

LC-MS/MS 鉴定木兰花碱在大鼠体内外主要代谢产物

魏桂杰¹, 薛宝娟¹, 王宏雅¹, 张 婷¹, 郑 伟¹, 赵 欣^{2*}, 张玉杰^{1*}

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

摘要: 目的 研究木兰花碱在大鼠体内外主要代谢产物及代谢途径。方法 SD大鼠ig木兰花碱(50 mg/kg), 收集0~24 h尿液和粪便, 0~6 h胆汁以及1、2、4、6、8 h血浆; 体外代谢采用肝微粒体温孵系统和肠菌培养液。利用LC-MS/MS对生物样品中的原型药及代谢产物进行鉴定。采用Agilent TC-C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱, 体积流量1.0 mL/min, 柱温30 °C。质谱采用电喷雾电离源(ESI), 正离子采集模式; 扫描范围 m/z 100~1 000。根据药物体内代谢规则, 结合木兰花碱的色谱保留时间和多级质谱碎片离子特征, 推测其代谢产物的结构。结果 给药后生物样品中共鉴定出12个代谢产物, 其中I相代谢产物8个, II相代谢产物4个。主要的代谢途径为羟基化、去甲基化、脱氢作用、酮基化、葡萄糖化、葡萄糖醛酸化及硫酸酯化。结论 木兰花碱在体内可发生I相和II相代谢, 肠道菌群和肝药酶可催化木兰花碱发生I相代谢转化, II相代谢存在于肠道以外部位, 最有可能的部位是肝脏。

关键词: 木兰花碱; 代谢物; 体内外代谢; 肝微粒体; 肠道菌群; 代谢途径

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)01-0031-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.01.005

Identification of major metabolites of magnoflorine *in vivo* and *in vitro* of rats by LC-MS/MS

WEI Guijie¹, XUE Baojuan¹, WANG Hongya¹, ZHANG Ting¹, ZHENG Wei¹, ZHAO Xin², ZHANG Yujie¹

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College Beijing 100193, China

Abstract: Objective To study the main metabolites and metabolic pathway of magnoflorine *in vitro* and *in vivo*. **Methods** SD rats were given magnoflorine by single gavage at a dose of 50 mg/kg. Urine and feces from 0 h to 24 h, bile from 0 h to 6 h, and plasma samples at 1, 2, 4, 6, and 8 h after administration were collected. *In vitro* metabolism was incubated with rat liver microsome and intestinal flora. The metabolites were analyzed and identified by the high-resolution HPLC-MS/MS technique. Chromatographic separation was achieved on Agilent TC-C₁₈ chromatograph column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid - acetonitrile with a flow rate of 1.0 mL/min, and the column temperature was 30 °C. The mass spectra were obtained in positive ion modes with electrospray ionization (ESI), the scanning range was m/z 100 — 1 000. The structures of metabolites were elucidated by the metabolic rules of drugs *in vivo*, and combined with the chromatographic retention time of magnoflorine and the characteristics of fragment ions of MS. **Results** A total of 12 metabolites were identified in each sample, including 8 phase I metabolites and 4 phase II metabolites. The pathways to these metabolites were hydroxylation, demethylation, dehydrogenation, ketoylation, gluconylation, glucuronide conjugation, and sulfation. **Conclusion** Magnoflorine could produce metabolic reaction of phase I and phase II in rat. Intestinal flora and liver drug enzymes could catalyze the phase I metabolism of magnoflorine, and phase II metabolism exists outside the intestine, and the most likely site is the liver.

Key words: magnoflorine; metabolites; *in vivo* and *in vitro* metabolism; liver microsomes; intestinal flora; metabolic pathways

收稿日期: 2020-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(81673680)

第一作者: 魏桂杰(1995—), 女, 在读硕士生, 从事中药代谢动力学研究。E-mail: 954913342@qq.com

*通信作者: 张玉杰, 教授, 博士生导师, 从事中药分析及药物代谢动力学研究。E-mail: zhyj227@126.com

赵 欣, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药药理研究。E-mail: xzhao@implad.ac.cn

木兰花碱(magnoflorine)是一种重要的阿朴啡型生物碱,存在于多种中药中,如酸枣仁、黄柏、厚朴、青风藤等^[1-3]。木兰花碱具有抗炎、抗氧化、抗心律失常、降压、抗生育、降糖、细胞毒性、镇静和抗焦虑^[4-10]等广泛的生物活性,但涉及木兰花碱体内代谢研究相对较少,未见木兰花碱体内外代谢产物研究报道。研究木兰花碱生物体内的代谢过程及代谢产物,对于木兰花碱的开发利用及指导相关药物临床合理用药具有重要的意义。因此本实验利用LC-MS/MS技术,对ig给药木兰花碱后大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便、及体外肝微粒体孵育系统和肠菌培养液中的代谢产物进行分析。

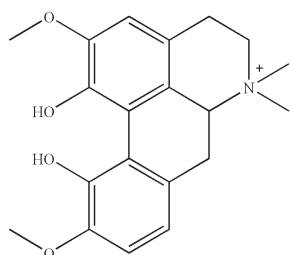


图1 木兰花碱结构式

Fig. 1 Chemical structure of magnoflorine

1 材料

1.1 药品及主要试剂

木兰花碱(批号 MUST-12022901,成都曼斯特生物科技有限公司,质量分数>98%);羧甲基纤维素钠(批号 A0404227,北京伊诺凯科技有限公司);生理盐水购于辰欣药业股份有限公司;乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);甲酸(色谱纯,美国 MREDA 公司);水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

LTQ-Orbitrap 电喷雾液相质谱联用仪(Thermo Scientific, USA);离子源为电喷雾电离源(ESI),Xcalibur 数据处理系统;MTN-2800D 型氮气吹干仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);VORTEX GENIUS 3 漩涡混匀仪(德国 IKA 公司);TGL20M 型高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司)。

1.3 实验动物

SD 大鼠,雄性,体质量(200±20)g,购于斯贝福(北京)实验动物科技有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2011-0004。

2 方法

2.1 木兰花碱 ig 给药供试品溶液的制备

精密称取木兰花碱适量,加入少量生理盐水,

超声(100 W、40 kHz、2 min),再缓缓加入 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)混悬液,超声(100 W、40 kHz、5 min),使混悬均匀,制成木兰花碱质量浓度为 10 mg/mL 的供试品溶液备用。

2.2 测定条件

2.2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:A-乙腈,B-0.1% 甲酸溶液;梯度洗脱(0~5 min, 5%A; 5~10 min, 15%A; 10~20 min, 15%~60%A; 20~21 min, 60%~80%A; 21~25 min, 80%A),体积流量 1.0 mL/min;进样量 10 μL;分流比 4:1;柱温 30 °C。

2.2.2 质谱条件 LTQ-Orbitrap 电喷雾液相质谱联用仪,离子源为 ESI,Xcalibur 数据处理系统;离子源电压 4 000 V;毛细管电压 35 V;管透镜电压 10 V;毛细管温度 350 °C;常压化学电离源(APCI)雾化室温度 300 °C;鞘气体积流量 30 L/min;辅助气体体积流量 10 L/min;正离子采集模式;质量扫描范围 m/z 100~1 000。

2.3 体内代谢实验

2.3.1 样品采集 尿样及粪便的收集:取健康大鼠 6 只,180~220 g,置于代谢笼中,禁食 24 h,自由饮水,收集空白尿样及粪便。以 50 mg/kg 的剂量 ig 木兰花碱 0.5% CMC-Na 供试品溶液,给药后,收集 0~24 h 尿样及粪便,合并,混匀,-80 °C 冷藏备用。

血浆样品采集:按上述方法给药后,分别在 1、2、4、6、8 h 眼眶取血 1 mL,全血样品置已肝素化的试管中,摇匀,4 °C、15 000×g 离心 10 min,上清液合并,混匀,-80 °C 冷藏备用。

胆汁样品采集:按上述方法给药后,以胆管插管法收集胆汁,并随行制备空白对照,连续取样 6 h,4 °C、10 000×g 离心 10 min,上清液合并,混匀,-80 °C 冷藏备用。

2.3.2 样品处理 尿液样品制备:将空白尿液及给药后尿液融化后,4 °C、10 000×g 离心 10 min,上清液减压浓缩至 5 mL 后,加甲醇 30 mL,4 °C 超声(100 W、40 kHz)20 min 提取,4 °C、5 000×g 离心 10 min。上清液减压浓缩至 5 mL,过 0.45 μm 微孔滤膜,进行 LC-MS 分析。

粪便样品制备:将空白粪便及给药后粪便融化后,按 1 g:3 mL 比例加入生理盐水,混匀,4 °C 超声(100 W、40 kHz)30 min 提取,4 °C、15 000×g 离心 10 min,上清液通过 2 mL 甲醇和 2 mL 水活化的固相萃取柱(C₁₈)固相萃取,以蒸馏水 2 mL 冲洗,弃去洗脱液,再以甲醇 1 mL 洗脱,收集洗脱液,洗脱液

37℃氮气吹干,400 μL 甲醇复溶,溶液进样 10 μL 用于 LC-MS 分析。

血浆样品制备:将血浆融化后,加入 2 倍体积的乙腈沉淀蛋白,4℃、15 000×g 离心 10 min,取上清液,37℃氮气吹干,残渣用 400 μL 甲醇复溶。4℃、15 000×g 离心 10 min,取上清液进行 LC-MS 分析。

胆汁样品制备:胆汁融化并各取 2 mL,按照“粪便样品制备”中固相萃取方法处理,上清液用于 LC-MS 分析。

2.4 体外代谢实验

2.4.1 肠菌实验^[11] 取健康大鼠新鲜粪便,与生理盐水按 1 g:3 mL 混匀后,匀浆,4℃、5 000×g 离心 10 min,取 0.5 mL 上清液与 2.5 mL 厌氧培养液混匀,将木兰花碱供试品溶液加至肠菌培养液中至最终质量浓度为 0.108 mg/mL,并随行制备空白对照。37℃水浴振荡温孵 24 h,取出,放冷,4℃、10 000×g 离心 15 min,上清液同“2.3.1”项样品采集中粪便样品制备方法处理,上清液用于 LC-MS 分析。

2.4.2 肝微粒体温孵实验 大鼠肝微粒体制备^[12] 所用试液、用具置于 4℃预冷,大鼠禁食 24 h(自由饮水),25%乌拉坦 ip 麻醉后,迅速打开腹腔,用冰冷 0.9% NaCl 从门静脉内灌洗肝脏至土黄色后,取出肝脏,用滤纸吸取表面残余水分,称质量,剪碎,按 1 g:3 mL 比例加入 0.15 mol/L KCl 缓冲液(pH 7.4),于冰浴中制成匀浆;4℃、10 000×g 离心 20 min,取上清液与 88 mmol/L CaCl₂ 溶液混匀,冰浴 5 min,4℃、15 000×g 离心 20 min,洗涤沉淀 1 次,微粒体以 Tris-蔗糖溶液涡旋混悬,分装冻存于 -80℃。用考马斯亮蓝法测定肝微粒体蛋白浓度。

肝微粒体孵育体系包含终质量浓度为 1.0 mg/mL 的大鼠肝微粒体,0.1 mg/mL 木兰花碱和 1 倍体积的 NADPH 再生系统(相当于终浓度为 1 mmol/L NADPNa₂、20 mmol/L G-6-P、2 U/L G-6-PDH、20 mmol/L MgCl₂)和一定量的 0.15 mol/L KCl 缓冲液,总体积为 800 μL。温孵系统在加入 NADPH 启动系统前,37℃水浴预温孵 5 min,然后加入 NADPH 启动系统启动反应,37℃水浴振荡有氧孵育 1 h,立即加入 2 倍体积的冰冷乙腈终止反应,涡旋混匀后 4℃、15 000×g 离心 10 min,上清液 37℃氮气吹干,残渣加 400 μL 甲醇复溶,4℃、15 000×g 离心 10 min,上清液进行 LC-MS 分析。

3 结果

3.1 木兰花碱的 LC-MS 分析

提取离子流图见图 2。一级全扫描质谱中木兰

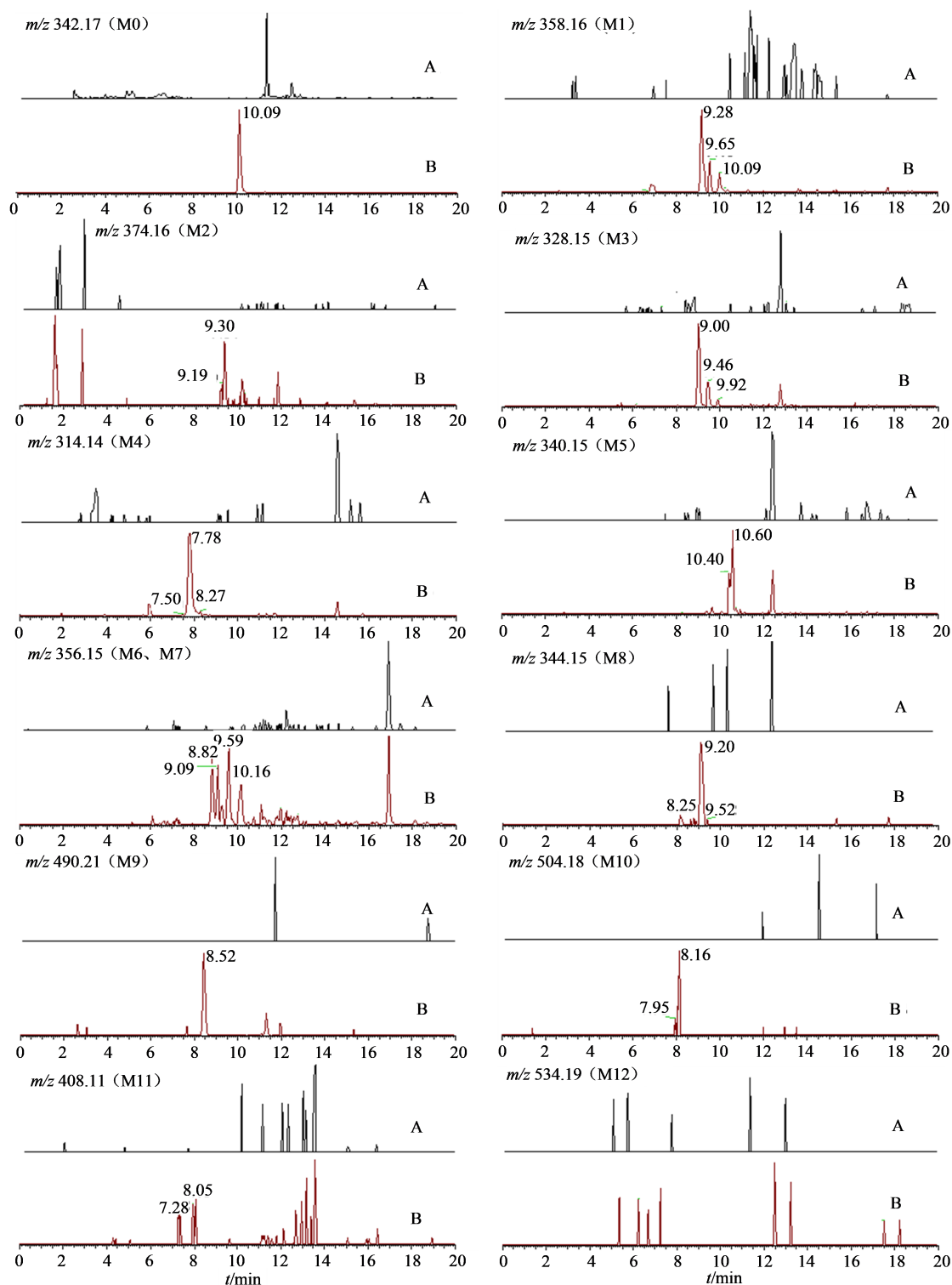
花碱的色谱保留时间为 10.09 min,分子离子峰 m/z 342.17(图 2)为基峰。木兰花碱二级碎片为 m/z 311.16($[M-MeO]^+$)、297.10($[M-C_2H_7N]^+$)、282.12($[M-C_2H_7N-Me]^+$)、265.08($[M-C_2H_7N-MeOH]^+$)、237.07($[M-C_2H_7N-MeOH-CO]^+$)。木兰花碱的特征碎片离子是识别其代谢产物的重要信息。根据药物体内代谢规则,结合木兰花碱的色谱保留时间和多级质谱碎片离子特征,可迅速推测其代谢产物的结构。

3.2 木兰花碱的体内代谢产物分析

药物在生物体内发生的代谢转化反应,其基本骨架结构及亚结构不会发生变化,这是因为药物分子主要进行官能团反应或者是与内源性极性分子发生结合反应等,因此代谢产物具有原药的质谱特征裂解碎片及中性丢失。在正离子检测模式下,将给药后样品与空白样品的一级全扫描质谱进行对比分析,寻找原药可能的 I 相和 II 相代谢产物,然后分析这些代谢产物的分子离子的多级质谱,进一步结合药物在生物体内的一般代谢规律,以推测各代谢产物的结构。

大鼠给药后的尿液中鉴定出 11 个代谢产物,包括 8 个 I 相代谢产物(M1~M8),3 个 II 相代谢产物(M9~M11);粪便中鉴定出 7 个 I 相代谢产物(M1~M7),没有找到 II 相代谢产物;血浆中鉴定出 7 个代谢产物,包括 6 个 I 相代谢产物(M1~M4、M6、M7)和 1 个 II 相代谢产物 M10;胆汁中共鉴定出 9 个代谢产物,其中包括 6 个 I 相代谢产物(M1~M3、M5~M7)和 3 个 II 相代谢产物(M10~M12);菌肠培养结果显示木兰花碱在肠菌作用下可发生部分 I 相代谢转化;从体外肝微粒体温孵实验中得到的代谢产物与尿、粪便、胆汁和血液等检测结果基本一致。见表 1。

M1(m/z 358.16)和 M2(m/z 374.16)同它们相应的二级碎片离子相对分子质量比 M0(m/z 342.17)分别多 16 和 32。因此推测代谢产物 M1 和 M2 分别为木兰花碱一羟基化和二羟基化的产物。M3(m/z 328.15)和 M4(m/z 314.14)相对分子质量分别比 M0(m/z 342.17)少 14、28,由此可推测 M3 和 M4 分别为木兰花碱一脱甲基和二脱甲基的代谢产物。M5(m/z 340.15)同它的主要碎片离子 m/z 309.15、295.07、280.15、263.03、235.20 相对分子质量比 M0 少 2,因此 M5 是木兰花碱脱氢代谢产物。M6(m/z 356.15)和 M7(m/z 356.15)为同分异构体,M6 位置异构体的保留时间分别为 8.81、9.09、9.95 min,其极



A-空白样品;B-给药样品

A-blank sample; B-administration sample

图2 大鼠尿中木兰花碱及其代谢产物的提取离子色谱图

Fig. 2 Extracted ion chromatogram (EIC) of magnoflorine and its metabolites in rat urine

性大于M0;M7保留时间为10.05 min,其极性小于M0,因此推测M6为M5的一羟基化代谢产物,M7为M0酮基化代谢产物。M8(m/z 344.15)相对分子质量比M3(m/z 328.15)多16,因此推测M8为M3一羟基

化代谢产物。M9(m/z 490.21)相对分子质量比M3(m/z 328.15)多162,因此推测M9为代谢产物M3加一葡萄糖的代谢产物。M10(m/z 504.18)相对分子质量比M3(m/z 328.15)多176,因此推测M10为

表1 木兰花碱及其代谢物的HPLC-MS/MS鉴定

Table 1 Identification of magnoflorine and its metabolites by HPLC-MS/MS

代谢物	分子式	t_R/min	m/z		代谢途径	检查标本					
			$[M]^+$	主要碎片离子		A	B	C	D	E	F
M0	$C_{20}H_{24}NO_4$	10.09	342.17	311.16、297.10、282.12、265.06、237.07	母体药物	+	+	+	+	+	+
M1	$C_{20}H_{24}NO_5$	9.28、9.65、10.09	358.16	313.09、298.13、280.99、253.05	一羟基化	+	+	+	+	+	+
M2	$C_{20}H_{24}NO_6$	9.19、9.30	374.16	329.24、297.04	二羟基化	+	+	+	+	+	—
M3	$C_{19}H_{22}NO_4$	9.00、9.46、9.92	328.15	297.09、83.04、265.07、251.09	一脱甲基	+	+	+	+	+	+
M4	$C_{18}H_{20}NO_4$	7.50、7.78、8.27	314.14	297.14、283.05、269.03、265.06、251.07	二脱甲基	+	+	+	—	—	—
M5	$C_{20}H_{22}NO_4$	10.40、10.60	340.15	309.15、295.07、280.15、263.03、235.20	脱氢	+	+	—	+	+	—
M6	$C_{20}H_{22}NO_5$	8.82、9.09、9.59、10.16	356.15	325.14、311.09、296.13、279.05	M5一羟基化	+	+	+	+	+	—
M7	$C_{20}H_{22}NO_5$	8.82、9.09、9.59、10.16	356.15	325.14、311.09、296.13、279.05	酮基化	+	+	+	+	+	—
M8	$C_{19}H_{22}NO_5$	8.25、9.20、9.52	344.15	313.13、299.13、284.10、267.07	M3一羟基化	+	—	—	—	+	—
M9	$C_{25}H_{32}NO_9$	8.52	490.21	328.18、283.08、251.11	M3加一葡萄糖	+	—	—	—	—	—
M10	$C_{25}H_{30}NO_{10}$	7.95、8.16	504.18	328.14、297.19、283.09、251.06	M3加一葡萄糖醛酸	+	—	+	+	—	—
M11	$C_{19}H_{22}NO_7S$	7.28、8.05	408.11	328.16、283.09	M3加一硫酸酯化	+	—	—	+	—	—
M12	$C_{26}H_{32}NO_{11}$	8.02、8.86	534.19	358.16、313.11	M1加一葡萄糖醛酸	—	—	—	+	—	—

A-尿;B-粪便;C-血浆;D-胆汁;E-肝微粒体温孵系统;F-肠菌培养液;+检测到;—未检测到;M0-木兰花碱

A-urine; B-feces; C-plasma; D-bile; E-liver microparticle temperature incubation system; F-enterobacteriaceae culture medium; + - detected; — not detected; M0 - magnoliamine

代谢产物M3加一葡萄糖醛酸的代谢产物。M11(m/z 408.11)相对分子质量比M3(m/z 328.15)多80,因此推测M11为代谢产物M3加一硫酸酯化的代谢产物。M12(m/z 534.19)相对分子质量比M1(m/z 358.16)多176,且M12的主要碎片离子为 m/z 358.16和313.11,因此推测M12为代谢产物M1加一葡萄糖醛酸的代谢产物。

3.3 代谢途径分析

木兰花碱在体内主要发生I、II相代谢,主要的代谢途径包含:羟基化(M1、M2、M6、M8)、去甲基化(M3、M4)、脱氢作用(M5)、酮基化(M7)、葡萄糖化(M9)、葡萄糖醛酸化(M10、M12)及硫酸酯化(M11)。木兰花碱在体内的代谢途径如图3。

4 讨论

本研究首次鉴定了大鼠ig木兰花碱后尿液、粪便、血浆、胆汁、肝微粒体温孵系统和肠菌培养液中的代谢产物。实验根据木兰花碱电喷雾质谱的电离和裂解规律,由木兰花碱的特征碎片及特征中性丢失为依据,通过LC-MS数据鉴别代谢产物,完全可以排除内源性物质的干扰。

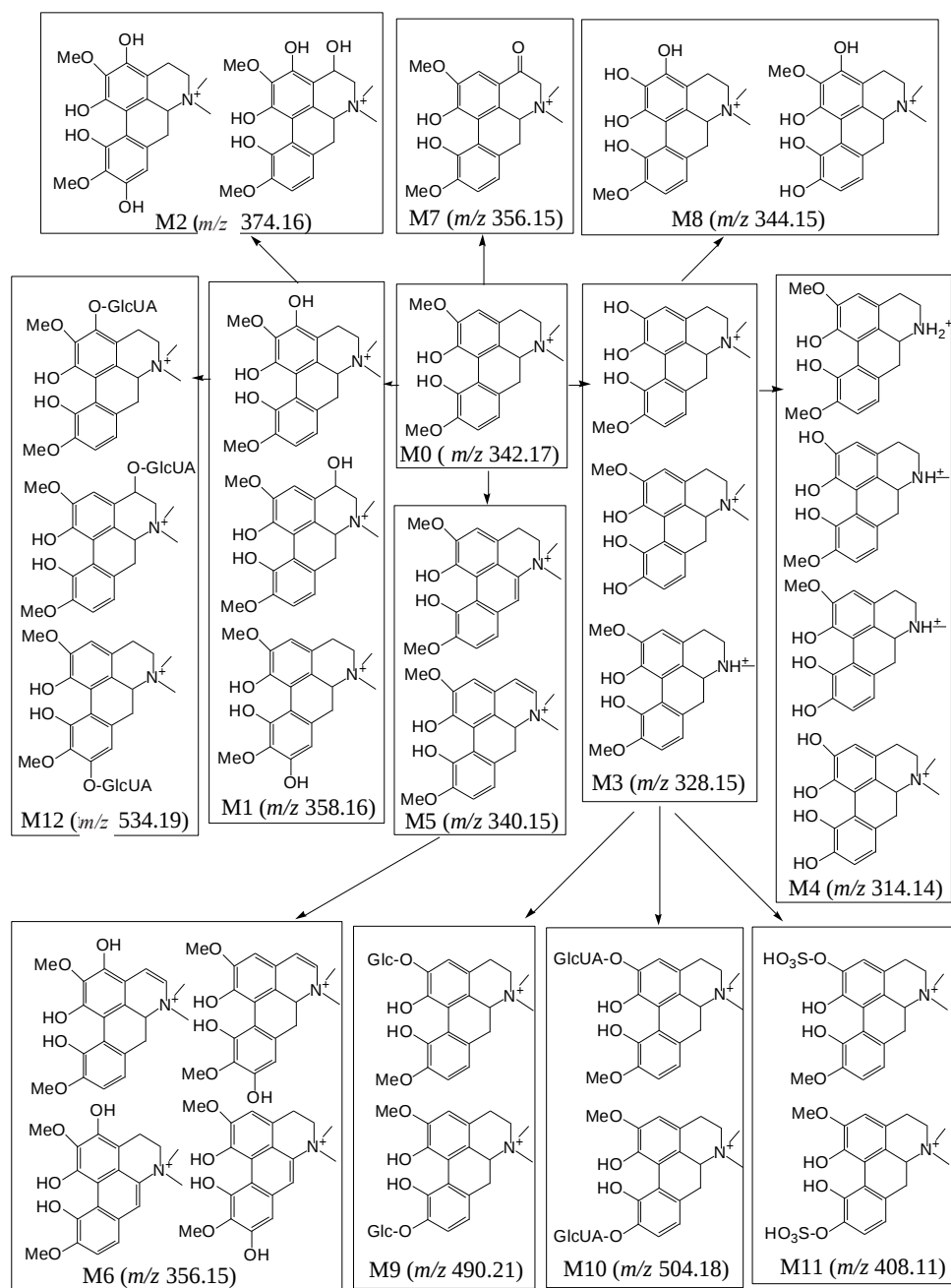
木兰花碱的体内代谢结果表明,在ig木兰花碱后大鼠血浆中鉴定出原药及7个代谢产物,胆汁中鉴定出原药及9个代谢产物,尿液中鉴定出原药及11个代谢产物,粪便中鉴定出原药及7个代谢产物,主要的代谢途径为羟基化、去甲基化、脱氢作用、酮

基化、葡萄糖化、葡萄糖醛酸化及硫酸酯化。菌肠培养结果显示木兰花碱在肠菌作用下可发生部分I相代谢转化;从体外肝微粒体温孵实验中得到的代谢产物与尿、粪便、胆汁和血液等检测结果基本一致。综上所述,肠道菌群和肝药酶可催化木兰花碱发生I相代谢转化。由于除了粪便,在尿、胆汁和血液中均检测到木兰花碱的II相代谢产物,说明II相代谢存在于肠道以外部位,最有可能的部位是肝脏。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 曹冰雁, 刘艺洁, 武莉莉, 等. 木兰花碱减轻慢性应激小鼠抑郁样行为及对脑部LSD1组蛋白修饰的影响[J]. 天津医药, 2019, 47(4): 391-394, 450.
Cao B Y, Liu Y J, Wu L L, et al. The effects of magnoflorine on depression-like behavior in chronic unpredictable mild stress mice and its effect on LSD1 modification in brain[J]. Tianjin Med J, 2019, 47(4): 391-394, 450.
- [2] 邱全玉, 邱昆成, 孙振刚, 等. LC-MS/MS同时测定配伍知母对黄柏中5种成分含量的影响[J]. 中药材, 2017, 40(12): 2884-2887.
Qiu Q Y, Qiu K C, Sun Z G, et al. Simultaneous determination of five components in *Cortex Phellodendri* after combined with *Anemarrhena asphodeloides* by LC-MS/MS[J]. J Chin Med Mater, 2017, 40(12): 2884-2887.



Glc-葡萄糖; GlcUA-葡萄糖醛酸

Glc-glucose; GlcUA-glucuronic acid

图3 木兰花碱在大鼠体内的代谢途径

Fig. 3 Proposed metabolic pathway of magnoflorine in rat

- [3] 关 皎, 于洋洋, 冯 波, 等. UFLC法同时测定厚朴中4个活性成分的含量 [J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(8): 102-105.
Guan J, Yu Y Y, Feng B. Simultaneous determination of four active components in *Magnoliae Officinalis Cortex* by UFLC [J]. Chin J Vet Med, 2018, 54(8): 102-105.
- [4] Hung T M, Na M K, Min B S, et al. Protective effect of magnoflorine isolated from *Coptidis rhizoma* on Cu²⁺-induced oxidation of human low density lipoprotein [J]. Planta Med, 2007, 73(12): 1281-1284.
- [5] 吕 莹, 牛英鹏, 曲天敏, 等. 木兰花碱消除运动性疲劳的机理

[J]. 郑州大学学报: 自然科学版, 2001, 33(4): 77-81.

LÜ Ying, Niu Y P, Qu T M. Mechanism on magnoflorine against sport fatigue [J]. J Zhengzhou Univ: Med Sci, 2001, 33(4): 77-81.

- [6] Chen J H, Du Z Z, Shen Y M, et al. Aporphine alkaloids from *Clematis parviloba* and their antifungal activity [J]. Arch Pharm Res, 2009, 32(1): 3-5.

- [7] Patel M B, Mishra S M. Magnoflorine from *Tinospora cordifolia* stem inhibits α -glucosidase and is antiglycemic in rats [J]. J Funct Foods, 2012, 4(1): 79-86.

- [8] Patel M B, Mishra S. Isoquinoline alkaloids from *Tinospora cordifolia* inhibit rat lens aldose reductase [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(9): 1342-1347.
- [9] Mohamed S M, Hassan E M, Ibrahim N A. Cytotoxic and antiviral activities of aporphine alkaloids of *Magnolia grandiflora* L. [J]. *Nat Prod Res*, 2010, 24(15): 1395-1402.
- [10] de la Peña J B, Lee H L, Yoon S Y, et al The involvement of magnoflorine in the sedative and anxiolytic effects of *Sinomeni Caulis et Rhizoma* in mice [J]. *J Nat Med*, 2013, 67(4): 814-821.
- [11] 孙桂霞, 赵园园, 苗培培, 等. 黄芪甲苷的生物样品稳定性考察及在大鼠体外肠菌中代谢转化研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(21): 4258-4264.
- Sun G X, Zhao Y Y, Miao P P, et al. Stability study in biological samples and metabolites analysis of astragaloside IV in rat intestinal bacteria *in vitro* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2014, 39(21): 4258-4264.
- [12] 鲁艳柳, 黄思, 汪敏, 等. UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 技术鉴定石斛碱在人肝微粒体中的代谢产物 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(4): 72-77.
- Lu Y L, Huang S, Wang M, et al. Identification of metabolites of dendrobine in human liver microsomes by UPLC /LTQ-Orbitrap-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2018, 24(4): 72-77.

[责任编辑 兰新新]