

基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的北青龙衣成分在大鼠胃组织中的分布研究

程 团, 王改丽, 霍金海, 王伟明*

黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨 150036

摘 要: 目的 采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术首次对北青龙衣化学成分的大鼠胃组织分布进行深入研究。方法 大鼠 ig 给予北青龙衣醇提物后, 采集胃组织, 经有机溶剂沉淀蛋白, 通过 Peakview 2.0/Masterview 1.0 和 MetabolitePilot 1.5 数据处理软件, 根据离子碎片精确质量数和同位素丰度比, 数据库的二级质谱对比和裂解规律分析, 对胃组织中移行成分进行推断和鉴定。结果 共鉴定出 54 个移行成分, 其中 41 个原型成分, 包括 17 个萘醌、9 个二芳基庚烷、7 个黄酮、5 个三萜及 3 个酚酸类成分; 13 个代谢产物, 包括 4 个萘醌、3 个二芳基庚烷、1 个黄酮及 5 个其他类成分。结论 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术, 首次阐明北青龙衣化学成分在大鼠胃组织分布情况, 该方法检测快速、准确, 为北青龙衣抗胃癌药效学研究提供科学的研究数据。

关键词: 北青龙衣; 胃组织; 移行成分; 超高压液相色谱-串联四级杆飞行时间质谱; 萘醌; 黄酮

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)11-2527-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.11.007

Distribution of exocarp components of *Jugland mandshurica* in rats' gastric tissues based on UPLC-Q-TOF/MS

CHENG Tuan, WANG Gai-li, HUO Jin-hai, WANG Wei-ming

Heilongjiang Academy of Chinese Medical Sciences, Harbin 150036, China

Abstract: Objective To research the chemical constituents distribution from the exocarps of *Jugland mandshurica* in rats' stomach based on UPLC-Q-TOF/MS technology. **Methods** After ig administration with the exocarps of *J. mandshurica*, the tissue samples of stomach collected from each rat. Tissue samples were treated with organic solvent for protein precipitation. Peakview 2.0/masterview 1.0 and MetabolitePilot 1.5 software were used to determine the constituents from the exocarps of *J. mandshurica* based on the acquired accurate mass, isotope abundance, and MS/MS fragment mass spectra. **Results** In total, 54 constituents were identified, including 41 prototypes and 13 metabolites. The prototypes consists of 17 naphthoquinone, 9 diarylheptanoids, 7 flavonoids, 5 triterpenes, and 3 phenolicacids. And metabolites consists of 4 naphthoquinones, 3 diarylheptanoids, 1 flavonoids, and 5 other main components. **Conclusion** The work was deeply researched the constituents from the exocarps of *J. mandshurica* in rats' stomach for the first time based on UPLC-Q-TOF/MS technique. It was demonstrated that this method could be successfully applied for rapid screening and deeply analysis of chemical constituents *in vitro*. This research provides scientific research data for exocarps of *J. mandshurica* against gastric cancer.

Key words: exocarps of *Jugland mandshurica* Maxim; gastric tissue; migrating constituents; UPLC-Q-TOF/MS; naphthone; flavonoid

北青龙衣为胡桃科 (Juglandaceae) 胡桃属植物核桃楸 *Juglans mandshurica* Maxim. 未成熟果实外果皮^[1], 具有清热、解毒、止痢, 明目功效。现代研究表明青龙衣具有抗肿瘤、抗病毒、抗氧化等活性,

其中以抗肿瘤作用最为显著^[2]。研究表明其对多种肿瘤及人胃癌细胞株 (BGC823、SGC-7901) 有肯定的抑制肿瘤增殖的作用。胃癌占我国恶性肿瘤死亡首位^[3], 是最常见的恶性肿瘤之一, 探求安全、有

收稿日期: 2017-12-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503348); 黑龙江省自然科学基金 (H2017044); 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项 (2015-14)

作者简介: 程 团 (1990—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药质量评价及药效物质基础研究。Tel: 13136752721 E-mail: chengtuan9193@126.com

*通信作者 王伟明 (1966—), 女, 硕士生导师, 研究员, 研究方向为中药新产品研发。Tel: (0451)55665478 E-mail: zyyjy@163.com

效、可靠的抗肿瘤药物已成为肿瘤研究的热点^[4-5]。青龙衣含药血清可降低 SGC-7901 细胞存活率,提示其具有抗胃癌 SGC-7901 细胞增殖的效果^[6]。胡桃醌可通过升高人胃癌 SGC-7901 细胞内活性氧(ROS)水平,激活 JNK/p38 应激信号通路,进一步诱导该细胞凋亡^[7]。但北青龙衣抗胃癌药效物质基础尚不清楚,对其在大鼠胃组织分布研究未见报道。

课题前期采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对北青龙衣体外化学成分进行了分析与表征^[8],鉴定或推断了北青龙衣中 101 个化合物。本研究在此基础上进一步研究北青龙衣在大鼠胃组织中的移行成分及分布,为研究北青龙衣抗胃癌活性成分、作用机制及代谢过程奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ExionLC™ UPLC 超高效液相色谱系统,配有四元梯度泵(four element gradient pump)、柱温箱(column temperature box)、在线真空脱气机(on-line vacuum degassing machine)、自动进样器(automatic injector)和光电二极管阵列检测器(PDA detector); Triple TOF™ 5600⁺型质谱系统,ESI 源和 APCI 源;采集和处理数据软件:Analyst® TF 1.7.1 software、Peakview 2.0/Masterview 1.0 software 和 MetabolitePilot 1.5 software(美国 AB SCIEX 公司)。Legend Micro 17R 型冷冻高速离心机(美国 ThermoFisher 公司);CM-12J 型氮吹仪(北京成萌伟业科技有限公司);IKA® MS3 digital 型涡旋振荡器(广州仪科实验室技术有限公司);KQ-300DB 型数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司);F6/10-6G 型手持式匀浆机(弗鲁克流体机械制造有限公司)。

1.2 试药与试剂

北青龙衣药材于 2016 年 6 月 29 日采自哈尔滨市方正县(东经 128°92'62.1",北纬 45°62'82.8"),经黑龙江省中医药科学院初东君主任药师鉴定为胡桃科胡桃属植物核桃楸 *Juglans mandshurica* Maxim. 的果实,剥其外果皮,通风阴干。色谱级甲醇和乙腈,Merck 公司产品;色谱级甲酸,Fisher 公司产品;蒸馏水:广州屈臣氏食品饮料有限公司产品。

1.3 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠,许可证编号 SCXK(京)2016-0011,雄性,体质量(300±20)g,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司。

2 方法

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 北青龙衣醇提物的制备 取北青龙衣药材 350 g,加入 8 倍量 75%乙醇超声提取 2 次,每次 1 h,减压回收得乙醇提取物,供 UPLC-Q-TOF/MS 分析。

2.1.2 ig 药液的制备 取北青龙衣乙醇提取物,配制成 1.35 g/mL 溶液,储存于 4 °C 冰箱中备用。

2.2 胃组织样品的制备

Wistar 大鼠 12 只,随机分成空白组和给药组,各 6 只,禁食 12 h。按 2 mL/100 g 体质量给大鼠 ig 给予质量浓度为 1.35 g/mL 的北青龙衣醇提取液(相当于临床剂量的 10 倍量),空白组 ig 给予等量的蒸馏水,ig 给药 3 h 后,迅速取出胃组织,去除内容物并用生理盐水清洗,滤纸吸干,于-80 °C 冷冻保存。

取给药组和空白组大鼠的胃组织各 0.2 g,加 1 mL 水匀浆,加入 4 倍量的甲醇-乙腈(1:1),涡旋 1 min,超声处理 2 min,静置 10 min,定量取 2 mL 上清液,于 4 °C、13 000 r/min 离心 10 min,定量取 1.8 mL 上清液,氮气吹干,残渣用 80%甲醇水 200 μL 复溶,涡旋震荡 1 min 后,于 4 °C、13 000 r/min 离心 10 min,取上清液 100 μL,供 UPLC-Q-TOF/MS 分析。

2.3 分析条件

2.3.1 质谱条件 采用电喷雾离子源,正、负离子 2 种模式采集数据。正离子模式:离子源电压(ISVF)为 5 500 V,温度(TEM)为 550 °C,裂解电压(DP)为 80 V,碰撞能量(CE)为 35 eV,碰撞能量扩展(CES)为 15 eV。氮气为雾化气体,辅助气 Gas1、Gas2 为 379.225 kPa,气帘气(CUR)为 241.325 kPa。负离子模式:离子源电压(ISVF)为-4 500 V,碰撞能量(CE)为-35 eV,碰撞能量扩展(CES)为-15 eV,裂解电压(DP)分别为-80 V;其他参数同于正离子模式。扣除动态背景(DBS),一级质谱 Ion Scan Range 为 m/z 80~1 200,IDA 值超过 100 cps 的 8 个最高峰进行二级质谱扫描, Ion Scan Range 为 m/z 50~1 200。

2.3.2 色谱条件 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),Aquity UPLC BEH C₁₈ VanGuard Pre-Column 预柱(5 mm×2.1 mm, 1.7 μm),柱温 30 °C,体积流量为 0.3 mL/min,进样量 10 μL,液相梯度洗脱条件见表 1。

2.4 数据分析方法

运用 Peakview 及 Metabolite Pilot 软件对比给药组和空白组胃组织的色谱图, 筛选出离子强度大于空白组织 3 倍以上的北青龙衣原型成分及代谢产物。

2.4.1 原型成分鉴定^[8] 通过 Peakview 工作站的 Formula Fnder 功能, 依据精确质量数及同位素丰度比可确定化合物的分子式。将已确定分子式的化合物与课题组前期构建的北青龙衣 101 个成分数据库

的精确质量数、保留时间及二级质谱信息进行比对, 并通过推断其裂解规律进行结构鉴定, 如果一致则确认为北青龙衣的原型成分。

2.4.2 代谢产物鉴定 通过北青龙衣成分的化学式、结构式、正负离子模式下的总离子流图、二级谱图等建立 Compound Library, 利用 Peak Finding Strategy 模块的 6 种代谢方式, 设置 Biotransformation parameters 如离子色谱峰峰宽、响应值、保留时间范围等, 依据化合物成分类别、结构特点及文献资料选择可能发生的 I 和 II 相代谢途径, 结合以上条件推断北青龙衣在大鼠胃组织中代谢产物。

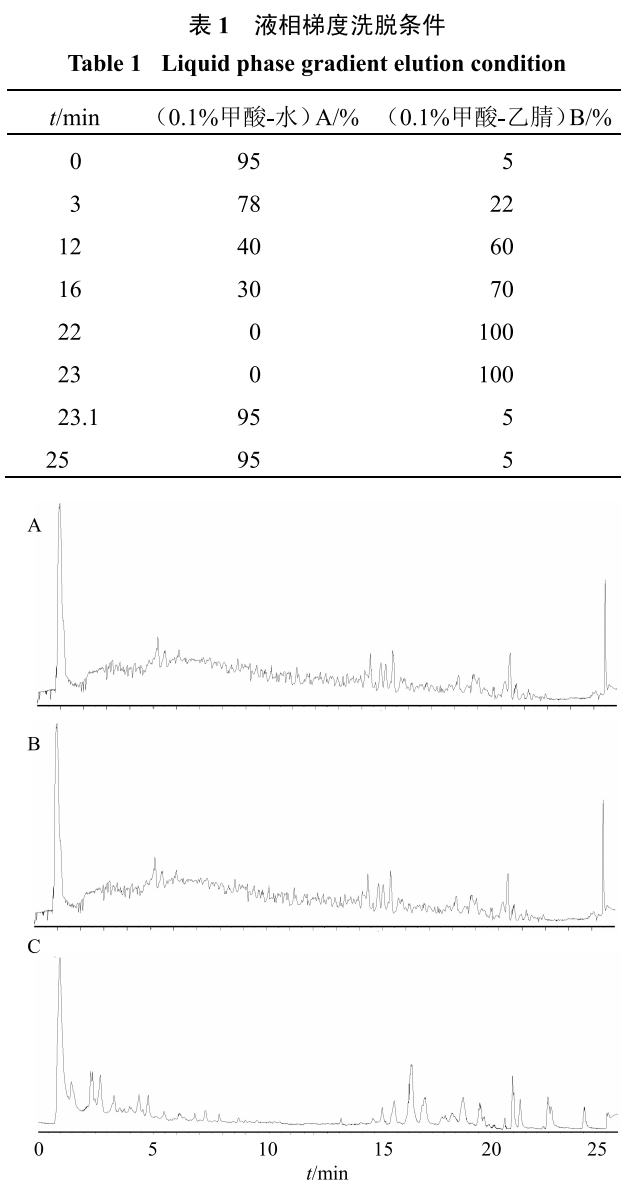
3 结果

3.1 色谱图的采集

正、负模式下色谱图见图 1。

3.2 胃组织移行成分鉴定

共鉴定了大鼠 ig 北青龙衣提取物后胃组织移行成分 54 个, 其中 41 个原型成分, 包括 17 个萘醌、9 个二芳基庚烷、7 个黄酮、5 个三萜及 3 个酚酸类成分; 13 个代谢产物, 包括 4 个萘醌、3 个二芳基庚烷、3 个酚酸及 3 个其他类成分。结果见表 2 和 3。



A-北青龙衣醇提取物 (ESI⁺) B-空白胃组织 (ESI⁺) C-给药胃组织 (ESI⁺) D-北青龙衣醇提取物 (ESI⁻) E-空白胃组织 (ESI⁻) F-给药胃组织 (ESI⁻)

A-ethanol extract of exocarps of *J. mandshurica* in positive ion mode B-blank gastric tissue in positive ion mode C-gastric tissue after oral administration of exocarps of *J. mandshurica* in positive ion mode D-ethanol extract of exocarps of *J. mandshurica* in negative ion mode E-blank gastric tissue in negative ion mode F-gastric tissue after oral administration of exocarps of *J. mandshurica* in negative ion mode

图 1 正、负离子模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram in positive and negative ion mode

表 2 大鼠 ig 北青龙衣醇提物后胃组织成分分析 (正离子模式)

Table 2 Analysis of constituent in gastric tissue after ig administration of exocarps alcohol extracts (positive ion mode)

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	主要二级碎片离子 (m/z)	鉴定结果	类别	成分 类型
1	5.5	179.069 3	179.070 3	-5.4	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$	179 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 143 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 133 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 115 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 105 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$	核桃酮	萘醌	原型
2	4.8	195.064 6	195.065 2	-3.1	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	195 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 177 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 159 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 149 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 107 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3]^+$, 103 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$	4,5,8-三羟基- α -四氢萘醌	萘醌	原型
3	6.4	191.033 2	191.033 9	-3.5	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	191 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 145 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 103 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{CO}]^+$	2,5-二羟基-1,4-萘醌	萘醌	原型
4	5.5	161.058 8	161.059 7	-5.7	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$	161 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 143 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 133 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 115 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 105 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 103 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{CH}_2\text{O}]^+$	1,5-萘二酚	萘醌	原型
5	4.8	177.053 9	177.054 6	-4.2	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$	177 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 149 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$, 107 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 103 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$	5-羟基-1,4-萘醌	萘醌	原型
6	6.2	231.028 6	231.028 8	-1.0	$\text{C}_{12}\text{H}_6\text{O}_5$	231 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 175 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}]^+$, 129 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	4,9-dihydroxynaphtho [2,3-c] furan-5,8-dione	萘醌	原型
7	7.1	259.060 2	259.060 1	0.3	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5$	259 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 241 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 185 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 157 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-3\text{CO}]^+$, 129 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-4\text{CO}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3]^+$	1,3,6,8-tetrahydroxy-9 (10H)-anthracenone	萘醌	原型
8	6.9	276.086 9	276.086 7	0.8	$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_5$	275 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 258 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 240 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 230 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 214 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^+$, 202 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 190 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 175 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_2]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_2-\text{CO}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_2-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_2]^+$	4-[(1,4-二氢-8-羟基-1,4-二氧代-2-萘基)氨基]-丁酸	萘醌	原型
9	9.7	257.044 3	257.044 5	-0.8	$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_5$	257 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 211 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 201 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 183 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 173 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}]^+$, 155 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	1,4,8-trihydroxyanthraquinone	萘醌	原型
10	10.0	273.039 6	273.039 4	0.8	$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_6$	273 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 255 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 245 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 227 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 199 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 171 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	1,4,5,8-tetrahydroxy anthraquinone	萘醌	原型
11	4.9	303.049 8	303.049 9	-0.4	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	303 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 165 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4]^+$	槲皮素	黄酮	原型

续表 2

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	主要二级碎片离子 (m/z)	鉴定结果	类别	成分 类型
12	8.1	273.075 5	273.075 8	-0.9	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	273 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 255 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3]^+$, 119 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4]^+$	柚皮素	黄酮	原型
13	7.0	289.070 9	289.070 7	0.9	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$	289 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4]^+$, 135 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2]^+$	圣草酚	黄酮	原型
14	8.7	331.081 4	331.081 2	0.4	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$	331 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 315 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4]^+$, 297 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-\text{H}_2\text{O}]^+$, 281 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 273 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_6-\text{CO}]^+$, 253 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3]^+$	条叶蒺藜素	黄酮	原型
15	6.4	313.143 3	313.143 4	-0.3	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$	313 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2]^+$, 151 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2]^+$, 119 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3]^+$	枫杨素	二芳基 庚烷	原型
17	9.2	379.045 3	379.044 8	1.3	$\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_8$	379 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 361 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 351 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}-\text{CO}]^+$, 333 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 323 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 305 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 277 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-3\text{CO}]^+$, 249 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-4\text{CO}]^+$	3,3',5,5'-tetrahydroxy-2,2'-binaphthalene-1,1',4,4'-tetrone	萘醌	原型
18	6.8	365.065 6	365.065 6	0	$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_7$	365 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 347 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 319 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 291 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 263 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-3\text{CO}]^+$	5-羟基-3,3'-双胡桃醌	萘醌	原型
19	6.4	351.086 5	351.086 3	0.5	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_6$	351 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 333 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 315 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 291 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^+$	5,12-dihydroxy-6,11-dioxo-1,4,6,11-tetrahydro-1-tetracenyl acetate	萘醌	原型
20	10.1	311.164 3	311.164 2	0.4	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_3$	311 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 187 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}]^+$, 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_2]^+$, 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_4]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}]^+$, 123 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}-\text{CH}_2]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2]^+$	(4E)-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-phenyl-4-hepten-3-one	二芳基 庚烷	原型
21	11.3	327.159 2	327.159 1	0.3	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_4$	327 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 207 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$, 107 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$, 103 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4]^+$	1-(4'-羟基苯基)-7-(3"-甲氧基-4"-羟基苯基)-4-烯-3-庚酮	二芳基 庚烷	原型
22	10.2	343.154 3	343.154 0	0.8	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_5$	343 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 325 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 245 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$	1-(4'-羟基苯基)-7-(3"-甲氧基苯基)-2-羟基-3',4"-环氧-3-庚酮	二芳基 庚烷	原型
23	9.5	313.180 3	313.179 8	1.5	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_3$	313 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}]^+$, 107 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2]^+$	1-(4'-甲氧基苯基)-7-苯基-3',4"-环氧-3-庚醇	二芳基 庚烷	原型
26	3.7	467.118 7	467.118 4	0.6	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	467 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 305 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 287 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_8]^+$	5-(5,7-dihydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-2H-chromen-2-yl)-2,3-dihydroxy-phenyl β -D-allopyranoside	黄酮	原型
27	11.6	341.175 5	341.174 7	2.1	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4$	341 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 309 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4\text{O}]^+$, 217 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2]^+$, 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_2]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$	1-(4'-甲氧基苯基)-7-(3"-甲氧基苯基)-3',4"-环氧-3-庚酮	二芳基 庚烷	原型

续表 2

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	主要二级碎片离子 (m/z)	鉴定结果	类别	成分 类型
28	12.2	357.170 1	357.169 7	1.1	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$	357 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 259 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}]^+$, 179 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4]^+$	胡桃宁 A	二芳基 庚烷	原型
29	9.7	343.190 6	343.190 4	0.6	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$	343 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 187 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_3]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_3]^+$	1-(4'-甲氧基苯基)-7-(3"-甲氧基苯基)-3',4"-环氧-3-庚醇	二芳基 庚烷	原型
30	5.8	489.103 1	489.102 8	0.6	$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	489 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 327 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 309 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^+$, 265 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^+$, 237 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{CO}]^+$	1,8,9,10-四羟基-6 <i>H</i> -萘-1,2-b[<i>d</i>]吡喃-6-酮-12- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	萘醌	原型
32	4.1	523.142 7	523.144 6	-3.7	$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	523 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 347 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3]^+$, 331 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4]^+$, 259 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_6]^+$, 169 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9]^+$	(4 <i>S</i>)-4,5,8-三羟基- α -四氢萘酮-5- <i>O</i> - β -D-[6'- <i>O</i> -(3",5"-二羟基-4"-甲氧基苯甲酰)]吡喃葡萄糖苷	萘醌	原型
34	14.4	437.341 2	437.341 4	-0.5	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_2$	437 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 391 $[\text{M}+\text{H}-\text{COOH}_2]^+$, 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{COOH}_2-\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}]^+$, 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{COOH}_2-\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}]^+$	ursa-2,9(11),12-trien-24-oic acid	三萜	原型
35	21.0	423.362 5	423.362 1	0.9	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}$	423 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 217 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}]^+$, 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}-\text{C}_5\text{H}_{10}]^+$	ursa-6,12,20(30)-trien-3-ol	三萜	原型
36	21.2	425.378 4	425.377 8	1.4	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$	425 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 407 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 285 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_9\text{H}_{14}]^+$, 135 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{20}\text{H}_{32}]^+$, 123 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{21}\text{H}_{32}]^+$, 109 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{21}\text{H}_{32}-\text{CH}_2]^+$	anoectosterol	三萜	原型
37	21.0	441.373 1	441.372 7	0.8	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$	441 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 423 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 221 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{15}\text{H}_{22}]^+$, 205 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{16}\text{H}_{26}]^+$	3-hydroxylup-20(29)-en-28-al	三萜	原型
38	21.0	441.373 1	441.372 7	0.8	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$	441 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 423 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 217 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}]^+$, 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}]^+$, 149 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}-\text{C}_4\text{H}_6]^+$	(3 β)-oleana-12,21-diene-3,24-diol	三萜	原型
39	2.6	166.085 4	166.086 3	-5.2	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$	166 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 149 $[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_2]^+$, 120 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$, 103 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3\text{NO}_2]^+$	苯丙氨酸	酚酸	原型
41	3.5	181.049 4	181.049 5	-1.0	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	181 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 145 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 135 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 117 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 89 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$	咖啡酸	酚酸	原型
42	12.2	357.170 1	357.169 6	1.2	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$	357 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 259 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}]^+$, 179 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$	1-(4'-羟基苯基)-7-(2"-羟基-3"-甲氧基苯基)-3',4"-环氧-3-庚酮氧化产物	二芳基 庚烷	代谢物
43	10.2	343.154 2	343.154 0	0.5	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_5$	343 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 215 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2]^+$, 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_4]^+$	1-(4'-甲氧基苯基)-7-(3"-甲氧基苯基)-3',4"-环氧-3-庚醇去甲基氧化产物	二芳基 庚烷	代谢物

续表 2

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	主要二级碎片离子 (m/z)	鉴定结果	类别	成分 类型
44	10.2	343.154 2	343.154 0	0.5	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_5$	343 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 325 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 245 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}]^+$, 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_3]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3]^+$	胡桃宁 A 去甲基化产物	二芳基 庚烷	代谢物
45	4.8	177.053 8	177.054 6	-4.5	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$	177 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 149 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	胡桃醌氢化产物	萘醌	代谢物
46	6.9	221.044 2	221.044 4	-1.1	$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_5$	221 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 193 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 145 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	2,5-二羟基-1,4-萘醌氧化甲基化产物	萘醌	代谢物
53	8.0	289.070 9	289.062 8	-0.9	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$	289 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4]^+$, 135 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2]^+$	柚皮素氧化产物	黄酮	代谢物

表 3 大鼠 ig 北青龙衣醇提取物后胃组织成分分析 (负离子模式)

Table 3 Analysis of constituent in gastric tissue after ig administration of exocarps alcohol extracts (negative ion mode)

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	主要二级碎片离子 (m/z)	鉴定结果	类别	成分 类型
2	4.8	193.050 6	193.050 7	0.5	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	193 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 175 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 157 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^-$, 129 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$	4,5,8-三羟基- α -四氢萘醌	萘醌	原型
16	6.7	361.035 4	361.035 5	0.3	$\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_7$	361 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 333 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$, 317 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 289 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}-\text{CO}_2]^-$, 261 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CO}-\text{CO}_2]^-$	3,8,8'-trihydroxy-2,2'-binaphthalene-1,1',4,4'-tetrone	萘醌	原型
17	9.2	377.030 3	377.030 7	1.0	$\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_8$	377 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 359 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 349 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$, 331 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 305 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}-\text{CO}_2]^-$, 277 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CO}-\text{CO}_2]^-$	3,3',5,5'-tetrahydroxy-2,2'-binaphthalene-1,1',4,4'-tetrone	萘醌	原型
22	10.2	341.139 5	341.139 7	0.8	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_5$	341 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 326 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 219 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}]^-$, 177 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2]^-$	1-(4'-羟基苯基)-7-(3"-甲氧基苯基)-2-羟基-3',4"-环氧-3-庚酮	二芳基庚烷	原型
24	9.5	329.175 8	329.176 1	0.7	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$	329 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 135 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2]^-$	1-(4'-羟基苯基)-7-(4"-羟基-3"-甲氧基苯基)-3-庚醇	二芳基庚烷	原型
25	4.8	463.088 2	463.089 0	1.6	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	463 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 301 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3]^-$, 271 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}]^-$, 255 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 179 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^-$, 151 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3]^-$	金丝桃苷	黄酮	原型
31	5.4	489.103 9	489.105 2	2.8	$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	489 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 331 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_2]^-$, 313 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}]^-$, 301 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_3]^-$, 271 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 241 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_3]^-$, 217 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_8]^-$, 211 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6]^-$, 175 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_9]^-$, 169 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_7]^-$	1,4,8-三羟基-1-O- β -D-[6'-O-(3",4",5"-三羟基苯甲酰)]吡喃葡萄糖苷	萘醌	原型

续表 3

峰号	t_R/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	主要二级碎片离子 (m/z)	鉴定结果	类别	成分 类型
33	6.7	525.103 9	525.104 9	2.0	$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	525 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 362 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5]^-$, 334 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{CO}]^-$	2-(2'- <i>O</i> -benzoyl)- <i>C</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-1,3,6,7-tetrahydroxyanthrone	黄酮	原型
40	4.0	163.040 1	163.040 6	3.3	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	163 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 119 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 117 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$, 93 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_2]^-$	对羟基肉桂酸	酚酸	原型
47	3.8	257.012 3	257.011 4	-0.1	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_6\text{S}$	257 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 177 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 159 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$, 131 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$, 115 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$	核桃酮硫酸化产物	萘醌	代谢物
48	4.7	353.088 8	353.086 7	2.8	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	353 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 193 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2]^-$, 177 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^-$, 159 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{H}_2\text{O}]^-$	核桃酮葡萄糖醛酸化产物	萘醌	代谢物
49	3.5	193.051 0	193.049 5	2.0	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	193 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 175 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 147 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 119 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_3]^-$	东莨菪内酯氢化产物	香豆素	代谢物
50	3.7	177.057 2	177.054 6	8.6	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$	177 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 133 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 131 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$, 93 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_2]^-$	对羟基肉桂酸甲基化产物	酚酸	代谢物
51	4.8	193.050 7	193.049 5	0.6	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	193 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 147 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 145 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$, 131 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{O}]^-$, 129 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{O}]^-$	对羟基肉桂酸氧化甲基化产物	酚酸	代谢物
52	4.8	193.050 7	193.049 5	0.6	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	193 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 147 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$, 145 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_4\text{O}_2]^-$, 131 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{O}]^-$	咖啡酸甲基化产物	酚酸	代谢物
54	4.3	363.035 7	363.034 7	-0.1	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_{10}$	363 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 189 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6]^-$, 173 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6-\text{O}]^-$, 161 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6-\text{CO}]^-$, 145 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6-\text{CO}_2]^-$	7 <i>H</i> -furo[3,2- <i>g</i>]chromene-3,7(2 <i>H</i>)-dione 去甲基葡萄糖醛酸化产物	香豆素	代谢物

3.3 主要色谱峰的质谱分析

3.3.1 原型成分 以化合物 **1** (萘醌类) 为例说明推断过程。

化合物 **1**: 5-羟基-1,4-萘醌的详细鉴定参考文献报道^[9], 二级质谱图见图 2, 可能的裂解过程见图 3。

3.3.2 代谢产物 以 7*H*-furo[3,2-*g*]chromene-3,7(2*H*)-dione 去甲基葡萄糖醛酸化产物和胡桃宁 A

去甲基化产物为例说明鉴定过程。香豆素类结构中的羟基易与硫酸基、葡萄糖醛酸基等发生结合反应, 结合位点多发生在 7 位羟基。脱甲基代谢是香豆素类化合物在体内重要代谢途径^[10]。

7*H*-furo[3,2-*g*]chromene-3,7(2*H*)-dione 去甲基葡萄糖醛酸化产物在负离子模式下, 准分子离子峰 m/z 363 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 根据相对分子质量, 其分子式

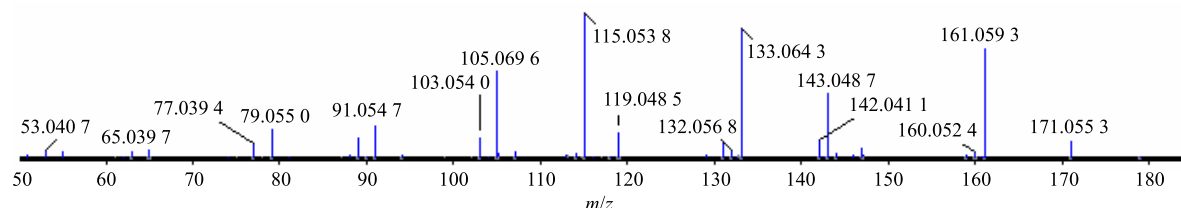


图 2 核桃酮的二级质谱图 (ESI^+)

Fig. 2 MS/MS spectrum for regiolone in positive mode

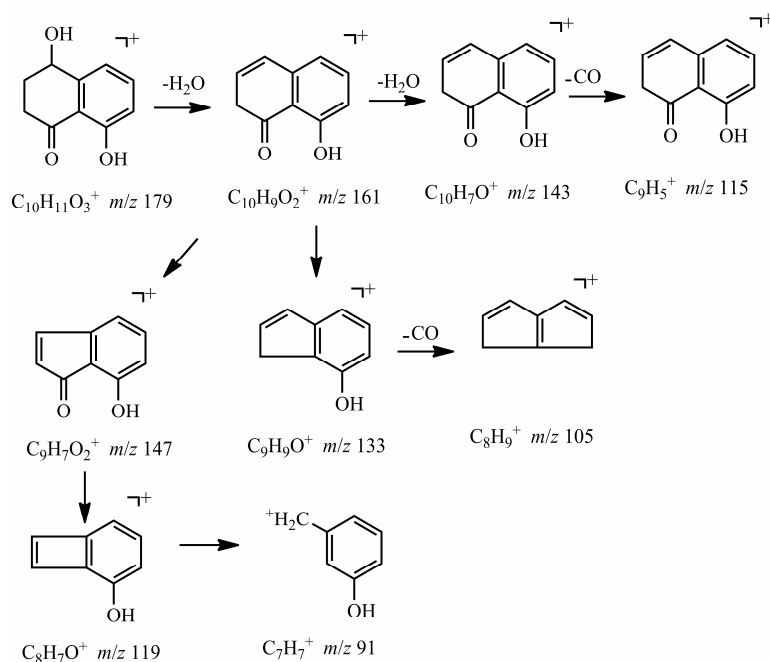
图 3 胡桃酮可能的裂解过程 (ESI⁺)

Fig. 3 Possible fragmentation pathway for regiolone in positive mode

组成比 7*H*-furo [3,2-*g*]chromene-3,7 (2*H*)-dione 去甲基化后的产物多了 m/z 180, 提示结合一葡萄糖醛酸基, 高碰撞下主要的碎片 m/z 173、161、145 等, 与 7*H*-furo [3,2-*g*] chromene-3,7 (2*H*)-dione 二级碎片比较, 符合其葡萄糖醛酸结合的过程, 结合文献报道^[10], 香豆素葡萄糖醛酸化产物代谢位点可能发生在 7 位。该化合物匹配度见图 4, 可能的裂解过程见图 5。

胡桃宁 A 去甲基化产物在正离子模式下, 准分子离子峰 m/z 343 [M+H]⁺, 比胡桃宁 A 准分子离子峰 m/z 357 [M+H]⁺ 少 14, 提示脱去 1 个 CH₂, 发生去甲基化反应, 结合碎片 m/z 325、245、189、163、147 等, 与胡桃宁 A 碎片比较, 符合其去甲基化过程, 结合相关文献报道^[11-12]去甲基化的位点, 且通过代谢物碎片 m/z 325、245 比胡桃宁 A 碎片 m/z 339、259 分别少了 1 个 CH₂, 推断出其可能发

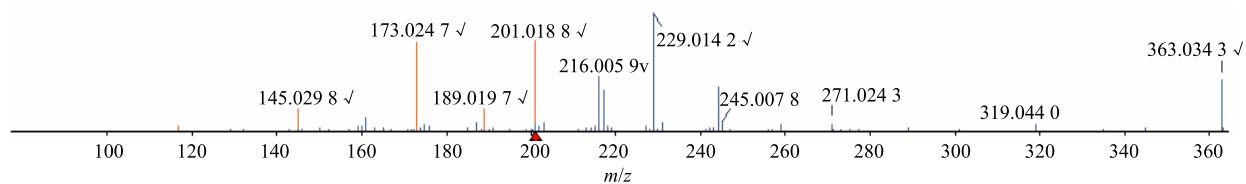
生去甲基化的位点。胡桃宁 A 去甲基化产物匹配度见图 6, 可能的裂解过程见图 7。

3.4 代谢途径分析

本研究由表 1 可知, 北青龙衣化合物在体内与甲基、硫酸基、葡萄糖醛酸基等基团发生反应, 在大鼠胃组织中化学成分的代谢途径分析如下。

3.4.1 二芳基庚烷类

化合物 42: 大鼠胃组织 ESI⁺图 (图 1) 中 t_R 为 12.20 min 处存在 m/z 357 [M+H]⁺ 峰的化合物, 此成分在 MS/MS 图中主要有 m/z 259、179、163 等碎片离子, 其中碎片离子 m/z 259 比该原型结构碎片 m/z 245 多 14, 提示其可能发生甲基化反应, 原结构中 C_{4'}和 C_{2''}各含有 1 个羟基, 但由于 C_{3''}位含有 1 甲氧基, 故推测其可能的甲基化位点 C_{4'}位, 可能的结构见图 8-A。



√-二级质谱图中与数据库对应的结构中匹配上的碎片, 下同

√-Fragments matching structure corresponding to database in two level mass spectrograph, same as below.

图 4 7*H*-furo[3,2-*g*]chromene-3,7(2*H*)-dione 去甲基化葡萄糖醛酸化产物的二级质谱图 (ESI⁻)Fig. 4 MS/MS spectrum for demethylation of glucuronidification of 7*H*-furo[3,2-*g*]chromene-3,7 (2*H*)-dione in negative mode

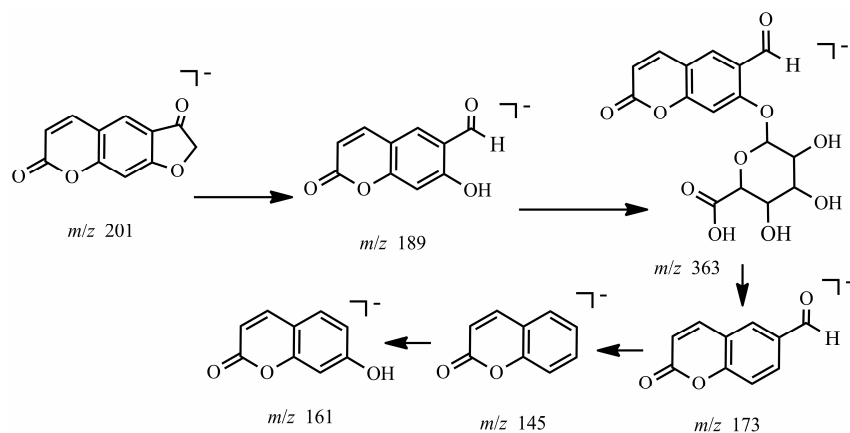


图 5 7H-furo [3,2-g]chromene-3,7(2H)-dione 去甲基化葡萄糖醛酸化产物可能的裂解过程 (ESI⁻)

Fig. 5 Possible fragmentation pathway for demethylation of glucuronidation of 7H-furo [3,2-g]chromene-3,7 (2H)-dione in negative mode

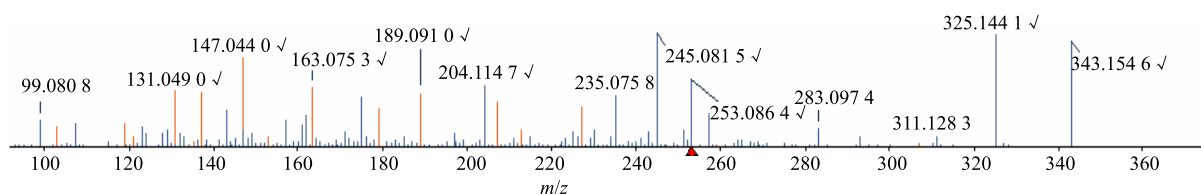


图 6 胡桃宁 A 去甲基化产物的二级质谱图 (ESI⁺)

Fig. 6 MS/MS spectrum for demethylation of juglanin A in positive mode

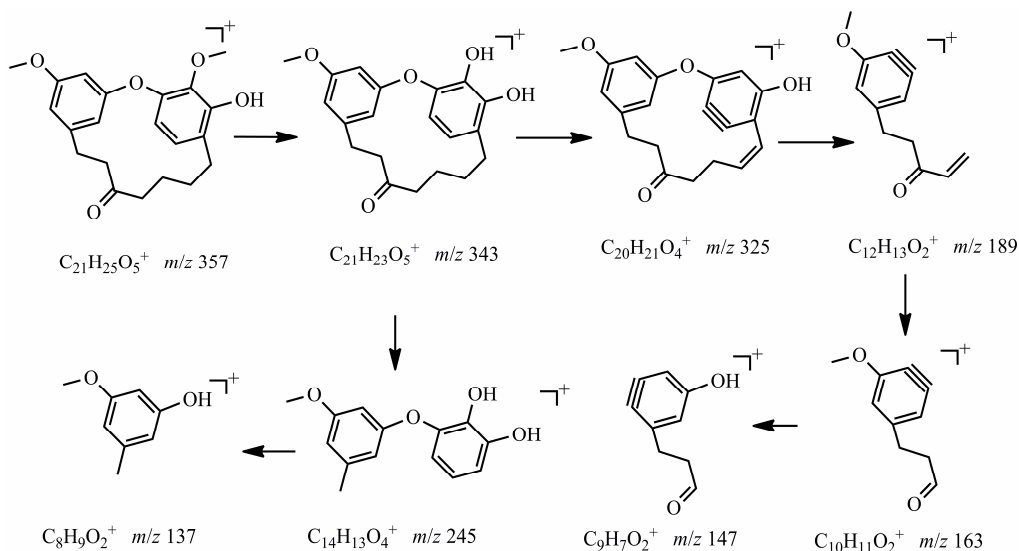


图 7 胡桃宁 A 去甲基化产物可能的裂解过程 (ESI⁺)

Fig. 7 Possible fragmentation pathway for demethylation of juglanin A in positive mode

化合物 43: 大鼠胃组织 ESI⁺图 (图 1) 中 t_R 为 10.20 min 处存在 m/z 343 [M+H]⁺ 峰的化合物, 此成分在 MS/MS 图中有 m/z 215、189、163、131 等碎片, 其中 m/z 215 与该原型结构中 m/z 217 相差 2, 同时 m/z 189 [M+H-C₈H₁₀O₃]⁺ 比该原型结构碎

片 m/z 203 [M+H-C₈H₁₀O₂]⁺ 少 16 且丢失的碎片, 提示在氧化位置在 C₁ 位苯环上, 但氧化位点有待确定, 从而确定 C₇ 位苯环上的甲氧基发生去甲基化, 故推测该化合物去甲基化位点可能在 C₃ 位, 可能的结构见图 8-B。

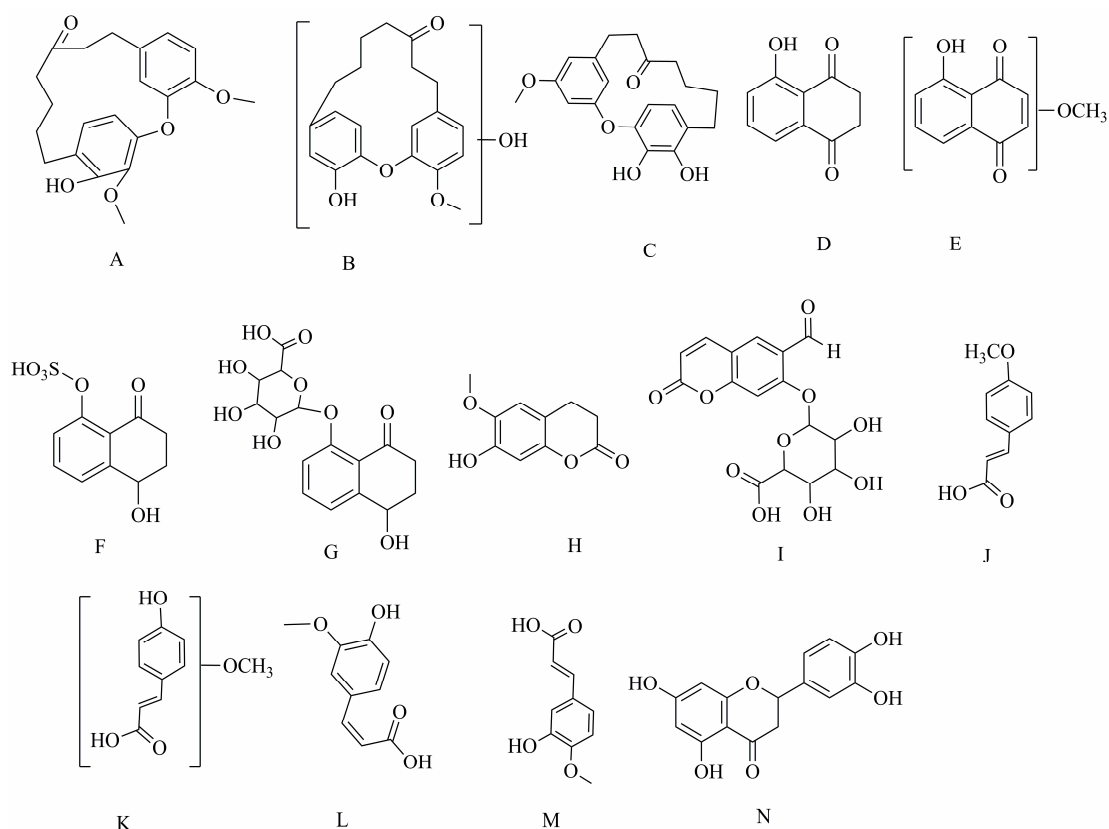


图 8 代谢物的可能结构

Fig. 8 Possible structures of metabolites

化合物 44: 鉴定详见“3.3.2”项下胡桃宁 A 脱甲基化产物, 其可能的结构见图 8-C。

3.4.2 萘醌类 醌类成分在大鼠体内, 通过细胞色素 P450、硫酸转移酶等可发生生物转化, 产生 I 相代谢产物和 II 相代谢产物。戴海学等^[13]结果表明醌类成分丹参酮发生羟基化、呋喃环裂解及氧化反应等代谢途径。

化合物 45: 大鼠胃组织 ESI⁺图(图 1)中 t_R 为 4.78 min 处存在 m/z 177 [M+H]⁺ 峰的化合物, 此成分在 MS/MS 图中有 m/z 159、149、131、121 均比胡桃醌碎片 m/z 157、147、129、119 多 2, 且苯环中某一双键不易发生加氢反应, 故推测胡桃醌加氢位点可能在 C₂-C₃ 位, 可能的结构见图 8-D。

化合物 46: 大鼠胃组织 ESI⁺图(图 1)中 t_R 为 6.88 min 处存在 m/z 221 [M+H]⁺ 峰的化合物, 此成分在 MS/MS 图中有 m/z 193、145、121, 其中 m/z 193 比 2,5-二羟基-1,4-萘醌碎片 m/z 163 多 30, 其余碎片与 2,5-二羟基-1,4-萘醌碎片一致, 故推测其可能发生氧化甲基化, 但代谢位点未推测出, 可能的结构见图 8-E。

化合物 47 和化合物 48: 大鼠胃组织 ESI⁺图(图

1) 中 t_R 为 3.75 min 和 4.70 min 处存在 m/z 257 [M-H]⁻ 峰和 m/z 353 [M-H]⁻ 峰的化合物其分子组成比分别比核桃酮分子组成比多 80 和 180, 此成分在 MS/MS 图中有主要的质谱碎片 m/z 177、159、131 等均与核桃酮碎片一致, 故推测其可能发生硫酸化和葡萄糖醛酸化反应, 核桃酮结构上仅有 2 个羟基, 其中由于 C₅ 位羟基处于苯环上, 故可能的代谢位点为 C₅ 位, 可能的结构见图 8-F 和图 8-G。

3.4.3 香豆素类 高萌^[14]研究结果表明香豆素类化合物在大鼠体内发生了广泛的吸收可发生 I 相代谢反应(去甲基化、还原反应、脱水等)和 II 相代谢反应(甲基化)。香豆素类在体内也可发生葡萄糖醛酸化反应^[15]。

化合物 49: 大鼠胃组织 ESI⁻图(图 1)中 t_R 为 3.48 min 处存在 m/z 193 [M-H]⁻ 峰的化合物, 此成分在 MS/MS 图中有 m/z 175、147 比该原型结构碎片 m/z 173、145 相差 2, 其余碎片与东莨菪内酯碎片一致, 故推测其可能发生氢化反应, 由于原型结构中 C₅、C₆ 位分别含有 1 个甲氧基和 1 个羟基, 故代谢位点可能为 C₂-C₃ 位, 可能的结构见图 8-H。

化合物 54: 鉴定详见“3.3.2”项下 7H-furo

[3,2-g]chromene-3,7(2H)-dione 葡萄糖醛酸化产物,其可能的结构见图 8-I。

3.4.4 酚酸类 魏玲^[16]研究表明,咖啡酸在大鼠体内发生 I 相反应,在此基础上再进行甲基化、葡萄糖醛酸等 II 相代谢,从而使之极性增大,易于排出体内。

化合物 **50**: 于胃组织 ESI⁻图(图 1)中 t_R 为 3.70 min 处存在 m/z 177 [M-H]⁻ 峰的化合物,此成分在二级质谱图中主要碎片有 m/z 133、131、93,其中碎片 m/z 133、117 比原型碎片 m/z 119、117 相差 14,其余碎片与对羟基肉桂酸碎片一致,故推测其可能发生甲基化反应,由于原药结构中只含有 1 个羟基,故代谢位点可能为 C₄ 位羟基,可能的结构见图 8-J。

化合物 **51**: 于胃组织 ESI⁻图(图 1)中 t_R 为 4.78 min 处存在 m/z 193 [M-H]⁻ 峰的化合物,此成分在二级质谱图中主要碎片有 m/z 147、145、131、129,其中碎片 m/z 147、比原型碎片 m/z 117 相差 30,其余碎片与对羟基肉桂酸碎片一致,故推测其可能发生单氧甲基化反应,由于原药结构中 C₄ 含有 1 个羟基,故氧化位点可能为 C₃ 位,甲基化的位点未能推测出,需核磁共振方法检测确定,可能的结构见图 8-K。

化合物 **52**: 于胃组织 ESI⁻图(图 1)中 t_R 为 4.78 min 处存在 m/z 193 [M-H]⁻ 峰的化合物,此成分在二级质谱图中主要碎片有 m/z 147、145、131,其中碎片 m/z 147、131 比原型碎片 m/z 135、117 分别相差 14,其余碎片与咖啡酸碎片一致,故推测其可能发生甲基化反应,由于咖啡酸结构中 C₃、C₄ 分别含有 1 个羟基,故甲基化位点不能确定,可能的结构为阿魏酸或异阿魏酸^[16],见图 8-L 和 8-M。

3.4.5 黄酮类 Nielsen 等^[17]研究表明,黄酮类结构中羟基的数目、位置与代谢程度有关。通过人和小鼠肝微粒体,柚皮素 B 环 C₃'位发生羟化反应^[18]。Luan 等^[19]研究结果表明使用重组细胞色素 P450 BM3 黄酮类化合物柚皮素产生羟基化产物圣草酚。

化合物 **53**: 大鼠胃组织 ESI⁺图(图 1)中 t_R 为 8.10 min 处存在 m/z 289 [M+H]⁺ 峰的化合物,主要碎片 m/z 163、153、135,其中 m/z 135 比柚皮素的 B 环及 C 环发生 RDA 裂解后与 B 环连接形成碎片 m/z 119 多 16,故推测氧化位点可能在 C₂-C₃ 位,可能的结构见图 8-N。

4 讨论

本研究通过 ig 给予大鼠北青龙衣醇提取液后,

在其胃组织中共鉴定出 41 个原型成分及 13 个代谢产物。其中原型成分包括 17 个萜醌、9 个二芳基庚烷、7 个黄酮、5 个三萜和 3 个酚酸等类成分。代谢产物主要为二芳基庚烷、黄酮和萜醌等类成分的代谢。研究表明北青龙衣在大鼠体内发生氧化、还原、去甲基化等 I 相代谢反应,在此基础上进一步发生硫酸化、葡萄糖醛酸化等 II 相代谢反应,生成水溶性大的成分,最后排出体外。现代研究表明青龙衣中萜醌类,二芳基庚烷类和黄酮类均具有明显的抗肿瘤作用^[20]。本研究首次证实这 3 类成分在胃组织中均具有广泛的分布,为阐明北青龙衣抗胃癌活性及其药效物质基础提供科学的研究数据,同时为抗胃癌药物深入开发奠定基础。

本实验采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对北青龙衣醇提物在胃中移行成分进行深入研究,有助于阐释北青龙衣各类成分在体内的代谢过程及发挥药效机制,为该药在胃组织中的蓄积及不良反应等安全性和有效性评价及其体内成分分布研究提供方法学借鉴,也为阐明北青龙衣中具有抗肿瘤作用的药效物质基础提供更加全面的信息。

参考文献

- [1] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [2] 吴威, 李巍, 张易. 胡桃科植物的化学成分与生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2480-2488.
- [3] 孙秀娣, 周有尚, 戴旭东, 等. 中国胃癌死亡率 20 年变化情况分析及其发展趋势预测 [J]. 中华肿瘤杂志, 2004, 26(1): 4-9.
- [4] Moody S E, Boehm J S, Barbie D A, et al. Functional genomics and cancer drug target discovery [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2010, 12(3): 284-293.
- [5] 吴龙火, 李培, 刁勇, 等. 天然香豆素的抗癌机制研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(10): 1174-1177.
- [6] 高启龙, 朱亚楠, 石变, 等. 青龙衣含药血清抑制胃癌 SGC-7901 细胞生长和诱导凋亡 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(13): 111-115.
- [7] 邹翔, 曲中原, 季宇彬. 胡桃醌经由活性氧介导 JNK、p38 通路诱导 SGC-7901 细胞凋亡 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(7): 544-549.
- [8] 霍金海, 都晓伟, 孙国东, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 分析北青龙衣成分 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3379-3388.
- [9] 孙国东, 霍金海, 程团, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的胡桃楸叶化学成分分析 [J]. 中药材, 2017, 40(5): 1124-1130.

- [10] 徐倩, 徐国兵. 香豆素类化合物代谢研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 222-225.
- [11] 肖盛元, 刘红霞, 林文翰, 等. 干姜中的二芳基庚烷类化合物及其在四逆汤煎煮过程中的立体选择性反应 [J]. 分析化学, 2007, 35(9): 1295-1300.
- [12] 罗京超. 高良姜中二苯基庚烷的 UPLC/Q-TOFMS 分析及单体抗炎活性研究 [D]. 广州: 广东药学院, 2010.
- [13] 戴海学, 汪明明, 李晓蓉, 等. 丹参酮类药物体内代谢产物的 LC-DAD-MS 鉴定 [J]. 中国药理通讯, 2009, 26(4): 9-10.
- [14] 高萌. 北沙参-麦冬配伍体外化学成分研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [15] 徐倩, 徐国兵. 香豆素类化合物代谢研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 222-225.
- [16] 魏玲. 咖啡酸在大鼠体内 II 相代谢产物研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2010.
- [17] Nielsen S E, Breinholt V, Justesen U, *et al.* *In vitro* biotransformation of flavonoids by rat liver microsomes [J]. *Xenobiotica*, 1998, 28(4): 389-401.
- [18] Breinholt V M, Offord E A, Brouwer C, *et al.* *In vitro* investigation of cytochrome P450-mediated metabolism of dietary flavonoids [J]. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40(5): 609-616.
- [19] Luan L C, Ramesh P P, Narasimhan J, *et al.* Hydroxylation of diverse flavonoids by CYP450 BM3 variants: biosynthesis of eriodictyol from naringenin in whole cells and its biological activities [J]. *Microbial Cell Factories*, 2016, 15(1): 135.
- [20] 周媛媛, 王栋. 胡桃属植物抗肿瘤作用化学成分研究进展 [J]. 中国药房, 2010, 21(43): 4119-4121.