

## 基于 UPLC-HRMS 的大鼠体内栀子多成分序贯代谢研究

刘慧宁<sup>1</sup>, 刘磊<sup>2</sup>, 于爽<sup>1</sup>, 李雪岩<sup>1</sup>, 王新宇<sup>1</sup>, 祁东盈<sup>1</sup>, 潘福璐<sup>1</sup>, 柴晓钰<sup>1</sup>, 王倩倩<sup>1</sup>, 潘艳丽<sup>3\*</sup>, 刘洋<sup>1\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488  
2. 品珍草(北京)生物科技有限公司, 北京 100022  
3. 中国中医科学院中医药信息研究所, 北京 100700

**摘要:** 目的 采用序贯代谢方法结合超高效液相色谱-高分辨质谱联用(UPLC-HRMS)技术, 鉴定给药后不同血浆样品中的原型成分与代谢产物, 研究栀子化学成分在大鼠体内不同部位的代谢情况。方法 首先制备栀子提取液, 然后通过肠灌流和封闭肠环法分别收集肠壁代谢、肠道菌群代谢、肝代谢的血浆样品, ig给药后收集综合代谢血液样品, 结合UPLC-HRMS对各个样品所含成分进行分析与鉴别。结果 从栀子提取液中共检测到环烯醚萜苷类、萜类、有机酸类和栀子黄色素类等46个化学成分。序贯代谢研究结果表明, 在肠代谢样品中检测到38个原型入血成分和22个代谢产物, 肝代谢样品中检测到25个原型入血成分和16个代谢产物, 综合代谢组样品中检测到14个原型入血成分和10个代谢产物。结论 基于序贯代谢方法, 解析栀子在大鼠体内的原型入血成分与代谢产物, 不同代谢部位成分的差异为阐明栀子代谢成分在体内的生物转化过程提供了依据。

**关键词:** 栀子; 多成分序贯代谢; UPLC-HRMS; 原型成分; 代谢产物; 环烯醚萜苷; 栀子苷; 栀子新苷

中图分类号: R285.61 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)18-5980-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.18.016

## Sequential metabolism of multi-components of *Gardenia jasminoides* in rats based on UPLC-HRMS

LIU Hui-ning<sup>1</sup>, LIU Lei<sup>2</sup>, YU Shuang<sup>1</sup>, LI Xue-yan<sup>1</sup>, WANG Xin-yu<sup>1</sup>, QI Dong-ying<sup>1</sup>, PAN Fu-lu<sup>1</sup>, CHAI Xiao-yu<sup>1</sup>, WANG Qian-qian<sup>1</sup>, PAN Yan-li<sup>3</sup>, LIU Yang<sup>1</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China  
2. Pinzhengao (Beijing) Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100022, China  
3. Institute of Information on Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To identify the prototype components and metabolites in different plasma samples after administration, and study the metabolism of chemical components of *Gardenia jasminoides* in different parts of rats by sequential metabolism method combined with ultra-high-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS) technology.

**Methods** *G. jasminoides* extract was firstly prepared, and then plasma samples of intestinal wall metabolism, intestinal flora metabolism and liver metabolism were collected by intestinal perfusion and closed intestinal loop method, and comprehensive metabolic blood samples were collected after intragastric administration and the components in samples were analyzed and identified by UPLC-HRMS. **Results** A total of 46 chemical components including iridoid glycosides, terpenes, organic acids and gardenia yellow pigments were identified from the extract of *G. jasminoides*. The results of sequential metabolism study showed that 38 prototype blood components and 22 metabolites were identified in intestinal metabolism samples, 25 prototype blood components and 16 metabolites were identified in liver metabolism samples, and 14 prototype blood components and 10 metabolites were identified in metabolome samples. **Conclusion** Based on sequential metabolism method, this study analyzes the prototype blood components and

收稿日期: 2023-03-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81973295)

作者简介: 刘慧宁, 硕士研究生, 研究方向为药靶结合动力学与药物代谢。E-mail: 857796775@qq.com

\*通信作者: 刘洋, 男, 博士, 教授, 研究方向为药靶结合动力学与药物代谢。E-mail: liuyang@bucm.edu.cn

潘艳丽, 女, 博士, 研究员, 从事医药信息学研究。E-mail: panely@163.com

metabolites of *G. jasminoides* extract in rats, and the differences in components of different metabolic sites provide a basis for elucidating the biotransformation process of *G. jasminoides* metabolic components *in vivo*.

**Key words:** *Gardenia jasminoides* Ellis; multicomponent sequential metabolism; ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS); prototype components; metabolites; iridoid glycosides; geniposide; gardoside

梔子又名山梔子，是茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>，梔子含环烯醚萜苷类、单环单萜类、黄酮类、有机酸酯类等多种化学成分<sup>[2-3]</sup>，药理活性广泛，包括清除自由基、抗氧化<sup>[4]</sup>、抗炎<sup>[5]</sup>、降低血糖和调血脂<sup>[6]</sup>、保肝利胆<sup>[7]</sup>、神经保护<sup>[8]</sup>、改善脑缺血损伤<sup>[9-10]</sup>等，这些药理作用与梔子中的活性成分密切相关。众多学者以静态研究方法对梔子开展了多方面研究，确定了梔子苷等化学成分作为质量控制依据<sup>[11]</sup>，代谢方面的研究成果多以代谢过程某一点揭示为主，例如在血浆、胆汁、尿液以及粪便中的代谢产物<sup>[12-14]</sup>。但以动态研究方法揭示梔子成分在机体内的变化过程较少，更缺少以序贯代谢方法开展研究，模拟口服药物后化学成分按照顺序时间和连贯空间动态变化的过程<sup>[15-20]</sup>。序贯代谢是本课题组为全面、连续表征多成分药物在空间和时间上的生物转化提出的，通过调整给药部位，经肠系膜静脉、股静脉、腹主动脉取血，对入血成分进行动态分析，解析其代谢途径，追踪确证靶部位暴露成分，从而系统描绘出中药多成分动态吸收和代谢的变化轮廓，在多成分药物代谢的研究中发挥重要作用<sup>[18-19]</sup>。因此，本研究以序贯代谢研究方法，对梔子在大鼠体内的多成分动态过程开展研究，分部位解析梔子及其代谢产物在大鼠体内的移行，为后续完善该药材的质控标准提供科学依据，也为揭示其药效物质基础提供参考。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量 200~300 g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，合格证号 SCXK（京）2019-0010。实验前，将大鼠饲养于昼夜节律光照条件下（温度 25~27 °C，相对湿度 50%~70%）适应性饲养 7 d，保证其自由饮水摄食，实验开始前 12 h 禁食不禁水。本研究中涉及的实验动物方案经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准（批准号 BUCM-4-2022061502-2062）。

### 1.2 药材

梔子饮片购自北京同仁堂长阳药店有限公司新悦都店，由北京中医药大学王晶娟教授鉴定为茜草

科植物梔子 *G. jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。

### 1.3 药品与试剂

甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯）、乙腈（质谱纯）、甲酸（质谱纯）购自赛默飞世尔科技有限公司；无水乙醇（分析纯）购自天津大茂化学试剂厂；氯化钠注射液购自石家庄四药有限公司；医用胶购自北京康派特医疗器械有限公司；肝素钠注射液购自上海上药第一生化药业有限公司；娃哈哈纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司；梔子苷（批号 D22022113，质量分数≥98%）、京尼平（批号 D22022501，质量分数≥98%）、京尼平苷酸（批号 D21110915，质量分数≥98%）、山梔子苷（批号 D22041215，质量分数≥98%）、山梔子苷甲酯（批号 D22011709，质量分数≥98%）、梔子新苷（批号 D22031004，质量分数≥98%）、顺/反式西红花苷 I（批号 D21122101，质量分数≥98%）、大豆苷（批号 D21060917，质量分数≥98%）购自南京狄尔格医药科技有限公司。

### 1.4 仪器

Sorvall ST 8R 型高速冷冻离心机、UltiMate 3000 型超高效液相色谱仪、Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪、DAD 检测器、Xcalibur 质谱工作站（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；BSA2202S 型电子分析天平（德国 Sartorius 公司）；KQ5200E 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；HH-2A 型电热恒温水浴锅（北京科伟永兴仪器有限公司）；1-15PK 型高速冷冻离心机（美国 Sigma 公司）；CM-12 型水浴氮吹仪（北京成萌伟业科技有限公司）；BT-100-1F 型蠕动泵、LSP02-1B 型注射泵（保定兰格恒流泵有限公司）。

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

称取 200.20 g 梔子粉末，加入 10 倍量 50% 乙醇，超声（40 kHz、200 W）提取 20 min，纱布滤过，滤渣按上述条件再次提取。合并 2 次提取液，取上清液用 50% 乙醇稀释 2 倍后，过 0.22 μm 微孔滤膜，取续滤液进行液质分析。提取液于 50 °C 水浴蒸至稠膏状约 100 mL，双层纱布滤过，用 0.5%

羧甲基纤维素钠复溶混悬制成生药量为 1 g/mL 的梔子提取物混悬液 200 mL, 于 4 ℃ 储存, 作为灌胃液和灌流液备用。

## 2.2 肠代谢研究

**2.2.1** 肠壁代谢组 采用在体肠道灌流并行采血法实验操作: 随机选取 5 只禁食 12 h (不禁水) 的大鼠, 4 只为供血组, 1 只为实验组。麻醉大鼠, 供血组腹主动脉采血后置于肝素钠离心管, 并于 37 ℃ 水浴加热, 用于补充手术过程中损失的血液。实验组大鼠首先剥离颈静脉, 插入静脉留置针后滴加医用胶黏合, 将另一端连接到盛有供血的离心管中。沿腹中线剪开腹腔, 选择十二指肠以下约 10 cm 的空肠作为供试肠段, 用 5 mL 注射器抽取 37 ℃ 生理盐水缓慢冲出肠内容物, 至流出液澄清, 继续充入空气将生理盐水排净。在供试肠段首尾处各剪一小口并插入玻璃管引流液体, 将梔子提取液 (1 g/mL) 注入肠段, 末端开口排出, 通过注射泵控制体积流量为 0.2 mL/min。结扎肝门静脉, 在肠系膜静脉插入充满肝素钠的静脉留滞针, 结扎周围多余血管, 另一端通过蠕动泵收集血液至干净离心管。将纱布用 37 ℃ 生理盐水润湿后覆盖在裸露肠段上, 保温灯加热保持大鼠体温稳定。开启蠕动泵, 进行颈静脉输血 (体积流量 0.3 mL/min), 肠系膜静脉采血, 连续采血 2 h 后, 处死大鼠。

**2.2.2** 肠道菌群代谢组 大鼠麻醉后选择盲肠以下约 8 cm 的结肠肠段作为供试肠段, 将梔子提取液注入肠腔, 当药液到达肠段末端, 用手术线结扎末端, 取下注射器并结扎肠段前端。其余操作同肠壁代谢组。采血 2 h 处死大鼠。平行实验 3 组, 空白组注射泵给予生理盐水, 其余操作相同。

## 2.3 肝代谢研究

肝代谢研究与肠代谢研究在手术操作上的不同在于是否结扎肝门静脉以及采血点位置。肝代谢研究中不结扎肝门静脉, 并于股静脉处采血, 其他操作同“2.2”项下的肠代谢研究。

## 2.4 综合代谢研究

选取 3 只 SD 雄性大鼠, ig 4 mL 梔子提取液 (1 g/mL), 2 次/d, 持续 3 d, 末次给药 2 h 后, 麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 于 4 ℃ 储存, 进行后续处理及分析。空白组 ig 生理盐水, 其余操作相同。

## 2.5 血液样品处理

分别将收集的肠代谢、肝代谢、综合代谢组血液进行合并后, 4 ℃、4000 r/min 离心 10 min, 分

离得到血浆后, 加入等体积的冰乙腈混合沉淀蛋白, 涡旋 2 min, 4 ℃、8000 r/min 离心 10 min, 取上清液进行氮吹, 吹至 100 μL, 用 50% 甲醇 300 μL 复溶后, 4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 供 UPLC-HRMS 分析。

## 2.6 色谱条件

Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈 (A)-0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~1 min, 10% A; 1~4 min, 10%~15% A; 4~18 min, 15%~30% A; 18~24 min, 30%~50% A; 24~28 min, 50%~100% A; 28~31 min, 100% A; 31~32 min, 100%~10% A; 32~35 min, 10% A; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.3 mL/min; 进样体积 5 μL。

## 2.7 质谱条件

采用加热电喷雾离子化源 (HESI), 喷雾电压分别为 3.5 kV (HESI<sup>+</sup>) 和 3.0 kV (HESI<sup>-</sup>); HESI 温度为 400 ℃; 毛细管加热温度为 320 ℃; 鞘气和辅助气均为氮气, 纯度 >99%, 碰撞气为高纯氮气, 纯度 >99.99%; 鞘气压力 241.325 kPa; 辅助气压力 68.95 kPa; 正离子和负离子模式同时采集, 扫描范围 *m/z* 100~1500; 碰撞能量 (NCE) 为 20%、40%、60%; 质谱分辨率 70 000。

## 3 结果

### 3.1 梔子提取液中化学成分鉴定

根据“2.6”“2.7”项下条件对梔子提取物中的化学成分进行分析, 梔子提取液的总离子流图见图 1。将供试品与对照品的保留时间 (*t*<sub>R</sub>)、准分子离子峰、二级碎片和裂解规律进行比对, 确定了其中的 6 个化学成分。基于文献调研并综合对照品信息, 建立含梔子化学成分名称、分子式以及相对出峰顺序等信息的数据库, 并借助 Xcalibur 4.0 软件对总离子流图上的峰进行精确相对分子质量识别, 共鉴定出 46 种化合物 (表 1), 主要为环烯醚萜苷类、有机酸及其衍生物类、单萜类、黄酮类化合物。

**3.1.1** 环烯醚萜苷类化合物鉴定 从梔子提取液中共鉴别出梔子苷、梔子新苷和山梔苷等 23 个环烯醚萜苷类化合物。下面以梔子苷和山梔苷为例进行质谱解析。

化合物 17 准分子离子为 *m/z* 387.129 4 [M-H]<sup>-</sup>, Qualbrowser 软件给出的精确分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>, *t*<sub>R</sub> 为 4.87 min (误差为 0.693×10<sup>-6</sup>), 二级碎片离子为 *m/z* 225.077 4 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>、*m/z*

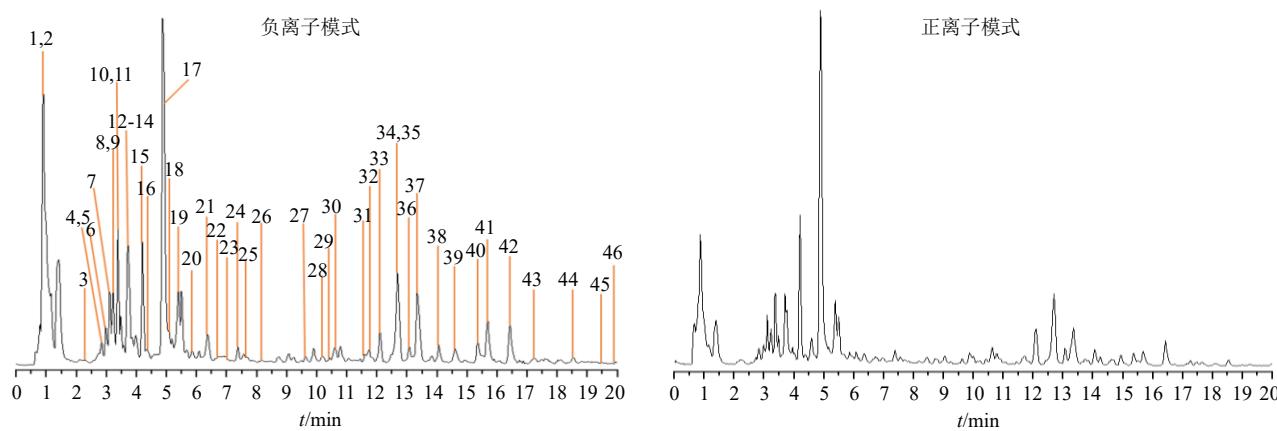


图1 桔子提取物在不同离子模式下的 UPLC-HRMS 总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of ethanol extract of *G. jasminoides* in positive and negative ion modes

表1 桔子提取物中化学成分的 UPLC-HRMS 分析

Table 1 Identification of chemical components in extract of *G. jasminoides* by UPLC-HRMS

峰号	t <sub>R</sub> /min	电离模式	母离子 (m/z) 理论值	误差 (×10 <sup>-6</sup> )	分子式	MS <sup>2</sup> 碎片离子	鉴定结果
1	0.91	[M-H] <sup>-</sup>	191.056 1	1.555	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	191.056 1	奎宁酸 <sup>[21]</sup>
2	0.98	[M-H] <sup>-</sup>	173.045 5	1.512	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	137.024 6, 111.045 4, 93.034 7	莽草酸 <sup>[22]</sup>
3	2.65	[M-H] <sup>-</sup>	391.124 6	1.134	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	229.072 1, 167.071 3	山梔昔同分异构体 <sup>[21]</sup>
4	2.81	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 6	0.183	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	241.072 3, 223.061 2, 127.040 2, 去乙酰车叶草昔酸甲酯 <sup>[21,23-24]</sup> 101.024 5	
5	2.84	[M-H] <sup>-</sup>	389.108 9	0.883	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	389.109 2, 209.045 6, 183.066 2, 去乙酰车叶草昔酸 <sup>[21,25]</sup> 165.055 6, 147.045 2	
6	2.98	[M-H] <sup>-</sup>	373.114 0	0.639	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	373.110 4, 211.061 2, 193.050 5, 桔子新昔 <sup>*[21,25]</sup> 167.071 2, 149.060 7, 123.045 1	
7	3.13	[M-H] <sup>-</sup>	391.124 6	1.221	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	229.071 7, 211.060 9, 185.081 3, 山梔昔 <sup>*[21,23-24]</sup> 167.071 1	
8	3.32	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 6	1.101	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	241.072 2, 223.060 7, 193.050 1, 异梔子昔 <sup>[21,23-24]</sup> 127.040 1, 101.024 6	
9	3.35	[M-H] <sup>-</sup>	373.114 0	0.478	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	211.061 8, 193.050 3, 146.060 6, 京尼平昔酸 <sup>*[21,24]</sup> 123.045 0, 167.071 0, 121.056 7	
10	3.38	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 6	-0.561	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	241.072 2, 223.061 4, 139.040 3	鸡矢藤次昔甲酯 <sup>[21,23-24]</sup>
11	3.48	[M-H] <sup>-</sup>	405.140 2	0.503	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	359.143 5, 197.082 4	山梔昔甲酯 <sup>*[21,25]</sup>
12	3.57	[M-H] <sup>-</sup>	375.129 7	0.715	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	213.077 4, 169.087 3, 151.076 7	mussaenosidic acid <sup>[26]</sup>
13	3.73	[M-H] <sup>-</sup>	345.155 5	0.775	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	113.024 3, 101.024 2, 89.024 3	jasminoside D <sup>[27]</sup>
14	3.96	[M-H] <sup>-</sup>	327.144 9	0.832	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>7</sub>	165.092 3	zataroside B <sup>[23]</sup>
15	4.04	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 8	1.028	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	191.056 4, 179.035 3, 135.045 3	3,5-O-咖啡酰奎尼酸 <sup>[24]</sup>
16	4.20	[M-H] <sup>-</sup>	549.182 5	-0.883	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	225.077 4, 207.066 7	京尼平-1-O-β-D-龙胆双糖昔 <sup>[21,25]</sup>
17	4.87	[M-H] <sup>-</sup>	387.129 7	0.693	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	207.066 8, 225.077 4, 433.135 9, 梧子昔 <sup>*[21]</sup> 123.045 4, 101.024 6	
18	5.34	[M-H] <sup>-</sup>	345.155 5	0.775	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	301.042 5, 165.092 1, 183.102 8, jasminoside B <sup>[21,24,27]</sup> 101.024 4, 89.024 5	
19	5.49	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 8	0.405	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	191.056 6, 173.045 9, 179.065 8, 绿原酸 <sup>[21,25]</sup> 135.062 5	
20	6.33	[M-H] <sup>-</sup>	179.035 0	1.832	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	135.045 4	咖啡酸 <sup>[24]</sup>
21	6.39	[M-H] <sup>-</sup>	183.102 7	1.206	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	139.113 1, 111.009 0, 137.097 1, jasminodiol <sup>[23-25]</sup> 109.065 7, 123.080 5	
22	6.62	[M-H] <sup>-</sup>	503.177 0	0.883	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub>	223.145 1, 205.087 9, 190.211 3	2-methyl-lerythritol-4-O-(6-O-transsaponoyl)-β-D-glucopyranoside <sup>[26,28]</sup>
23	7.01	[M-H] <sup>-</sup>	359.134 8	1.372	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	359.135 1, 197.081 9, 179.070 9	ixoroside <sup>[21,27]</sup>
24	7.44	[M-H] <sup>-</sup>	429.140 2	0.335	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	383.133 2, 361.150 6, 239.090 1, 10-acetyl geniposide <sup>[23]</sup> 181.087 8	

续表1

峰号	$t_R/\min$	电离模式	母离子 ( $m/z$ ) 理论值	母离子 ( $m/z$ ) 实际值	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	分子式	MS <sup>2</sup> 碎片离子	鉴定结果
25	7.57	[M-H] <sup>-</sup>	519.150 8	519.150 6	0.614	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	163.040 1, 145.029 5, 123.045 2, 6'-O-trans-coumaroyl geniposidic acid <sup>[27]</sup> 119.050 2, 149.060 8	
26	8.24	[M-H] <sup>-</sup>	551.177 0	551.176 8	0.643	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub>	357.119 6, 213.077 5, 193.050 9, 6-O-trans-p-coumaroyl gardenoside methyl ester <sup>[27]</sup> 175.040 3	
27	9.89	[M-H] <sup>-</sup>	491.213 4	491.213 3	0.954	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>12</sub>	167.032 4, 323.101 5, 221.075 2, jasminoside S/H/I <sup>[25-26]</sup> 161.058 0, 263.081 5	
28	10.16	[M-H] <sup>-</sup>	579.171 9	579.172 1	1.174	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	205.050 6, 325.093 1, 367.103 7, 6'-O-trans-sinapoyl gardoside <sup>[27]</sup> 385.114 4, 223.061 1, 123.045 1	
29	10.43	[M-H] <sup>-</sup>	565.192 7	565.192 4	0.574	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>13</sub>	325.093 6, 295.082 8, 265.072 3, 11-(6-O-trans-sinapoylgluco pyranosyl)gardendiol <sup>[23,27]</sup> 223.061 8	
30	10.79	[M-H] <sup>-</sup>	609.146 1	609.146 3	1.216	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	301.035 9, 300.028 1, 271.025 5	芦丁 <sup>[21]</sup>
31	11.60	[M-H] <sup>-</sup>	465.102 8	465.101 8	0.938	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	301.035 0, 271.024 5, 255.029 7	异槲皮素苷 <sup>[21,25]</sup>
32	11.86	[M-H] <sup>-</sup>	593.151 2	593.151 3	1.121	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	325.092 5, 207.029 6, 93.034 4	nicotiflorin <sup>[21]</sup>
33	12.12	[M-H] <sup>-</sup>	755.240 4	755.240 8	1.306	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>19</sub>	123.076 5, 223.077 4, 205.425 5, 6''-O-trans-sinapoylgenipin gentiobioside <sup>[27]</sup> 101.218 2, 427.066 5	
34	12.62	[M-H] <sup>-</sup>	725.229 8	725.230 2	1.201	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>18</sub>	225.077 3, 193.051 2, 123.045 4	6''-O-trans-feruloyl genipin gentiobioside <sup>[21]</sup>
35	12.69	[M-H] <sup>-</sup>	695.219 3	695.219 2	0.742	C <sub>32</sub> H <sub>40</sub> O <sub>17</sub>	663.196 5, 469.136 3, 225.077 3, 145.029 8, 207.066 9	6''-O-trans-p-coumaroylge narin gentiobioside <sup>[21]</sup>
36	13.08	[M-H] <sup>-</sup>	551.213 4	551.213 3	0.742	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>12</sub>	521.204 1, 367.014 2, 165.092 3	6'-O-trans-sinapoyl jasminoside L <sup>[21]</sup>
37	13.34	[M-H] <sup>-</sup>	975.371 5	975.371 0	0.044	C <sub>44</sub> H <sub>64</sub> O <sub>24</sub>	651.267 4, 327.160 9, 283.170 0, 239.180 0	顺/反式西红花苷 I*
38	14.07	[M-H] <sup>-</sup>	593.187 6	593.187 7	1.095	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	367.105 5, 225.077 2, 223.061 0, 207.065 8, 205.051 2, 123.046 5	6'-O-sinapoylgeniposide <sup>[25,27]</sup>
39	14.64	[M-H] <sup>-</sup>	515.119 5	515.119 1	0.251	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	353.088 8, 191.056 5, 173.045 8	3,5-二咖啡酰奎宁酸 <sup>[21,25]</sup>
40	15.51	[M-H] <sup>-</sup>	533.166 4	533.166 3	0.786	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	145.132 3, 123.130 5, 307.114 8, 225.087 9	6'-O-p-coumaroylgeniposide <sup>[23,27]</sup>
41	15.67	[M-H] <sup>-</sup>	659.161 8	659.162 1	1.366	C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	497.131 3, 191.056 4, 161.045 7	3,4-dicaffeoyl-5-(3-hydroxy-3-methyl glutaroyl)quinic acid <sup>[23]</sup>
42	16.44	[M-H] <sup>-</sup>	559.145 7	559.145 5	0.616	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	397.114 9, 173.045 9	3-caffeyl-4-sinapoylquinate <sup>[25]</sup>
43	17.45	[M-H] <sup>-</sup>	535.218 5	535.218 3	0.716	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>11</sub>	325.092 6, 265.071 5, 223.060 9, 205.050 4	6'-O-trans-sinapoyl jasminoside A <sup>[23,27]</sup>
44	18.57	[M-H] <sup>-</sup>	533.202 8	533.202 5	0.419	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>11</sub>	205.051 1, 367.104 1, 223.061 3, 165.055 3, 190.027 5	6'-O-trans-sinapoyl jasminoside C <sup>[27]</sup>
45	19.58	[M-H] <sup>-</sup>	345.061 6	345.061 4	0.950	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	315.014 9, 330.038 3, 287.019 9	5,7,3',4'-tetrahydroxy-6,8-dimethoxy flavone <sup>[27]</sup>
46	21.75	[M-H] <sup>-</sup>	813.318 7	813.319 2	1.286	C <sub>38</sub> H <sub>54</sub> O <sub>19</sub>	651.267 6, 489.213 7, 369.170 9, 327.161 1, 283.170 9, 179.056 4	西红花苷 II <sup>[21,25]</sup>

\*经与对照品比对鉴别

\*after comparison and identification with the reference substance

207.066 8 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>, 分别为失去 1 分子葡萄糖基、继而失去 1 分子 H<sub>2</sub>O 的碎片离子, 此外还产生  $m/z$  123.045 4、101.024 6 碎片离子。通过与文献数据<sup>[21,25]</sup>比对及与对照品出峰时间比较, 推测其为栀子苷。

化合物 7 的  $t_R$  为 3.13 min, 准分子离子为  $m/z$  391.124 5 [M-H]<sup>-</sup>, Qualbrowser 软件给出的精确分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub> (误差为  $1.221 \times 10^{-6}$ ), 二级碎片离子有  $m/z$  229.071 7 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$  185.081 3 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$  167.071 1 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-

H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 分别为失去 1 分子葡萄糖基, 继而失去 1 分子 H<sub>2</sub>O 或 1 分子 CO<sub>2</sub>、再失去 1 分子 H<sub>2</sub>O 或 1 分子 CO<sub>2</sub> 的碎片离子。与文献数据<sup>[21,23-24]</sup>对比, 推测其为山栀子苷, 其裂解途径见图 2。

**3.1.2 有机酸及其衍生物类化合物鉴定** 从栀子提取液中共鉴定出绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸等 8 个有机酸及其衍生物类化合物。下面以绿原酸为例进行质谱解析。化合物 19 准分子离子为  $m/z$  353.087 4 [M-H]<sup>-</sup>, Qualbrowser 软件给出的精确分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>,  $t_R$  为 5.49 min (误差为  $0.405 \times 10^{-6}$ ), 二级碎片离子为  $m/z$  191.056 6 [M-H-C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$

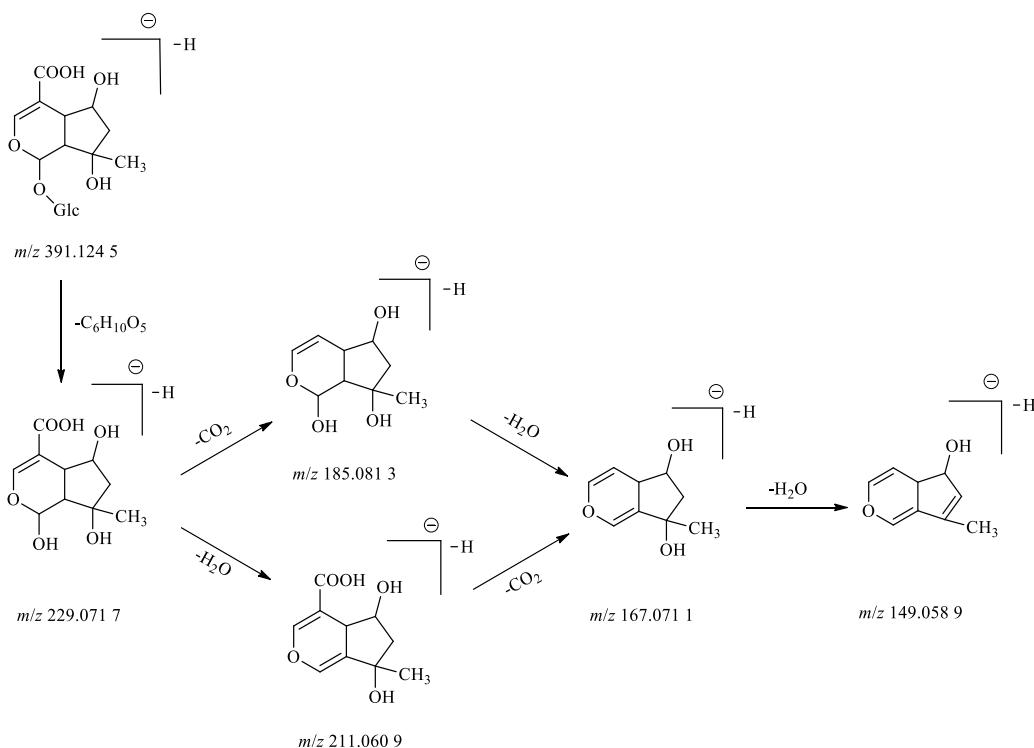


图2 负离子模式下山栀苷裂解途径

Fig. 2 Fragmentation pathways of shanziside in negative ion mode

179.056 8 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5$ ]<sup>-</sup>，分别为失去1分子咖啡酰氨基基团或奎尼酸基团形成的碎片离子，此外还产生 $m/z$  173.045 9、135.062 5 碎片离子，进一步验证化合物**19**是绿原酸类成分。文献报道了绿原酸的二级质谱裂解规律， $m/z$  191.056 6 碎片响应最强， $m/z$  179.065 8 和  $m/z$  135.062 5 强度都较弱。本实验与报道的现象相似，推测化合物**19**可能为绿原酸，裂解规律见图3。

### 3.1.3 黄酮类化合物鉴定 从栀子提取液中共鉴

定出芦丁、异槲皮苷等4个黄酮类化合物。下面以芦丁和异槲皮苷为例进行质谱解析。化合物**30**准分子离子为 $m/z$  609.146 3 [ $\text{M}-\text{H}$ ]<sup>-</sup>，Qualbrowser 软件给出的精确分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ ， $t_{\text{R}}$ 为10.79 min（误差为 $1.216 \times 10^{-6}$ ），二级碎片离子为 $m/z$  301.035 9 [ $\text{M}-\text{H}-\text{Rha}$ ]<sup>-</sup>、271.025 5 [ $\text{M}-\text{H}-\text{Rha}-\text{CH}_2\text{O}$ ]<sup>-</sup>，为失去1分子芸香糖基、继而丢失碳环羧基形成，表明该化合物可能为黄酮类，其苷元为槲皮素，与文献数据<sup>[21]</sup>对比，推测其为芦丁，裂解途径见图4。

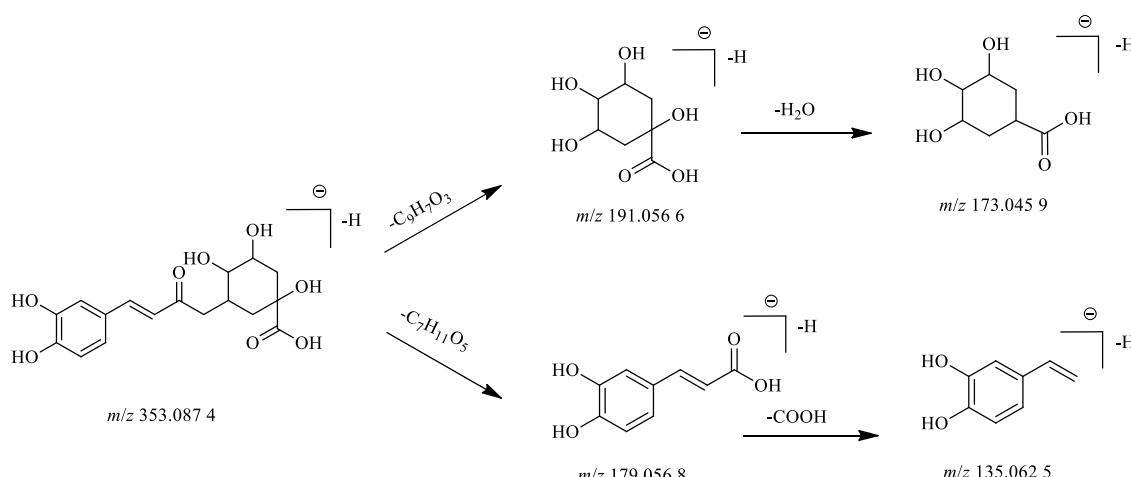


图3 负离子模式下绿原酸裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathways of chlorogenic acid in negative ion mode

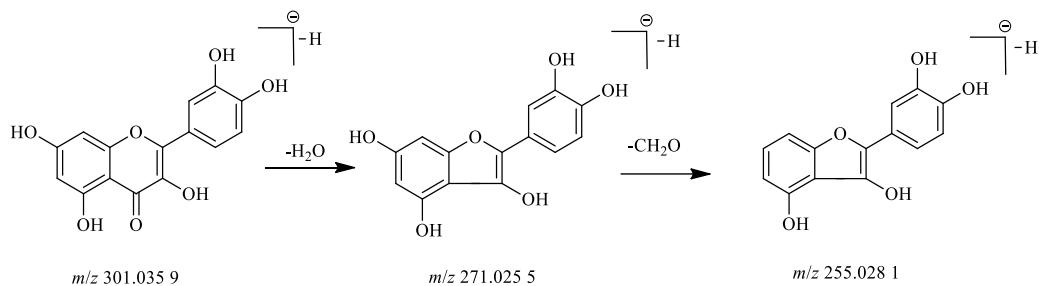


图4 负离子模式下芦丁裂解途径

Fig. 4 Fragmentation pathways of rutin in negative ion mode

化合物<sup>31</sup>准分子离子为 $465.101\ 8 [M-H]^-$ , Qualbrowser软件给出的精确分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$ ,  $t_R$ 为 $11.60\ min$ (误差为 $9.38 \times 10^{-7}$ ),二级碎片离子为 $m/z\ 301.035\ 0 [M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 、 $271.025\ 5 [M-H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^-$ 、 $255.028\ 1 [M-H-H_2O-CH_2O]^-$ ,为失去1分子葡萄糖、继而丢失1分子 $H_2O$ 形成, $m/z\ 255.028\ 1$ 为槲皮素碎片丢失A环上1分子 $H_2O$ 后,进一步丢失碳环羰基形成的碎片,与芦丁的二级碎片信息相似,具有和芦丁相同的母核,结合文献数据<sup>[21,25]</sup>推测其为异槲皮苷。

**3.1.4 菲类化合物鉴定** 从栀子提取液中共鉴定出10个菲类化合物,包括8个单菲类成分和2个二菲色素类成分。下面以西红花苷I和jasminoside B为例进行质谱解析。化合物<sup>37</sup>准分子离子为 $m/z\ 975.371\ 0 [M-H]^-$ , Qualbrowser软件给出的精确分

子式为 $C_{44}H_{64}O_{24}$ ,  $t_R$ 为 $13.34\ min$ (误差为 $0.044 \times 10^{-6}$ ),二级碎片离子为 $m/z\ 651.267\ 4 [M-H-2C_6H_{10}O_5]^-$ 、 $327.160\ 9 [M-H-2C_6H_{10}O_5]^-$ ,为失去一端的2分子糖基,继而脱掉另一端的2个糖基形成,与文献数据<sup>[21]</sup>对比,推测其为西红花苷I,裂解途径见图5。栀子二菲色素类成分的裂解方式主要是糖苷键的断裂,丢掉葡萄糖基团,再丢失 $CO_2$ 中性分子。化合物<sup>18</sup>准分子离子为 $m/z\ 345.155\ 2 [M-H]^-$ , Qualbrowser软件给出的精确分子式为 $C_{16}H_{26}O_8$ ,  $t_R$ 为 $5.34\ min$ (误差为 $7.75 \times 10^{-7}$ ),二级碎片离子为 $301.042\ 5 [M-H-CO_2]^-$ , $165.092\ 1 [M-H-C_6H_{11}O_6]^-$ ,分别为失去1分子 $CO_2$ 及1分子葡萄糖基形成,与文献数据<sup>[21,24,27]</sup>对比,推测其为jasminoside B。

**3.1.5 其他类别化合物鉴定** 从栀子提取液中还鉴

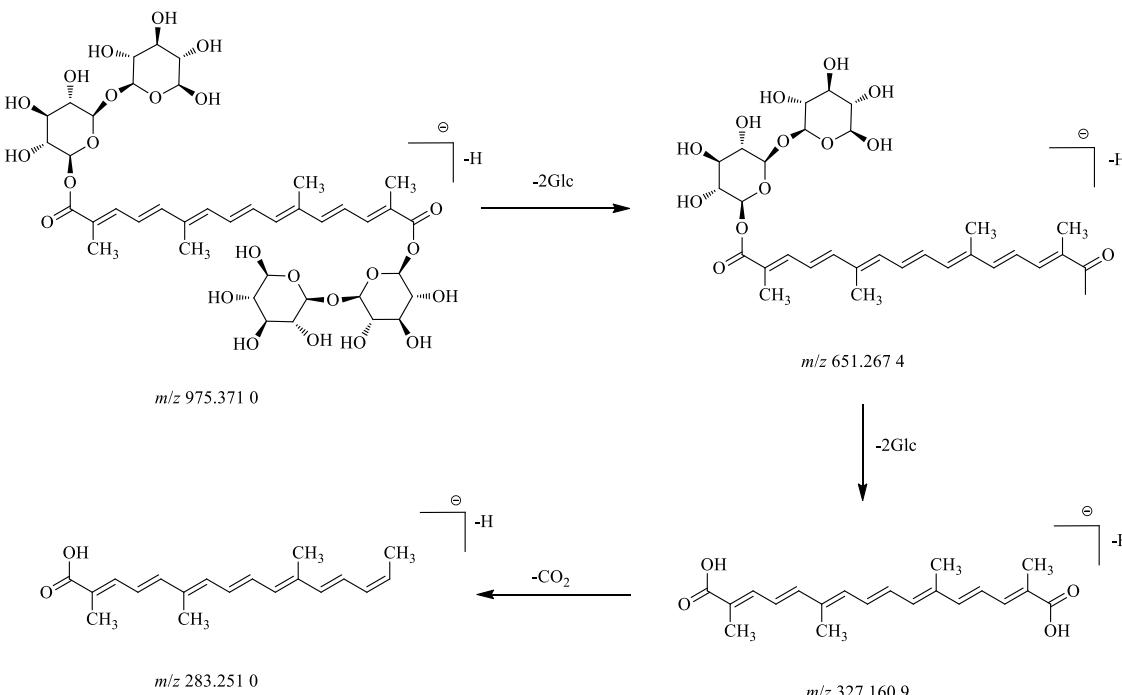


图5 负离子模式下西红花苷I裂解途径

Fig. 5 Fragmentation pathways of crocin I in negative ion mode

定出1个酚类化合物。化合物14准分子离子为 $m/z$  327.1447 [M-H]<sup>-</sup>, Qualbrowser软件给出的精确分子式为C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>,  $t_R$ 为3.96 min(误差为8.32×10<sup>-7</sup>),二级碎片离子为 $m/z$  165.0923。与文献数据<sup>[23]</sup>对比,推测其为zataroside B。

### 3.2 原型入血成分鉴定

通过对不同处理组血浆及空白血浆,对肠代谢、肝代谢及综合代谢组血浆样品中原型入血成分

进行统计,在各血浆样品中共检测到38个栀子原型入血成分,大多数为栀子苷、栀子新苷、山栀苷等环烯醚萜苷类成分。结合表2,在肠代谢中,肠壁代谢组和肠道菌群代谢组在原型入血成分上无差异,表明它们在胃内稳定并可以通过肠壁吸收入血。Yu等<sup>[29]</sup>采用肠灌注模型发现,栀子苷在整段小肠内均有吸收,其中十二指肠吸收速率最大,吸收机制除被动扩散外,还有主动转运和易化扩散。**1、3、**

表2 栀子原型入血成分及代谢位点

Table 2 Prototypical blood components and metabolic sites of *G. jasminoides*

峰号	化合物	肠代谢		肝代谢	综合代谢
		肠壁代谢	肠道菌群代谢		
1	奎宁酸	Y	Y	Y	Y
3	山栀子苷同分异构体	Y	Y	Y	Y
5	去乙酰车叶草苷酸	Y	Y	Y	ND
6	栀子新苷	Y	Y	Y	ND
7	山栀苷	Y	Y	Y	Y
8	异栀子苷	Y	Y	Y	Y
9	京尼平苷酸	Y	Y	Y	Y
10	去乙酰车叶草苷酸甲酯	Y	Y	Y	Y
11	山栀苷甲酯	Y	Y	Y	Y
12	mussaenosidic acid	Y	Y	Y	Y
13	jasminoside D	Y	Y	Y	Y
14	zataroside B	Y	Y	Y	Y
15	3,5-O-咖啡酰奎宁酸	Y	Y	Y	ND
16	京尼平-1-O-β-D-龙胆双糖苷	Y	Y	Y	Y
17	栀子苷	Y	Y	Y	Y
19	绿原酸	Y	Y	Y	ND
20	咖啡酸	Y	Y	Y	ND
21	jasminodiol	Y	Y	Y	Y
22	2-methyl-lerythritol-4-O-(6-O-trans-sinapoyl)-β-D-glucopyranoside	Y	Y	Y	ND
23	ixoroside	Y	Y	Y	Y
24	10-acetyl geniposide	Y	Y	Y	ND
25	6'-O-trans-coumaroyl geniposidic acid	Y	Y	ND	ND
26	6-O-trans-p-coumaroyl gardenoside methyl ester	Y	Y	ND	ND
27	jasminoside S/H/I	Y	Y	ND	ND
28	6'-O-trans-sinapoyl gardoside	Y	Y	ND	ND
29	11-(6-O-trans-sinapoylglucopyranosyl)gardendiol	Y	Y	ND	ND
32	nicotiflorin	Y	Y	ND	ND
33	6"-O-trans-sinapoylgenipin gentiobioside	Y	Y	ND	ND
34	6"-O-trans-feruloyl genipin gentiobioside	Y	Y	ND	ND
35	6"-O-trans-p-coumaroylglycine genipin gentiobioside	Y	Y	ND	ND
36	6'-O-trans-sinapoyl jasminoside L	Y	Y	ND	ND
38	6'-O-sinapoylgeniposide	Y	Y	ND	ND
39	3,5-二咖啡酰奎宁酸	Y	Y	Y	ND
40	6'-O-p-coumaroylgeniposide	Y	Y	Y	ND
41	3,4-dicaffeoyl-5-(3-hydroxy-3-methyl glutaroyl)quinic acid	Y	Y	Y	ND
42	3-caffeooyl-4-sinapoylquinic acid	Y	Y	Y	ND
44	6'-O-trans-sinapoyl jasminoside A	Y	Y	ND	ND
45	6'-O-trans-sinapoyl jasminoside C	Y	Y	ND	ND

Y表示检测到的成分 ND表示未检测到的成分

Y-original blood component ND-component was not detected

**7~14、16、17、21、23** 这 14 种成分在 4 种血浆样品均可以检测到, 说明以上成分不仅在胃内稳定, 且无肠壁代谢、肝代谢, 推测因小肠内吸收快, 无大肠内的肠道菌群代谢, 故原型成分在体循环稳定。  
**25~29、32~36、38、44、45** 这 13 种成分在肠代谢中可以检测到, 但并未在肝代谢及综合代谢中检测到, 推测这些化合物可能经过胃肠道吸收入血, 可分布在肝脏中并经由肝药酶代谢。现有研究表明, 肝脏内代谢酶细胞色素酶 P450 家族 3A4 (cytochrome P450 3A4, CYP3A4)、硫酸基转移酶 2A1 (sulfotransferases 2A1, SULT2A1) 和尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 (uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1, UGT1A1) 协同介导了京尼平于肝脏的代谢解毒, 且 CYP3A4 是起决定因素的限速酶<sup>[30]</sup>。**5、6、15、19、20、22、24、38~42** 这 12 种成分在肠代谢、肝代谢组血浆样品中均可检测到, 但在综合代谢样品中未检测到, 推测原因可能是在胃内进行了代谢。实验结果表明, 环烯醚萜类、有机酸类、酚类等成分均能以原型吸收入血, 原型入血成分多达 38 个, 而综合代谢组血浆样品的原型入血成分仅有 14 个, 推测一方面由于综合代谢采用 ig 给药, 定点采血, 部分成分因吸收慢尚未进入血液, 或成分吸收、代谢、排泄快, 以

代谢产物形式存在于血液循环中或排出体外, 导致血液中未检测到原型入血成分, 另一方面胃液中的酸性环境也会使部分化合物发生水解。此外, 由于结肠部分含有丰富的肠道菌群, 推测化合物可能受到肠道菌群的影响而代谢转化。

### 3.3 代谢产物鉴定

在肠代谢中, 肠壁代谢组和肠道菌群代谢组血浆样品中鉴定出 22 个相同的代谢产物, 包括山栀子苷脱羧产物、栀子苷硫酸盐结合物、山栀子甲酯氢化产物等, 详细信息见表 3, 2 组代谢产物基本无差异。大多数药物在进入全身血液前都会经历肝代谢, 通过比较肝代谢血浆样品和空白血浆样品, 在肝代谢组中共鉴定出 16 个代谢产物, 成分 **8、11、13、14、15、17** 在肝代谢样品中消失, 推测其在肝内进行了进一步代谢。综合代谢组中鉴定出 14 个代谢产物, 主要包括栀子新苷水解产物、山栀子甲酯去葡萄糖产物、绿原酸谷氨酰胺结合物等, 详细信息见表 3。除绿原酸、槲皮素等的代谢成分外, 主要代谢成分通过栀子苷、栀子新苷等环烯醚萜类代谢产生。以栀子苷、栀子新苷为代表的栀子环烯醚萜类成分主要代谢途径包括氧化、水解、脱羧、葡萄糖醛酸化、结合硫酸盐、谷氨酸、甘氨酸等, 栀子中主要环烯醚萜类成分代谢途径见图 6。

表 3 栀子代谢成分鉴定结果  
Table 3 Identification of metabolites of *G. jasminoides*

编号	t <sub>r</sub> /min	分子式	电离模式	母离子 (m/z)		误差 (×10 <sup>-6</sup> )	MS <sup>2</sup> 碎片离子	鉴定结果	S <sub>1</sub>			
				理论值	实测值				S <sub>11</sub>	S <sub>12</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>
M1	2.75	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	347.134 8	347.135 3	1.591	113.024 6, 95.014 0, 85.029 6, 59.014 0	山栀子苷脱羧产物 <sup>[31]</sup>	Y	Y	Y	ND
M2	3.17	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>13</sub> S[M-H] <sup>-</sup>	467.086 5	467.086 9	1.552	223.060 6, 205.050 0	栀子苷硫酸盐结合物 <sup>[14,17]</sup>	Y	Y	Y	ND	
M3	3.20	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	407.155 9	407.156 1	1.342	361.151 4, 181.097 1, 101.024 5, 89.024 5	山栀子甲酯氢化产物 <sup>[31]</sup>	Y	Y	Y	ND
M4	3.36	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	213.076 8	213.066 7	1.410	151.076 1, 137.060 3, 73.029 4	栀子新苷水解产物 <sup>[32]</sup>	Y	Y	Y	Y
M5	3.53	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	421.135 1	421.136 1	2.027	421.136 1	山栀子甲酯氧化产物 <sup>[31]</sup>	Y	Y	Y	ND
M6	3.69	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	243.087 4	243.087 5	1.195	225.077 3, 151.076 6, 137.060 9, 169.087 2, 149.060 9, 73.029 6	山栀子甲酯去葡萄糖产物 <sup>[31]</sup>	Y	Y	Y	Y
M7	3.73	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> [M-H] <sup>-</sup>	291.098 6	291.099 8	1.302	291.017 7, 79.957 2	绿原酸谷氨酰胺结合物 <sup>[17,32]</sup>	Y	Y	Y	Y	
M8	4.54	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub> [M-H] <sup>-</sup>	252.087 7	252.088 2	1.531	252.100 2, 121.051 8	栀子苷甘氨酸结合物 <sup>[14,17]</sup>	Y	Y	ND	Y	
M9	4.73	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	359.134 8	359.135 4	1.751	359.135 7, 113.024 6, 175.024 9, 85.029 7	山栀子苷去氧产物 <sup>[31]</sup>	Y	Y	Y	ND
M10	4.92	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>16</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	565.177 4	565.178 3	1.969	519.173 0, 149.045 7, 225.077 3, 123.045 3	山栀子甲酯葡萄糖醛酸化产物 <sup>[32]</sup>	Y	Y	Y	ND

续表3

编号	<i>t</i> <sub>R</sub> /min	分子式	电离模式	母离子 ( <i>m/z</i> )		误差 (×10 <sup>-6</sup> )	MS <sup>2</sup> 碎片离子	鉴定结果	$\frac{S_1}{S_{11} S_{12}}$		
				理论值	实测值				S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	
M11	5.70	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	563.161 8	563.162 8	2.179	387.108 1, 357.060 9, 桔子苷葡萄糖醛酸 299.019 1, 113.024 2 酯 <sup>[14,17]</sup>	Y Y ND Y			
M12	7.07	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	220.061 5	220.918 3	1.436	220.918 3, 176.862 5, 绿原酸甘氨酸结合 148.954 8 物 <sup>[32]</sup>	Y Y Y ND			
M13	7.25	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub> S	[M-H] <sup>-</sup>	282.080 6	282.081 3	1.875	282.097 8, 123.045 0, 桔子新苷半胱氨酸 114.055 8, 82.029 7 结合物 <sup>[17,32]</sup>	Y Y ND ND			
M14	7.26	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	165.055 7	165.055 9	1.259	165.055 9, 147.045 3, 桔子苷酸去葡萄糖 119.050 4, 91.055 4, 及羟甲基产物 <sup>[32]</sup> 77.040 0	Y Y ND ND			
M15	7.29	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	211.061 2	211.060 6	1.550	211.098 4, 167.108 0 桔子苷酸去葡萄糖 产物 <sup>[14]</sup>	Y Y ND Y			
M16	7.52	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	361.150 4	361.150 6	1.134	361.151 3, 199.098 1, mossaenosidic acid 181.087 2, 161.045 8, 氢化产物 <sup>[32]</sup> 137.097 3, 113.024 6, 101.024 5, 89.024 6, 71.014 0, 59.013 9	Y Y Y ND			
M17	7.83	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub> S	[M-H] <sup>-</sup>	305.033 7	305.034 2	1.646	305.033 7, 225.0777, 京尼平硫酸盐结合 79.9575, 59.013 9 物 <sup>[32]</sup>	Y Y ND ND			
M18	9.43	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	209.045 5	209.067 0	2.255	209.080 1, 165.055 9, 桔子新苷成酮产物 <sup>[32]</sup> 135.418 4, 68.819 0	Y Y Y Y			
M19	9.64	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	595.166 8	595.168 3	2.583	595.166 3, 295.083 0, 京尼平 1-龙胆二糖 265.072 0, 209.045 8, 苷去甲基产物 <sup>[32]</sup> 139.040 0	Y Y Y ND			
M20	12.30	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	445.077 6	445.079 3	2.782	269.046 1, 225.055 7, 檬皮素葡萄糖醛酸 224.048 0, 175.025 1, 化产物 <sup>[32]</sup> 181.066 0, 113.024 6	Y Y Y Y			
M21	15.47	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	433.114 0	433.114 8	1.857	433.114 8, 257.082 5, nicotiflorin 去葡萄糖 175.025 0, 135.009 3, 氢化产物 <sup>[32]</sup> 113.024 6, 109.029 6, 89.024 6, 85.029 6	Y Y Y Y			
M22	22.70	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	269.045 5	259.046 1	1.600	269.046 1, 224.047 9, 1 檬皮素去氧产物 <sup>[32]</sup> 33.029 7, 107.014 0	Y Y Y Y			

S<sub>1</sub>、S<sub>11</sub>、S<sub>12</sub>、S<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>分别表示肠代谢组、肠壁代谢组、肠道菌群代谢组、肝代谢组和综合代谢组血浆样品

S<sub>1</sub>, S<sub>11</sub>, S<sub>12</sub>, S<sub>2</sub> and S<sub>3</sub> refer to plasma samples of intestinal metabolism group, intestinal wall metabolism group, intestinal flora metabolism group, liver metabolism group and comprehensive metabolism group respectively

#### 4 讨论

中医药高质量发展的关键核心是建立科学合理的中药质量评价体系和高质量的评价标准，只有不断创新和完善中药质量评价模式，才能实现对中医药产业的正向引导，保证中药使用的安全有效<sup>[33]</sup>。2022年发布的“十四五中医药发展规划”突出了提升中药质控水平是中药研究的主要任务之一<sup>[34]</sup>。中药具有多成分、多靶点、多通路的协同调控作用，然而并非所有成分均可发挥药效，只有到达靶标并维持起效血药浓度的成分才会产生治疗作用。因此，通过鉴定入血成分及代谢产物，研究中药的代谢情况对药效物质基础的阐明和中药质量标准的提升具有重要意义。本研究将序贯代谢法和 UPLC-HRMS

相结合，采用在体动物实验技术，分析了桔子醇提取液和桔子肠代谢、肝代谢以及综合代谢3种不同处理组的含药血浆样品。3者的区别在于：肠代谢于空肠或结肠部位给药，于肠系膜静脉处取血，同时结扎肝门静脉及旁支血管，故此时所收集的血浆样品主要经过肠壁酶或肠道菌群代谢；肝代谢组则不结扎肝门静脉，故药物经过肠道代谢后还会经过肝脏代谢；综合代谢除了经历以上2种代谢方式外，还会经过胃液代谢，是最接近传统煎煮后口服给药的方式。结合文献与对照品比对，结果显示，从桔子醇提取液中鉴定出46个化学成分，血浆样品中共鉴定出38个结构明确且以原型入血的成分及22个代谢产物。鉴定体内代谢物主要为桔子苷、桔子

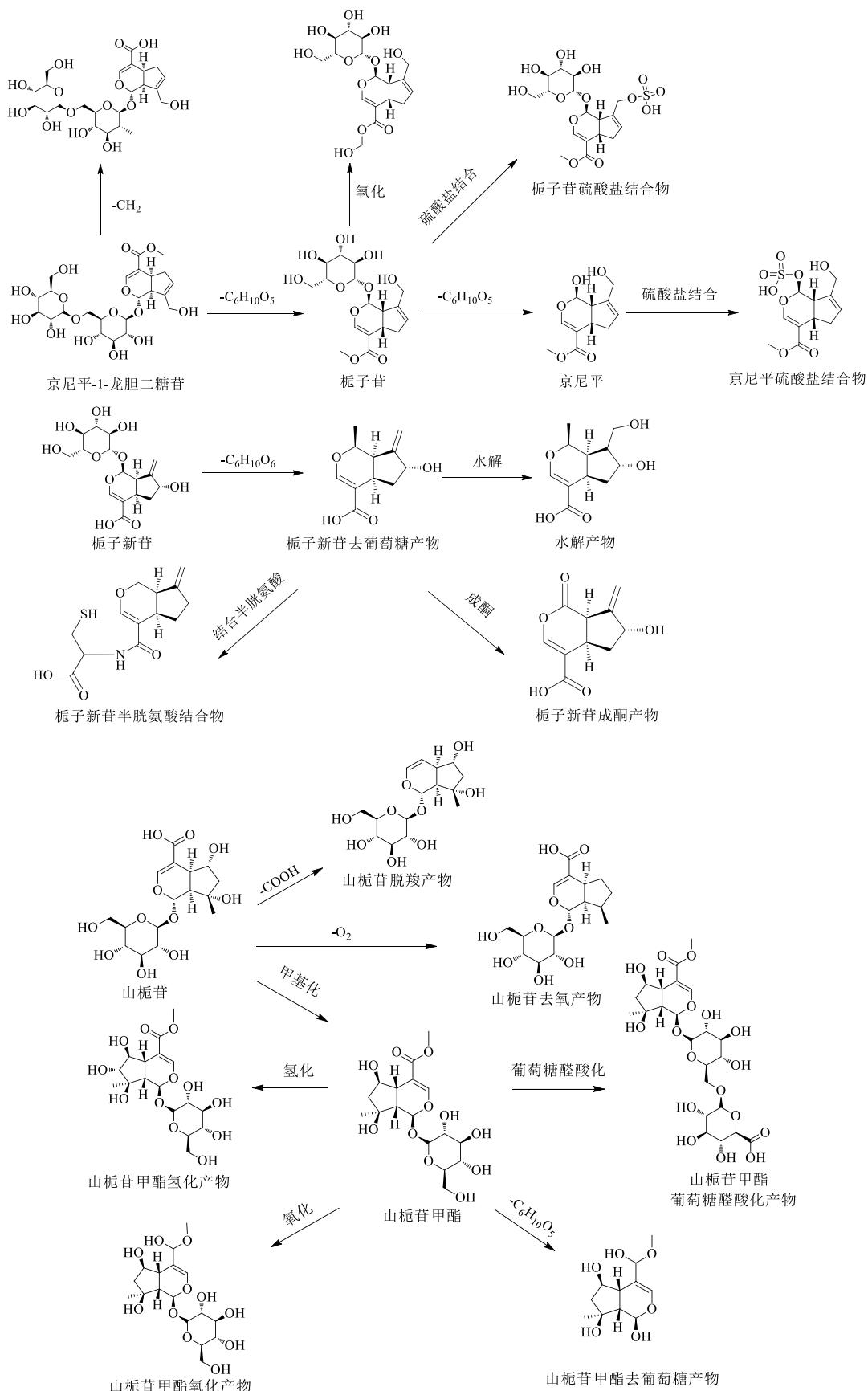


图 6 梔子中主要环烯醚萜苷类成分代谢途径

Fig. 6 Metabolic pathways of main iridoid glycoside in *G. jasminoides*

新苷等环烯醚萜苷类经氧化、水解、脱羧、葡萄糖醛酸化等反应生成，这与《中国药典》2020年版一部<sup>[1]</sup>中栀子药材以栀子苷作为含量测定指标成分相符，表明以栀子苷为代表的环烯醚萜苷类成分是进入体内的主要成分，也可能是临床发挥药效的潜在活性成分。已有文献报道，上述入血成分中栀子苷、京尼平苷酸、绿原酸、6'-O-trans-sinapoyl jasminoside C等成分具有抗炎、保肝利胆、促进胰腺分泌、降血糖等药理作用<sup>[35]</sup>。如栀子苷可通过降低炎症细胞因子水平发挥抗感染及免疫调节作用，通过升高白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 水平，降低 IL-1β、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 水平，抑制炎症和氧化应激，并促进组织修复和再生，发挥肝脏保护作用<sup>[36]</sup>。

针对中药及其复方成分复杂多样的特点<sup>[37-38]</sup>，序贯代谢方法能够明确各成分在多成分环境下的代谢变化，从而缩小发现活性成分的范围，减少体外活性成分研究的盲目性和片面性，实现对入血成分的系统、全面表征。是研究药物体内吸收代谢情况的强有力技术手段<sup>[20]</sup>。综上，本研究解析了栀子化学成分在大鼠体内的代谢情况和代谢部位的成分差异，为研究栀子药效物质基础提供了科学的数据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 259.
- [2] Yin F, Liu J H. Research and application progress of *Gardenia jasminoides* [J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(4): 362-370.
- [3] Zheng X C, Yang D, Liu X, et al. Identification of a new anti-LPS agent, geniposide, from *Gardenia jasminoides* Ellis, and its ability of direct binding and neutralization of lipopolysaccharide *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(10): 1209-1219.
- [4] Wang Q Z. *In vitro* antioxidant activity of polysaccharide from *Sedum aizoon* L. extracts [J]. *J Med Plants Res*, 2011, 5(30): 6604-6608.
- [5] Khac Hung N, Quang D N, Quang L D, et al. New cycloartane coronaryl acetate and other terpenoids with anti-inflammatory activity from the leaves of Vietnamese *Gardenia philastrei* [J]. *Nat Prod Res*, 2022: 1-5.
- [6] Liu J X, Song C M, Nie C Z P, et al. A novel regulatory mechanism of geniposide for improving glucose homeostasis mediated by circulating RBP4 [J]. *Phytomedicine*, 2022, 95: 153862.
- [7] 吴彤, 王卓实, 徐玲, 等. 栀子蓝色素对前囊膜染色有效性和安全性的实验研究 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(5): 330-333.
- [8] Liu J H, Yin F, Guo L X, et al. Neuroprotection of geniposide against hydrogen peroxide induced PC12 cells injury: Involvement of PI3 kinase signal pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(2): 159-165.
- [9] 李传朋, 董兴鲁, 贾秋阳, 等. 基于网络药理学和分子对接的栀子对缺血性脑卒中与出血性脑卒中共性干预机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(10): 1950-1958.
- [10] Zhao K, Zhou Y Z. The chloroplast genome of *Gardenia jasminoides* and related phylogenetic analysis (Rubiaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B*, 2020, 5(2): 1743-1745.
- [11] Wu X Y, Zhou Y, Yin F Z, et al. Quality control and producing areas differentiation of *Gardeniae Fructus* for eight bioactive constituents by HPLC-DAD-ESI/MS [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(4): 551-559.
- [12] Han H, Yang L, Xu Y, et al. Identification of metabolites of geniposide in rat urine using ultra-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, 25(21): 3339-3350.
- [13] Yamano T, Tsujimoto Y, Noda T, et al. Hepatotoxicity of geniposide in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 1990, 28(7): 515-519.
- [14] 高爱, 张文生, 冯成强. 栀子苷体内吸收、分布、代谢和排泄过程及其肝毒性研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2022, 36(7): 552-558.
- [15] Feng G F, Sun Y F, Liu S, et al. Stepwise targeted matching strategy from *in vitro* to *in vivo* based on ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry technology to quickly identify and screen pharmacodynamic constituents [J]. *Talanta*, 2019, 194: 619-626.
- [16] Annunziata G, Maisto M, Schisano C, et al. Colon bioaccessibility and antioxidant activity of white, green and black tea polyphenols extract after *in vitro* simulated gastrointestinal digestion [J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1711.
- [17] Zhou J, Zhang Y J, Li N, et al. A systematic metabolic pathway identification of Common *Gardenia* Fruit (*Gardeniae Fructus*) in mouse bile, plasma, urine and feces by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2020, 1145: 122100.
- [18] 刘洋, 潘艳丽, 王晶娟, 等. 多成分药物代谢理论及技术方法分析 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1663-1667.
- [19] 刘洋, 翟华强, 赵保胜, 等. 多成分药物代谢学术思想在中医临床药学研究中的应用分析 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1335-1338.

- [20] 吕贝然, 杨文宁, 唐明敏, 等. 大鼠体内川芎多成分序贯代谢研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(4): 77-82.
- [21] 史永平, 孔浩天, 李昊楠, 等. 桔子的化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 281-289.
- [22] Shu P H, Yu M Z, Zhu H Q, et al. Two new iridoid glycosides from *Gardeniae Fructus* [J]. *Carbohydr Res*, 2021, 501: 108259.
- [23] 何理想, 王允吉, 张倩倩, 等. UPLC Q-Exactive Orbitrap MS 分析桔子水提液中的化学成分 [J]. 广州化工, 2020, 48(5): 94-97.
- [24] 李玲云, 王云, 刘梦娇, 等. 桔子金花丸化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴定与分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 1-11.
- [25] 王晓燕, 张丽, 王添琦, 等. 桔子化学成分的 UHPLC-Q-TOFMS 分析 [J]. 中药材, 2013, 36(3): 407-410.
- [26] 李海波, 马金凤, 庞倩倩, 等. 桔子的化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5687-5697.
- [27] Wang L, Liu S, Zhang X J, et al. A strategy for identification and structural characterization of compounds from *Gardenia jasminoides* by integrating macroporous resin column chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with ion-mobility spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1452: 47-57.
- [28] Chen Q C, Zhang W Y, Youn U, et al. Iridoid glycosides from *Gardeniae Fructus* for treatment of ankle sprain [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(6): 779-784.
- [29] Yu D, Zhang Y, Guo L W, et al. Study on the absorption mechanism of geniposide in the Chinese formula Huang-Lian-Jie-Du-Tang in rats [J]. *AAPS Pharmscitech*, 2017, 18(4): 1382-1392.
- [30] Zhang F, Wang X H, Abdulaziz A, et al. Hepatic CYP3A4, SULT2A1, and UGT1A1 synergistically mediate metabolic detoxification of genipin [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2022, 31(8): 608.
- [31] Yu Y, Xie Z L, Gao H, et al. Bioactive iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(8): 1459-1464.
- [32] Fu Z W, Xue R, Li Z X, et al. Fragmentation patterns study of iridoid glycosides in *Fructus Gardeniae* by HPLC-Q/TOF-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(12): 1795-1807.
- [33] 马双成, 王莹. 我国中药质量控制模式及思路研究进展十年回顾 [J]. 中国药学杂志, 2023, 2(17): 1-21.
- [34] Li T J, Bao Y R, Wang S, et al. Research progress and application of innovative methods for quality control and evaluation of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(20): 6319-6327.
- [35] Chen L P, Li M X, Yang Z Q, et al. *Gardenia jasminoides* Ellis: Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological and industrial applications of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112829.
- [36] Dai M M, Wu H, Li H, et al. Effects and mechanisms of geniposide on rats with adjuvant arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 20(1): 46-53.
- [37] Luo Z Q, Liu Y, Han X, et al. Mechanism of *Paeoniae Radix Alba* in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease based on sequential metabolites identification approach, network pharmacology, and binding affinity measurement [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 677659.
- [38] Zhang L, Zhao H Y, Liu Y, et al. Metabolic routes along digestive system of licorice: Multicomponent sequential metabolism method in rat [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(6): 902-912.

[责任编辑 李亚楠]