留时间为 7.59 min, 质谱图中, 其准分子离子峰 m/z 为 387.651 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 比五酯胶囊中的五味子醇乙的 m/z 417.193 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 减少 30, 提示五味子醇乙可能发生了去甲氧基作用, 再结合代谢物 **d** 的其他碎片离子峰如 m/z 369.158 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 可以进一步确定化合物 **d** 为五味子醇乙的代谢产物^[10, 12-13]。

代谢物 **e**: 五味子酚为酚类化合物, 结构中含有多个甲氧基结构, 在大鼠体内比较容易发生 I 相代谢反应中的去甲基化反应。代谢物 **e** 在正离子模式下色谱图中, 保留时间为 8.21 min, 准分子离子峰 m/z 388.229 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 比五味子酚的准分子离子峰 m/z 403.211 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 减少 15, 提示五味子酚在大鼠体内可能发生去甲基化作用, 进一步结合代谢物 **e** 其他碎片离子峰 m/z 370.523 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、355.112 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3]^+$ 能够再度确认代谢物 **e** 是五味子酚在大鼠体内产生的代谢产物^[6, 9]。

代谢物 **f**: 五味子甲素是五酯胶囊中主要成分, 其含量在五酯胶囊中最多, 在五味子甲素的结构中含有多个甲氧基结构, 在大鼠体内的代谢容易发生去甲氧基化作用。代谢物 **f** 在正离子模式下的色谱图中, 其保留时间为 8.78 min, 准分子离子峰 m/z 401.536 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 比五味子甲素的准分子离子峰 m/z 417.228 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 减少 16, 提示五味子甲素进入大鼠体内后首先发生了 I 相代谢反应中的去甲氧基化作用, 然后 C-7 或 C-8 上的甲基被氧化成醛基。

再进一步结合代谢物 **f** 的其他碎片离子峰如 m/z 371.331 6 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3]^+$ 可进一步确认代谢物 **f** 是五味子甲素在大鼠体内先去甲氧基化再经氧化生成的产物, 可能的断裂方式见图 3^[10, 12-13]。

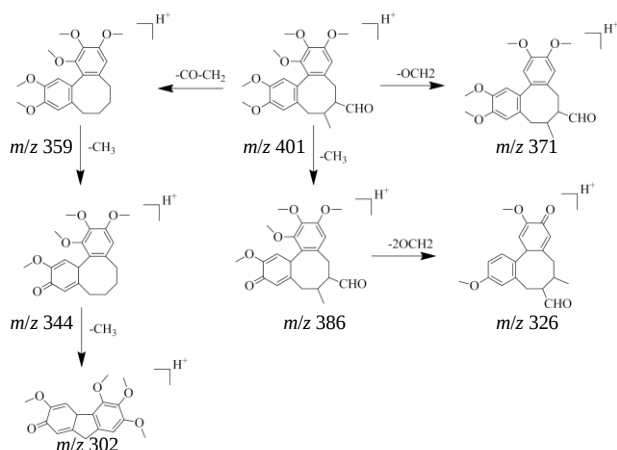


图 3 推测的代谢物 **f** 裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathway of metabolite **f** on supposition

代谢物 **g**: 五内脂甲是五酯胶囊中含有的成分之一, 在五内脂甲的结构中含有 2 个内酯键, 该结构进入大鼠体内后容易发生 I 相代谢反应中的水解反应, 使得内酯键水解开环。在正离子模式下的色谱图中, 代谢物 **g** 的保留时间为 19.94 min, 其质谱图中的准分子离子峰 m/z 483.360 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 比五内脂甲的 m/z 465.301 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 多出 18, 提示五内脂甲在大鼠体内发生了水解反应, 进一步确认该代谢物 **g** 是五内脂甲在大鼠体内水解后得到的产物。

代谢物 **h**: angustifolin B 在五酯胶囊中含量较少, 其分子结构中含有酯键, 进入大鼠体内后容易发生水解反应使得酯键断裂, 其结构中的苯甲酮基断裂。在正离子模式下的色谱图中, 代谢物 **h** 的保留时间为 22.19 min, 质谱图中的准分子离子峰 m/z 635.569 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 比五酯胶囊中 angustifolin B m/z 563.3011 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 多出 72, 提示 angustifolin B 在大鼠体内先断裂了苯甲酮基, 使相对分子质量丢失了 104, 然后再与葡萄糖醛酸结合, 形成葡萄糖醛酸结合物, 使相对分子质量再增加 176。再结合代谢物 **h** 中的其他碎片离子峰 m/z 593.362 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$ 、578.365 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2]^+$ 即可进一步确认代谢物 **h** 为 angustifolin B 在大鼠体内的代谢产物。

3 讨论

五酯胶囊作为一种有效的护肝药, 具有护肝补

肾的功效,能够减少血清中的谷丙转氨酶,主要用于保护慢性肝炎、肝功能不全患者的肝功能。五酯胶囊是由中华五味子提取精制而成,含有五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素等成分,其中以五味子甲素的含量最多。

在五酯胶囊中化学成分研究中,本实验通过 UPLC-Q-TOF-MS 技术得到五酯胶囊中的 15 个成分,其中五味子甲素是五酯胶囊中的主要成分,在五酯胶囊中的量最多,色谱图中的峰面积最显著。目前对五酯胶囊中一些成分如有机酸类化合物长南酸、内酯类化合物五内脂、新南五味子木脂宁的研究较少,主要研究集中在五味子甲素、五味子乙素以及其他五味子酯、五味子酚类化合物上,这就提示后续可以研究五酯胶囊中其他成分的作用。

对五酯胶囊入血成分研究结果显示,五酯胶囊中的成分以原型成分入血的只有 2 个化合物,分别为五味子酯丁、长南酸,五酯胶囊中含量最多的五味子甲素并没有发现在给药血清中存在,推测可能五味子甲素等其他化合物在大鼠体内代谢速率较快,而五味子酯丁、长南酸在大鼠体内代谢速率则较慢。结果显示给药血清中含有 8 个代谢物,代谢物数量较五酯胶囊中成分少,推测可能是给药量不足或采血时间不适合,需要进一步研究明确。结合保留时间、 m/z 、化合物结构以及化合物在体内发生的代谢方式对 8 个代谢物进行分析,发现五酯胶囊中各个化合物的代谢方式主要是通过 I 相代谢反应中的水解反应、去甲基化作用,还有 II 相代谢反应中的葡萄糖醛酸化结合,与文献报道结果一致^[8,10]。

在 UPLC-Q-TOF-MS 法鉴定五酯胶囊中化学成分和大鼠入血成分研究中,本研究建立了五酯胶囊中活性成分和代谢产物的鉴定方法,为该药的质量控制和物质基础研究提供了实验依据,可作为五酯胶囊作用机制的基础,为临床上安全、有效使用五酯胶囊提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Qu J, Bian R, Liu B, et al. The pharmacokinetic study of tacrolimus and Wuzhi capsule in Chinese liver transplant

patients [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 956166.

- [2] 王玮,朱声挥,郭闻渊,等. LC-MS/MS 测定肝移植患者体内他克莫司和五酯胶囊主要成分的方法学建立及应用 [J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(7): 854-859.
- [3] 米丽,李敬超,陆嘉君,等. 五酯胶囊对他克莫司在肝移植患者体内的药代动力学的影响 [J]. 海军医学杂志, 2020, 41(3): 299-302.
- [4] 张俊晓,郑建楠,杨伟光,等. 五酯胶囊增加他克莫司血药浓度治疗特发性膜性肾病的效果 [J]. 中国医科大学学报, 2020, 49(8): 690-693.
- [5] 陈旺宇,节笑笑,陈甜甜,等. 中药血清药物化学研究现状 [J]. 中国医药科学, 2023, 13(4): 26-29.
- [6] 李颖,孟璐,郭彩会,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的五酯胶囊及其入血原型木脂素类成分快速鉴定分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(13): 1299-1304.
- [7] Huang X, Song F R, Liu Z Q, et al. Studies on lignan constituents from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. fruits using high-performance liquid chromatography/ electrospray ionization multiple-stage tandem mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2007, 42(9): 1148-1161.
- [8] 董秋菊. 基于液质联用技术的五味子衍宗方定性分析及五味子体内代谢轮廓研究 [D]. 石家庄: 河北中医学院, 2019.
- [9] Zhang H, Jiang Y, Wu J, et al. Metabolic mapping of *Schisandra sphenanthera* extract and its active lignans using a metabolomic approach based on ultra high performance liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(2): 574-586.
- [10] 于爽,潘艳丽,刘慧宁,等. 基于序贯代谢的五味子入血及脑脊液成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 114-123.
- [11] 李伟,刘亚丽,宋永贵,等. UPLC-Q-TOF-MSE 结合 OPLS-DA 模式快速鉴定南、北五味子化学成分与识别差异标志物 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2212-2218.
- [12] Wang J, Jiang B, Shan Y, et al. Metabolic mapping of *Schisandra chinensis* lignans and their metabolites in rats using a metabolomic approach based on HPLC with quadrupole time-of-flight MS/MS spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(2): 378-388.
- [13] 苏联麟,程雪,季德,等. 基于 UHPLC-QTOF/MS 技术的生、醋五味子醇提物在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中药物原形成分及其代谢产物的分析鉴定 [J]. 药学报, 2016, 51(10): 1600-1608.

【责任编辑 解学星】