

基于UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS鉴定参芪降糖胶囊在大鼠体内的代谢产物

苑楠楠, 王宏进, 孙琪, 赵蕾, 白桦芳, 孙立新*

沈阳药科大学药学院, 辽宁 本溪 117004

摘要:目的 研究参芪降糖胶囊在大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便中的代谢产物及其代谢途径。方法 采用UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术,以0.1%甲酸溶液(A)-乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱,并采用ESI离子源,分别在正、负离子模式进行全扫描和二级质谱扫描,获得化合物的一级和二级质谱数据,结合文献报道、对照品裂解规律及药物代谢反应规律,对大鼠ig参芪降糖胶囊混悬液后的生物样品进行分析鉴定。结果 在大鼠体内共鉴定出125个化合物,包括47个原型成分(PA1~PF)和78个代谢产物(MA1~ME14),其中2个为新代谢产物,分别为MC15(五味子甲素双脱甲基后葡萄糖醛酸化产物)和MD3(去氢茯苓酸的硫酸酯化产物),4个为新化合物,分别为MC14:(6*R*,7*R*)-2,3,10,11-tetramethoxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydrodibenzo[a,c][8]annulene-1,7-diol、MC16:(6*R*,7*R*)-2,3,10-trimethoxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydrodibenzo[a,c][8]annulene-1,7,11-triol、MD1:(*R*)-2-((3*R*,3*aR*,6*S*,7*S*,9*bR*)-6-(2-carboxyethyl)-3*a*,6,9*b*-trimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)-3*a*,4,6,7,8,9*b*-hexahydro-3*H*-cyclopenta[a]naphthalen-3-yl)-6-methylhept-5-enoic acid和MD4:(3*S*,5*R*,10*S*,13*R*,14*R*,16*R*,17*R*)-4,4,10,13,14,17-hexamethyl-2,3,4,5,6,10,12,13,14,15,16,17-dodecahydro-1*H*-cyclopenta[a]phenanthrene-3,16-diol。结论 参芪降糖胶囊在大鼠体内的代谢途径主要涉及脱羟基、脱甲基、脱水、水解、还原氢化、甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化和多种反应类型的复合反应等。初步阐明了参芪降糖胶囊的体内代谢特征,同时为探索其生物活性成分及作用机制提供参考。

关键词:参芪降糖胶囊;超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法;代谢产物;代谢途径;黄芪甲苷;芒柄花素;五味子甲素

中图分类号:R284.1 文献标志码:A 文章编号:0253-2670(2023)22-7358-16

DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2023.22.013

Identification of metabolites of Shenqi Jiangtang Capsules in rats based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS

YUAN Nan-nan, WANG Hong-jin, SUN Qi, ZHAO Lei, BAI Hua-fang, SUN Li-xin

College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Benxi 117004, China

Abstract: Objective To investigate the metabolites and their major metabolic pathways of Shenqi Jiangtang Capsules (SJC, 参芪降糖胶囊) in rat plasma, bile, urine and feces biological samples. **Methods** Based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS technology, gradient elution was carried out with 0.1% formic acid solution (A)-acetonitrile (B) as the mobile phase, and full scanning and secondary mass spectrometry scanning were carried out with ESI ion source in positive and negative ion modes, respectively, to obtain the primary and secondary mass spectrometry data of the compounds. Combined with literature reports, the fragmentation pattern of reference substance and the law of drug metabolism reaction, the biological samples of rats after ig administration of SJC suspension were analyzed and identified. **Results** A total of 125 compounds were identified in rats, including 47 prototype components (PA1—PF) and 78 metabolites (MA1—ME14), of which two were novel metabolites, namely MC15 (glucuronic acid product after di-demethylation of schizandrin A) and MD3 (sulfuric acid esterification product of dehydropachymic acid), and four were new compounds, namely (6*R*,7*R*)-2,3,10,11-tetramethoxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydrodibenzo[a,c][8]annulene-1,7-diol (MC14), (6*R*,7*R*)-2,3,10-trimethoxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydrodibenzo[a,c][8]annulene-1,7,11-triol (MC16), (*R*)-2-((3*R*,3*aR*,6*S*,7*S*,9*bR*)-6-(2-carboxyethyl)-3*a*,6,9*b*-trimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)-3*a*,4,6,7,8,9*b*-hexa hydro-3*H*-cyclopenta[a] naphthalen-

收稿日期:2023-03-18

基金项目:辽宁省教育厅“辽宁特聘教授滚动支持项目”(辽教函[2018]35号)

作者简介:苑楠楠(1995—),女,硕士,研究方向为药物分析。Tel:(024)43520599 E-mail:ynn950921@163.com

*通信作者:孙立新(1967—),女,博士,教授,研究方向为药物分析。Tel:(024)43520599 E-mail:slx04@163.com

3-yl)-6-methylhept-5-enoic acid (MD1) and (3*S*,5*R*,10*S*,13*R*,14*R*,16*R*,17*R*)-4,4,10,13,14,17-hexamethyl-2,3,4,5,6,10,12,13,14,15,16,17-dodecahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthrene-3,16-diol (MD4). **Conclusion** Research revealed that dehydroxylation, demethylation, dehydration, hydrolysis, reductive hydrogenation, methylation, glucuronidation and sulfation were the main metabolic pathways of SJC in rat samples. The preliminarily clarified *in vivo* metabolic characteristics of SJC provided a reference for exploring bioactive ingredients and action mechanisms of SJC.

Key words: Shenqi Jiangtang Capsules; UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; metabolites; metabolic pathways; astragaloside IV; formononetin; schizandrin A

糖尿病是一种以血糖水平升高为主要特征的慢性代谢性疾病, 主要分为 1 型和 2 型糖尿病, 其中 2 型糖尿病患者约占 90% 以上。在具有降糖疗效的中药制剂中, 参芪降糖胶囊 (Shenqi Jiangtang Capsules, SJC) 由人参茎叶总皂苷、黄芪、地黄、天花粉、麦冬、五味子、枸杞子、覆盆子、山药、茯苓和泽泻 11 味药味组成, 具滋阴、健脾、补肾之功效, 临床上单独使用或作为辅助中药制剂联合降糖西药治疗气阴两虚型的 2 型糖尿病及其并发症且具有一定的降糖疗效^[1-3]。目前, 对该制剂的研究主要集中于统计和观察临床疗效^[4-6]、化学成分分析^[7-8]和药动学研究^[9]等, 而对其在体内代谢的研究尚无报道。中药复方制剂的药效成分可能是原型成分、代谢产物或两者的综合叠加, 通过作用于体内的相关靶点发挥疗效。因此, 研究药物在体内的代谢, 对于揭示其生物活性成分和阐明其药效物质基础具有重要意义^[10]。

中药复方制剂由于化学成分复杂、体内代谢途径多样及内源性物质的干扰, 代谢产物鉴定困难, 需要采用具有高选择性、高分析速度、高分辨率的液质联用技术, 提高色谱对复杂组分的分离能力和获得多级质谱信息。其中, 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪 (ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field orbitaltrap high resolution mass spectrometer, UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS) 具高分辨率、检测限度低、质量偏差低和高质量精度的优势, 可显著降低样品基质的干扰, 已逐渐应用于中药复方制剂的定性分析。

本研究采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术, 对大鼠 ig 给予 SJC 混悬液后的血浆、胆汁、尿液和粪便样品中的原型成分及其代谢产物进行分析鉴定, 以期阐明 SJC 的药效物质基础和解析其在大鼠体内的代谢过程提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Vanquish Flex 超高效液相色谱仪、Q-Exactive

TM 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪 (美国 Thermo 公司), 配有电喷雾离子源 (ESI)、Trace Finder 4.1 工作站及 TraceFinder 4.1 General Quan 数据处理系统; CPA225D 型电子分析天平 (十万分之一, 赛多利斯科学仪器有限公司); TGL-16 型高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); KQ5200B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料

SJC (批号 2004263, 0.35 g/粒, 河南羚锐制药股份有限公司); 对照品人参皂苷 Rg₁ (批号 G30N10Y104330, 质量分数 ≥ 98%)、五味子甲素 (批号 R1208F45508, 质量分数 ≥ 98%)、人参皂苷 Re (批号 B04D9S76499, 质量分数 ≥ 98%)、黄芪甲苷 (批号 J25F10T81373, 质量分数 ≥ 98%)、茯苓酸 (批号 P07D10S105271, 质量分数 ≥ 97%) 均购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇 (色谱级)、乙腈 (质谱级)、甲酸 (质谱级), 美国 Sigma 公司; 纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.3 实验动物

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 180~220 g, 动物生产合格证号 SCXK (辽) 2020-0001, 由沈阳药科大学动物实验中心提供, 饲养温度为 (22 ± 2) °C, 饲养环境相对湿度为 50%~60%, 光照时间为 12 h, 自由饮食、饮水, 适应性饲养 1 周后开始实验。动物实验伦理审查编号 SYPY-IACUC-S2021-06.18-201。

2 方法

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称定人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、五味子甲素、黄芪甲苷和茯苓酸对照品, 分别置于 10 mL 棕色量瓶中, 用 80% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度分别为 104.0、97.0、87.0、98.0 和 92.0 mg/L 的对照品储备液, 精密量取以上溶液各 0.24 mL, 置 100 mL 棕色量瓶中, 用 80% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成质量

浓度分别为 0.250、0.233、0.209、0.235、0.221 mg/L 的混合对照品溶液，于 4 °C 储存，备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 称取适量的 SJC 内容物，研细，精密称定，用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液 (CMC-Na) 混悬，配制质量浓度约为 210 g/L 的供试品溶液。

2.2 分组与给药

SD 大鼠 12 只，随机分为空白组和给药组 (血浆组、胆汁组、尿液/粪便组)，每组 3 只。末次给药大鼠前禁食 12 h，自由饮水，给药剂量为 4.96 g/(kg·d)，每天早、晚 2 次给药，连续给药 3 d。空白组大鼠 ig 等体积 0.5% 的 CMC-Na 溶液。

2.3 生物样品采集

2.3.1 血浆组 分别于给药后 0、0.33、0.5、1、3、6、10 和 24 h 自眼眶静脉丛取血，置于预先用肝素钠处理的 EP 管中，4000 r/min 离心 10 min，取上清液，即得血浆样品。

2.3.2 胆汁组 将大鼠麻醉后，胆管插管术按时间段 0~2、2~4、4~8、8~12、12~24 h 收集大鼠给药后 24 h 内的胆汁样品。

2.3.3 尿液/粪便组 给药后，立即将大鼠置于代谢笼中，分别按时间段 0~4、4~8、8~12、12~24、24~48 h 和 0~6、6~12、12~24、24~48 h 收集 48 h 内的尿液样品和粪便样品。以上样品收集后均于 -20 °C 冰箱保存。

2.4 生物样品预处理

2.4.1 血浆样品预处理 分别取给药后 8 个时间点的血浆各 100 μL，共 800 μL，置于 EP 管中，涡旋混匀 1 min，加 3.2 mL 甲醇，涡旋混匀 2 min，于 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min，上清液于室温下氮气吹干，残渣用 200 μL 80% 甲醇水复溶，4 °C 12 000 r/min 离心 10 min，离心 2 次，取上清，进样分析。

2.4.2 胆汁样品预处理 按体积比 (各时间段采集生物样品体积占总量的体积比例) 取各时间段胆汁样品共 1 mL，置于 EP 管中，涡旋混匀 1 min，加 2 mL 甲醇，涡旋混匀 2 min，于 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min，上清液于室温下氮气吹干，胆汁残渣用 1 mL 60% 甲醇水复溶，于 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min，离心 2 次，取上清，即得胆汁样品，进样分析。

2.4.3 尿液和粪便样品预处理 按体积比取各时间段尿液样品共 1 mL，置于 EP 管中，涡旋混匀 1 min，加 2 mL 甲醇，涡旋混匀 2 min，于 4 °C、12 000

r/min 离心 10 min，上清液于室温下氮气吹干，尿液残渣用 200 μL 60% 甲醇水复溶，于 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min，离心 2 次，取上清，即得尿液样品。将各时间段给药粪便烘干，研磨混匀，按比例 (各时间段称取的生物样品质量占总量的质量比例) 称取各时间段粪便共 1.0 g，加 5 mL 60% 甲醇，超声提取 30 min，4 °C、12 000 r/min 离心 10 min，离心 2 次，取上清，氮气吹干，残渣用 2 mL 60% 甲醇水复溶，4 °C、12 000 r/min 离心 10 min，离心 2 次，取上清，进样分析。

2.5 检测条件

2.5.1 色谱条件 色谱柱：采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)；流动相：0.1% 甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B)，梯度洗脱 (0~15.5 min, 8%~35% B; 15.5~32.5 min, 35%~95% B; 32.5~32.6 min, 95%~8% B; 32.6~35.6 min, 8% B)；体积流量 0.2 mL/min；柱温 35 °C，进样量 5 μL。

2.5.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI)；正负离子模式；数据采集模式：全扫描和自动触发二级质谱扫描 (Full MS/dd-MS²)；扫描范围为 m/z 100~1500，一级质谱分辨率 70 000，二级质谱分辨率 17 500；喷雾电压正负离子模式下分别为 3.8、3.0 kV；碰撞能量 (CE) 为 20、35、60 eV；脱溶剂气体温度正负离子模式下分别为 310、350 °C，毛细管温度正负离子模式下分别为 320、350 °C。

2.6 数据处理

采用 TraceFinder 4.1 General Quan data processing system 和 Xcalibur 2.1 工作站进行数据采集和处理，代谢物的分子式通过 Xcalibur 2.1 软件在质量偏差 5×10^{-6} 内推测。通过查阅 SJC 化学成分的相关文献，建立包含化合物名称、分子式、精确相对分子质量、一级和二级质谱数据的代谢物数据库以快速筛选和鉴定 SJC 在大鼠体内的代谢物。

3 结果

采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术对大鼠 ig 给予 SJC 混悬液后的生物样品进行分析。结合对照品、SJC 中化学成分质谱裂解规律和代谢物数据库，共鉴定出 125 个化合物，包括 47 个原型成分 (PA1~PF) 和 78 个代谢产物 (MA1~ME14)，并发现了 2 个新代谢产物和 4 个新化合物。SJC 在大鼠体内代谢产物在正、负离子模式下扣除空白后的总离子流图见图 1。代谢物具体信息见表 1、2。

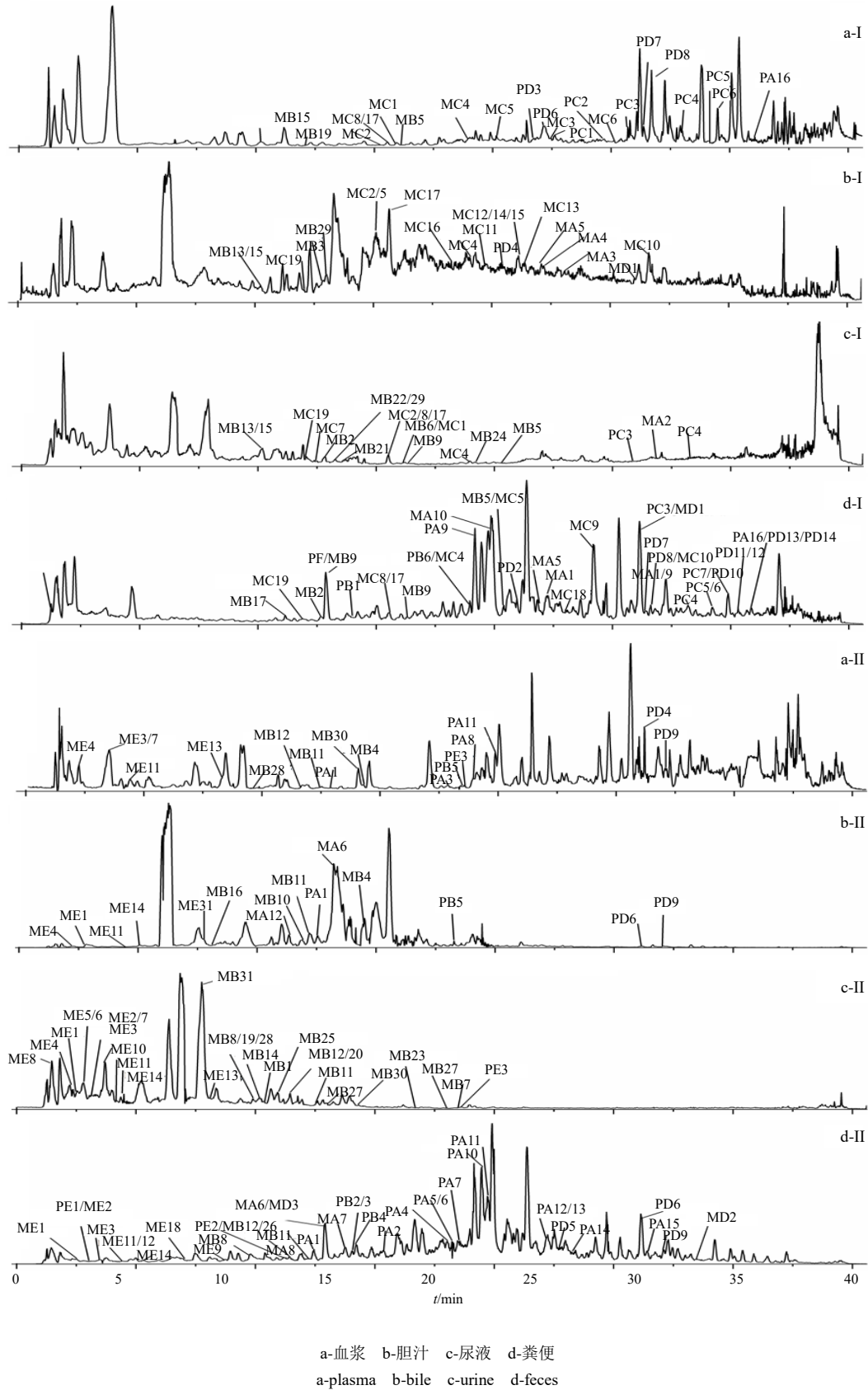


图 1 正 (I)、负 (II) 离子模式下扣除空白的总离子流图

Fig. 1 Total ion current after blanking in positive (I) and negative (II) ion mode

表 1 参芪降糖胶囊在大鼠体内的原型成分

Table 1 Prototype components of Shenqi Jiangtang Capsules in rats

编号	t_R/min	分子式	加合物离子	m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物名称	来源
				计算值	实测值				
PA1*	12.87	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M+HCOOH] ⁻	991.547 76	991.545 90	-1.88	945.539 43, 637.428 53, 475.375 49	人参皂苷 Re	P、B、F
PA2	15.83	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	[M+HCOOH] ⁻	1 007.542 68	1 007.541 87	-0.80	961.536 19, 637.428 10, 475.375 27	20-glc-ginsenoside Rf/异构体	F
PA3	17.94	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	[M+HCOOH] ⁻	1 153.600 59	1 153.602 66	1.79	1 107.589 6	人参皂苷 Rb ₁	P
PA4	17.99	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	[M+HCOOH] ⁻	815.479 29	815.480 47	1.45	769.464 11, 637.426 33, 475.376 28	notoginsenoside R ₂ /异构体	F
PA5	18.26	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	799.484 92	799.484 80	-0.15	475.376 16	人参皂苷 Rf	F
PA6	18.45	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M+HCOOH] ⁻	829.494 94	829.495 48	0.65	637.428 53, 475.375 61	20(S)-人参皂苷 Rg ₂	F
PA7	18.81	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M+HCOOH] ⁻	829.494 94	829.495 48	0.65	637.423 95, 475.376 43	20(R)-人参皂苷 Rg ₂	F
PA8	18.84	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	[M+HCOOH] ⁻	1 123.589 47	1 123.591 43	1.74	1 077.580 57	人参皂苷 Rb ₃	P
PA9*	19.30	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	[M+Na] ⁺	807.450 67	807.444 40	-7.77	627.386 78	黄芪甲苷	F
PA10	19.62	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	[M+HCOOH] ⁻	683.437 03	683.436 04	-1.45	637.431 09, 475.376 19	人参皂苷 Rh ₁	F
PA11	19.82	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M+HCOOH] ⁻	991.547 76	991.548 95	1.20	945.538 82, 783.488 95, 621.431 27	人参皂苷 Rd	P、F
PA12	22.02	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M+HCOOH] ⁻	811.484 38	811.484 99	0.75	765.476 62, 619.416 69	人参皂苷 Rg ₆ /f ₄	F
PA13	22.38	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M+HCOOH] ⁻	811.484 38	811.48499	0.75	765.476 44, 619.415 10	人参皂苷 Rg ₆ /f ₄	F
PA14	23.35	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	783.489 46	783.490 42	1.23	621.432 86, 459.381 47	人参皂苷 Rg ₃	F
PA15	26.44	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M+HCOOH] ⁻	811.483 83	811.485 17	1.65	765.489 43	人参皂苷 Rk ₁	F
PA16	31.01	C ₂₇ H ₄₂ O ₃	[M+H] ⁺	415.320 67	415.320 92	0.60	397.308 75, 271.204 25, 253.194 02	薯蓣皂苷元	P、F
PB1	14.00	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.076 29	285.073 85	-8.56	270.05032, 253.04791, 225.05321	毛蕊异黄酮	F
PB2	14.07	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.060 64	283.061 46	2.90	283.060 88, 268.036 71, 240.040 88	黄豆黄素	F
PB3	14.08	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	593.129 51	593.129 46	-0.08	285.040 83, 284.032 41	银锻苷	F
PB4	14.19	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	285.076 29	285.073 85	-8.56	270.050 38, 225.053 54, 137.022 54	汉黄芩素	F
PB5	18.41	C ₁₉ H ₁₆ O ₇	[M+HCOOH] ⁻	401.087 25	401.086 18	-2.67	121.028 79	6-醛基异麦冬黄酮 A	P、B、U
PB6	18.89	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	269.081 38	269.079 10	-8.47	254.055 36, 237.053 33, 213.089 94	芒柄花素	F
PC1	22.51	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	531.223 02	531.221 92	-2.07	401.157 71, 383.147 89, 371.147 37	戈米辛 D	P
PC2	24.24	C ₂₂ H ₂₄ O ₇	[M+H] ⁺	401.159 47	401.157 20	-5.66	383.147 58, 371.147 28, 357.131 93	戈米辛 R	P
PC3	25.96	C ₃₀ H ₃₂ O ₉	[M+H] ⁺	537.212 45	537.208 62	-7.13	415.173 65, 385.162 81	五味子酯甲	P、U
PC4*	28.29	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	[M+H] ⁺	417.227 71	417.224 88	-6.78	402.200 96, 386.207 28, 316.129 61, 301.106 23	五味子甲素	P、U、F
PC5	29.26	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	401.196 41	401.194 92	-3.71	386.171 14, 370.175 08, 331.116 64	γ -五味子素	P、F
PC6	29.42	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	401.196 41	401.195 10	-3.27	386.170 44, 370.174 56, 331.115 63	五味子乙素	P、F
PC7	30.04	C ₃₀ H ₃₂ O ₈	[M+H] ⁺	521.217 54	521.213 07	-8.58	399.177 95, 368.159 64, 353.136 35	6-O-benzoylgomisins O	F
PD1	1.25	C ₁₅ H ₂₆ O ₅ S	[M+H] ⁺	319.157 92	319.160 16	7.02	229.117 08	泽泻磺醇 D	F
PD2	20.98	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	[M+H] ⁺	505.352 36	505.350 68	-3.32	487.358 97, 469.331 70, 415.282 59	16-oxoalisol A	F
PD3	21.81	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	415.212 06	415.210 14	-4.63	384.191 35	bersenogenin	P
PD4	22.26	C ₃₀ H ₄₄ O ₆	[M+H] ⁺	501.321 06	501.321 01	-0.10	483.310 55, 465.298 00	茯苓新酸 E	P、B
PD5	22.67	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	[M-H] ⁻	487.342 34	487.342 71	0.76	469.330 35	蔷薇酸	F
PD6	26.17	C ₃₀ H ₄₄ O ₅	[M-H] ⁻	483.311 04	483.308 96	-4.30	409.271 88	茯苓新酸 B	P、B、F
PD7	26.41	C ₃₁ H ₄₆ O ₃	[M+H] ⁺	467.352 52	467.350 52	-4.28	311.235 47	3-keto-lanosta-7,9(11),24(31)-trien-21-oic acid	P、F

续表 1

编号	<i>t_R</i> /min	分子式	加合物离子	<i>m/z</i>		误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	化合物名称	来源
				计算值	实测值				
PD8	26.70	C ₃₁ H ₄₈ O ₃	[M+H] ⁺	469.368 17	469.366 39	-3.79	451.355 38, 313.251 95, 295.240 91	dehydroeburicoic acid	P、F
PD9	27.03	C ₃₁ H ₄₆ O ₅	[M-H] ⁻	497.326 69	497.326 54	-0.30	423.287 90	茯苓新酸 A	P、U、F
PD10	30.05	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	[M-H] ⁻	497.363 08	497.360 17	-5.86	437.338 78, 295.240 33	16 α -acetoxy-lanosta-8,24-dien-21-oic acid	F
PD11	30.35	C ₃₃ H ₄₈ O ₄	[M+H] ⁺	509.363 08	509.361 24	-3.61	449.339 05, 353.245 70, 293.224 76	3 β -acetoxy-lanosta-7,9(11),24(31)-trien-21-oic acid	F
PD12	30.37	C ₃₃ H ₅₀ O ₃	[M+H] ⁺	527.373 64	527.371 64	-3.79	449.339 29, 353.245 85, 293.224 82	去氢茯苓酸	F
PD13*	30.94	C ₃₃ H ₅₂ O ₅	[M+H] ⁺	529.389 29	529.387 57	-3.25	451.354 71, 295.240 26	茯苓酸	F
PD14	31.01	C ₃₂ H ₅₀ O ₅	[M+H] ⁺	515.373 10	515.372 50	-1.16	437.339 02, 419.329 10	23-乙酰泽泻醇 B	F
PE1	3.12	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.018 78	153.019 00	1.41	109.028 85, 108.021 19	原儿茶酸	F
PE2	11.17	C ₆ H ₁₆ O ₄	[M-H] ⁻	187.097 03	187.096 94	-0.48	125.096 37, 97.065 31	杜鹃花酸	F
PE3	18.58	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	[M-H] ⁻	329.232 79	329.233 80	3.07	211.132 35, 183.137 86	trihydroxy-octadecenoic acid or isomer	P、U
PF	12.94	C ₂₈ H ₄₈ O	[M+Na] ⁺	423.360 28	423.359 62	-1.56	405.348 72, 189.162 75, 119.085 08	菜油甾醇	F

“*” 经与对照品比对; P-血浆 B-胆汁 U-尿液 F-粪便, 下表同

“**” Compare with reference substance; P-Plasma; B-Bile; U-Urine; F-Feces, same as table below

3.1 原型成分鉴定

3.1.1 皂苷类成分 化合物 PA1~PA16 是皂苷类化合物。其中, 化合物 PA1 与文献数据^[11]及相应对照品的保留时间和质谱裂解碎片比较, 被鉴定为人参皂苷 Re; PA9 保留时间为 19.30 min, 准分子离子峰 [M+Na]⁺ *m/z* 807.444 40, 碎片离子为 *m/z* 627.386 78 [M+Na-C₆H₁₀O₅-H₂O]⁺, 经与对照品比对, 鉴定为黄芪甲苷, 见图 2。

3.1.2 黄酮类成分 化合物 PB1~PB6 是黄酮类化合物。PB6 的保留时间为 18.89 min, 准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 269.079 10, 碎片离子 *m/z* 254.055 36 [M+H-CH₃]⁺、237.053 33 [M+H-OH-CH₃]⁺和 213.089 94 [M+H-2CO]⁺与文献报道结果相符^[12], 推测 PB6 为芒柄花素。

3.1.3 木脂素类成分 化合物 PC1~PC7 是木脂素类化合物, PC4 保留时间为 28.29 min, 准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 417.224 88, 碎片离子为 *m/z* 402.200 96 [M+H-CH₃]⁺、386.207 28 [M+H-OCH₃]⁺、316.129 61 [M+H-C₃H₁₀-OCH₃]⁺和 301.106 23 [M+H-C₅H₁₀-OCH₃-CH₃]⁺, 经与对照品比对, 鉴定为五味子甲素, 见图 3。

3.1.4 三萜类成分 化合物 PD1~PD14 是三萜类化合物。化合物 PD13 与文献数据^[13]及相应对照品的保留时间和质谱裂解碎片比较, 鉴定为茯苓酸。

3.1.5 酚酸类成分 化合物 PE1~PE3 是酚酸类化合物, PE1 的保留时间为 3.12 min, 准分子离子峰

[M-H]⁻ *m/z* 153.019 00, 碎片离子 *m/z* 109.028 85 [M-H-COOH]⁻与文献报道结果相符^[14], 推测 PE1 为原儿茶酸。

原型成分 PA2~PA8、PA10~PA16、PB1~PB5、PC1~PC3、PC5~PC7、PD1~PD12、PD14、PE2、PE3 和 PF 的二级质谱数据与文献报道的质谱数据相符^[15-25]。具体的质谱信息见表 1。

3.2 代谢产物鉴定

3.2.1 皂苷类代谢产物 皂苷类成分在大鼠体内主要发生 I 相代谢, 包括脱糖基、脱羟基和还原等反应。在大鼠体内共检测到 10 个皂苷类代谢产物 (MA1~MA10), 其来源及碎片离子信息见表 2。以 PA9 (黄芪甲苷) 为例分析皂苷类成分的代谢途径。MA1~MA5 是 PA9 的相关代谢产物。MA1 准分子离子峰 [M+Na]⁺ *m/z* 513.354 74, 较 PA9 减少 294 且含碎片离子 *m/z* 495.343 11 [M+Na-H₂O]⁺和 477.337 01 [M+Na-2H₂O]⁺, 推测是 PA9 水解产物: 环黄芪醇^[26]; MA2 准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 471.344 88, 较 MA1 减少 20, 推测是 MA1 脱水脱氢产物^[27]; MA3 准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 469.366 27, 较 MA1 减少 22, 含碎片离子 *m/z* 451.355 59 [M+H-H₂O]⁺和 433.347 11 [M+H-2H₂O]⁺, 推测是 MA1 双脱水后甲基化产物^[26]; MA4 准分子离子峰 [M+Na]⁺ *m/z* 499.340 09, 较 MA1 减少 14 且两者碎片均相差 14, 推测是 MA1 脱甲基产物, 同理可推 MA5 是 MA4 脱甲基产物^[26]。

表 2 参芪降糖胶囊在大鼠体内的代谢产物

Table 2 Metabolites of Shenqi Jiangtang Capsules in rats

编号	原型成分	t _R /min	分子式	加合物离子	m/z		误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	鉴定结果	来源
					计算值	实测值				
MA1	PA9	27.12	C ₃₀ H ₅₀ O ₅	[M+Na] ⁺	513.355 04	513.354 74	-0.58	495.343 11, 477.337 01	环黄芪醇	F
MA2	PA9	26.96	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	[M+H] ⁺	471.346 88	471.344 88	-4.24	435.326 29, 417.312 04	MA1 脱水化+脱氢化	U
MA3	PA9	23.20	C ₃₁ H ₄₈ O ₃	[M+H] ⁺	469.367 62	469.366 27	-2.88	451.355 59, 433.347 11	MA1 双脱水化+甲基化	B
MA4	PA9	22.44	C ₂₉ H ₄₈ O ₅	[M+Na] ⁺	499.339 39	499.340 09	1.40	481.330 81, 463.322 60	MA1 脱甲基化	B
MA5	PA9	21.90	C ₂₈ H ₄₆ O ₅	[M+Na] ⁺	485.323 74	485.322 60	-2.35	467.306 82, 449.303 28	MA4 脱甲基化	B
MA6 ^a	PA1	13.08	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	[M+HCOOH] ⁻	845.489 86	845.489 26	-0.71	637.432 86, 475.374 63	人参皂苷 Rg ₁	B
MA7	PA1	13.79	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₄	[M+HCOOH] ⁻	843.473 66	843.474 18	0.62	635.413 57, 473.360 05	MA6 脱氢化	F
MA8	PA10	11.58	C ₃₆ H ₆₂ O ₁₀	[M+HCOOH] ⁻	699.431 40	699.433 04	2.34	653.419 80, 491.372 89	PA10 羟基化	F
MA9	PA11	25.96	C ₃₀ H ₅₂ O ₃	[M+H] ⁺	461.398 92	461.396 73	-4.75	443.387 05, 425.376 34, 369.313 48	人参皂苷 PPD	F
MA10	PA11	19.83	C ₃₀ H ₅₂ O ₄	[M+H] ⁺	477.393 83	477.391 24	-5.43	459.384 37, 441.371 58	MA9 羟基化	F
MB1	PB2	10.48	C ₁₆ H ₁₂ O ₉ S	[M-H] ⁻	363.018 01	363.018 68	1.85	283.060 91, 268.036 83	PB2 硫酸酯化	U
MB2	PB6	12.76	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	255.065 18	255.063 66	-5.96	227.069 82, 199.074 62, 181.063 84	大豆苷元	U、F
MB3	PB6	12.83	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	445.112 92	445.111 11	-4.07	269.079 13, 254.055 44, 237.053 22	PB6 葡萄糖醛酸化	B
MB4	PB6	14.34	C ₁₆ H ₁₂ O ₇ S	[M-H] ⁻	347.023 09	347.023 28	0.55	267.065 28, 252.041 44, 223.038 48	PB6 硫酸酯化	P、B
MB5	PB6	20.24	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	271.096 48	271.094 85	-6.01	256.071 26, 240.076 49	PB6 脱氢化	U、F
MB6	PB6	16.25	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.128 57	447.127 90	-1.50	271.095 03, 256.071 53, 240.076 92	MB5 葡萄糖醛酸化	P、U
MB7	PB6	18.03	C ₁₆ H ₁₄ O ₇ S	[M-H] ⁻	349.038 74	349.039 18	1.26	269.080 44, 254.056 73, 240.035 45	MB5 硫酸酯化	U
MB8	PB6	9.80	C ₁₅ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	333.007 44	333.008 00	1.68	253.049 36, 224.045 93, 197.059 07	MB2 硫酸酯化	U、F
MB9	PB6	16.41	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	[M+H] ⁺	243.101 57	243.101 15	-1.73	149.055 08, 123.043 81	雌马酚	U、F
MB10	PB6	11.95	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M-H] ⁻	417.119 10	417.119 66	1.34	241.084 52	MB9 葡萄糖醛酸化	B
MB11	PB6	12.45	C ₁₅ H ₁₄ O ₆ S	[M-H] ⁻	321.043 80	321.042 24	-4.86	241.085 33, 121.028 77	MB9 硫酸酯化	P、B、 U、F
MB12	PB6	11.44	C ₁₅ H ₁₄ O ₇ S	[M-H] ⁻	337.038 74	337.039 18	1.31	257.080 78, 121.028 47	MB9 羟基化+硫酸酯化	P、B、 U、F
MB13	PB1	10.12	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	461.107 83	461.106 72	-2.41	285.074 01, 270.050 69, 253.048 05	PB1 葡萄糖醛酸化	B、U
MB14	PB1	10.29	C ₁₆ H ₁₂ O ₈ S	[M-H] ⁻	363.018 01	363.017 06	-2.62	283.060 12, 268.036 90, 252.094 18	PB1 硫酸酯化	U
MB15	PB1	10.31	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	461.107 83	461.106 48	-2.93	285.074 01, 270.050 60, 253.048 08	PB1 葡萄糖醛酸化	P、B、U
MB16	PB1	8.08	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₄ S	[M-H] ⁻	539.050 09	539.049 93	-0.30	459.091 83, 283.060 18, 268.036 96	PB1 葡萄糖醛酸化+硫酸酯化	B
MB17	PB1	11.26	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M+H] ⁺	271.060 09	271.058 41	-6.20	225.053 73, 215.068 79, 197.058 88	PB1 脱甲基化	F
MB18	PB1	6.99	C ₁₅ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	349.002 36	349.002 66	0.86	269.044 92, 241.048 07	MB17 硫酸酯化	F
MB19	PB1	10.14	C ₁₆ H ₁₄ O ₈ S	[M-H] ⁻	365.033 66	365.033 63	-0.08	285.075 53, 269.042 88, 255.029 16	PB1 脱氢化+硫酸酯化	U
MB20	PB1	11.34	C ₁₅ H ₁₂ O ₈ S	[M-H] ⁻	351.018 01	351.018 10	0.26	271.060 79, 135.044 39	PB1 脱氢化+脱甲基化+硫酸酯化	U
MB21	PB1	13.55	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	[M+H] ⁺	287.091 40	287.090 48	-3.20	163.038 09, 137.059 52	PB1 脱氢化	U
MB22	PB1	13.12	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	257.080 83	257.079 74	-4.24	163.038 18, 123.043 69	MB21 脱甲氧基化	U
MB23	PB1	16.64	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.056 11	299.055 85	-0.87	284.031 86, 239.033 45	PB1 环羟基化	U
MB24	PB1	19.38	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	[M+H] ⁺	299.09 14	299.090 21	-3.98	284.066 19, 256.071 41, 243.100 71, 227.068 94	PB1 甲基化	U

续表 2

编号	原型成分	t _R /min	分子式	加合物离子	m/z		误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	鉴定结果	来源
					计算值	实测值				
MB24	PB1	19.38	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	[M+H] ⁺	299.09 14	299.090 21	-3.98	284.066 19, 256.071 41, 243.100 71, 227.068 94	PB1 甲基化	U
MB25	PB1	10.84	C ₁₈ H ₂₀ O ₅	[M-H] ⁻	315.123 79	315.124 48	2.19	285.111 91, 267.101 68, 241.122 06	MB24 脱饱和+脱氢化+羟基化+甲基化	U
MB26	PB1	11.11	C ₁₈ H ₁₈ O ₆	[M-H] ⁻	329.103 06	329.103 36	0.91	311.091 40, 285.115 39, 267.102 69	MB24 脱氢化+甲氧基化	F
MB27	PB1	12.99	C ₁₈ H ₂₀ O ₅	[M-H] ⁻	315.123 79	315.123 20	-1.87	241.121 23, 149.059 49, 121.028 78	MB24 脱饱和+脱氢化+甲氧基化	U
MB28	PB1	9.65	C ₂₄ H ₂₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	491.155 88	491.156 13	0.51	315.156 56	MB27 葡萄糖醛酸化	P、U
MB29	PB1	13.04	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	299.127 78	299.126 74	-3.48	281.115 23, 263.105 90, 235.110 28	MB25 脱羟基化	B、U、F
MB30	PB1	14.29	C ₁₆ H ₁₆ O ₈ S	[M-H] ⁻	367.049 31	367.049 62	0.84	287.091 95, 272.068 02	MB27 双脱甲基化+硫酸酯化	P、U
MB31	PB1	7.98	C ₁₈ H ₂₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	395.080 61	395.081 36	1.90	315.121 86, 241.121 81	MB27 硫酸酯化	B、U
MC1	PC3	16.11	C ₂₃ H ₂₈ O ₈	[M+H] ⁺	433.185 69	433.184 91	-1.80	415.172 49, 383.146 42, 327.121 00	PC3 水解化	P、U
MC2	PC3	15.40	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	[M+H] ⁺	419.170 04	419.167 51	-6.04	401.158 39, 369.131 38, 331.114 90, 269.078 67	PC3 水解化+脱甲基化	P、B、U
MC3	PC3	22.53	C ₂₂ H ₂₄ O ₇	[M+H] ⁺	401.159 47	401.157 75	-4.29	383.147 09, 371.147 13, 337.105 93	MC2 脱水化	P
MC4	PC4	19.01	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	401.195 86	401.193 45	-6.01	386.168 79, 370.174 84, 355.151 21	PC4 脱甲氧基化+氧化	P、B、U、F
MC5	PC4	20.33	C ₂₃ H ₂₆ O ₇	[M+H] ⁺	415.175 12	415.173 80	-3.18	385.162 51, 371.146 70, 356.124 60	MC4 醛基化	P、F
MC6	PC4	25.23	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	389.195 86	389.194 82	-2.67	374.172 18, 357.167 11, 325.144 62	PC4 双脱甲基化	P
MC7	PC4	12.04	C ₂₂ H ₂₈ O ₈	[M+H] ⁺	421.185 69	421.184 30	-3.30	403.174 01, 387.189 39, 371.147 06, 353.189 89	MC6 双羟基化	P
MC8	PC4	15.50	C ₂₃ H ₃₀ O ₈	[M+H] ⁺	435.201 34	435.200 74	-1.38	417.189 18, 385.162 84, 359.147 61	PC4 脱甲基化+双羟基化	P、B、U、F
MC9	PC4	24.39	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	401.195 86	401.194 40	-3.64	386.170 81, 370.174 87, 355.151 21	MC8 脱水化+脱羟基化	F
MC10	PC4	26.60	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	403.212 06	403.209 66	-5.95	388.185 09, 371.183 62, 325.141 24	PC4 脱甲基化	B、F
MC11	PC4	19.74	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	403.211 51	403.211 12	-0.97	388.187 47, 371.182 53	PC4 脱甲氧基化和羟基化	B
MC12	PC4	21.14	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	403.211 51	403.209 99	-3.77	388.184 23, 371.184 23, 333.132 08	PC4 脱甲氧基化和羟基化	B
MC13	PC4	21.46	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	403.211 51	403.210 33	-2.93	388.185 64, 371.183 29, 333.131 87	PC4 脱甲氧基化和羟基化	B
MC14	PC4	21.17	C ₂₂ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	389.195 86	389.193 51	-6.04	374.169 74, 357.168 09, 326.149 41, 342.144 99, 288.097 11, 273.074 22	MC13 脱甲氧基化	B
MC15	PC4	21.04	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	565.227 95	565.226 75	-2.12	389.193 54, 374.170 78, 357.168 09, 288.096 98, 273.074 40	MC6 葡萄糖醛酸化	B
MC16	PC4	18.58	C ₂₁ H ₂₆ O ₆	[M+H] ⁺	375.180 21	375.176 30	-10.42	358.167 18, 343.152 13, 311.126 46, 305.102 17, 287.089 39, 273.074 16, 241.048 03, 213.053 31	MC14 脱甲基化	B
MC17	PC6	15.65	C ₂₃ H ₂₈ O ₇	[M+H] ⁺	417.190 77	417.189 76	-2.42	402.164 34, 385.163 21, 359.147 22, 331.116 49, 313.105 53	PC6 羟基化	P、B、U、F
MC18	PC6	22.99	C ₂₃ H ₂₆ O ₆	[M+H] ⁺	399.180 21	399.178 92	-3.23	368.159 55, 353.136 35, 337.141 82	PC6 羟基化+脱水化	F
MC19	PC6	12.11	C ₂₂ H ₂₆ O ₇	[M+H] ⁺	403.175 12	403.174 35	-1.91	371.146 51, 345.133 64, 330.106 75, 313.106 60	PC6 羟基化+脱甲基化	P、B、U、F
MD1	PD6	26.12	C ₃₀ H ₄₂ O ₄	[M+H] ⁺	467.315 58	467.311 43	-8.88	449.302 37, 425.265 26, 325.214 94	PD6 脱水化	B、F
MD2	PD6	28.69	C ₃₀ H ₄₄ O ₄	[M-H] ⁻	467.316 68	467.315 77	-1.95	437.302 89	PD6 脱羟基化	F
MD3	PD12	13.11	C ₃₃ H ₅₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	605.315 36	605.316 65	2.13	525.358 76	PD12 硫酸酯化	F

续表 2

编号	原型成分	<i>t_R</i> /min	分子式	加合物离子	<i>m/z</i>		误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	鉴定结果	来源
					计算值	实测值				
MD4	PD12	26.36	C ₂₃ H ₃₆ O ₂	[M+H] ⁺	345.278 80	345.278 14	-4.49	327.266 88, 309.256 59	PD12 水解化+侧链断裂	F
ME1	PE1	2.64	C ₇ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	216.980 68	216.980 09	-2.72	137.023 56	PF1 脱羟基化+硫酸酯化	B、U、F
ME2	PE1	3.22	C ₈ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	230.996 88	230.996 26	-2.68	151.039 05	PF1 脱羟基化+硫酸酯化+甲基化	U、F
ME3	PE1	3.55	C ₆ H ₆ O ₅ S	[M-H] ⁻	188.985 76	188.985 06	-3.70	109.028 79, 108.021 07	PE1 脱羧基化+硫酸酯化	P、U、F
ME4	PE1	2.33	C ₆ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	204.981 23	204.980 42	-3.95	125.023 64	PE1 脱羧基化+羟基化+硫酸酯化	P、B、U
ME5	acteoside	2.80	C ₈ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	153.055 71	153.055 16	-3.59	123.044 49	羟基酯醇	U
ME6	acteoside	2.76	C ₈ H ₁₀ O ₆ S	[M-H] ⁻	233.012 53	233.011 67	-3.69	153.054 78, 123.044 41	ME5 硫酸酯化	U
ME7	acteoside	3.12	C ₉ H ₁₂ O ₆ S	[M-H] ⁻	247.028 18	247.027 30	-3.56	152.046 97, 123.044 33	ME5 硫酸酯化+甲基化	P、U
ME8	acteoside	1.62	C ₉ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	261.006 34	261.008 18	7.05	217.013 38, 161.060 84, 137.059 66	ME5 硫酸酯化+甲基化+氧化	U
ME9	acteoside	8.63	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	193.050 63	193.050 11	-2.69	178.025 91, 134.036 54, 121.028 79	阿魏酸	F
ME10	acteoside	4.12	C ₉ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	261.006 34	261.006 59	0.96	181.049 41, 137.059 97	ME9 脱甲基化+脱氢化+硫酸酯化	U
ME11	acteoside	4.50	C ₁₀ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	273.007 51	273.006 99	-1.90	193.049 09, 178.026 03, 134.036 54	ME9 硫酸酯化	P、B、U、F
ME12	acteoside	4.55	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	211.061 19	211.060 73	-2.18	193.048 42, 165.054 15	ME9 水解	F
ME13	acteoside	8.14	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	165.055 71	165.055 24	-2.85	121.065 09, 119.049 45	二氢咖啡酸+脱羟基化	P、U
ME14	acteoside	5.18	C ₉ H ₁₀ O ₆ S	[M-H] ⁻	245.012 53	245.011 70	-3.39	165.054 67, 121.065 17	二氢咖啡酸+脱羟基化+硫酸酯化	B、U、F

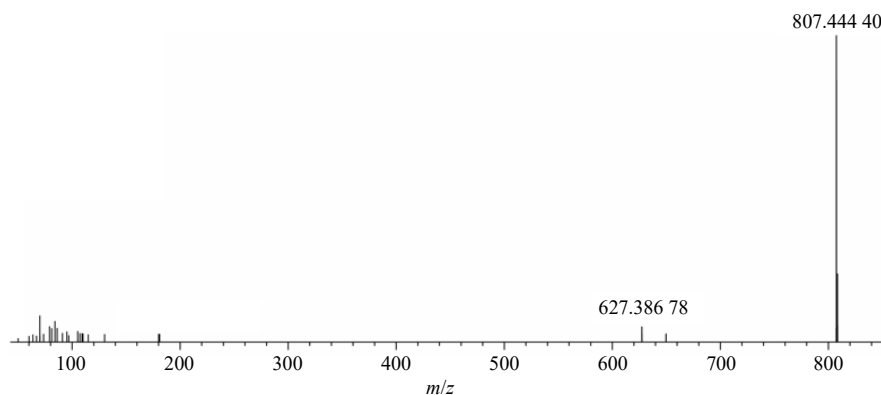


图 2 PA9 (黄芪甲苷) 二级质谱图

Fig. 2 MS² spectrum of PA9 (astragaloside IV)

3.2.2 黄酮类代谢产物 黄酮类化合物在大鼠体内主要发生脱甲基、脱羟基和还原等I相代谢反应，葡萄糖醛酸化和硫酸酯化等II相代谢反应。在大鼠体内共检测到 31 个黄酮类代谢产物 (MB1~MB31)，其来源及碎片离子信息见表 2。以 PB6 (芒柄花素) 为例分析黄酮类成分的代谢途径。MB2~MB12 是 PB6 的相关代谢产物。MB2、MB5 和 MB9 为I相代谢产物，MB3、MB4、MB6~MB8 和 MB10~

MB12 为II相代谢产物。MB2 准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 255.063 66，较 PB6 减少 14，推测是 PB6 脱甲基产物：大豆苷元^[28]；MB9 准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 243.101 15，较 MB2 减少 12，推测是 MB2 脱饱和后氢化还原产物雌马酚^[29]；MB5 的准分子离子峰 [M+H]⁺ *m/z* 271.094 85，较 PB6 增加 2，推测是 PB6 的氢化还原产物^[27]；MB8 准分子离子峰 [M-H]⁻ *m/z* 333.008 00，较 MB2 增加 80 且含碎片

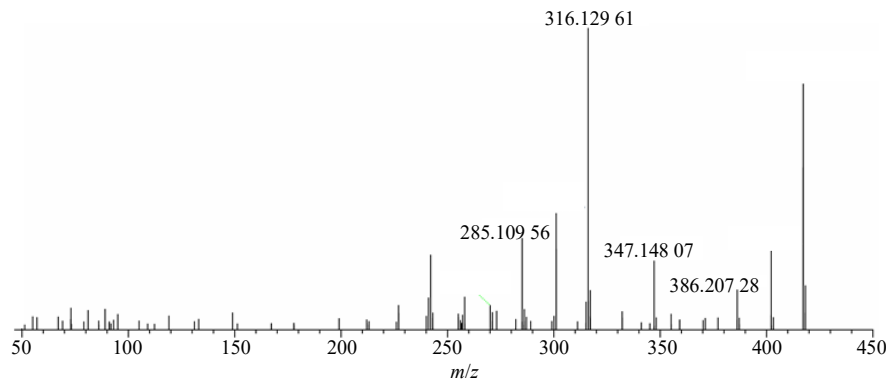


图 3 PC4 (五味子甲素) 二级质谱图

Fig. 3 MS² spectrum of PC4 (schizandrin A)

离子 m/z 253.049 36 $[M-H-SO_3H]^-$, 推测是 MB2 硫酸酯化产物^[29], MB3 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 445.111 11, 较 PB6 增加 176 且含碎片离子 m/z 269.079 13 $[M+H-C_6H_8O_6]^+$, 推测是 PB6 葡萄糖醛酸化产物, 同理可推 MB4 是 PB6 硫酸酯化产物^[27], MB6 和 MB7 分别是 MB5 的葡萄糖醛酸化产物和硫酸酯化产物, MB10 和 MB11 分别是 MB9 的葡萄糖醛酸化产物和硫酸酯化产物^[29]; MB12 准分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 337.039 18, 相对分子质量较 MB9 增加 96 且含碎片离子 m/z 257.080 78 $[M-H-SO_3H]^-$, 推测是 MB9 羟基化后硫酸酯化产物^[29]。

3.2.3 木脂素类代谢产物 木脂素类化合物在大鼠体内主要发生脱甲基、脱羟基、羟基化和脱水等 I 相代谢反应。在大鼠体内共检测到 19 个木脂素类代谢产物 (MC1~MC19), 其来源及碎片离子信息见表 2。以 PC4 (五味子甲素) 为例分析木脂素类成分的代谢途径。MC4~MC16 是 PC4 的相关代谢产物, 通过 SciFinder 检索发现, MC14 和 MC16 是新化合物, MC15 是未曾报道过的五味子甲素的新代谢产物。MC4 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 401.193 45, 较 PC4 减少 16, 含碎片离子 m/z 386.168 79 $[M+H-CH_3]^+$ 、370.174 84 $[M+H-OCH_3]^+$ 和 355.151 21 $[M+H-OCH_3-CH_3]^+$, 推测是 PC4 脱甲氧基和氧化产物^[30]; MC5 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 415.173 80, 较 MC4 增加 14, 含碎片离子 385.162 51 $[M+H-2CH_3]^+$ 、371.146 70 $[M+H-CHO-CH_3]^+$ 和 356.124 60 $[M+H-2CH_3-CHO]^+$, 推测是 MC4 醛基化产物^[30]; MC6 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 389.194 82, 较 PC4 减少 28, 推测是 PC4 双脱甲基

产物^[30]; MC7 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 421.184 30, 较 MC6 增加 32, 推测为 MC6 双羟基化产物; MC8 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 435.200 74, 较 PC4 增加 18, 含碎片离子 417.189 18 $[M+H-H_2O]^+$ 、385.162 84 $[M+H-H_2O-CH_3-OH]^+$ 和 359.147 61 $[M+H-C_2H_4O-CH_3-OH]^+$, 推测是 PC4 脱甲基后双羟基化产物^[31]; MC9 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 401.194 40, 较 MC8 减少 14, 含碎片离子 386.170 81 $[M+H-CH_3]^+$ 、370.174 87 $[M+H-OCH_3]^+$ 和 355.151 21 $[M+H-OCH_3-CH_3]^+$, 推测是 MC8 的脱水脱羟基产物; MC11、MC12、MC13 和 MC10 是同分异构体且碎片离子相似, 因前三者保留时间相近, 故推测 MC11、MC12、MC13 是 PC4 的单脱甲氧基和羟基化产物, MC10 最后出峰, 较 PC4 减少 14, 推测 MC10 是 PC4 的脱甲基产物^[31]。

MC14 的保留时间为 21.17 min, 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 389.193 51, 根据 Xcalibur 软件在 5×10^{-6} 的质量偏差范围内推测其分子式为 $C_{22}H_{28}O_6$, 与 PC4 相差 28, 推测是 PC4 羟基化后连续脱甲氧基、脱甲基产物。根据木脂素类化合物裂解规律进行碎片裂解。碎片离子 m/z 374.169 74 $[M+H-CH_3]^+$ 、357.168 09 $[M+H-CH_3-OH]^+$ 、326.149 41 $[M+H-CH_3-OH-OCH_3]^+$ 、288.097 11 $[M+H-CH_3-C_5H_{10}O]^+$ 、342.144 99 $[M+H-2CH_3-OH]^+$ 和 273.074 22 $[M+H-2CH_3-C_5H_{10}O]^+$, 推测 MC14 是 PC4 羟基化后连续脱甲氧基、脱甲基产物, 与 Xcalibur 软件推测结果一致。根据 ChemDraw 软件将其命名为 (6*R*,7*R*)-2,3,10,11-tetramethoxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydrodibenzo[*a,c*][8]annulene-1,7-diol。MC14 的质谱图及裂解规律见图 4。

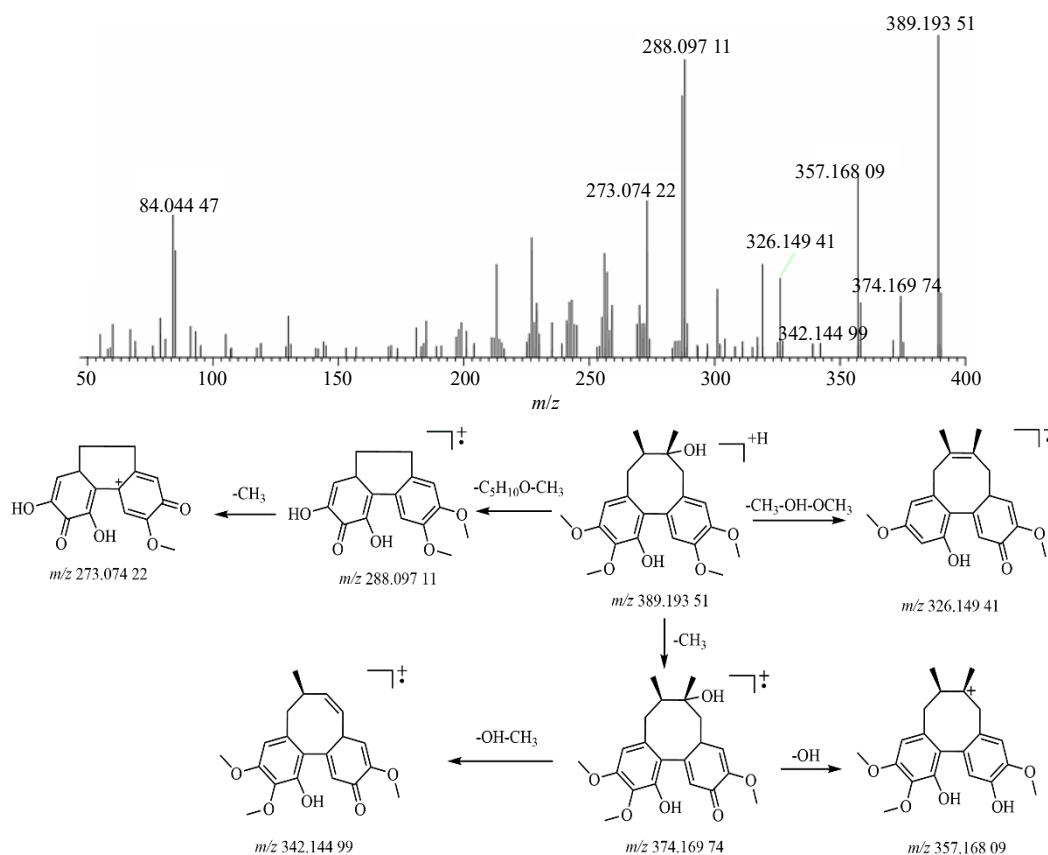


图 4 MC14 的质谱图及可能的裂解规律

Fig. 4 MS² spectrum of MC14 and proposed fragmental pathways

MC15 的保留时间为 21.04 min, 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 565.226 75, 根据 Xcalibur 软件在 5×10^{-6} 的质量偏差范围内推测其分子式为 $C_{28}H_{36}O_{12}$, 较 MC6 增加 176, 推测是 MC6 葡萄糖醛酸化产物。碎片离子 m/z 389.193 54 $[M+H-C_6H_8O_6]^+$ 证实葡萄糖醛酸的存在, 碎片离子 m/z 374.170 78、357.168 09、288.096 98 和 273.074 40 与 MC6 一致, 因此推测 MC15 是代谢物 MC6 的葡萄糖醛酸化产物, 即 PC4 的双脱甲基后葡萄糖醛酸化产物。

MC16 的保留时间为 18.58 min, 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 375.176 30, 根据 Xcalibur 软件在 5×10^{-6} 的质量偏差范围内推测其分子式为 $C_{21}H_{26}O_6$, 较 MC14 减少 14, 推测是 MC14 脱甲基产物。利用 ChemDraw 软件画出 MC14 脱掉 1 分子甲基的结构并进行碎片裂解, 碎片离子 m/z 358.167 18 $[M+H-OH]^+$ 、343.152 13 $[M+H-OH-CH_3]^+$ 、311.126 46 $[M+H-H_2O-OCH_3-CH_3]^+$ 、287.089 39 $[M+H-C_3H_6-OCH_3-CH_3]^+$ 、273.074 16 $[M+H-C_4H_8O-2CH_3]^+$ 、241.048 03 $[M+H-C_6H_{12}O-2OH]^+$ 和

213.053 31 $[M+H-C_6H_{12}O-2OCH_3]^+$, 推测是 MC14 脱甲基产物, 与 Xcalibur 软件推测结果一致。通过 ChemDraw 软件得到其化学名为 (6*R*,7*R*)-2,3,10-trimethoxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydrodibenzo[*a,c*] [8]annulene-1,7,11-triol。MC16 的质谱图及裂解规律见图 5。

3.2.4 三萜类代谢产物 三萜类化合物在大鼠体内主要以原型形式存在, 在生物样品中共检测到 4 个三萜类相关代谢产物 (MD1~MD4), 经 SciFinder 检索, 其中 MD1 和 MD4 是新化合物, MD3 是未曾报道过的去氢茯苓酸的新代谢产物。

MD1 的保留时间为 26.12 min, 准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 467.311 43, 根据 Xcalibur 软件在 5×10^{-6} 的质量偏差范围内推测其分子式为 $C_{30}H_{42}O_4$, 与 PD6 (茯苓新酸 B) 相差 18, 推测为 PD6 脱水产物。利用 ChemDraw 软件对其进行碎片裂解, MD1 脱去 1 分子羟基得碎片离子 m/z 449.302 37、支链上双键断裂得碎片离子 m/z 425.265 26 和失去侧链得碎片离子 m/z 325.214 94, 故推测是 PD6 脱水代谢

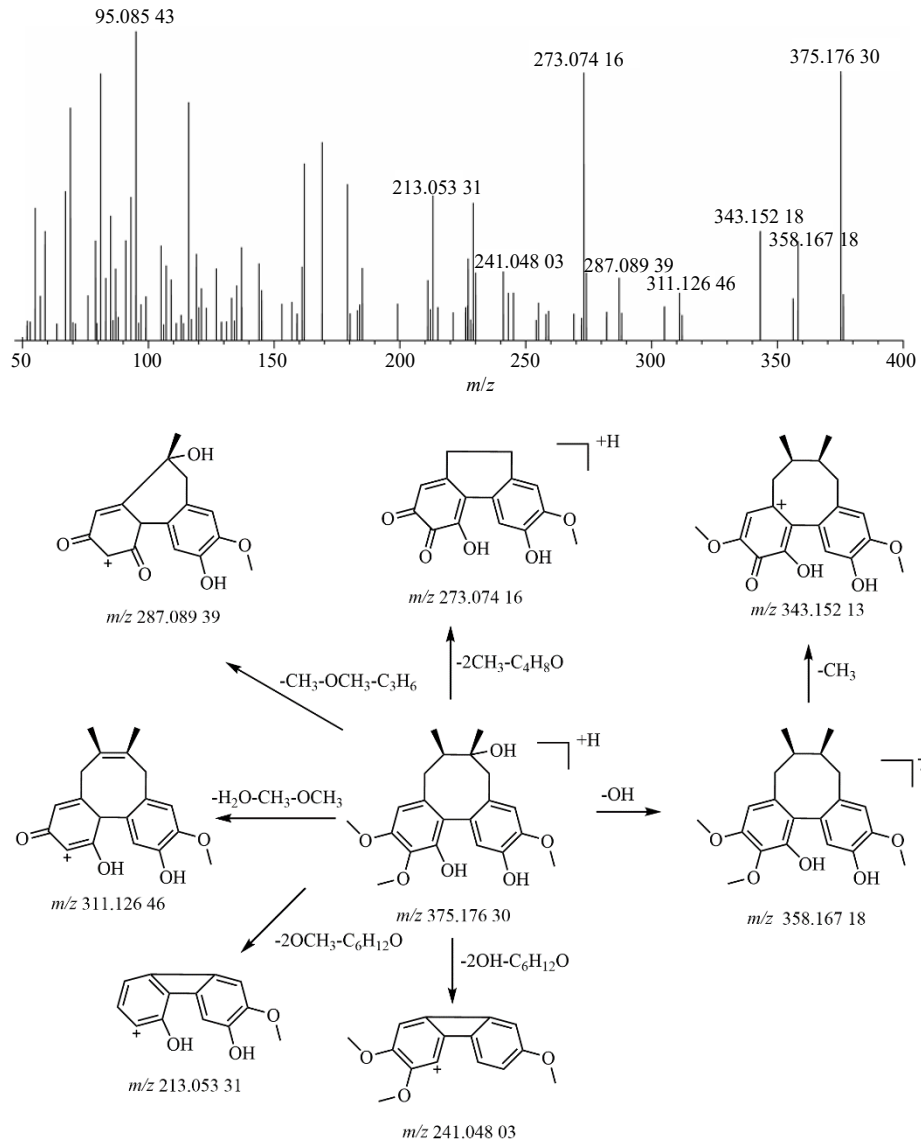


图5 MC16的质谱图及可能的裂解规律

Fig. 5 MS² spectrum of MC16 and proposed fragmental pathways

产物，与 Xcalibur 软件推测结果一致。根据 ChemDraw 软件得到其化学名为 (R)-2-((3R,3aR,6S,7S,9bR)-6-(2-carboxyethyl)-3a,6,9b-trimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)-3a,4,6,7,8,9b-hexahydro-3H-cyclopenta[a]naphthalen-3-yl)-6-methylhept-5-enoic acid。MD1 的质谱图及裂解规律见图 6。

MD3 的保留时间为 13.11 min，准分子离子峰 [M-H]⁻ m/z 605.31665，根据 Xcalibur 软件在 5 × 10⁻⁶ 的质量偏差范围内推测其分子式为 C₃₃H₅₀O₈S，比 PD12 (去氢茯苓酸) 相对分子质量高 80，碎片离子 m/z 525.358 76 [M-H-SO₃H]⁻ 证实硫酸酯的存在，因此推测 MD3 是 PD12 硫酸酯化产物。

MD4 的保留时间为 26.36 min，准分子离子峰 [M+H]⁺ m/z 345.278 14，根据 Xcalibur 软件在 5 × 10⁻⁶ 的质量偏差范围内推测其分子式为 C₂₃H₃₆O₂，利用 ChemDraw 软件画出 PD12 酯键断裂并失去侧链的结构进行碎片裂解，碎片离子 m/z 327.266 88 [M+H-H₂O]⁺ 和 309.256 59 [M+H-2H₂O]⁺，推测是 PD12 结构上酯键断裂并失去侧链的产物。根据 ChemDraw 软件得到其化学名为 (3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-4,4,10,13,14,17-hexamethyl-2,3,4,5,6,10,12,13,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,16-diol。MD4 的质谱图及裂解规律见图 7。

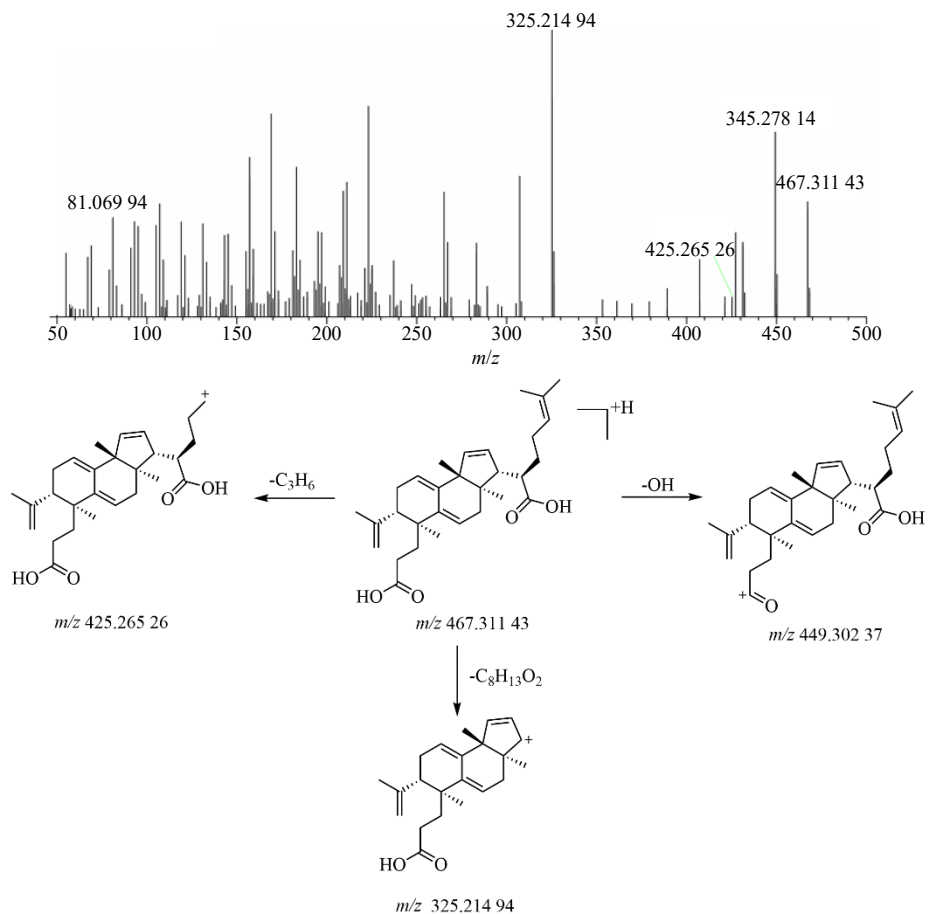


图 6 MD1 的质谱图及可能的裂解规律

Fig. 6 MS² spectrum of MD1 and proposed fragmental pathways

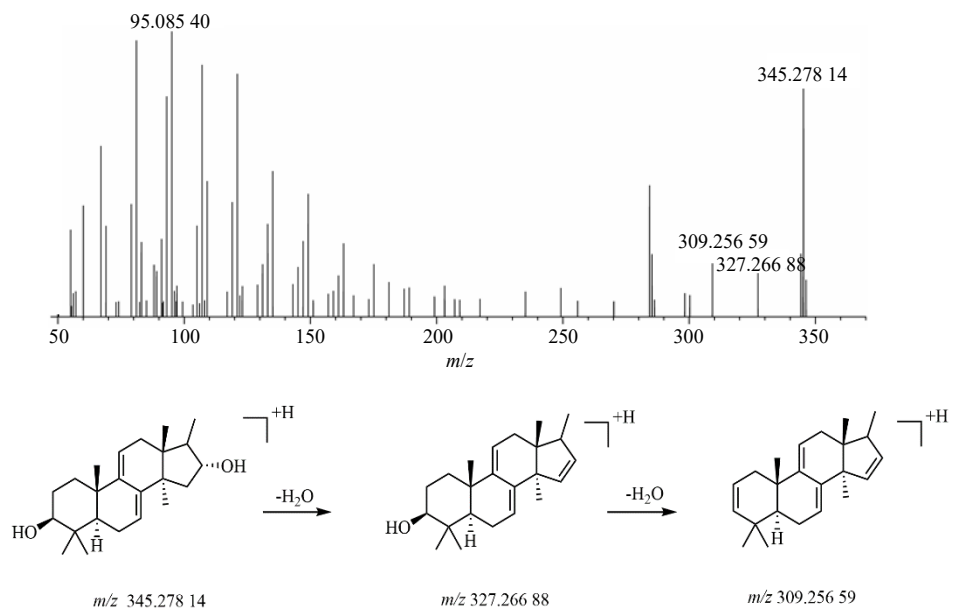


图 7 MD4 的质谱图及可能的裂解规律

Fig. 7 MS² spectrum of MD4 and proposed fragmental pathway

3.2.5 酚酸类代谢产物 酚酸类化合物在大鼠体内主要发生脱甲基、脱羟基和水解反应等I相代谢反应，硫酸酯化和甲基化等II相代谢反应。在体内共检测到 14 个酚酸类代谢产物 (ME1~ME14)，其来源及碎片离子信息见表 2。以 PE1 (原儿茶酸) 为例分析酚酸类成分的代谢途径。ME1-ME4 是 PE1 的相关代谢产物。ME1 准分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 216.980 09，较 PE1 增加 64 且含碎片离子 m/z 137.023 56 $[M-H-SO_3H]^-$ ，推测是 PE1 脱羟基后硫酸酯化产物；ME2 准分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 230.996 26，较 ME1 增加 14，推测是 ME1 的甲基化产物；ME3 准分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 188.985 06 较 PE1 增加 36 且含碎片离子 m/z 109.028 79 $[M-H-SO_3H]^-$ ，推测是 PE1 脱羧基后硫酸酯化产物，同理推测 ME4 为 PE1 脱羧基后羟基化后与硫酸酯结合产物。

4 讨论

本研究基于文献报道和课题组前期研究，采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术，在正、负离子模式下，对大鼠 ig 给予 SJC 后的生物样品进行鉴定。血浆中检测到 19 个原型和 21 个代谢产物；胆汁中检测到 5 个原型和 31 个代谢产物；尿液中检测到 4 个原型和 44 个代谢产物；粪便中检测到 39 个原型和 37 个代谢产物。

根据代谢物结构种类，将其分为 5 类，皂苷类、黄酮类、木脂素类、三萜类和酚酸类。其中，木脂素类和三萜类化合物在正离子模式下响应较好，皂苷类和有机酸类化合物在负离子模式下响应较好，黄酮类化合物在正、负离子模式下响应均较好，为尽可能全面获得 SJC 体内代谢产物信息，本研究选择在正、负离子 2 种模式下进行检测。

药物进入机体后主要经肝脏和胃肠道代谢，代谢产物由肾脏经尿液排出，一些生物利用度低的药物主要由粪便排出。在 SJC 中，皂苷类成分来源于君药人参茎叶总皂苷和黄芪，分子结构中常含有多个羟基和糖基，易发生脱羟基和脱糖基等I相代谢反应。本研究中，检测到的皂苷类成分主要以原型形式经粪便排泄，吸收入血的成分较少。经分析，原因其一是中药复方化学成分复杂，各成分所占的配比低，含量较低，不易检测；其二是皂苷类成分极性大且相对分子质量大，在胃肠道吸收性差，生物利用度低；其三是由于在样品前处理过程中某些成分在血浆中回收率较低，没有检测到。黄酮类成分

主要来源于君药黄芪，母核结构上常含有甲氧基和羟基，易发生脱甲基化、脱羟基化、脱甲氧基化和还原等I相代谢反应及在I相代谢物基础与葡萄糖醛酸或硫酸结合，使极性增大，经尿液和胆汁排泄。黄酮类化合物在体内经某些代谢酶作用可发生相互转化，如黄芪中代表性成分毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄豆黄素和大豆苷元，毛蕊异黄酮通过脱羟基转变为芒柄花素，再继续脱甲基转变为大豆苷元，黄豆黄素脱甲氧基也可转变为大豆苷元，故四者具有共同的代谢物群。木脂素类化合物来源于五味子，具有联苯环辛烯型的母核结构且含有多个甲氧基和羟基，易发生脱水、脱甲基、脱甲氧基、脱羟基、羟基化和脱亚甲基等反应，其脂溶性较强，ig 给药后在大鼠胃肠道的吸收较好，生物利用度较高，主要以原型和I相代谢物形式存在于血浆和胆汁中。三萜类化合物主要来源于泽泻和茯苓药味，脂溶性较强，主要以原型形式在血浆中被检测到并经粪便排泄。酚酸类化合物分子结构中常含有多个羟基和羧基，在体内易与葡萄糖醛酸和硫酸结合，主要在胆汁中以II相代谢物形式存在。

综上，本研究利用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 方法，首次从 ig 给予 SJC 的大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便样品中鉴定出 125 个化合物，包括 47 个原型和 78 个代谢产物，经 SciFinder 检索，其中 2 个为新代谢产物，4 个为新化合物。本文初步阐明 SJC 的体内代谢特征，为明确 SJC 的药效物质基础和进一步阐明其活性成分作用机制及临床合理用药提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张蕾, 王雷雷, 黎明东, 等. 参芪降糖颗粒辅助治疗气阴两虚型 2 型糖尿病临床研究 [J]. 新中医, 2019, 51(4): 166-168.
- [2] Li R L, Dong T W, Wei J G, *et al.* Meta-analysis of the therapeutic effect of Shenqi Jiangtang Granule on type 2 diabetes mellitus [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2020, 2020: 5754823.
- [3] 赵能江, 杨叔禹, 李博, 等. 参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病临床应用专家共识 [J]. 中草药, 2020, 51(17): 4383-4387.
- [4] 杨迎. 参芪降糖胶囊联合格列本脲片治疗 2 型糖尿病的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(2): 161-165.
- [5] Li T L, Li H Z, Wu Y, *et al.* Efficacy and safety of Shenqi

- Jiangtang Granules plus oral hypoglycemic agent in patients with type 2 diabetes mellitus: A protocol for systematic review and meta-analysis of 15 RCTs [J]. *Medicine*, 2021, 100(5): e23578.
- [6] 郑谌, 朱俊, 何先凤, 等. 参芪降糖颗粒合吡格列酮二甲双胍对糖尿病合并代谢综合征的影响 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(2): 237-242.
- [7] 张慧, 张晓静, 姜慧洁, 等. UPLC-Q-TOF MS/MS 法分析参芪降糖颗粒化学成分 [J]. *中成药*, 2017, 39(10): 2101-2108.
- [8] 王倩, 李冰冰, 黄文静, 等. 基于2种色谱-质谱联用技术的参芪降糖颗粒化学成分分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(6): 1568-1581.
- [9] Zhang H, Chen R Y, Xu C, *et al.* Simultaneous determination of saponins and lignans in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study of Shenqi Jiangtang Granule [J]. *Curr Drug Metab*, 2021, 22(3): 224-231.
- [10] Chen W Y, Liang G Y, Zheng Z L, *et al.* UPLC-ESI-Q-TOF/MS based metabolic profiling of protosappanin B in rat plasma, bile, feces, urine and intestinal bacteria samples [J]. *Curr Drug Metab*, 2021, 22(6): 491-499.
- [11] Xie H L, Wang D X, Zhang W J, *et al.* Comparative pharmacokinetic studies of four ginsenosides in rat plasma by UPLC-MS/MS after oral administration of *Panax quinquefolius*-*Acorus gramineus* and *Panax quinquefolius* extracts [J]. *J Anal Methods Chem*, 2019, 2019: 4972816.
- [12] 刘亚丽, 魏韶锋, 宋永贵, 等. UPLC/Q-TOF-MS/MS 法分析丰城鸡血藤中刺芒柄花素在大鼠肠道菌群中的代谢 [J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(23): 2715-2723.
- [13] 杨慧敏, 杨彪, 胡玉梅, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术的桂枝茯苓胶囊化学成分分析 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(4): 861-877.
- [14] 陈家全, 王慧, 李冬玉, 等. 原儿茶酸在大鼠体内代谢产物的分析 [J]. *中成药*, 2017, 39(3): 561-564.
- [15] Yang L, Deng Y H, Xu S J, *et al.* *In vivo* pharmacokinetic and metabolism studies of ginsenoside Rd [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 854(1/2): 77-84.
- [16] 王若柳, 王海强, 范晓辉, 等. LC-Q-TOF-MS 和 LC-IT-MS 分析参麦注射液化学成分 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(3): 555-564.
- [17] Li Y, Peng Y, Wang M Y, *et al.* Rapid screening and identification of the differences between metabolites of *Cistanche deserticola* and *C. tubulosa* water extract in rats by UPLC-Q-TOF-MS combined pattern recognition analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 131: 364-372.
- [18] Simons A L, Renouf M, Hendrich S, *et al.* Metabolism of glycitein (7,4'-dihydroxy-6-methoxy-isoflavone) by human gut microflora [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(22): 8519-8525.
- [19] 雷艳, 刘传鑫, 李尹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS^E 的玉泉丸化学成分表征 [J]. *中药材*, 2020, 43(7): 1639-1646.
- [20] Wang J Y, Jiang B, Shan Y Y, *et al.* Metabolic mapping of *Schisandra chinensis* lignans and their metabolites in rats using a metabolomic approach based on HPLC with quadrupole time-of-flight MS/MS spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(2): 378-388.
- [21] 李伟, 宋永贵, 刘匡一, 等. UHPLC-QTOF/MS^E 与代谢组学技术对北五味子炮制前后化学成分迁移研究 [J]. *药学报*, 2016, 51(9): 1445-1450.
- [22] 方潇, 丁晓萍, 陈林霖, 等. 茯苓皮中三萜类化学成分 HPLC-LTQ-Orbitrap 分析 [J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(9): 2117-2121.
- [23] 邓岳, 刘阿娜, 王小明, 等. HPLC-TOF-MS 分析泽泻提取物中三萜类化合物 [J]. *化学分析计量*, 2015, 24(6): 11-14.
- [24] Wang X Y, Yan K J, Ma X H, *et al.* Simultaneous determination and pharmacokinetic study of protocatechuic aldehyde and its major active metabolite protocatechuic acid in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr Sci*, 2016, 54(5): 697-705.
- [25] 雷冬梅, 姚长良, 陈雪冰, 等. 基于 RP-Q-TOF-MS 和 HILIC-Q-TOF-MS 的经典名方当归补血汤成分分析 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(8): 2109-2120.
- [26] 刘晓亚. 黄芪甲苷和环黄芪醇的体内代谢研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [27] 贾璐. 黄芪建中汤化学成分体内代谢研究 [D]. 太原: 山西大学, 2020.
- [28] Ding Y, Chen S T, Wang H L, *et al.* Identification of secondary metabolites in *Flammulina velutipes* by UPLC-Q-exactive-orbitrap MS [J]. *J Food Qual*, 2021, 2021: 1-8.
- [29] Huang J, Chen H Y, Li C Y, *et al.* Screening and identification of the metabolites of water extracts of raw and honey-processed *Astragalus* in rat urine based on

UHPLC/ESI-Q-TOF-MS and multivariate statistical analysis [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2018, 29(9): 1919-1935.

- [30] 苏联麟, 程雪, 季德, 等. 基于UHPLC-QTOF/MS技术的生、醋五味子醇提物在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中药物原形成分及其代谢产物的分析鉴定 [J]. 药学

学报, 2016, 51(10): 1600-1608.

- [31] Zhang H Z, Jiang Y M, Wu J J, *et al.* Metabolic mapping of *Schisandra sphenanthera* extract and its active lignans using a metabolomic approach based on ultra high performance liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(2): 574-586.

[责任编辑 王文倩]

• 公益广告 •

