

红景天苷在大鼠体内的代谢途径研究

周宇^{1,2}, 刘延平², 武丽南², 谷元², 魏广力², 李全胜², 夏媛媛², 刘万卉¹, 司端运^{2*}

1. 烟台大学, 山东 烟台 264003

2. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: **目的** 研究红景天苷在大鼠体内的代谢物谱, 分析其代谢途径。**方法** 大鼠 ig 给予红景天苷 200 mg/kg 后, 收集胆汁、尿液、粪便和血浆, 应用高分辨质谱技术鉴定可能的代谢产物, 分析红景天苷在大鼠体内的代谢途径。**结果** 共检测到除原型药物外的 20 个代谢产物, 提示红景天苷在大鼠体内的主要代谢途径为葡萄糖化、乙酰化、硫酸化和甲基化。**结论** 红景天苷在大鼠体内经历了广泛的 I 相和 II 相代谢, 代谢物主要通过尿液排出。应用峰面积归一化法计算主要代谢产物相对生成量, 提示红景天苷在大鼠尿、粪、胆汁中的主要代谢途径为 II 相代谢, 血浆中红景天苷原型药物为体循环系统中主要暴露物质。

关键词: 红景天苷; 代谢途径; 代谢产物; UPLC-Q-TOF-MS; 葡萄糖化; 乙酰化; 硫酸化; 甲基化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)07-1603-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.07.018

Study on metabolic pathways of salidroside in rats

ZHOU Yu^{1,2}, LIU Yan-ping², WU Li-nan², GU Yuan², WEI Guang-li², LI Quan-sheng², XIA Yuan-yuan²,
LIU Wan-hui¹, SI Duan-yun²

1. Yantai University, Yantai 264003, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To analyze the metabolic pathways of salidroside when gavaged to rats, and to identify its *in vivo* metabolites.

Methods A UPLC-Q-TOF-MS method was established and applied to identify the metabolites of salidroside in bile, urine, feces, and plasma samples after ig administration of salidroside 200 mg/kg to rats. **Results** A total of 20 metabolites were characterized in rats. The dominant metabolic pathways of salidroside include glucuronidation, acetylation, sulfation, and methylation. **Conclusion** Salidroside undergoes extensive phases I and II metabolism in rats. The main excretion path is the phase II conjugated metabolites via urine, feces, and bile. The parent drug of salidroside is the main exposure material in plasma.

Key words: salidroside; metabolic pathway; metabolites; UPLC-Q-TOF-MS; glucuronidation; acetylation; sulfation; methylation

红景天 *Rhodiola crenulate* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba 系景天科红景天属植物, 性喜高寒, 主要分布在我国高海拔的黑龙江、吉林、西藏等地区, 为我国传统藏医所广泛使用的药物。红景天苷为红景天根、茎中含有的主要活性成分, 研究表明其具有广泛的药理作用, 如抗氧化、抗疲劳、抗辐射、抗自由基损伤、抗肿瘤, 以及保护肺、呼吸道、心血管系统、中枢神经系统和肝肾功能等^[1-9]。

目前, 国内外已有文献报道红景天苷的药动力学研究, Guo 等^[10]通过大鼠 iv 给予红景天苷, 确定酪

醇为其主要代谢产物; 李科宇^[11]研究发现, 红景天苷可以在大鼠体内经肝脏代谢, 主要以原型药物的形态从肾脏排泄。关于红景天苷在体内的代谢途径和代谢产物也有初步的研究报道, Hu 等^[12]研究红景天苷在大鼠体内的代谢行为, 通过 UPLC/Q-TOF-MS 和 HPLC/Q-trap-MS 推测出其在尿液中的 8 种代谢产物, 未对胆汁、粪和血浆中的代谢产物进行研究分析; Han 等^[13]通过 HPLC-FT-ICR MS 仅推测出大鼠尿、粪、胆汁及血浆中的 7 种代谢产物。

为了深入了解红景天苷在体内的代谢途径, 本

收稿日期: 2017-11-05

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81503154)

作者简介: 周宇 (1992—), 女, 烟台大学在读硕士, 研究方向为药物代谢。Tel: (022)84845243 E-mail: 18865675517@163.com

*通信作者 司端运, 研究员, 主要从事药物代谢动力学研究。Tel: (022)84845261 E-mail: sidy@tjpr.com

研究通过大鼠 ig 给予红景天苷后, 收集并处理尿液、粪便、胆汁和血浆生物样品, 应用 UPLC-Q-TOF-MS 采集数据, UNIFI 软件分析数据, 寻找并鉴定可能的代谢物, 分析原型药物的代谢途径, 为红景天苷进一步的开发提供实验依据和数据支持。

1 材料

1.1 药品与试剂

红景天苷样品 (批号 110818-201507; 质量分数 99.4%), 中国食品药品检定研究院; 甲醇 (色谱级)、乙腈 (色谱级), Fisher 公司; 超纯水, 屈臣氏纯净水。

1.2 实验动物

SPF 级 SD 大鼠, 7~14 周龄, 雄性, 体质量 200~300 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物质量合格证编号 11400700140361, 生产许可证号 SCXK (京) 2012-0001。实验动物由天津药物研究院新药评价有限公司动物房饲养, 动物使用方案已经获得天津药物研究院新药评价有限公司 IACUC 批准。

1.3 仪器

Waters Acquity UPLC I-Class 液相系统、Xevo G2-XS QTOF 质谱系统、UNIFI 质谱工作站, 美国 Waters 公司; Turbo Vap LV 型样品浓缩仪, 美国 Caliper 公司; 代谢笼, 意大利 Basile 公司; C₁₈ 固相萃取柱 (规格 200 g/3 mL), 迪马科技有限公司。

2 方法

2.1 动物给药及生物样品采集

2.1.1 尿、粪代谢实验 健康 SD 大鼠 6 只, 雄性, 分别置于 3 个代谢笼中 (每笼 2 只), 给药前禁食, 实验期间自由饮水与进食。大鼠 ig 给予红景天苷 200 mg/kg^[12], 给药体积为 5 mL/kg (精密称取适量红景天苷样品, 加入生理盐水溶解混匀, 配制成质量浓度为 40 mg/mL 溶液给药)。分别收集给药前空白及给药后 0~48 h 的尿样和粪样, 尿样记录体积, -70 °C 保存待测。

2.1.2 胆汁代谢实验 健康 SD 大鼠 3 只, 雄性, 常规手术行胆管插管, 给药前禁食, 自由饮水。以 200 mg/kg^[12] 的剂量 ig 给予红景天苷, 给药体积为 5 mL/kg。分别收集给药前空白及给药后 0~48 h 的胆汁样品, 记录体积, -70 °C 保存待测。

2.1.3 血浆代谢实验 健康 SD 大鼠 3 只, 雄性, 常规手术行颈静脉插管, 给药前禁食, 自由饮水, 给药后 4 h 喂食。以 200 mg/kg^[12] 的剂量 ig 给予红

景天苷, 给药体积为 5 mL/kg。分别收集给药前空白及给药后 0.25、0.75、2、4、6、9、12 h 的血浆样品, 将不同时间点血浆样品等体积混合, -70 °C 保存待测。

2.2 生物样品处理与分析

2.2.1 粪便样品预处理 将收集的粪便样品称质量、研磨, 按每克粪样加入 5 mL 的比例加入 50% 甲醇水溶液提取, 超声 5 min, 得到粪匀浆液。固相萃取 (SPE) 时, 将 1 mL 粪匀浆液加入 1 mL 水稀释。

2.2.2 生物样品处理 采用 SPE 法对血浆、尿液、胆汁和粪匀浆样品进行处理, 先后分别加入 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化平衡固相萃取柱, 之后上样 (1 mL 尿样、1 mL 胆汁、2 mL 粪匀浆液、0.5 mL 血浆), 加入 1 mL 水淋洗, 随后加入 1 mL 甲醇洗脱, 最后收集甲醇洗脱液, 40 °C 氮气吹干, 复溶液 (甲醇-水 50:50) 涡旋复溶, 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。

2.3 LC-MS 条件

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 柱温 40 °C; 流动相为水 (A)-甲醇 (B); 梯度洗脱: 0~0.5 min, 2% B; 0.5~5.5 min, 2%~25% B; 5.5~9 min, 25%~90% B; 9~12 min, 90% B; 12~15 min, 90%~2% B, 体积流量 0.4 mL/min。

2.3.2 质谱条件 ESI 电喷雾离子源, 负离子模式下采集 MS^E 及 MS/MS 数据; 采集质量范围 *m/z* 50~1 000; 校正液亮氨酸脑啡肽; 喷雾电压 2.5 kV; 锥孔电压 40 V; 锥孔气体流量 50 L/h; 离子源温度 100 °C; 去溶剂化温度 500 °C; 去溶剂化气体流量 800 L/h。

3 结果

3.1 红景天苷的色谱与质谱行为

生物样本中存在大量的内源性物质, 良好的液相分离条件可以使代谢产物和内源性物质分开, 使得极性相近的化合物有不同的色谱保留时间, 降低同一时间内离子源的离子化压力, 改善样品的离子化程度, 增加检测的灵敏度; 同时也可以防止同分异构体在同一时间出峰, 避免质谱解析复杂化。实验过程中, 对流动相的组成、比例及洗脱梯度进行调节和优化, 在优化后的色谱条件下, 红景天苷对照品的液相色谱保留时间 (*t_R*) 为 5.05 min。

取适宜浓度红景天苷对照品溶液进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析, 采用 ESI 源负离子检测模式, 主

要检测到红景天苷的 $[M-H]^-$ 准分子离子峰 m/z 299.113 6 ($C_{14}H_{20}O_7$) 及 $[M+HCOO]^-$ 甲酸根加合分子离子峰 m/z 345.120 9 ($C_{15}H_{22}O_9$)。对 m/z 345.120 9 进行 CID 分析, 其中出现的主要碎片离子为 m/z 119.035 6 和 m/z 179.057 2, m/z 119.035 6

(C_8H_8O) 是红景天苷脱掉葡萄糖后的碎片离子, m/z 179.057 2 ($C_6H_{12}O_6$) 是红景天苷脱掉的葡萄糖碎片离子, 二者即为红景天苷的特征性碎片离子。其色谱图、二级质谱图及可能的碎片离子裂解途径如图 1 所示。

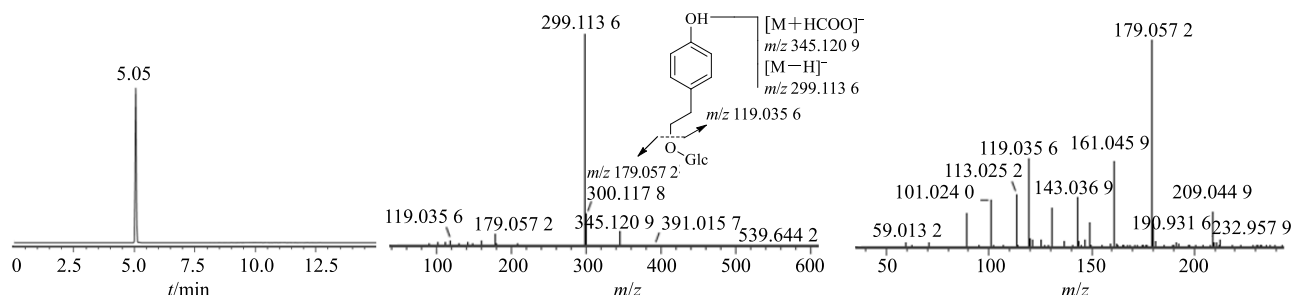


图 1 红景天苷色谱图及 CID 质谱图

Fig. 1 Chromatogram and CID spectra of salidroside

3.2 红景天苷大鼠体内代谢产物结构解析

大鼠 ig 给予红景天苷后, 经与相应的空白生物基质相对比, 共从大鼠的尿、粪、胆汁和血浆样品中鉴定出与红景天苷相关的可能代谢产物 20 种。大鼠给药前 (空白) 和给药后尿、粪、胆汁和血浆样品的提取离子流色谱图见图 2。

根据各代谢产物的精确相对分子质量, 并分析比较原型药物与各代谢产物的碎片离子, 结合常规代谢反应规律, 对发现的各代谢物结构进行解析, MS/MS 质谱图及裂解途径见图 3。

M0: 在尿样和血浆样品的提取离子流色谱图中检测到 m/z 345.120 9 ($C_{15}H_{22}O_9$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 5.06 min, 其色谱峰与红景天苷对照品的 t_R 及 CID 碎片离子特征一致, 因此, 确定为红景天苷原型药物。

M2-1/M2-2/M2-3: 在尿样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 461.167 1 ($C_{20}H_{30}O_{12}$) 有 3 个色谱峰, t_R 分别为 4.92、5.28、5.46 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z 299.109 8、179.055 7、119.036 2。由于 m/z 299.109 8 与红景天苷的准分子离子一致, m/z 179.055 7、119.036 2 与其特征性碎片离子一致, 且 m/z 461.167 1 ($C_{20}H_{30}O_{12}$) 比 m/z 299.109 8 ($C_{14}H_{20}O_7$) 多 162.057 3 ($C_6H_{10}O_5$), 推测 M2-1、M2-2 和 M2-3 为红景天苷葡萄糖结合产物。

M3: 在尿样和血浆样品的提取离子流色谱图中检测到 m/z 379.072 2 ($C_{14}H_{20}O_{10}S$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 3.75 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z

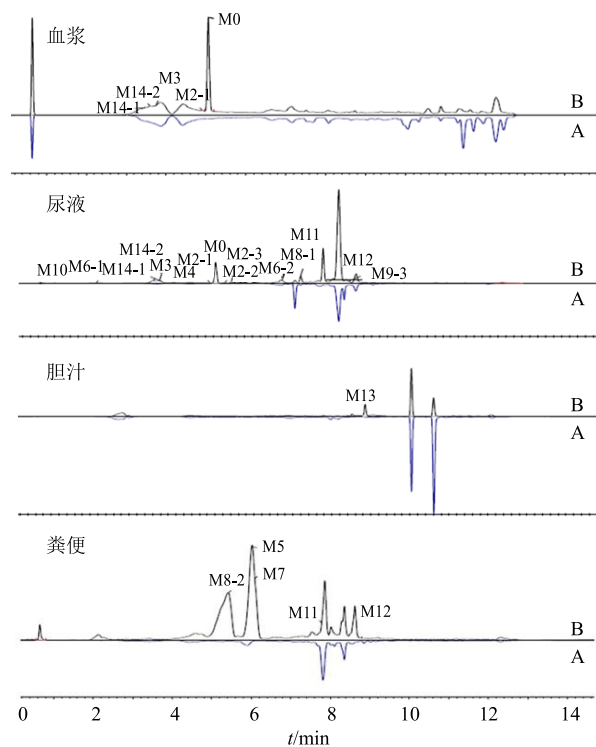
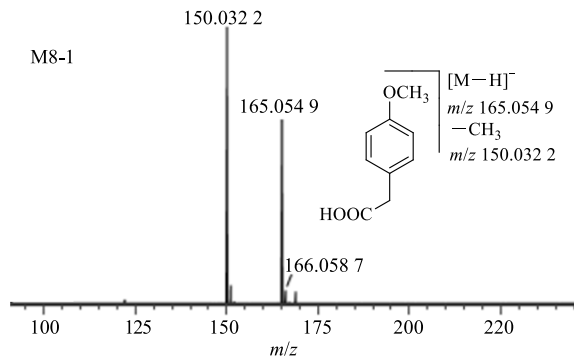
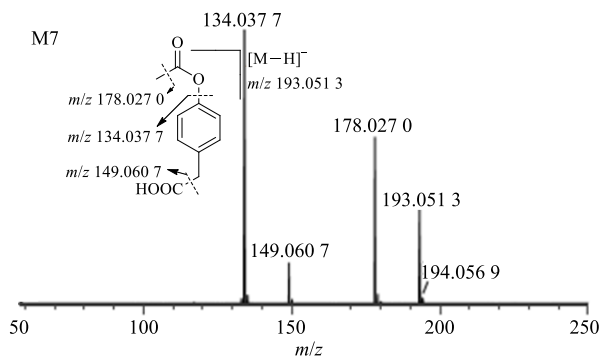
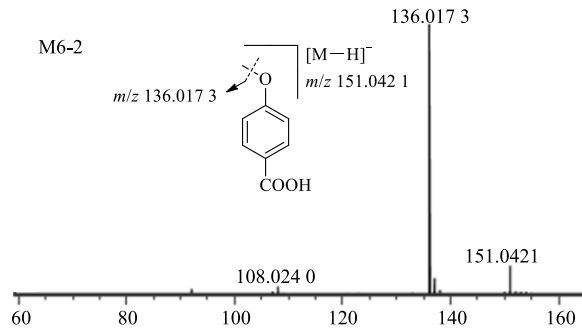
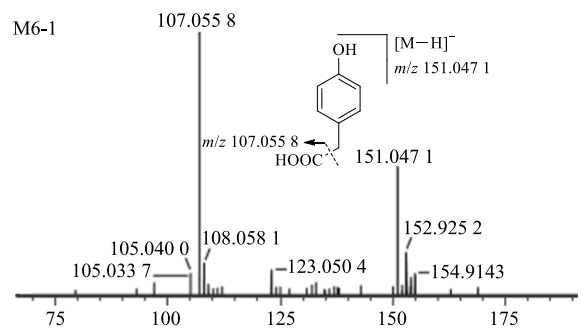
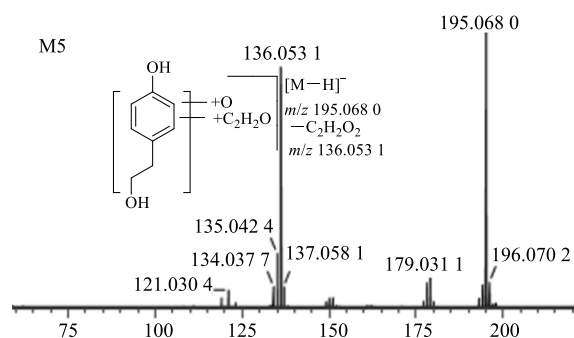
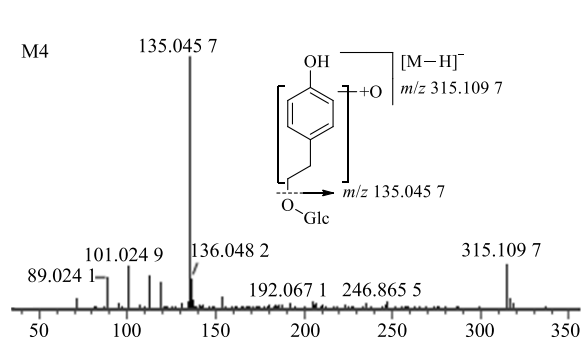
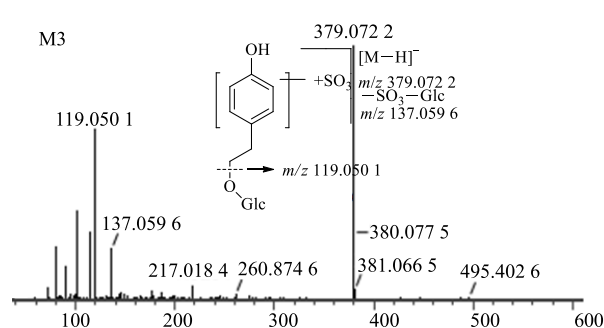
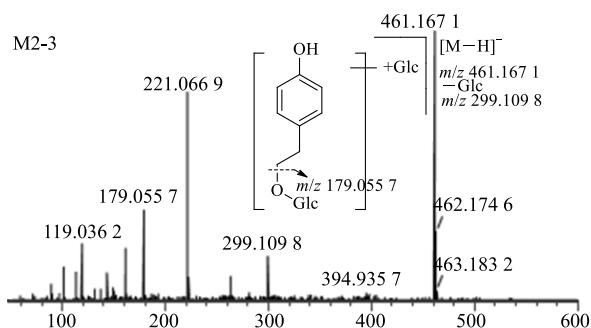
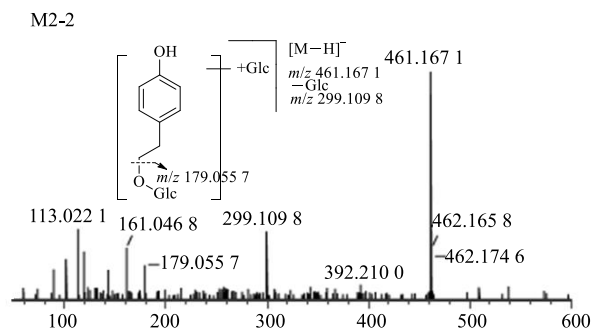
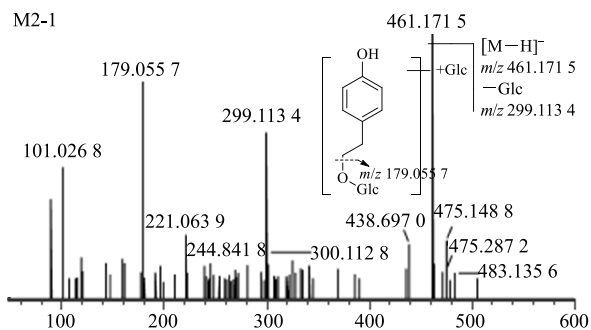


图 2 大鼠空白 (A) 及给予红景天苷后 (B) 血浆、尿液、胆汁及粪便中原型药物和代谢物的提取离子流色谱图

Fig. 2 Extracted ion chromatogram for parent salidroside and its metabolites in plasma, urine, bile, and feces of rats before (A) and after (B) ig salidroside

137.059 6、119.050 1。由于其碎片离子 m/z 119.050 1 与红景天苷的特征性碎片离子一致, 且 m/z 379.072 2 ($C_{14}H_{20}O_{10}S$) 比 m/z 299.113 6 ($C_{14}H_{20}O_7$) 多 79.958 6 (SO_3), 推测 M3 为红景天苷硫酸结合产物。



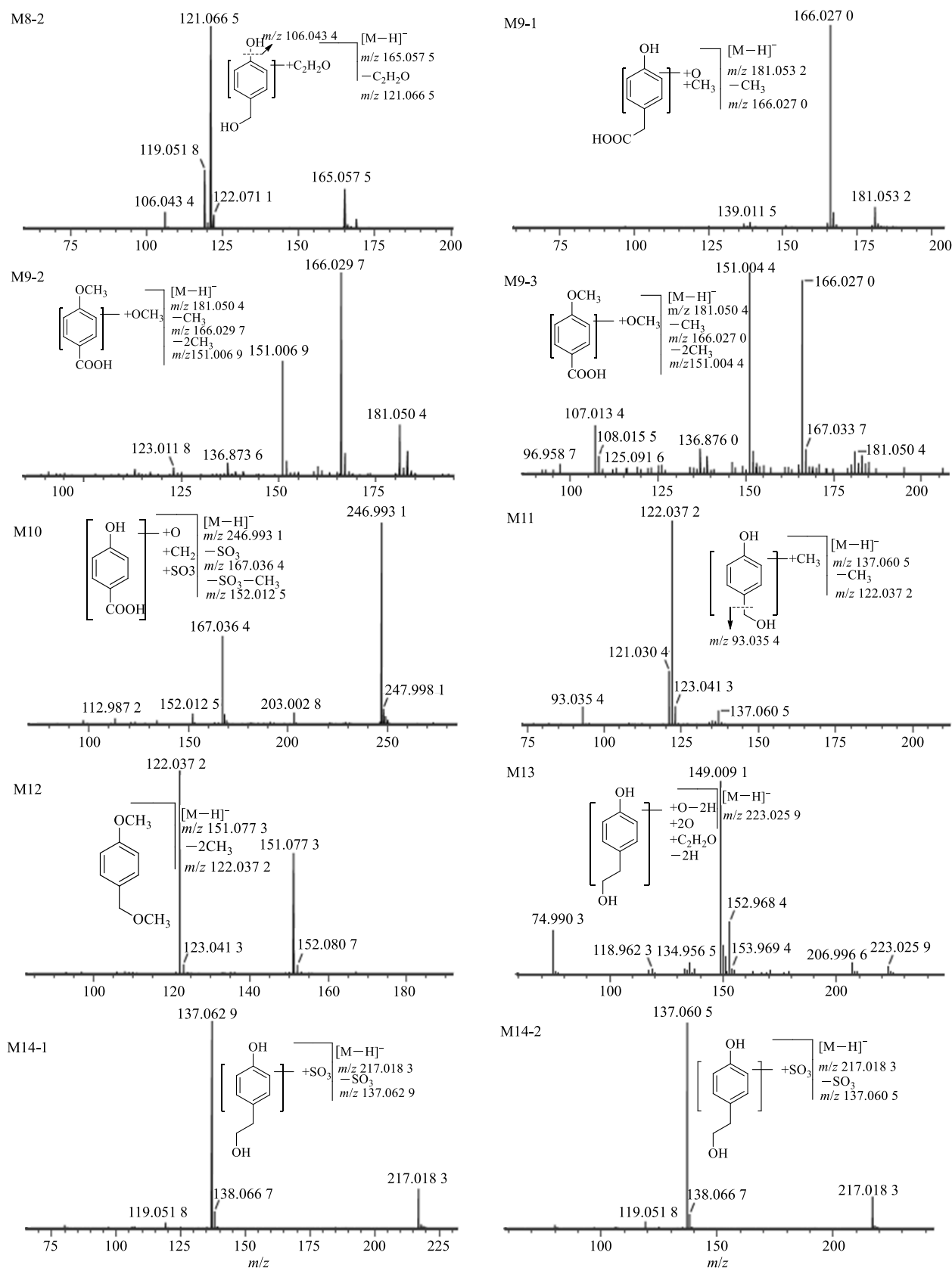


图 3 代谢产物的质谱图及裂解途径

Fig. 3 Mass spectrum and fragmentation pathway of metabolites

M4: 在尿样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 315.109 7 ($C_{14}H_{20}O_8$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 4.17 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z 135.045 7。由于 m/z 315.109 7 ($C_{14}H_{20}O_8$) 比 m/z 299.113 6 ($C_{14}H_{20}O_7$) 多 15.996 1 (O), 推测 M4 为红景天苷单氧化产物。

M5: 在粪样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 195.068 0 ($C_{10}H_{12}O_4$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 5.98 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z 136.053 1 ($C_8H_9O_2$)。由于 m/z 195.068 0 ($C_{10}H_{12}O_4$) 比 m/z 315.109 7 (M4) 小 120.041 7 ($C_4H_8O_4$), 推测 M5 为 M4 脱葡萄糖且发生乙酰化的代谢产物。

M6-1/M6-2: 在尿样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 151.042 1 ($C_8H_8O_3$) 有 2 个色谱峰, t_R 分别为 2.00、6.71 min, 其 CID 主要碎片离子分别为 m/z 107.055 8 (C_7H_7O)、136.017 3 ($C_7H_5O_3$)。红景天苷脱葡萄糖生成酪醇, 其准分子离子为 m/z 137.060 3, 由于 M6-1 和 M6-2 的准分子离子 m/z 151.047 1 ($C_8H_8O_3$) 比 m/z 137.060 3 ($C_8H_{10}O_2$) 多 13.986 8 (O-2H), 结合二者的 t_R , 推测 M6-1 可能为酪醇醇羟基氧化的代谢产物, M6-2 可能为酪醇酚羟基氧化、脱羧再进一步甲基化的代谢产物或者可能是 M6-1 脱羧氧化再进一步甲基化的代谢产物。

M7: 在粪样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 193.051 3 ($C_{10}H_{10}O_4$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 6.04 min, 其 CID 主要碎片离子分别为 m/z 134.037 7 ($C_8H_7O_2$)、178.027 0 ($C_9H_7O_4$)、149.060 7 ($C_9H_9O_2$)。由于 m/z 193.051 3 ($C_{10}H_{10}O_4$) 比 m/z 151.047 1 (M6-1) 多 42.004 2 (C_2H_2O), 推测 M7 可能为 M6-1 的乙酰化代谢产物。

M8-1/M8-2: 在尿样和粪样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 165.054 9 ($C_9H_{10}O_3$) 各有 1 个色谱峰, t_R 分别为 7.21、5.30 min。M8-1 的 CID 主要碎片离子为 m/z 150.032 2 ($C_8H_7O_3$)。因为 m/z 165.054 9 ($C_9H_{10}O_3$) 比 m/z 151.047 1 (M6-1) 多 14.007 8 (CH_2), 推测 M8-1 可能为 M6-1 甲基化代谢产物; M8-2 的 CID 主要碎片离子分别为 m/z 121.066 5 ($C_7H_7O_2$)、106.043 4 (C_7H_7O), 由于 m/z 165.054 9 ($C_9H_{10}O_3$) 比 m/z 137.060 3 ($C_8H_{10}O_2$) 多 27.994 6 (CO), 推测 M8-2 可能为酪醇醇羟基氧化脱羧后再氧化, 酚羟基乙酰化的代谢产物。

M9-1/M9-2/M9-3: 在尿样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 181.050 4 ($C_9H_{10}O_4$) 有 3 个色谱峰, t_R 分别为 7.66、7.04、7.84 min。M9-1 的 CID 主要

碎片离子为 m/z 166.027 0 ($C_8H_7O_4$, 即脱去 CH_3), 由于 m/z 181.050 4 ($C_9H_{10}O_4$) 比 m/z 165.054 9 (M8-1) 多 15.995 5 (O), 推测 M9-1 为 M8-1 的单氧化代谢产物。M9-2 和 M9-3 的 CID 主要碎片离子为 m/z 166.027 0、151.006 9、136.873 6。由于 m/z 181.050 4 ($C_9H_{10}O_4$) 比 m/z 151.047 1 (M6-2) 多 30.003 3 (CH_2O), 且碎片离子 m/z 151.006 9 和 m/z 136.873 6 与 M6-2 的特征性碎片离子一致, 所以推测 M9-2 和 M9-3 为 M6-2 的羟甲基化代谢产物。

M10: 在尿样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 246.993 1 ($C_8H_8O_7S$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 1.01 min, 其 CID 主要碎片离子分别为 m/z 167.036 4 ($C_8H_8O_4$, 即脱去 SO_3)、152.012 5 ($C_7H_5O_4$, 即脱去 CH_3O_3S)。由于 M10 的准分子离子 m/z 247.993 1 ($C_8H_8O_7S$) 比 m/z 151.047 1 (M6-2) 多 96.946 0 (SO_4), 推测其可能为 M6-2 的单氧化和硫酸结合代谢产物。

M11: 在尿样和粪样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 137.060 5 ($C_8H_{10}O_2$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 7.78 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z 122.037 2 ($C_7H_7O_2$, 即脱去 CH_3)、93.035 4 (C_6H_5O , 即脱去 C_2H_5O)。由于酪醇的准分子离子为 m/z 137.060 3, 推测 M11 为酪醇醇羟基氧化脱羧后再氧化, 且甲基化的代谢产物或者可能是 M6-1 脱羧氧化再进一步甲基化的代谢产物。

M12: 在尿样和粪样的提取离子流色谱图中检测到 m/z 151.077 3 ($C_9H_{12}O_2$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 8.42 min, 其 CID 主要碎片离子分别为 m/z 122.037 2。由于 m/z 151.077 3 ($C_9H_{12}O_2$) 比 m/z 137.060 5 ($C_8H_{10}O_2$) 多 14.017 0 (CH_2), 且 m/z 122.037 2 与 M11 的特征性碎片离子一致, 推测 M12 为 M11 的甲基化代谢产物。

M13: 在胆汁样品的提取离子流色谱图中检测到 m/z 223.025 9 ($C_{10}H_8O_6$) 有 1 个色谱峰, t_R 为 9.05 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z 149.009 1 ($C_8H_6O_3$)。由于 m/z 223.025 9 ($C_{10}H_8O_6$) 比 m/z 137.060 3 ($C_8H_{10}O_2$) 多 85.965 6 (C_2O_4-2H), 推测 M13 为酪醇醇羟基氧化脱氢, 酚羟基间位发生氧化后乙酰化, 随后发生脱氢的代谢产物。

M14-1/M14-2: 在尿样和血浆样品的提取离子流色谱图中检测到 m/z 217.018 3 ($C_8H_{10}O_5S$) 有 2 个色谱峰, t_R 分别为 3.63、3.53 min, 其 CID 主要碎片离子为 m/z 137.062 9、119.058 1。由于其碎片离子 m/z 119.058 1 与红景天苷的特征性碎片离子一

致, 且 m/z 217.018 3 ($C_8H_{10}O_5S$) 比酪醇的准分子离子 m/z 137.060 3 ($C_8H_{10}O_2$) 多 79.958 0 (SO_3), 推测 M14-1 及 M14-2 为红景天苷先脱葡萄糖后的硫酸结合产物。

3.3 红景天苷在大鼠体内代谢物谱总结

红景天苷在大鼠尿、粪、胆汁和血浆中可能代谢产物的色谱质谱相关信息见表 1, 大鼠体内可能的代谢途径及代谢物谱见图 4。

表 1 大鼠 ig 给予红景天苷后体内代谢产物的色谱质谱信息

Table 1 Chromatographic and MS information for salidroside and its metabolites after ig administration to rats

代谢物	代谢途径	分子式	t_R/min	m/z [M-H] ⁻	CID 碎片 (m/z)	尿	粪	胆汁	血浆
M0 原型		$C_{15}H_{22}O_9$	5.06	345.120 9 [*]	119.035 6, 179.057 2	+	-	-	+
M2-1 葡萄糖化		$C_{20}H_{30}O_{12}$	4.92	461.171 5	179.055 7, 299.113 4	+	-	-	+
M2-2 葡萄糖化		$C_{20}H_{30}O_{12}$	5.28	461.167 1	179.055 7, 299.109 8	+	-	-	-
M2-3 葡萄糖化		$C_{20}H_{30}O_{12}$	5.46	461.167 1	179.055 7, 299.109 8, 119.036 2	+	-	-	-
M3 硫酸化		$C_{14}H_{20}O_{10}S$	3.75	379.072 2	137.059 6, 119.050 1	+	-	-	+
M4 单氧化		$C_{14}H_{20}O_8$	4.17	315.109 7	135.045 7	+	-	-	-
M5 脱葡萄糖+氧化+乙酰化		$C_{10}H_{12}O_4$	5.98	195.068 0	136.053 1	-	+	-	-
M6-1 脱葡萄糖+氧化		$C_8H_8O_3$	2.00	151.047 1	107.055 8	+	-	-	-
M6-2 脱葡萄糖+氧化脱羧+甲基化		$C_8H_8O_3$	6.71	151.042 1	136.017 3	+	-	-	-
M7 脱葡萄糖+氧化脱氢+乙酰化		$C_{10}H_{10}O_4$	6.04	193.051 3	134.037 7, 178.027 0, 149.060 7	-	+	-	-
M8-1 脱葡萄糖+氧化脱氢+甲基化		$C_9H_{10}O_3$	7.21	165.054 9	150.032 2	+	-	-	-
M8-2 脱葡萄糖+氧化脱氢+脱羧+氧化+乙酰化		$C_9H_{10}O_3$	5.30	165.057 5	121.066 5, 106.043 4	-	+	-	-
M9-1 脱葡萄糖+双氧化脱氢+甲基化		$C_9H_{10}O_4$	7.66	181.053 2	166.027 0	+	-	-	-
M9-2 脱葡萄糖+乙基成酸+双甲基化+氧化		$C_9H_{10}O_4$	7.04	181.050 4	166.029 7, 151.006 9, 136.873 6	+	-	-	-
M9-3 脱葡萄糖+乙基成酸+双甲基化+氧化		$C_9H_{10}O_4$	7.84	181.050 4	151.004 4, 166.027 0, 136.876 0	+	-	-	-
M10 脱葡萄糖+乙基成酸+甲基化+硫酸化		$C_8H_8O_7S$	1.01	246.993 1	167.036 4, 152.012 5	+	-	-	-
M11 脱葡萄糖+氧化脱氢+脱羧+氧化+甲基化		$C_8H_{10}O_2$	7.78	137.060 5	122.037 2, 93.035 4	+	+	-	-
M12 脱葡萄糖+氧化脱氢+脱羧+氧化+双甲基化		$C_9H_{12}O_2$	8.42	151.077 3	122.037 2	+	+	-	-
M13 脱葡萄糖+氧化脱氢+双氧化+乙酰化+脱氢		$C_{10}H_8O_6$	9.05	223.025 9	149.009 1	-	-	+	-
M14-1 脱葡萄糖+硫酸化		$C_8H_{10}O_5S$	3.63	217.018 3	137.062 9, 119.051 8	+	-	-	+
M14-2 脱葡萄糖+硫酸化		$C_8H_{10}O_5S$	3.53	217.018 3	137.060 5, 119.051 8	+	-	-	+

*[M+HCOO]⁻; “+” 检测到; “-” 未检测到

*[M+HCOO]⁻; “+” detected; “-” undetected

4 讨论

药物的多数代谢产物保留了原型药物的基本骨架结构或亚结构, 具有原型药物的特征质谱裂解碎片或中性丢失, 在结构上与原型药物相似^[14], 是代谢产物结构解析和鉴定的依据。将原型药物经碰撞诱导裂解 (CID), 对碎片离子进行归属研究, 获得原型药物的质谱裂解规律, 进而根据其特异性断裂规律推导出代谢产物的结构。因此, 红景天苷的质谱裂解规律是研究其代谢途径的基础。

本研究建立分析红景天苷在大鼠体内代谢途径的方法, 应用 UPLC-Q-TOF-MS 共检测到红景天苷的 20 个代谢产物, 其中 I 相代谢产物 4 个, II 相代

谢产物 16 个。I 相代谢主要为苷键水解、单氧化、双氧化脱氢、氧化脱氢以及各种不同代谢途径之间的相互结合。II 相代谢主要是在 II 相酶的作用下发生 II 相结合反应, 生成葡萄糖醛酸结合物、硫酸化物、乙酰化物和甲基化物。红景天苷的苷元酪醇作为去糖基后的重要代谢产物, 也是红景天的主要活性成分^[15], 然而在所有生物基质中均未检测到, 可能由于其进一步代谢为其他 II 相结合物或者是含量过低导致 Q-TOF 型质谱仪未能检测到^[13]。

分析红景天苷 ig 给药后在血浆中的暴露特征, 主要是原型和代谢产物 M2-1、M3、M14-1 和 M14-2, 根据 4 种代谢产物的色谱峰面积推测其暴露量均低

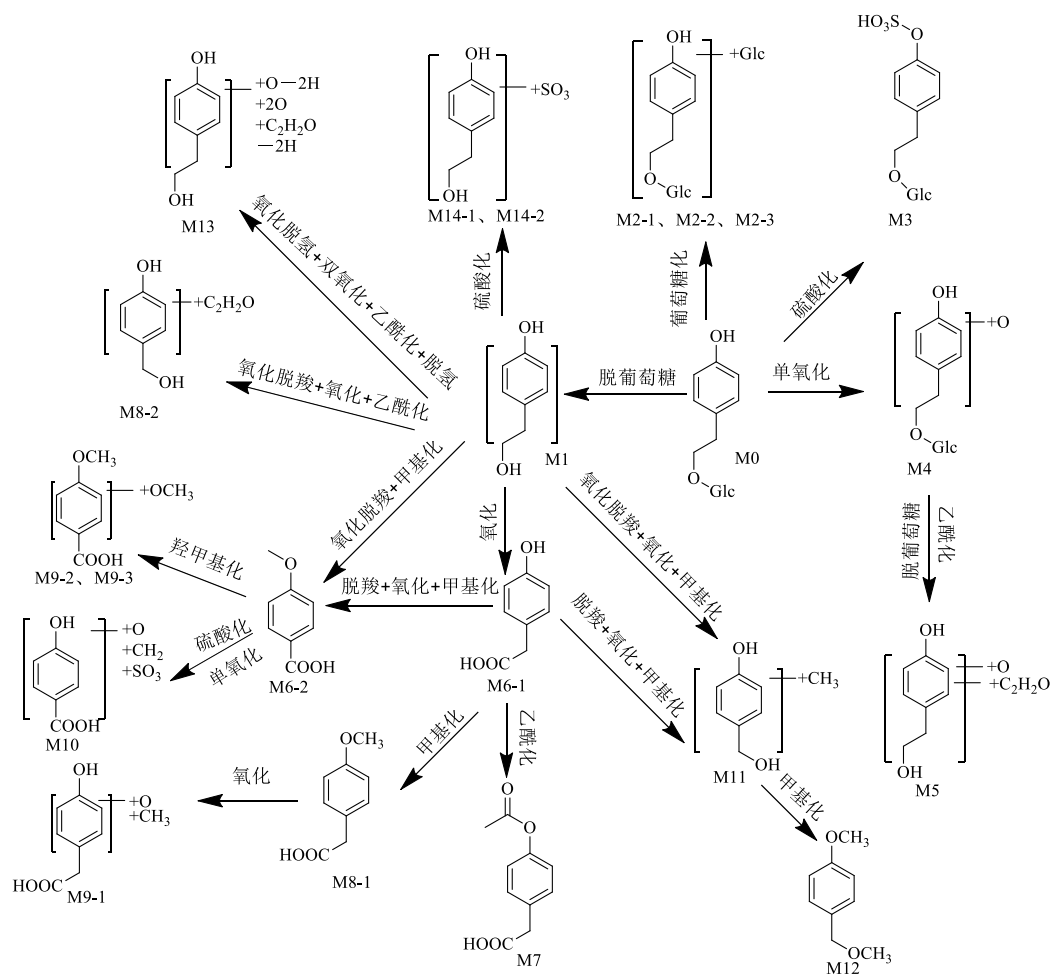


图 4 红景天苷在大鼠体内的可能代谢途径

Fig. 4 Metabolic pathways of salidroside in rats

于原型的 5%，说明 ig 给药后原型是红景天苷在血浆中的主要暴露物质。

红景天苷 ig 给药后经胆汁排泄的代谢产物中，仅检测到 M13，而且其色谱峰面积较小，说明胆汁排泄不是红景天苷及其代谢产物的主要排泄途径。

红景天苷 ig 给药后经粪便排泄的代谢产物中，未检测到原型，仅检测到 M5、M7、M8-2、M11 和 M12，它们均是原型脱葡萄糖后发生 I 相代谢的产物或进一步发生甲基化、乙酰化结合的产物，没有发生硫酸结合、葡萄糖结合的 II 相代谢产物。粪中的 5 种代谢产物中，M7 和 M8-2 是其主要代谢产物。

红景天苷 ig 给药后经尿排泄的代谢产物中，共检测到 16 个代谢产物。前期大鼠 ig 给药的物质平衡研究，提示红景天苷 ig 给药后原型药物经尿排泄的比例占给药剂量的 30.6%，对于检测到的 16 个代谢产物，由于缺乏对照品，采用面积归一化法大致计算 16 种代谢产物色谱峰面积之和约为原型的

2.04 倍，计算红景天苷 ig 给药后经尿排泄的原型和代谢产物总和达到给药剂量的比例为 93.1%，提示经尿排泄是红景天苷在体内的主要排泄途径。

本研究的目标是对红景天苷在大鼠体内的代谢产物鉴定和代谢途径进一步研究，没有对红景天苷的代谢产物进行相应的药理活性研究，查阅文献也未发现有相关报道^[12-13]。所以，红景天苷的代谢产物是否具有药理活性还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 韩 静, 郑珍珠, 贺肇东, 等. 红景天苷对缺血性脑损伤的作用及机制 [J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(8): 31-32.
- [2] 李凤林. 红景天苷药理作用的研究现状 [J]. 现代食品科技, 2013(4): 916-920.
- [3] 彭丽华. 红景天苷治疗心脑血管疾病相关药理作用的新进展 [J]. 内蒙古中医药, 2013, 32(28): 101.
- [4] 贺海波, 石孟琼. 小丛红景天化学成分和药理活性研

- 究进展 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(7): 139-141.
- [5] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷对肺和呼吸道保护作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2015(5): 641-644.
- [6] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷的神经保护作用及作用机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(7): 1019-1028.
- [7] 宋向军, 陈晨. 红景天苷对链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠血糖、血脂和抗氧化能力的影响 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(8): 933-937.
- [8] 郑明显, 金哲悟, 朴红梅, 等. 红景天苷通过 NF- κ B/TGF- β 1 信号通路抑制哮喘小鼠气道重塑的实验研究 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2511-2516.
- [9] 赵红斌, 甄英丽, 田蓉, 等. Notch 和 BMP 信号通路介导红景天苷促进小鼠骨髓间充质干细胞向神经元细胞定向分化研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2294-2300.
- [10] Guo N, Hu Z W, Fan X X, *et al.* Simultaneous determination of salidroside and its aglycone metabolite p-Tyrosol in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2012, 17(4): 4733-4754.
- [11] 李科宇. 在大鼠体内红景天苷吸收、代谢及排泄过程的考察 [D]. 延吉: 延边大学, 2010.
- [12] Hu Z W, Wang Z M, Liu Y, *et al.* Metabolite profile of salidroside in rats by ultraperformance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-linear ion trap mass spectrometry [J]. *J Agr Food Chem*, 2015, 63(41): 8999-9005.
- [13] Han F, Li Y T, Mao X J, *et al.* Metabolic profile of salidroside in rats using high-performance liquid chromatography combined with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 408(7): 1-7.
- [14] 董世奇, 樊慧蓉, 李全胜, 等. 甘草苷在大鼠体内的代谢途径研究 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2499-2505.
- [15] 杨晓艳, 芦启琴, 娄灯吉, 等. HPLC 法同时测定红景天中红景天苷、酪醇和没食子酸 [J]. 分析试验室, 2009, 28(S1): 57-60.