

腰痹通胶囊在大鼠尿液和胆汁中主要代谢产物的鉴定

高霞^{1,2}, 耿婷^{1,2}, 曹雨虹^{1,2}, 黄文哲^{1,2}, 王振中^{1,2}, 萧伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要:目的 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 研究腰痹通胶囊在大鼠尿液和胆汁中的代谢产物, 并归纳主要代谢途径。方法 通过空白对照法寻找尿液和胆汁中可能的代谢产物, 依据所获得的精确相对分子质量和二级碎片离子对代谢产物进行推测。结果 在正、负离子模式下尿液中共检测到 31 个代谢产物, 胆汁中共检测到 35 个代谢产物, 主要为藁本内酯、3-丁基苯酞、蛇床子素、洋川芎内酯 A、川芎内酯 A、大黄素、紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二氢山芹醇、紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱、紫堇鳞茎碱或异紫堇鳞茎碱或元胡菲碱、别隐品碱、阿魏酸、隐绿原酸、当归醇类等化合物的 I 相或 II 相代谢产物, 主要代谢途径为内酯环水解、羟基化、去甲基、脱水、脱氢、脱羟基、氢化、甲基化、甲基氧化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化、N-乙酰半胱氨酸结合、半胱氨酸结合、半胱氨酸-甘氨酸结合、谷胱甘肽结合等。此外, 胆汁中检测到 3 个原型成分, 即芍药苷、芍药内酯苷和人参皂苷 Rg₁。结论 建立的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 方法能够分析出腰痹通胶囊在大鼠尿液和胆汁中的代谢产物, 初步阐明了腰痹通胶囊的体内代谢特征, 为腰痹通胶囊在体内发挥疗效的药效物质基础研究提供了依据。

关键词: 腰痹通胶囊; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 代谢产物; 藁本内酯; 3-丁基苯酞; 蛇床子素; 洋川芎内酯 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)21-4403-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.21.007

Identification of metabolites of Yaobitong Capsule in rat urine and bile after intragastric administration

GAO Xia^{1,2}, GENG Ting^{1,2}, CAO Yu-hong^{1,2}, HUANG Wen-zhe^{1,2}, WANG Zhen-zhong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Modern Chinese Medicine Institute, Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective The main metabolites of Yaobitong Capsule (YC) in rat urine and bile were investigated by UPLC-Q-TOF-MS/MS, and their major metabolic pathways were summarized. **Methods** To compare with the control samples, the possible metabolites were found. Their structures were speculated by exact mass and fragment ions. **Results** YC had 31 metabolites in urine and 35 metabolites in bile under positive and negative ion mode. They were mainly the metabolites of ligustilide, 3-butyl-phthalide, osthole, senkyunolide A, sankyunolide A, emodin, decursinol/marmesin/columbianetin, corypalmine/ isocorypalmine, corybulbine/isocorybulbine/coryphenanthrine, allocryptopine, ferulic acid, cryptochlorogenic acid, angelol and so on. Their major metabolic pathways included hydrolysis of the lactone ring, hydroxylation, demethylation, dehydration, dehydrogenation, dehydroxylation, hydrogenation, methylation, methyl oxidation, glucuronidation, sulphate-binding, N-acetylcysteine-binding, cysteine-binding, cysteinyl acid-glycine-binding, glutathione-binding and so on. In addition, three prototype components, namely paeoniflorin, albiflorin, and ginsenosides Rg₁, were detected in rats' bile. **Conclusion** The established UPLC-Q-TOF-MS/MS method can analyze the metabolites of YC capsule in rat urine and bile. The *in vivo* metabolic characteristics of YC have been initially clarified. The results provide a foundation for elucidating the *in vivo* efficacy ingredients of YC.

Key words: Yaobitong Capsule; UPLC-Q-TOF-MS/MS; metabolites; ligustilide; 3-butyl-phthalide; osthole; senkyunolide A

腰痹通胶囊是由三七、川芎、延胡索、白芍、牛膝、狗脊、熟大黄、独活 8 味中药饮片组方而成。其具有活血化瘀、祛风除湿、行气止痛等功效。临床研究表明, 腰痹通胶囊在治疗腰椎间盘突出症、

收稿日期: 2017-05-18

基金项目: 科技部重大新药创制: 现代中药创新集群与数字制药技术平台 (2013ZX09402203)

作者简介: 高霞 (1989—), 女, 硕士, 研究方向为中药药物代谢研究。Tel: 15380921879 E-mail: gaoxia0218@163.com

*通信作者 萧伟 (1959—), 男, 博士生导师, 研究员级高级工程师, 研究方向为中药新药的研究与开发。

Tel: (025)86587935 E-mail: kanionxw2010@126.com

强直性脊柱炎等骨关节疾病疗效显著,能有效缓解病人疼痛症状,减轻炎症反应^[1-2]。结合文献和课题组前期研究,发现腰痹通胶囊中主要含有皂苷类^[3-6]、藁本内酯^[7]、3-丁基苯酞^[7]、洋川芎内酯A^[7]、川芎内酯A^[7]、延胡索甲素^[8]、延胡索乙素^[8]、芍药苷^[9]、芍药内酯苷^[9]、蛇床子素^[10]、大黄素^[11]、别隐品碱、阿魏酸、隐绿原酸、紫花前胡醇或紫花前胡苷元或

二氢山芹醇羟基化^[10]、紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱、紫堇鳞茎碱或延胡宁或异紫堇鳞茎碱或元胡菲碱^[7]、当归醇类等化学成分,部分结构见图1。而其给药后在大鼠体内的代谢过程研究尚未见文献报道。此外,UPLC-Q-TOF-MS/MS具有高效、快速和准确的特点,已逐渐成为中药复杂成分体内代谢研究的有效分析方法^[12]。

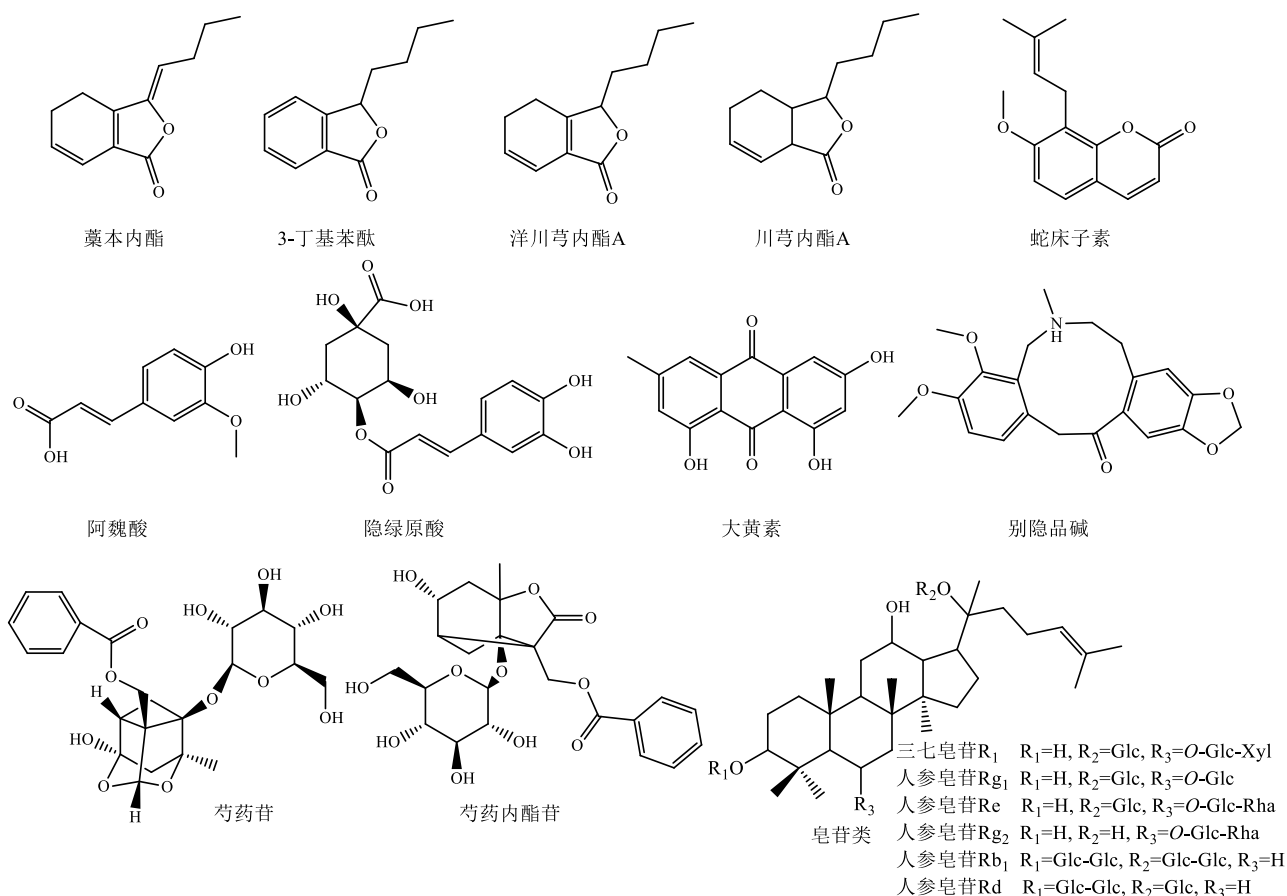


图1 腰痹通胶囊中主要成分的化学结构

Fig. 1 Structures of main components in Yaobitong Capsule

本研究在大鼠 ig 给予腰痹通胶囊后收集尿液和胆汁,采用空白对照法和 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术寻找可能的代谢产物,并推测可能的代谢转化途径,为研究腰痹通胶囊的药效物质基础提供支持。

1 仪器与试药

1.1 实验仪器

Agilent 1290 infinity 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪(美国安捷伦公司),HSC-24A 型氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司);超低温冰箱(海尔公司);XW-80A 型微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公

司);Centrifuge 5424 型高速离心机(德国 eppendorf 公司);Mettler AE 240 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);Waters OASIS HLB 固相萃取小柱(美国沃特世公司)。

1.2 试剂与试药

腰痹通胶囊(江苏康缘药业股份有限公司,批号 141211 09774),甲酸、乙腈为色谱纯,水为纯化水,其余为分析纯。

1.3 实验动物

SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 200~250 g,购于青龙山动物繁殖场,许可证编号 20100002603360。

2 方法

2.1 给药样品溶液的制备

取腰痹通胶囊内容物, 研成粉末, 加入 0.5% 羧甲基纤维素钠制成 0.4 g/mL 的混悬液。

2.2 生物样品的采集

2.2.1 尿液样品 取 SD 大鼠 6 只, 置于代谢笼中, 给药前禁食 12 h (自由饮水), 按 5.4 g/kg ig 给予腰痹通样品溶液, 收集给药前 0~6 h 和给药后 0~12 h 的尿液, 12 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 置于-80 °C 冷冻保存, 待测。

2.2.2 胆汁样品 取 SD 大鼠 12 只, 随机分为空白组和给药组, 每组 6 只。给药前禁食 12 h (自由饮水), 将其用乌拉坦麻醉后固定, 实施胆管插管手术, 给药组按 5.4 g/kg ig 给予腰痹通样品溶液, 收集给药 0~6 h 的胆汁样品, 12 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 置于-80 °C 冷冻保存, 待测。

2.3 生物样品的处理

2.3.1 尿液样品 取空白尿液样品、给药后尿液样品各 6 mL, 置于 10 mL 离心管中, 减压浓缩至 1~2 mL, 加入 6 mL 甲醇沉淀除盐, 12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 氮气吹至约 200 μ L, 加入 1 mL 水超声溶解, 上 HLB 固相萃取小柱 (预处理: 用甲醇清洗 2 次, 每次 1 mL; 用水清洗 2 次, 每次 1 mL 活化处理), 加水洗涤 2 次, 每次 1 mL, 弃去水液, 再加甲醇洗脱 3 次, 每次 1 mL, 收集甲醇液, 于 40 °C 水浴中氮气吹干。残留物加 200 μ L 50% 乙腈复溶, 12 000 r/min 离心 10 min, 离心 2 次, 进行 LC-MS 测定。

2.3.2 胆汁样品 取空白大鼠胆汁样品和给药后胆汁样品各 1 mL, 上已预处理的 HLB 固相萃取小柱, 加水洗涤 2 次, 每次 1 mL, 弃去水液, 再加甲醇洗脱 3 次, 每次 1 mL, 收集甲醇液, 于 40 °C 水浴中氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈沉淀蛋白, 12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 于 40 °C 水浴中氮气吹干, 用 200 μ L 50% 乙腈复溶, 12 000 r/min 离心 10 min, 离心 2 次, 进行 LC-MS 测定。

2.4 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析条件

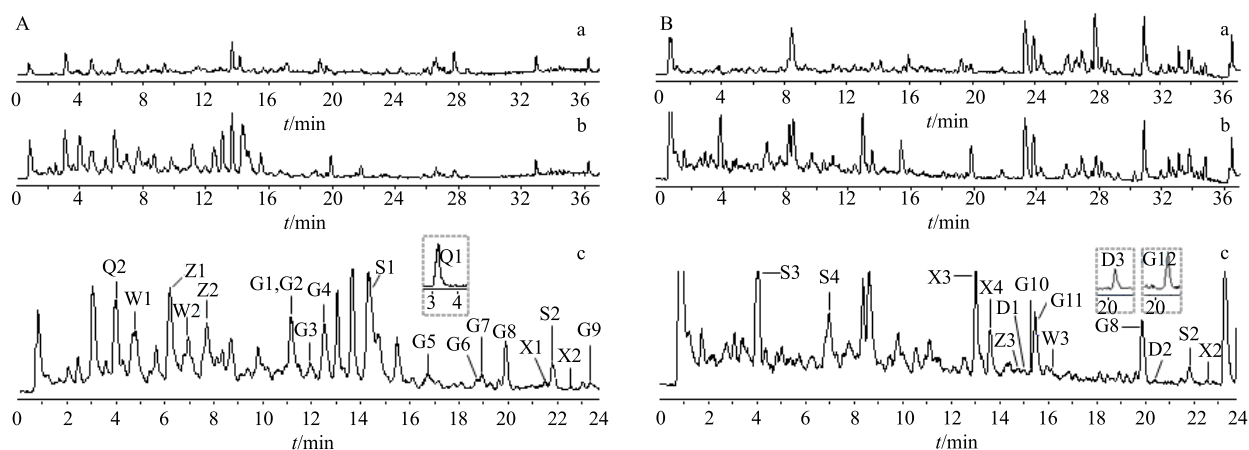
2.4.1 UPLC 检测条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~24 min, 10%~37% B; 24~34 min, 37%~100% B; 34~35 min, 100% B; 柱温 30 °C; 体积流量 0.4 mL/min。

2.4.2 MS 检测条件 ESI 离子源, 干燥气体积流量 8.0 L/min; 干燥气温度 350 °C; 雾化压力 276 kPa; Skimmer: 65 V; OCT 1 KF Vpp: 750 V; 正离子模式: 毛细管电压 4 000 V, 裂解电压 100 V; 负离子模式: 毛细管电压 3 500 V, 裂解电压 135 V; 碰撞能量分别设定为 10、15、20、25、30 V; 离子扫描范围为 m/z 100~3 000; 图谱采集频率: 1.5 spec/s。

3 结果与分析

3.1 尿液中可能代谢产物分析

采用甲醇沉淀并过固相萃取小柱法对空白尿液样品和给药后尿液样品分别进行处理, 分别在正、负离子模式下测定一级和二级质谱, 总离子流图见图 2。



A-负离子模式 B-正离子模式 a-空白尿液样品 b-给药尿液样品 c-给药尿液样品的局部放大图 (虚线框中为无法标出的产物的 EIC 图)
A-negative ion mode B-positive ion mode a-blank urine sample b-administrated urine sample c-partial enlarged view of administrated urine sample (the dotted box is the EIC graph of the unlabeled metabolites)

图 2 腰痹通胶囊在大鼠尿液中的代谢产物的总离子流图

Fig. 2 Total ion-current chromatograms of metabolites of Yaobitong Capsule in rat urine sample

结果发现,给药后尿液样品中共检测到 31 个可能代谢物(未检测到原型药物),且空白组中无干扰。其中负离子模式下检测到 19 个可能代谢物,正离子模式下检测到 15 个代谢物,其中有 3 个代谢产物在正、负离子模式下均能检测到。

从表 1 中可知,尿液样品中主要检测到了藁本内酯、3-丁基苯酞、蛇床子素、洋川芎内酯 A、川芎内酯 A、大黄素、紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二氢山芹醇、阿魏酸和隐绿原酸等化学成分的代谢产物。

表 1 腰痛通胶囊在大鼠尿液和胆汁中的可能代谢产物

Table 1 Possible metabolites of Yaobitong Capsule in rats urine sample and bile sample

编号	t_R/min	分子式	选择离子	m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片	可能代谢产物或代谢途径	来源
G1	11.065	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	301.038 2	1.81	221.081 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 177.092 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CO}_2]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环水解、羟基化、脱氢后硫酸酯化	尿液
G2	11.131	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	285.043 2	2.21	205.086 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 176.047 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_2\text{H}_5]^-$, 161.097 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CO}_2]^-$, 149.096 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-2\text{CO}]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环水解、脱氢后硫酸酯化	尿液
G3	11.897	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	269.049 6	-2.53	161.097 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}]^-$, 109.065 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9-\text{C}_7\text{H}_7]^-$	3-丁基苯酞或藁本内酯的硫酸酯化	尿液
G4	12.464	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.027 9	0.99	203.071 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 159.080 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CO}_2]^-$, 147.081 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-2\text{CO}]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环水解、连续脱氢后硫酸酯化	尿液
G5	16.761	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	315.054 6	-0.64	235.096 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的去甲基、连续羟基化后硫酸酯化	尿液
G6	18.671	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.027 6	-0.38	203.070 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 160.016 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环水解、连续脱氢后硫酸酯化	尿液
G7	18.893	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	205.084 4	-0.67	161.096 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 148.017 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{HO}_2]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的羟基化	尿液
G8	19.847	$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	352.122 4	-3.08	189.090 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的 <i>N</i> -乙酰半胱氨酸结合物	尿液、胆汁
			$[\text{M}-\text{H}]^-$	350.103 8	0.82	221.062 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^-$, 177.072 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3-\text{CO}_2]^-$		
G9	23.345	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	203.070 5	4.25	174.029 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_3]^-$, 160.015 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7]^-$, 145.026 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5-\text{CH}_3]^-$, 132.020 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7-\text{CO}]^-$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的羟基化、脱氢	尿液
G10	15.230	$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	354.137 4	-1.22	312.128 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 266.120 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 191.106 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}]^+$, 164.035 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环水解、脱羟基后 <i>N</i> -乙酰半胱氨酸结合物	尿液、胆汁
G11	15.430	$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	370.132 9	-2.75	328.121 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 241.088 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 207.101 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环水解后 <i>N</i> -乙酰半胱氨酸结合物	尿液、胆汁
G12	20.619	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	205.088 2	-11.17	159.080 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 144.055 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的羟基化、脱氢	尿液

续表 1

编号	t_{R}/min	分子式	选择离子	m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片	可能代谢产物或代谢途径	来源
G13	7.386	$\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	330.137 9	-2.83	313.115 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}]^+$, 241.088 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2]^+$, 209.117 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}]^+$, 191.107 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 163.112 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解、氢化后半胱氨酸结合物	胆汁
G14	8.271	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	516.200 3	1.41	441.168 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2]^+$, 387.157 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 370.126 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_4]^+$, 284.130 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}]^+$, 209.117 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解后谷胱甘肽结合物	胆汁
G15	8.431	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	385.142 9	-0.30	282.116 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5\text{NOS}]^+$, 207.101 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}]^+$, 179.048 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}-\text{CO}]^+$, 162.021 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}-\text{CO}-\text{OH}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解后半胱氨酸-甘氨酸结合物	胆汁
G16	8.655	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	516.199 1	3.74	441.170 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2]^+$, 387.157 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 370.129 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_4]^+$, 284.131 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解后谷胱甘肽结合物	胆汁
G17	8.740	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	385.143 7	-2.39	367.124 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 282.116 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_4\text{NOS}]^+$, 207.101 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}]^+$, 162.021 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}-\text{COOH}]^+$, 123.045 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}-\text{COOH}-\text{C}_3\text{H}_3]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解后半胱氨酸-甘氨酸结合物	胆汁
G18	8.837	$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	328.122 9	-4.83	282.115 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$, 207.102 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解后半胱氨酸结合物	胆汁
G19	9.786	$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	514.183 8	3.07	439.155 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2]^+$, 385.142 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 282.117 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}]^+$, 207.102 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解、脱氢后谷胱甘肽结合物	胆汁
G20	12.966	$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	496.176 2	-2.80	421.142 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2]^+$, 367.131 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 308.091 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3-\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2]^+$, 189.091 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞脱氢后谷 胱甘肽结合物	胆汁
G21	15.930	$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	354.137 7	-2.07	312.128 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 191.106 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}]^+$, 163.112 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}-\text{C}_2\text{H}_3]^+$, 122.026 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}-\text{C}_2\text{H}_3-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$	藁本内酯或 3-丁基苯酞的内酯环 水解、脱羧基后 <i>N</i> -乙酰半胱氨酸 结合物	胆汁
S1	14.285	$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	309.041 9	-4.64	229.086 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 174.030 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_3\text{H}_3\text{O}]^-$	蛇床子素去甲基后硫酸酯化	尿液、 胆汁
S2	21.791	$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	229.086 8	0.95	214.062 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 174.032 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_3\text{O}]^-$	蛇床子素去甲基	尿液
			$[\text{M}+\text{H}]^+$	231.100 8	-1.36	190.093 35 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5]^+$, 175.038 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5-\text{CH}_3]^+$, 147.044 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$		

续表 1

编号	t_R/min	分子式	选择离子	m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片	可能代谢产物或代谢途径	来源
S3	4.004	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	295.117 5	0.39	206.057 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-2\text{CH}_3-\text{CH}_2]^+$, 191.033 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-3\text{CH}_3-\text{CH}_2]^-$	蛇床子素内酯环水解、双键形成 二氢二醇	尿液
S4	6.936	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	295.117 6	0.05	206.057 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-2\text{CH}_3-\text{CH}_2]^+$, 191.034 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-3\text{CH}_3-\text{CH}_2]^+$	蛇床子素内酯环水解、双键形成 二氢二醇	尿液、 胆汁
S5	11.224	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_9$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	405.118 5	1.49	229.086 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^-$	蛇床子素去甲基后葡萄糖醛酸化	胆汁
S6	12.304	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.133 9	-0.58	339.199 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}-\text{C}_3\text{H}_3\text{O}]^+$, 243.101 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 189.053 2 $[\text{M}+\text{H}-$ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{C}_3\text{H}_3\text{O}]^+$	蛇床子素脱氢后葡萄糖醛酸化	胆汁
X1	21.502	$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	213.113 1	0.62	169.122 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	川芎内酯 A 的内酯环水解、去甲 基并羟基化	尿液
X2	22.546	$\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	356.152 9	2.29	227.109 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^-$	川芎内酯 A 的内酯环水解后 N- 乙酰半胱氨酸 S-结合成酯	尿液
			$[\text{M}+\text{H}]^+$	358.168 9	-1.76	316.158 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 299.132 7 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}]^+$		
X3	13.009	$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_6\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	372.147 1	1.17	330.136 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 284.131 2 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 243.104 4 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 209.116 3 $[\text{M}+\text{H}-$ $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}]^+$	洋川芎内酯 A 内酯环水解后 N- 乙酰半胱氨酸结合物	尿液
X4	13.575	$\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_6\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	374.164 0	-2.18	332.151 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 314.142 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	川芎内酯 A 内酯环水解后 N-乙酰 半胱氨酸结合物	尿液
D1	14.952	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	301.109 6	-8.50	283.096 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 255.104 5 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	大黄素连续甲基化、氢化	尿液
D2	20.382	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	301.071 2	-1.32	283.057 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 255.067 3 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 238.166 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-$ $\text{CO}-\text{OH}]^+$, 197.130 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-$ $\text{CO}-\text{OH}-\text{C}_3\text{H}_3]^+$	大黄素羟基化、甲基化	尿液
D3	20.369	$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	285.039 5	-0.48	241.049 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$, 239.030 6 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 213.052 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-\text{CO}]^+$	大黄素甲基氧化成醛	尿液
Z1	6.201	$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	325.037 6	3.52	245.081 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二 氢山芹醇的硫酸酯化	尿液
Z2	7.667	$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	325.038 0	2.29	245.081 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二 氢山芹醇的硫酸酯化	尿液
Z3	14.752	$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	263.091 8	-1.53	245.083 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 217.086 0 $[\text{M}+\text{H}-$ $\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 189.089 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$	紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二 氢山芹醇羟基化	尿液
Z4	3.528	$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NO}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	516.189 2	-3.25	473.704 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_3\text{O}]^-$, 340.152 1 $[\text{M}-\text{H}-$ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^-$, 289.642 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{C}_4\text{H}_3]^-$, 242.782 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{C}_5\text{H}_6\text{O}]^-$	紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱葡萄糖 醛酸化	胆汁
			$[\text{M}+\text{H}]^+$	518.201 7	0.72	342.170 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 282.053 4 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CH}_3-\text{COOH}]^+$		

续表 1

编号	t_R/min	分子式	选择离子	m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片	可能代谢产物或代谢途径	来源
Z5	5.668	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	420.110 8	3.43	325.136 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_3]^-$, 310.112 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-2\text{CH}_3]^-$, 282.089 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-2\text{CH}_3-\text{CO}]^-$, 282.089 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-2\text{CH}_3-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$	紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱硫酸酯化	胆汁
Z6	6.387	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	420.112 9	-1.55	340.156 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 325.136 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_3]^-$, 308.118 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_3-\text{OH}]^-$, 277.652 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_3-\text{OH}-\text{C}_3\text{H}_5]^-$	紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱硫酸酯化	胆汁
Z7	7.098	$\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{NO}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	530.205 5	-4.39	470.301 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{COOH}-\text{CH}_3]^-$, 354.172 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^-$, 310.009 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}_2]^-$	紫堇磷茎碱或延胡宁或异紫堇磷茎碱或元胡菲碱葡萄糖醛酸化	胆汁
Z8	4.785	$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NO}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	518.202 2	-0.25	356.186 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 342.169 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 280.047 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$	紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱葡萄糖醛酸化	胆汁
Z9	4.993	$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NO}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	518.201 4	1.30	472.137 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$, 342.172 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 311.127 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{OCH}_3]^+$, 296.105 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{OCH}_3-\text{CH}_3]^+$	紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱葡萄糖醛酸化	胆汁
Y1	4.235	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{COOH}]^-$	525.162 6	-2.57	479.163 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 358.133 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2]^-$, 196.315 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2-\text{Glc}]^-$	芍药内酯苷	胆汁
		$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	481.172 8	-4.92	319.117 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, 197.081 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{BA}]^+$, 151.077 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{BA}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$		
Y2	4.796	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{COOH}]^-$	525.161 0	0.76	449.143 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$, 327.109 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{BA}]^-$, 165.059 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{BA}-\text{Glc}]^-$	芍药苷	胆汁
			$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	498.198 1	-2.32	301.104 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 179.070 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{BA}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 151.077 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{BA}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$		
Y3	13.115	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	845.491 6	-1.49	799.486 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 637.434 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$, 475.386 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{Glc}]^-$	人参皂苷 Rg_1	胆汁
Q1	3.181	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	273.007 0	1.63	193.050 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 178.026 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_3]^-$	阿魏酸硫酸酯化	尿液
Q2	3.947	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_8$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	339.107 7	2.47	261.075 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{COOH}-\text{H}_2\text{O}]^-$	隐绿原酸脱水、连续氢化	尿液
Q3	2.816	$\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{NO}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	532.183 3	-3.70	356.147 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$	别隐品碱脱甲基后葡萄糖醛酸化	胆汁
Q4	3.106	$\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	518.166 5	-1.57	342.169 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 283.052 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{C}_3\text{H}_5\text{N}]^+$	别隐品碱连续脱甲基后葡萄糖醛酸化	胆汁
Q5	9.135	$\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	684.244 6	-1.92	555.202 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3]^+$, 479.149 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^+$	当归醇类谷胱甘肽结合物	胆汁

续表 1

编号	t_R/min	分子式	选择离子	m/z	偏差 ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片	可能代谢产物或代谢途径	来源
Q6	14.741	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.150 4	-4.15	301.108 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^+$, 273.111 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}-\text{CO}]^+$, 219.064 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}-\text{CO}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}]^+$	当归醇类脱水	胆汁
Q7	15.330	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	361.165 5	-2.60	303.124 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^+$, 219.064 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}-\text{CO}-\text{C}_3\text{H}_4\text{O}]^+$	当归醇类脱水	胆汁
W1	4.713	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_4\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	187.006 3	4.01	107.050 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	代谢物	尿液
W2	6.934	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_7$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	339.050 3	2.14	293.099 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 189.016 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CH}_2-\text{C}_7\text{H}_6]^-$	代谢物	尿液
W3	16.129	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	337.074 5	-1.38	319.063 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 304.039 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3]^+$	代谢物	尿液
W4	7.258	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	385.113 8	0.57	329.172 4 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CO}]^-$, 235.113 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 177.032 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^-$	代谢物	胆汁
W5	6.815	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	335.112 9	-1.11	318.865 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}]^+$, 295.194 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_4]^+$, 219.066 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6-\text{C}_3\text{H}_2]^+$, 191.031 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6-\text{C}_3\text{H}_2-\text{CO}]^+$, 159.046 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6]^+$	代谢物	胆汁
W6	7.106	$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	387.158 4	1.78	352.123 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 334.109 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 284.131 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2]^+$, 266.115 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-3\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2]^+$, 209.116 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}]^+$, 191.109 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-4\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}]^+$, 162.022 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-4\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5]^+$, 116.016 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-5\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5-\text{CO}]^+$	代谢物	胆汁
W7	7.826	$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	387.159 9	-2.11	370.131 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}]^+$, 352.123 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 284.131 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2]^+$, 209.116 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_2-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}]^+$	代谢物	胆汁
W8	11.699	$\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{NO}_{19}\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	682.221 4	1.29	607.183 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2]^+$, 589.134 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$, 535.042 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}]^+$	代谢物	胆汁

G-藁本内酯或 3-丁基苯酞的代谢物 S-蛇床子素的代谢物 X-川芎内酯 A 或洋川芎内酯 A 的代谢物 D-大黄素的代谢物 Z-紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二氢山芹醇、紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱、紫堇鳞茎碱或延胡宁或异紫堇鳞茎碱或元胡菲碱的代谢物 Y-原型药物 Q-其他成分的代谢物 W-未知代谢物

G-metabolites of ligustilide or 3-butyl-phthalide S-metabolites of osthole X-metabolites of senkyunolide A or sankyunolide A D-metabolites of emodin Z-metabolites of decursinol/marmesin/columbianetin, corypalmine/isocorypalmine, corybulbine/isocorybulbine/ coryphenanthrine Y-original drug Q-metabolites of other ingredients W-unknown metabolites

其中, 藁本内酯或 3-丁基苯酞的代谢产物有 12 个, 主要代谢途径为内酯环水解、脱氢、去甲基、羟基化、硫酸酯化、*N*-乙酰半胱氨酸结合等; 蛇床子素的代谢产物有 4 个, 主要代谢途径为内酯环水解、去甲基、羟基化、硫酸酯化等; 洋川芎内酯 A 的代谢产物有 1 个, 代谢途径为内酯化水解后 *N*-乙酰半胱氨酸结合; 川芎内酯 A 的代谢产物有 3 个, 主要代谢途径为内酯环水解、去甲基、羟基化、*N*-乙酰半胱氨酸结合等; 大黄素的代谢产物有 3 个, 主要代谢途径为甲基化、羟基化、氢化、甲基氧化等; 紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二氢山芹醇的代谢产物有 3 个, 主要代谢途径为羟基化、硫酸酯化等; 此外, 还检测到了阿魏酸硫酸结合产物、隐绿原酸脱水后连续氢化产物和 3 个未知产物。

3.2 胆汁中可能代谢产物分析

采用固相萃取法对空白胆汁样品和给药后胆汁样品进行处理, 分别在正、负离子模式下进行一级和二级质谱测定, 总离子流图见图 3。结果发现, 给药后胆汁样品中共检测到 35 个可能代谢物(包含 3 个原型成分), 且空白中无干扰。其中负离子模式下检测到 10 个代谢物, 正离子模式下检测到 29 个代谢物, 其中有 4 个代谢产物在正、负离子模式下均能检测到。

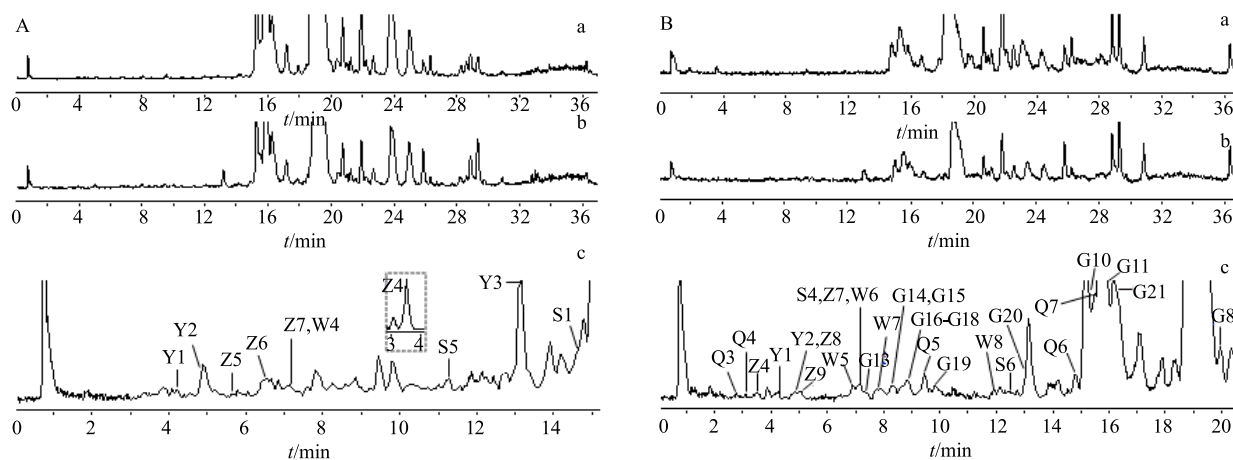
从表 1 中可知, 胆汁样品中主要检测到了藁本内酯、3-丁基苯酞、蛇床子素、紫堇杷明碱或异紫

堇杷明碱、紫堇磷茎碱或延胡宁或异紫堇磷茎碱或元胡菲碱、别隐品碱、当归醇类等化学成分的代谢产物和 3 个原型成分, 即芍药苷、芍药内酯苷和人参皂苷 R_{g1} 。

其中, 藁本内酯或 3-丁基苯酞的代谢产物有 12 个, 主要代谢途径为内酯环水解、脱羟基、脱氢、*N*-乙酰半胱氨酸结合、半胱氨酸结合、谷胱甘肽结合、半胱氨酸-甘氨酸结合等; 蛇床子素的代谢产物有 4 个, 主要代谢途径为内酯环水解、脱氢、去甲基、羟基化、硫酸酯化、葡萄糖醛酸化等; 紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱的代谢产物有 5 个, 主要代谢途径为硫酸酯化和葡萄糖醛酸化; 紫堇磷茎碱或延胡宁或异紫堇磷茎碱或元胡菲碱的代谢产物有 1 个, 代谢途径为葡萄糖醛酸化; 别隐品碱的代谢产物有 2 个, 主要代谢途径为去甲基、葡萄糖醛酸化等; 当归醇类的代谢产物有 3 个, 主要代谢途径为脱水 and 谷胱甘肽结合。此外, 还检测到了 3 个原型化合物和 5 个未知代谢产物, 原型化合物分别为芍药苷、芍药内酯苷和人参皂苷 R_{g1} 。

4 讨论

综合实验结果可知, 大鼠 ig 腰痹通胶囊后尿液和胆汁中共检测到 61 个代谢产物, 其中有 5 个代谢产物在尿液和胆汁中均存在。它们主要由藁本内酯、3-丁基苯酞、蛇床子素、洋川芎内酯 A、川芎内酯 A、



A-负离子模式 B-正离子模式 a-空白胆汁样品 b-给药胆汁样品 c-给药胆汁样品的局部放大图(虚线框中为无法标出的产物的 EIC 图)
A-negative ion mode B-positive ion mode a-blank bile sample b-administrated bile sample c-partial enlarged view of administrated bile sample
(the dotted box is the EIC graph of the unlabeled metabolites)

图 3 腰痹通胶囊在大鼠胆汁中的代谢产物的总离子图

Fig. 3 Total ion-current chromatograms of metabolites of Yaobitong Capsule in rat bile sample

大黄素、紫花前胡醇或紫花前胡苷元或二氢山芹醇羟基化、紫堇杷明碱或异紫堇杷明碱、紫堇鳞茎碱或延胡宁或异紫堇鳞茎碱或元胡菲碱、别隐品碱、阿魏酸、隐绿原酸等成分发生 I 相、II 相或者先 I 相后 II 相反应生成,主要代谢途径包括内酯环水解、羟基化、去甲基、脱水、脱氢、脱羟基、氢化、甲基化、甲基氧化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化、*N*-乙酰半胱氨酸结合、半胱氨酸结合、半胱氨酸-甘氨酸结合、谷胱甘肽结合等。

代谢物解析过程中,结合型代谢物裂解会丢失特定的中性分子,根据特征性中性丢失,可以推测出化合物的基本代谢途径。本研究中葡萄糖醛酸结合物均有特征性丢失 m/z 176 ($C_6H_8O_6$) 的碎片离子产生;硫酸结合物均有特征性丢失 m/z 80 (SO_3) 的碎片离子产生;*N*-乙酰半胱氨酸结合物有特征性丢失 m/z 163 ($C_5H_9NO_3S$)、129 ($C_5H_7NO_3$) 或 42 (C_2H_2O) 的碎片离子产生;半胱氨酸结合有特征性丢失 m/z 121 ($C_3H_7NO_2S$)、89 ($C_3H_7NO_2$) 或 46 (CH_2O_2) 的碎片离子产生;半胱氨酸-甘氨酸结合有特征性丢失 m/z 178 ($C_5H_{10}N_2O_3S$) 或 146 ($C_5H_{10}N_2O_3$) 的碎片离子产生;谷胱甘肽结合有特征性丢失 m/z 307 ($C_{10}H_{17}N_3O_6S$)、146 ($C_5H_8NO_4$)、129 ($C_5H_7NO_3$) 或 75 ($C_2H_5NO_2$) 的碎片离子产生。

本实验建立了 UPLC-Q-TOF-MS/MS 对腰痹通胶囊尿液和胆汁样品的检测方法,并对腰痹通胶囊在大鼠尿液和胆汁中的代谢产物进行了详细且深入的研究,对后期腰痹通在血液中代谢产物研究及其在体内的药效物质基础研究具有重要意义。

参考文献

- [1] 纪伟,宋亚楠.腰痹通胶囊治疗强直性脊柱炎临床观察[J].实用临床医药杂志,2010,14(21):60-61.
- [2] 周一敏,蒙剑.腰痹通胶囊治疗腰椎间盘突出症 57 例[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(13):287-288.
- [3] 代百东,孙莉琼,李艳静,等.“一测多评”法测定腰痹通胶囊中 5 种皂苷类成分的含量[J].世界科学技术—中医药现代化,2014,16(10):2227-2232.
- [4] 武双,崔秀明,郭从亮,等.不同蒸制法对三七主根中皂苷的影响[J].中草药,2015,46(22):3352-3356.
- [5] 夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等.三七化学成分的研究历程和概况[J].中草药,2014,45(17):2564-2570.
- [6] 余河水,张丽娟,宋新波,等.三七炮制品化学成分研究[J].中国中药杂志,2013,38(22):3910-3917.
- [7] 张晓琳,徐金娣,朱玲英,等.中药川芎研究新进展[J].中药材,2012,35(10):1706-1711.
- [8] 吕子明,孙武兴,段绪红,等.延胡索化学成分研究[J].中国中药杂志,2012,37(2):235-237.
- [9] 黄山君,杨琪伟,石燕红,等.一测多评法测定白芍中芍药苷与芍药内酯苷的含量[J].中国中药杂志,2011,36(6):780-783.
- [10] 严志宏,黄秀珍,顿珠次仁,等.高速逆流色谱分离制备裂叶独活中香豆素类成分[J].中草药,2015,46(20):3023-3027.
- [11] 李丽,张村,肖永庆,等.大黄 5 种饮片化学成分的变化规律[J].北京中医药大学学报,2009,32(12):839-841.
- [12] Liu C, Yang W, Liu K, *et al.* Characterization of chemical constituents and *in vivo* metabolites of Kai-Xin-San prescription by HPLC/DAD/ESI-MSⁿ [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2012, 21(6): 569-576.