

基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的肾康注射液在大鼠体内代谢产物的鉴定及代谢途径分析

杨彦涛^{1,2}, 李卓伦^{1,2}, 周霖^{1,2}, 康建^{1,2}, 程旭³, 孙志^{1,2*}

1. 郑州大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450052

2. 河南省精准医学临床质谱工程研究中心, 河南 郑州 450052

3. 复旦大学药学院, 上海 201203

摘要: 目的 采用UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术鉴定肾康注射液(Shenkang Injection, SKI)在大鼠体内的代谢产物, 并提出可能的代谢途径。方法 SD大鼠经尾iv SKI后, 收集其血浆、尿液和粪便样本。以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱, Waters BEH C₁₈柱进行色谱分离; 使用Q Exactive HRMS和加热电喷雾离子源(HESI)进行正、负离子模式下的质谱扫描分析。根据“提取-化合物筛选-鉴定-验证”的大鼠体内代谢产物的鉴定策略对质谱数据进行分析。结果在大鼠血浆、尿液和粪便中共鉴定出121种外源化合物, 包括29种原型化合物和92种代谢产物。这些代谢产物主要经历的生物转化有羟基化、还原和去饱和等I相代谢反应, 以及甲基化、乙酰化、磺酸化、葡萄糖醛酸化、甘氨酸结合、半胱氨酸结合和牛磺酸结合等II相代谢反应。结论 为SKI的体内药理学和作用机制的进一步研究提供了物质基础, 所提出的鉴定策略为中药的体内药效物质研究提供了一种系统、全面、可靠的方法。

关键词: 肾康注射液; 代谢产物; 代谢途径; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; 丹参素; 羟基红花黄色素A; 5-羟甲基糠醛

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)03-0730-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.005

Metabolites identification and metabolic pathway analysis of Shenkang Injection in rats based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

YANG Yantao^{1,2}, LI Zhuolun^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, KANG Jian^{1,2}, CHENG Xu³, SUN Zhi^{1,2}

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

2. Henan Engineering Research Center of Clinical Mass Spectrometry for Precision Medicine, Zhengzhou 450052, China

3. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To identify the metabolites of Shenkang Injection (肾康注射液, SKI) in rats by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and propose the possible metabolic pathway. **Methods** The plasma, urine and feces samples were collected after SD rats were administrated with SKI by injecting the tail vein. The Waters BEH C₁₈ column was used to separate the samples with 0.1% formic acid solution (A)-acetonitrile (B) as mobile phase for gradient elution. The mass spectrometry scanning was carried out in positive and negative ion modes by Q Exactive HRMS and heated electrospray ion source (HESI). The mass spectrometry data were analyzed according to proposed strategy of “extraction-compound screening-identity-validation” for the identification of metabolites in rats. **Results** A total of 121 xenobiotics were identified in rat plasma, urine and feces, including 29 prototype compounds and 92 metabolites. The main biotransformations of these metabolites refer to phase I metabolic reactions such as hydroxylation, reduction and desaturation, and phase II metabolic reactions such as methylation, acetylation, sulfation, glucuronidation, glycine conjugation, cysteine conjugation and taurine conjugation. **Conclusion** This study provides a material basis for further study of pharmacology and mechanism of action of SKI *in vivo*. The proposed identification strategy provides a systematic, comprehensive and reliable method for the study of pharmacodynamic substances of traditional Chinese medicine *in vivo*.

收稿日期: 2023-09-22

基金项目: 科技部国家重点研发计划(2021YFC2401105); 国家自然科学基金青年基金资助项目(82104515); 河南省重点研发与推广专项科技攻关(222102310082); 郑州大学青年教育基础研究培育基金(JC22862049)

作者简介: 杨彦涛, 硕士, 主管药师, 研究方向为中药药物代谢。Tel: (0371)66279801 E-mail: fccyangyt@zzu.edu.cn

*通信作者: 孙志, 博士, 副主任药师, 研究方向为中药药物代谢。Tel: (0371)66862570 E-mail: sunzhi2013@163.com

Key words: Shenkang Injection; metabolite; metabolic pathway; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; danshensu; hydroxysafflor yellow A; 5-hydroxymethylfurfural

肾康注射液 (Shenkang Injection, SKI) 是由丹参、大黄、红花、黄芪 4 味中药提取加工制成的中药复方, 具有降逆泄浊、益气活血和通腹利湿等功效, 临床应用已 20 余年, 疗效显著且应用广泛。研究表明, 肾康注射液在治疗糖尿病肾病方面, 可显著改善多项肾功能指标, 如降低尿白蛋白排泄率、24 h 尿蛋白、肌酐和尿素氮等, 从而减轻糖尿病对肾脏的损伤作用, 提高肾功能^[1]。慢性肾功能衰竭是由各种病因引起肾脏损害和进行性加重的结果, 肾康注射液可使该病患者内生肌酐清除率升高, 降低血肌酐, 有效率达 73.05%^[2]。在造影剂肾病防治方面, 肾康注射液亦表现出良好的改善肾功能指标的作用, 大大减少了造影剂肾病的发生^[3]。研究表明 SKI 治疗糖尿病肾病的机制可能与减轻高糖诱导的肾小管细胞衰老和肾小管间质损伤、抑制肾系膜细胞增殖和诱导细胞凋亡有关^[4-6]。然而, 目前关于 SKI 体内代谢物的研究尚不系统全面^[7], 这限制了 SKI 的药理学、毒理学和作用机制的进一步研究。因此亟需一种具有高通量、高分辨率和高灵敏度且能准确鉴定其在人体内的代谢产物的方法, 以对 SKI 进行进一步的分析探索。

超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 具有高通量、高分辨率和高灵敏度的特点, 可用于快速准确鉴定中药药效成分在人体内的代谢产物; 其可在一个分析周期内获得大量高精度的一级、二级质谱信息, 为人体内微量乃至痕量的代谢产物结构的确定提供了客观可靠的数据支持。Compound Discoverer (CD) 代谢平台是一种基于 LC-MS 获得代谢物检测数据的数据挖掘技术, 其可通过对样本组和对照组进行差异性分析, 结合对待测物质质谱质峰的数据分析, 筛选出样品组中存在而对照组中不存在的化合物, 并提示可能的生物转化途径^[8-10]。

在本课题组前期研究中, SKI 中共鉴定出 90 种化学成分, 主要化学结构类型为酚酸类、黄酮类和蒽醌类等^[11]。随后, 又研究了 SKI 在大鼠体内的组织分布和药动力学^[12]。为了鉴定 SKI 在体内的代谢产物, 本研究基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 和 CD 平台, 提出了“提取-化合物筛选-鉴定-验证”的大鼠体内代谢产物的鉴定策略, 最终从 iv SKI 后的大

鼠血浆、尿液和粪便中筛选出并鉴定了 92 种代谢产物, 明确了 SKI 在大鼠体内的代谢谱, 为针对 SKI 进一步的药物研究奠定了坚实的理论和数据基础。

1 仪器与材料

Ultimate 3000 UHPLC (美国 Dionex 公司); Q Exactive HRMS (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Xcalibur 3.0 数据处理系统 (美国 Finnigan 公司)。

肾康注射液 (批号 202109111) 由西安世纪盛康药业有限公司生产。对照品没食子酸 (批号 MUST-18032801)、丹参素 (批号 MUST-18060920)、咖啡酸 (批号 MUST-19032003)、原儿茶酸 (批号 MUST-16032102)、5-羟甲基糠醛 (批号 MUST-16031202)、羟基红花黄色素 A (批号 MUST-16070508)、阿魏酸 (批号 MUST-19032928) 和芹菜素 (批号 MUST-16061301) 均购自成都 Must 生物技术有限公司; 对照品大黄酸 (批号 wkq16062204) 购自成都维可奇生物技术有限公司。所有对照品经 HPLC-UV 检测质量分数均大于 98%。甲醇和乙腈为高效液相色谱级, 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。HPLC 级甲酸购自阿拉丁工业有限公司。

雄性 SD 大鼠 (180~220 g) 12 只购自郑州大学动物实验中心, 合格证号 SCXK (豫) 2021-0002。所有动物实验操作经郑州大学第一附属医院动物伦理委员会批准 (伦理审批号 2023-KY-0543)。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters BEH C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 40 °C; 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 体积流量 0.2 mL/min; 梯度洗脱: 0~3 min, 5% B; 3~16 min, 5%~15% B; 16~20 min, 15%~22% B; 20~26 min, 22%~55% B; 26~30 min, 55%~100% B; 30~35 min, 100% B; 35~36 min, 100%~5% B; 36~40 min, 5% B。进样量 5 μL。

2.2 质谱条件

质谱仪采用加热电喷雾离子源 (HESI)。离子传输管温度 320 °C, 辅助气体积流量为 10 μL/min。正离子模式下: 喷雾电压为 3.5 kV, 鞘气体积流量为 40 μL/min。负离子模式下: 喷雾电压为 -2.8 kV,

鞘气体积流量为 38 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。全扫描质量范围 m/z 80~1 200。碰撞能梯度为 20、40、60 eV。

2.3 动物饲养和给药

将 SD 大鼠随机分为给药组和对照组，每组 6 只。随后将各组再进一步随机均分为采血组（3 只）和收集尿液及粪便组（3 只），这些大鼠均饲养在光照/黑暗周期为 12 h 的动物房内，温度 25 $^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度在 60%左右，饲养 1 周。在这 1 周内，大鼠喂养标准饲料和水。给药前，在代谢笼中的大鼠被禁食 12 h，只自由饮水^[13]。给药组大鼠注射剂量为 9 mL/kg （相当于临床剂量的 6.3 倍），使用前 SKI 先浓缩，浓度提高 5 倍，经尾 iv 给予大鼠。对照组大鼠同样方法注射生理盐水^[14]。

2.4 生物样本采集和预处理

2.4.1 血浆样本 采血组大鼠，ip 10%水合氯醛水溶液（0.2 $\text{mL}/100\text{ g}$ ）进行麻醉。分别于尾 iv SKI 或生理盐水后 0.5、1、2、4、8、12、24 h 从大鼠眼眶静脉中采集血液各 0.3 mL ，置于肝素钠抗凝 EP 管中，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下以 $1.3\times 10^4\text{ r}/\text{min}$ 离心 10 min，取上清液。最后将各时间点血浆上清液混合在一起，取 2 mL 与 8 mL 甲醇混合，涡旋、离心、干燥。用 200 μL 50%甲醇-水再溶解残余物，制备成供试液。

2.4.2 尿液和粪便样本 收集尿液和粪便组大鼠在代谢笼内尾 iv SKI 或生理盐水后 24 h 的尿液和粪便样本。尿液样本滤过后，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下以 $1.3\times 10^4\text{ r}/\text{min}$ 离心 10 min。取 2 mL 上清液与 8 mL 甲醇混合，涡旋、离心。室温下氮气干燥上清液。用 200 μL 50%甲醇-水将残余物再溶解。另外，取 1 g 干燥后的粪便样品，加入 10 mL 甲醇，超声处理 30 min 后滤过。然后涡旋、离心。上清液干燥。用 200 μL 50%甲醇-水复溶，制备成供试液。所有供试液在进样前均用 0.22 μm 微孔滤膜滤过^[15]。

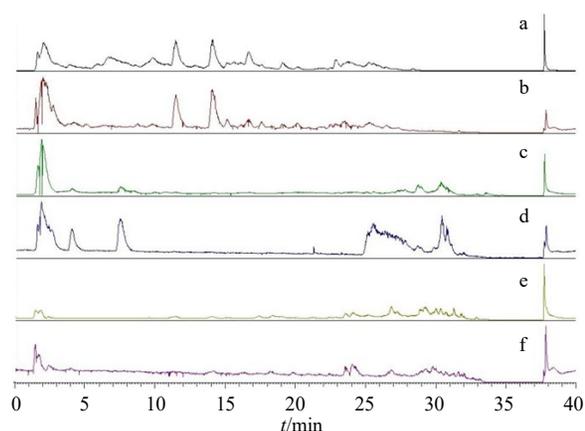
2.5 对照品溶液的制备

取对照品没食子酸、丹参素、咖啡酸、原儿茶酸、5-羟甲基糠醛、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、芹菜素、大黄酸各 1.0 mg ，精密称定后，分别置于 10 mL 量瓶中，加入 50%甲醇-水溶解并稀释至刻度，摇匀，最终制备成质量浓度为 0.1 mg/mL 的对照品储备液；分别精密量取上述对照品储备液适量，将其混合后加入 50%甲醇-水稀释，最终制备成各对照品质量浓度均为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品溶液。

2.6 数据处理

采用 Xcalibur 3.0 软件对质谱数据进行分析，包

括总离子流图、提取离子流图、 MS^2 质谱图、碎片离子和元素组成，质量误差均在 5×10^{-6} 以内。大鼠静脉注射 SKI 后，各生物样本的总离子流图见图 1。将 Q Exactive HRMS 获取的原始数据文件导入 Compound Discoverer 2.1 (CD) 软件（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）进行代谢物的筛选鉴定。选择“Metabolism w Statistics Expected w Fish Scoring and Unknown w Pattern and Compound Class Scoring”处理流程，根据导入的原型化合物结构和所选的代谢反应类型，系统自动筛选出潜在的代谢物。主要参数：最大位移 0.2 min，质量误差 5×10^{-6} ，最小质量 150，最小峰强度 1×10^5 。峰面积的比值（给药组/对照组）设置为大于 5。



a-ESI⁻扫描模式下的尿液样本；b-ESI⁺扫描模式下的尿液样本；c-ESI⁻扫描模式下的血浆样本；d-ESI⁺扫描模式下的血浆样本；e-ESI⁻扫描模式下的粪便样本；f-ESI⁺扫描模式下的粪便样本。
a-urine sample in ESI⁻ scan mode; b-urine sample in ESI⁺ scan mode; c-plasma sample in ESI⁻ scan mode; d-plasma sample in ESI⁺ scan mode; e-feces sample in ESI⁻ scan mode; f-feces sample in ESI⁺ scan mode.

图 1 大鼠 iv SKI 后各生物样本的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms (TICs) of bio-samples after intravenous administration of SKI in rats

2.7 大鼠体内代谢物的鉴定策略

为了系统分析 SKI 在大鼠体内的生物转化和代谢产物结构鉴定，提出了“提取-化合物筛选-鉴定-验证”的大鼠体内代谢产物的鉴定策略，如图 2 所示。第一步，根据文献检索信息和标准品质谱数据建立化合物数据库。该数据库不仅包含 SKI 中的已知化学成分，还包含文献报道的部分化合物的已知代谢物，包括化合物名称、分子式、相对分子质量、化学结构和特征碎片离子等信息^[16]。

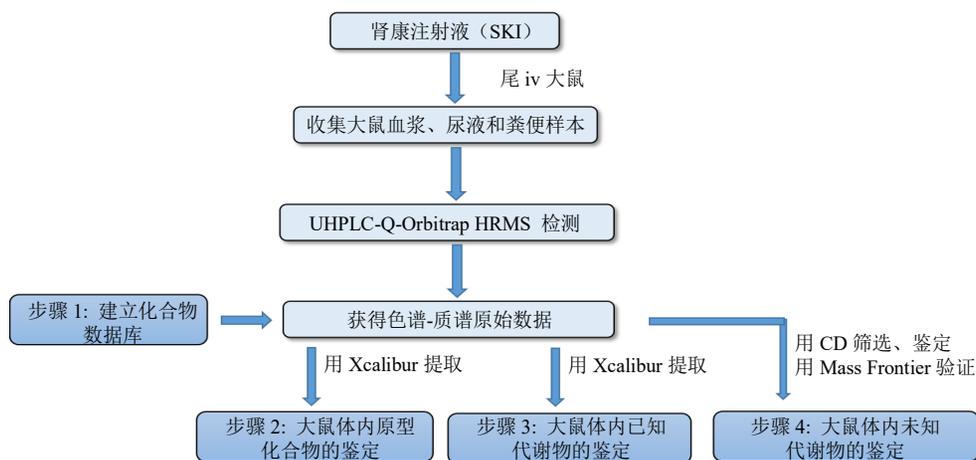


图 2 大鼠体内代谢产物的鉴定策略

Fig. 2 Identification strategy of metabolites in rats

第二步，原型化合物的体内鉴定。依据建立的数据库，利用 Xcalibur 软件从生物样本的色谱图中提取原型化合物，然后根据精确相对分子质量、分子式和特征碎片离子进行确认。

第三步，已知代谢物的鉴定。这些代谢物是文献已经报道的，来源于 SKI 中某一味草药或某一种活性成分的体内代谢研究。同样，用 Xcalibur 软件从生物样本的色谱图中提取已知代谢物，然后根据精确相对分子质量、分子式和特征碎片离子进行确认。

第四步，未知代谢物的鉴定。通过 Compound Discoverer 2.1 和 Mass Frontier 7.0 软件（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）对未知代谢物进行筛选和鉴定。将给药组、对照组和空白溶剂组的原始数据文件导入 CD 软件。空白溶剂组用于去除背景和噪声。另外，导入 SKI 中 35 个代表性活性成分的化学结构，选择 15 种 I 相代谢反应和 19 种 II 相代谢反应。设定好参数运行，系统筛选出较多潜在代谢物。然后，根据原型化合物结构、代谢反应、中性损失和特征碎片离子，推测潜在代谢物的结构。将该化学结构导入 Mass Frontier 7.0 软件，可以自动生成理论的碎片离子和二级质谱图。随后将该二级质谱图与 CD 筛选出的潜在代谢物的二级质谱图进行匹配。根据匹配结果验证推测的代谢物结构是否正确。

3 结果

3.1 大鼠体内 SKI 原型化合物的鉴定

大鼠 iv SKI 后，在其血浆、尿液和粪便中共检测到 29 种原型成分。通过与标准品和文献数据的比较，确定了原型的化学结构。其中包括 17 种酚酸类、

5 种蒽醌类、3 种黄酮类、壬二酸、5-羟甲基糠醛、莲花掌苷和羟基红花黄色素 A。原型化合物的质谱数据如表 1 所示。

3.1.1 酚酸类 P3 的母离子 m/z 169.01 和特征碎片离子 m/z 125.02、 m/z 97.03 与没食子酸一致，P3 为没食子酸。P2 具有与 P3 相同的母离子和碎片离子，是没食子酸的异构体。P1、P4、P5、P8 具有相同的母离子 m/z 331.07，比没食子酸高 162 ($C_6H_{10}O_5$)，且具有相同的特征碎片离子 m/z 169.01 和 m/z 125.02。另外，仅 P1 和 P4 具有碎片离子 m/z 271.04 和 m/z 211.02。因此，P5 和 P8 鉴定为没食子酸-4-O-葡萄糖苷和没食子酸-3-O-葡萄糖苷^[11]，P1 和 P4 为没食子酰基-葡萄糖或其异构体^[17]。P13 的母离子比没食子酸的母离子高 14 (CH_2)，碎片离子 m/z 168.01 和 124.02 是母离子连续丢失 CH_3 和 CO_2 。因此，P13 被认为是没食子酸甲酯^[11]。P10 和 P16 显示出与原儿茶酸 (P9) 相同的母离子和碎片离子，被鉴定为原儿茶酸的异构体。P11 母离子 m/z 167.03 和碎片离子 m/z 152.01、123.04、108.02 与香草酸均一致，P11 为香草酸^[11,18]。P7 的分子离子比丹参素 (P6) 小 18 (H_2O)，碎片离子 m/z 135.04 和 107.05 是从母离子连续丢失 CO_2 和 CO 产生，经鉴定 P7 为咖啡酸。而 P18 的母离子比 P7 高 14 (CH_2)，鉴定为阿魏酸。P15 显示出与阿魏酸相同的母离子和碎片离子，鉴定为异阿魏酸^[11,19]。P21 的碎片离子 m/z 373.09、237.04、197.04、175.04、135.04 与文献报道的丹酚酸 D 相同，P21 为丹酚酸 D^[18]。

3.1.2 蒽醌类 P25 的母离子比芦荟大黄素高 162

表1 大鼠 iv SKI 后血浆、尿液和粪便中的原型化合物

Table 1 Prototype compounds in rat plasma, urine and feces after intravenous administration of SKI

编号	化合物名称	t_R /min	分子式	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	生物样本
P1	没食子酰基-葡萄糖/异构体	2.89	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	331.067 0	331.066 8	-0.72	271.045 7, 211.024 7, 169.014 1, 125.024 3	U
P2	没食子酸异构体	2.91	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	169.014 2	169.013 9	-1.87	125.024 3, 97.029 4	U
P3	没食子酸*	3.34	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	169.014 2	169.014 0	-1.52	125.024 3, 97.029 3	U
P4	没食子酰基-葡萄糖/异构体	3.34	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	331.067 0	331.066 7	-1.09	271.045 8, 211.024 3, 169.014 2, 125.024 2	U
P5	没食子酸-4-O-葡萄糖苷	4.48	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	331.067 0	331.066 8	-0.82	169.014 1, 125.024 2	U
P6	丹参素*	4.77	C ₉ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	197.045 5	197.045 3	-1.10	179.034 9, 135.045 1, 123.045 0, 109.029 5,	U
P7	咖啡酸*	4.90	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.035 0	179.034 8	-0.97	135.045 1, 107.050 1	U
P8	没食子酸-3-O-葡萄糖苷	4.94	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	331.067 0	331.066 7	-1.00	169.014 2, 125.024 3	U
P9	原儿茶酸*	5.25	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 1	-1.71	135.008 8, 125.024 0, 109.029 4	U
P10	原儿茶酸异构体	5.75	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 1	-1.71	135.008 6, 125.024 5, 109.029 4	U
P11	香草酸	6.37	C ₈ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	167.035 0	167.034 6	-2.23	152.011 4, 123.045 0, 108.021 6	U
P12	5-羟甲基糠醛*	7.69	C ₆ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	127.039 0	127.038 7	-1.89	109.028 4, 99.044 1, 81.033 5, 71.049 2	U
P13	没食子酸甲酯	8.56	C ₈ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	183.029 9	183.029 7	-1.18	168.006 4, 124.016 5	U
P14	羟基红花黄色素 A*	12.41	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	611.161 8	611.161 5	-0.42	491.120 4, 403.102 6, 205.013 9, 163.003 4	U
P15	异阿魏酸	12.93	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	193.050 6	193.050 3	-1.82	178.027 1, 149.060 8, 134.037 3	U
P16	原儿茶酸异构体	13.24	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 1	-1.32	135.008 8, 125.024 0, 109.029 4	U
P17	<i>p</i> -茴香酸	13.24	C ₈ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	151.040 1	151.039 8	-1.51	136.016 4, 121.029 4, 107.050 2	U
P18	阿魏酸*	19.94	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	193.050 6	193.050 4	-1.10	178.027 1, 149.060 7, 134.037 2	U, F
P19	莲花掌苷	21.37	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₁	[M-H] ⁻	477.140 2	477.139 8	-0.97	313.054 8, 169.014 4, 125.024 2	U
P20	大黄酸-8-O-葡萄糖苷	21.65	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 6	445.077 2	-0.95	283.024 7, 239.034 9, 211.040 0	U
P21	丹酚酸 D	23.00	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	417.082 7	417.082 2	-1.15	373.093 0, 237.040 6, 175.039 9, 135.045 0	U, P
P22	壬二酸	23.61	C ₉ H ₁₆ O ₄	[M-H] ⁻	187.097 6	187.097 2	-1.99	169.086 9, 125.097 0, 97.065 7	U, P, F
P23	大豆苷元	25.06	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 6	253.050 4	-0.72	225.055 7, 209.060 5, 133.029 4, 117.034 3	U, F
P24	毛蕊异黄酮	25.37	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.075 8	285.074 7	-3.54	270.051 9, 242.057 2, 137.022 8, 121.028 2	U, F
P25	芦荟大黄素-O-葡萄糖苷	25.56	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.097 6	-1.79	269.045 5, 241.051 5, 197.059 8, 193.035 1	U, P
P26	芹菜素*	26.51	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 5	269.045 4	-0.40	241.051 1, 181.065 8, 135.045 3, 117.034 6	U, F
P27	ω -羟基大黄素	26.93	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 4	285.040 3	-0.74	257.044 6, 255.028 3, 241.051 4, 211.039 5	U
P28	6-甲基-大黄酸	27.68	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	297.040 5	297.040 3	-0.61	253.050 6, 225.055 2	U, P
P29	大黄酸*	28.48	C ₁₅ H ₈ O ₆	[M-H] ⁻	283.024 8	283.024 5	-0.96	255.030 1, 227.035 0, 211.040 1, 183.045 0	U, P

*与对照品比对; U-尿液样本; P-血浆样本; F-粪便样本。

* comparison with the standard substance; U-urine sample; P-plasma sample; F-feces sample.

($C_6H_{10}O_5$)，碎片离子一致，鉴定为芦荟大黄素-*O*-葡萄糖苷^[11]。同理，**P20**经鉴定为大黄酸-8-*O*-葡萄糖苷。**P27**的母离子比大黄素高16(O)，考虑为 ω -羟基大黄素^[20]。**P28**的母离子比大黄酸(**P29**)高14(CH_2)，鉴定为6-甲基大黄酸^[17]。

3.1.3 黄酮类 由于黄酮类化合物的特殊碎裂模式，黄酮类特征碎裂离子的命名参考了Zhang等^[21]的研究。**P26**的母离子和主要碎片离子均与芹菜素相同，鉴定为芹菜素。**P23**的开环碎片离子 m/z 135.01、133.03和117.03分别对应 $[M-H-C_8H_6O, 1,3A]^-$ 、 $[M-H-C_7H_4O_2, 0,3B]^-$ 和 $[M-H-C_7H_4O_3, 1,3B]^-$ ，通过与文献比较，**P23**被鉴定为大豆苷元^[21-22]。**P24**显示 $[M+H]^+$ 为 m/z 285.08，碎片离子 m/z 270.05、242.06和214.06是从母离子依次中性损失 CH_3 、CO和CO所得。开环碎片离子 m/z 137.02、134.04和121.03分别对应 $[M+H-C_9H_8O_2, 1,3A]^+$ 、 $[M+H-CH_3-C_7H_4O_3, 1,3B]^+$ 和 $[M+H-C_9H_8O_3, 0,3A]^+$ 。根据以上质谱信息和文献数据，**P24**被明确地定性为毛蕊异黄酮^[11,21]。

3.1.4 其他 经与对照品的母离子和碎片离子比较，**P12**和**P14**分别被明确鉴定为5-羟甲基糠醛和羟基红花黄色素A。**P19**的二级碎片离子 m/z 169.01和125.02与没食子酸的特征碎片离子一致，经鉴定**P19**为莲花掌苷。**P22**的碎片离子 m/z 169.09、125.10和97.06从母离子先后丢失 H_2O 、 CO_2 和 C_2H_4 ，可鉴定为壬二酸^[11]。

3.2 大鼠体内SKI代谢产物的鉴定

基于本课题组提出的大鼠体内SKI代谢产物的鉴定策略，共筛选并鉴定了92种代谢产物。对其中39种已知代谢产物进行了提取和确认。又利用CD代谢平台，导入SKI中35种代表性活性成分的化学结构为母化合物，设置15种I相代谢反应和19种II相代谢反应，筛选并鉴定了53种未知代谢产物。所有代谢产物的质谱数据如表2所示。

3.2.1 酚酸类代谢物 大鼠静脉注射SKI后，检测到15种没食子酸(**P3**)代谢物。其代谢途径如图3所示。**M8**的母离子比没食子酸大80(SO_3)，两者的特征碎片离子 m/z 169.01和125.02相同。因此，**M8**是没食子酸的硫酸化产物，鉴定为没食子酸-*O*-硫酸酯。**M17**的母离子比**M8**高14(CH_2)，**M17**的碎片离子 m/z 183.03和139.00也比**M8**的碎片离子 m/z 169.01和125.02高14，因此，**M17**是没食子酸经过甲基化和硫酸化后的代谢产物。同样，

M14、**M18**、**M23**也是**M17**的甲基化产物，它们被鉴定为二甲基-没食子酸-*O*-硫酸酯或其异构体。**M42**的碎片离子 m/z 125.02是由母离子连续丢失 C_2H_3ON 和 CO_2 产生，它也是没食子酸的特征碎片离子；另一个碎片离子 m/z 151.00是由母离子损失 $C_2H_5O_2N$ (甘氨酸)产生的，这表明化合物与甘氨酸进行了结合。**M42**被初步鉴定为没食子酸-甘氨酸结合物。**M27**的母离子 m/z 125.02比没食子酸少44(CO_2)，碎片离子 m/z 125.02、97.03和69.03均与没食子酸的特征碎片离子一致。**M27**是没食子酸脱羧基代谢产物，鉴定为邻苯三酚^[17]。**M1**和**M19**是具有相同分子式和碎片离子的同分异构体，母离子比**M27**高80(SO_3)，结合特征碎片离子 m/z 125.02、97.03和69.03，认为**M1**和**M19**是邻苯三酚的硫酸化产物。**M4**和**M10**的母离子比**M1**高14(CH_2)，特征碎片离子分别为 m/z 203.97 $[M-H-CH_3]^-$ 、139.04 $[M-H-SO_3]^-$ 和124.02 $[M-H-SO_3-CH_3]^-$ 。结果表明，**M4**和**M10**是由邻苯三酚通过甲基化和硫酸化生成的。同一分析方法，**M12**和**M16**被确认为邻苯三酚经过硫酸化和二甲基化的代谢物。**M7**的母离子比邻苯三酚高176($C_6H_8O_6$)，为邻苯三酚的葡萄糖醛酸化产物。**M11**的母离子 m/z 329.09比邻苯三酚大204，对应的是加入了 $C_6H_8O_6$ 和 $2CH_2$ 。初步鉴定**M11**为二甲基-邻苯三酚-*O*-葡萄糖醛酸。

大鼠ivSKI后，检测到原儿茶酸(**P9**)的12种代谢产物。代谢途径如图4所示。**M2**的母离子比原儿茶酸高80(SO_3)，碎片离子相同，可表征为原儿茶酸-*O*-硫酸酯。**M35**、**M48**、**M71**的母离子比原儿茶酸少16(O)，碎片离子 m/z 93.03和65.04是母离子连续丢失 CO_2 和 CO 产生。**M35**、**M48**、**M71**被鉴定为脱羟基-原儿茶酸或其异构体。**M13**和**M26**为**M35**的硫酸化产物，经鉴定为脱羟基-原儿茶酸-*O*-硫酸酯或其异构体^[23]。同样，**M31**经鉴定为脱羟基-原儿茶酸-*O*-葡萄糖醛酸。**M41**和**M52**的母离子 m/z 151.04和碎片离子 m/z 123.04、107.05均比**M35**高14(CH_2)，鉴定为脱羟基-甲基-原儿茶酸。**M20**的碎片离子 m/z 121.03 $[M+H-C_2H_5NO_2]^+$ 和93.03 $[M+H-C_2H_5NO_2-CO]^+$ 显示其为甘氨酸结合产物，且**M20**和**M35**相同的碎片离子 m/z 93.03为羟基苯离子，因此，**M20**被初步鉴定为脱羟基-原儿茶酸-甘氨酸结合物，结合部位发生在甘氨酸的氨基。此外，**M30**和**M50**可能是

表2 大鼠 iv SKI 后血浆、尿液和粪便中的代谢产物

Table 2 Metabolites in rat plasma, urine and feces after intravenous administration of SKI

编号	t_R /min	分子式	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物名称	生物 样本
M1	2.94	C ₆ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	204.981 2	204.980 9	-1.57	125.024 3, 97.029 4, 69.034 5	邻苯三酚-O-硫酸酯/异构体	U
M2	3.43	C ₇ H ₆ O ₇ S	[M-H] ⁻	232.976 2	232.975 9	-1.14	153.019 2, 109.029 3	原儿茶酸-O-硫酸酯	U
M3	3.43	C ₈ H ₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	246.991 8	246.991 5	-1.24	203.002 0, 167.034 4, 123.045 0	香草酸-O-硫酸酯/异构体	U
M4	3.58	C ₇ H ₈ O ₆ S	[M-H] ⁻	218.996 9	218.996 6	-1.11	203.973 5, 139.039 9, 124.016 4	甲基-邻苯三酚-O-硫酸酯/异构体	U
M5*	3.60	C ₉ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	277.002 4	277.002 1	-1.02	215.002 1, 197.045 3, 187.006 9, 135.045 1	丹参素-O-硫酸酯/异构体	U
M6*	3.60	C ₉ H ₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	258.991 8	258.991 5	-1.18	215.002 0, 187.006 9, 135.045 0, 107.050 1	咖啡酸-O-硫酸酯/异构体	U
M7*	3.82	C ₁₂ H ₁₄ O ₉	[M-H] ⁻	301.056 5	301.056 1	-1.28	175.024 2, 157.013 9, 125.024 3	邻苯三酚-O-葡萄糖醛酸	U
M8	3.84	C ₇ H ₆ O ₈ S	[M-H] ⁻	248.971 1	248.970 7	-1.61	204.997 5, 169.014 2, 125.024 2	没食子酸-O-硫酸酯	U
M9*	4.04	C ₉ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	277.002 4	277.001 9	-1.70	215.001 8, 197.045 4, 187.007 0, 135.045 1	丹参素-O-硫酸酯/异构体	U
M10	4.15	C ₇ H ₈ O ₆ S	[M-H] ⁻	218.996 9	218.996 6	-1.11	203.973 2, 139.040 0, 124.016 4	甲基-邻苯三酚-O-硫酸酯/异构体	U
M11	4.15	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	329.087 8	329.087 2	-1.69	175.024 7, 153.055 5, 138.032 6	二甲基-邻苯三酚-O-葡萄糖醛酸	U
M12	4.64	C ₈ H ₁₀ O ₆ S	[M-H] ⁻	233.012 5	233.012 2	-1.60	153.055 6, 138.032 1, 123.044 8	二甲基-邻苯三酚-O-硫酸酯/异构体	U
M13*	4.74	C ₇ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	216.981 2	216.980 9	-0.82	172.991 0, 137.024 2, 93.034 4	脱羟基-原儿茶酸-O-硫酸酯/异构体	U
M14*	5.14	C ₉ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	277.002 4	277.002 0	-1.38	258.991 5, 197.045 6, 182.022 1, 153.056 1	二甲基-没食子酸-O-硫酸酯/异构体	U
M15*	5.25	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	357.082 7	357.082 5	-0.56	339.070 9, 295.081 1, 181.050 4, 137.060 6	脱羟基-丹参素-O-葡萄糖醛酸	U
M16	5.62	C ₈ H ₁₀ O ₆ S	[M-H] ⁻	233.012 5	233.012 3	-1.12	153.055 6, 138.032 1, 123.045 0	二甲基-邻苯三酚-O-硫酸酯/异构体	U
M17*	5.68	C ₈ H ₈ O ₈ S	[M-H] ⁻	262.986 7	262.986 3	-1.45	183.029 7, 168.006 2, 139.003 6, 124.016 4	甲基-没食子酸-O-硫酸酯	U
M18*	5.77	C ₉ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	277.002 4	277.001 8	-1.92	258.990 1, 197.045 5, 182.022 0, 153.055 6	二甲基-没食子酸-O-硫酸酯/异构体	U, P, F
M19	5.99	C ₆ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	204.981 2	204.980 9	-1.57	125.024 3, 97.029 3, 69.034 6	邻苯三酚-O-硫酸酯/异构体	U
M20	5.99	C ₉ H ₉ NO ₄	[M+H] ⁺	196.060 4	196.060 1	-1.86	177.967 6, 168.102 1, 121.028 4, 93.033 8	脱羟基-原儿茶酸-甘氨酸结合物	U
M21*	5.99	C ₈ H ₉ NO ₅	[M-H] ⁻	198.040 8	198.040 5	-1.64	168.030 2, 154.050 9, 136.040 3, 124.040 3	5-羟甲基糠醛-甘氨酸结合物	U
M22*	6.34	C ₁₀ H ₁₂ O ₈ S	[M-H] ⁻	291.018 0	291.017 6	-1.38	245.012 2, 211.061 3, 193.050 9, 134.037 3	甲基-丹参素-O-硫酸酯	U
M23*	6.35	C ₉ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	277.002 4	277.001 8	-2.13	258.992 7, 197.045 4, 182.021 9, 153.055 6	二甲基-没食子酸-O-硫酸酯/异构体	U
M24	6.35	C ₈ H ₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	246.991 8	246.991 4	-1.69	203.001 9, 167.034 8, 152.011 4	香草酸-O-硫酸酯/异构体	U
M25	6.37	C ₉ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	261.007 4	261.007 0	-1.52	181.050 5, 137.060 7, 122.037 7	甲基-香草酸-O-硫酸酯/异构体	U
M26*	6.48	C ₇ H ₆ O ₆ S	[M-H] ⁻	216.981 2	216.981 0	-1.21	172.991 5, 137.024 3, 93.034 4	脱羟基-原儿茶酸-O-硫酸酯/异构体	U
M27*	6.75	C ₆ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	125.024 4	125.024 0	-3.18	107.014 0, 97.029 5, 69.034 5	邻苯三酚	U
M28	7.96	C ₉ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	181.050 6	181.050 4	-1.56	163.040 0, 135.045 1, 119.050 1	脱羟基-丹参素	U
M29	8.01	C ₉ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	261.007 4	261.007 1	-1.40	181.050 6, 137.060 7, 122.037 3	甲基-香草酸-O-硫酸酯/异构体	U
M30	8.17	C ₁₀ H ₁₁ NO ₄	[M-H] ⁻	208.061 5	208.061 3	-0.97	164.072 7, 133.029 4, 107.050 4	脱羟基-甲基-原儿茶酸-甘氨酸结合物/异构体	U

表2 (续)

编号	t_R /min	分子式	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物名称	生物 样本
M31	8.41	C ₁₃ H ₁₄ O ₉	[M-H] ⁻	313.056 5	313.056 4	-0.24	175.024 6, 137.024 3, 113.024 3, 93.034 4	脱羟基-原儿茶酸-O-葡萄糖醛酸	U
M32*	9.06	C ₉ H ₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	258.991 8	258.991 6	-0.84	179.035 0, 135.045 2, 107.050 1	咖啡酸-O-硫酸酯/异构体	U, P, F
M33	9.59	C ₉ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	181.050 6	181.050 5	-0.84	137.060 7, 122.037 3, 109.065 7, 95.050 2	甲基-香草酸	U
M34	9.62	C ₉ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	261.007 4	261.007 0	-1.52	181.050 7, 137.060 7, 122.036 8	甲基-香草酸-O-硫酸酯/异构体	U
M35	9.70	C ₇ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	137.024 4	137.024 2	-1.81	109.029 1, 93.034 5, 65.039 7	脱羟基-原儿茶酸/异构体	U
M36	9.93	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	197.080 8	197.080 5	-1.50	179.070 3, 151.075 4, 137.059 8, 123.044 1	脱羟基-甲基-丹参素	U
M37*	10.30	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	369.082 7	369.082 2	-1.30	193.050 6, 178.027 1, 149.060 6, 134.037 3	阿魏酸-O-葡萄糖醛酸	U
M38*	10.74	C ₉ H ₁₀ O ₆ S	[M-H] ⁻	245.012 5	245.012 2	-1.31	165.055 6, 121.065 8, 119.050 1, 93.034 5	脱二羟基-丹参素-O-硫酸酯/异构体	U
M39*	10.95	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	211.061 2	211.061 4	0.82	193.050 6, 178.027 2, 134.037 3	甲基-丹参素	U
M40	11.06	C ₁₀ H ₁₂ O ₇ S	[M-H] ⁻	275.023 1	275.022 9	-0.75	195.066 1, 177.055 6, 151.076 5, 123.045 1	脱羟基-甲基-丹参素-O-硫酸酯/异构体	U
M41	11.40	C ₈ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	151.040 1	151.039 7	-2.30	136.016 4, 107.050 2	脱羟基-甲基-原儿茶酸	U
M42	11.47	C ₉ H ₉ NO ₆	[M-H] ⁻	226.035 7	226.035 9	0.97	182.045 8, 164.035 0, 151.003 4, 125.024 3	没食子酸-甘氨酸结合物	U
M43*	11.53	C ₉ H ₈ O ₆ S	[M-H] ⁻	242.996 9	242.996 4	-1.82	199.007 4, 163.040 1, 119.050 1, 93.034 8	脱羟基-咖啡酸-O-硫酸酯	U
M44	12.11	C ₁₀ H ₁₂ O ₇ S	[M-H] ⁻	275.023 1	275.023 0	-0.42	195.066 3, 177.055 8, 151.075 9, 123.045 1	脱羟基-甲基-丹参素-O-硫酸酯/异构体	U
M45*	12.20	C ₁₁ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	239.056 1	239.056 0	-0.68	195.065 3, 181.048 0, 179.034 9, 177.055 6	乙酰基-丹参素	U
M46*	12.26	C ₉ H ₁₀ O ₆ S	[M-H] ⁻	245.012 5	245.012 3	-1.15	165.055 6, 121.065 8, 119.050 1, 93.034 5	脱二羟基-丹参素-O-硫酸酯/异构体	U
M47	12.33	C ₁₁ H ₁₉ NO ₆ S	[M-H] ⁻	292.086 0	292.085 9	-0.52	274.075 4, 248.096 0, 124.007 3, 106.980 9	壬烯二酸-牛磺酸结合物	U
M48	12.48	C ₇ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	137.024 4	137.024 2	-1.59	109.029 6, 93.034 5, 65.039 6	脱羟基-原儿茶酸/异构体	U
M49*	12.93	C ₁₀ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	273.007 4	273.007 4	-0.35	193.050 6, 178.027 2, 149.060 7, 134.037 3	阿魏酸-O-硫酸酯	U
M50	14.03	C ₁₀ H ₁₁ NO ₄	[M-H] ⁻	208.061 5	208.061 2	-1.45	164.072 1, 146.061 4, 133.029 4, 107.050 1	脱羟基-甲基-原儿茶酸-甘氨酸结合物/异构体	U
M51*	14.80	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	369.082 7	369.082 3	-1.19	193.050 2, 178.027 4, 134.037 2	咖啡酸甲酯-O-葡萄糖醛酸	U
M52	14.95	C ₈ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	151.040 1	151.039 8	-1.37	136.016 4, 107.050 1	脱羟基-甲基-原儿茶酸	U
M53	15.52	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₇	[M-H] ⁻	621.109 7	621.108 8	-1.44	445.078 1, 269.045 3, 181.066 0, 133.029 4	芹菜素-O-二葡萄糖醛酸	U, P
M54	15.72	C ₁₂ H ₁₃ NO ₅	[M-H] ⁻	250.072 1	250.071 7	-1.50	206.082 2, 191.058 4, 177.055 2, 134.037 4	阿魏酸-甘氨酸结合物	U
M55	16.28	C ₁₂ H ₂₁ NO ₄ S	[M+H] ⁺	276.126 4	276.125 8	-1.87	259.099 7, 241.089 0, 135.080 4, 121.064 7	9-羟基-壬烯酸-半胱氨酸结合物	U, P

表2 (续)

编号	t_R /min	分子式	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物名称	生物 样本
M56	17.17	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	209.117 2	209.116 8	-2.06	191.106 6, 149.096 1, 131.085 5, 107.085 5	脱二羟基-三甲基-丹参素/异构体	U
M57*	17.23	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	165.055 7	165.055 4	-1.40	147.045 1, 119.050 0, 103.055 4	脱二羟基-丹参素/异构体	U
M58	17.60	C ₁₀ H ₁₆ O ₅	[M-H] ⁻	215.092 5	215.092 3	-0.82	197.082 2, 155.071 3, 153.091 9, 135.081 4	羟基-甲基-壬烯二酸	U
M59*	18.09	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	429.082 7	429.082 3	-0.89	253.050 6, 225.055 8, 197.060 2, 133.029 2	大豆昔元-O-葡萄糖醛酸	U
M60*	18.43	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	165.055 7	165.055 5	-1.50	147.045 5, 121.065 8, 119.050 1	脱二羟基-丹参素/异构体	U
M61	18.76	C ₁₂ H ₂₃ NO ₄ S	[M+H] ⁺	278.142 0	278.141 4	-2.18	261.115 3, 201.111 8, 155.106 6, 137.096 1	9-羟基-壬酸-半胱氨酸结合物	U
M62*	19.11	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	459.093 3	459.092 9	-0.93	283.061 1, 268.037 7, 212.047 7, 196.052 8	大黄素甲醚-O-葡萄糖醛酸	U
M63*	19.17	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	461.107 8	461.106 3	-3.29	285.075 5, 225.054 4, 197.059 9, 119.049 1	毛蕊异黄酮-O-葡萄糖醛酸	U
M64	19.35	C ₁₀ H ₁₈ O ₅	[M-H] ⁻	217.108 1	217.107 7	-1.87	199.097 5, 157.086 8, 143.071 1, 137.096 9	羟基-甲基-壬二酸	U
M65	19.37	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	201.112 1	201.111 6	-2.41	183.101 9, 155.106 7, 109.101 2, 95.085 5	甲基-壬烯二酸/异构体	U
M66	20.09	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	209.117 2	209.116 6	-3.16	191.106 8, 149.096 2, 131.085 6, 107.085 5	脱二羟基-三甲基-丹参素/异构体	U
M67*	20.41	C ₉ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	163.040 1	163.039 8	-1.40	135.045 3, 119.050 1, 93.034 4	脱羟基-咖啡酸	U
M68*	21.04	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 6	445.077 4	-0.62	269.045 4, 240.043 1	芦荟大黄素-O-葡萄糖醛酸	U
M69	21.37	C ₁₀ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	209.045 5	209.045 3	-1.32	165.055 4, 137.024 2, 121.065 7, 109.029 3	羟基-阿魏酸	U, P
M70*	21.57	C ₂₁ H ₁₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	459.056 9	459.056 6	-0.63	283.024 7, 239.035 0, 211.040 0, 183.044 9	大黄酸-O-葡萄糖醛酸	U
M71	21.61	C ₇ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	137.024 4	137.024 1	-2.46	109.029 3, 93.034 4, 65.039 7	脱羟基-原儿茶酸/异构体	U
M72	21.87	C ₁₀ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	199.096 5	199.096 0	-2.54	181.086 0, 153.091 1, 135.080 5, 107.085 5	甲基-二烯-壬二酸	U
M73*	21.97	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 6	445.077 4	-0.62	269.045 5, 241.049 7, 225.055 3, 210.032 0	大黄素-O-葡萄糖醛酸/异构体	U, P, F
M74*	23.28	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₅	[M-H] ⁻	591.135 5	591.135 1	-0.80	429.081 9, 277.051 6, 253.050 5, 225.055 5	大黄酚-O-葡萄糖苷-O-葡萄糖醛酸	U, F
M75*	23.61	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₆	[M-H] ⁻	607.130 5	607.129 5	-1.64	431.098 0, 269.045 5, 241.049 8, 225.055 4	大黄素-O-葡萄糖苷-O-葡萄糖醛酸	U
M76*	23.80	C ₁₅ H ₁₀ O ₇ S	[M-H] ⁻	333.007 4	333.007 0	-1.37	253.050 6, 225.055 6, 209.061 3, 133.029 5	大豆昔元-O-硫酸酯	U, P
M77*	24.14	C ₁₈ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	295.096 5	295.095 5	-3.37	277.086 3, 267.101 0, 249.090 6, 221.095 9	羟基-二氢丹参酮I	F
M78	24.24	C ₁₂ H ₂₂ O ₅	[M-H] ⁻	245.139 4	245.139 0	-1.66	227.129 0, 167.107 6, 141.128 6, 125.097 0	9-羟基-甲基-羟基-乙酰基-壬酸/异构体	U

表2 (续)

编号	t_R /min	分子式	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物名称	生物 样本
M79	24.50	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	223.061 2	223.060 9	-1.55	179.071 4, 151.039 0, 135.081 4, 120.057 7	脱羟基-乙酰基-丹参素	U
M80*	24.50	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.098 0	-0.88	387.108 1, 211.061 1, 193.050 4, 178.027 2	甲基-丹酚酸 D	U
M81	24.61	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	201.112 1	201.111 8	-1.87	183.102 7, 155.106 7, 109.101 2, 95.085 5	甲基-壬烯二酸/异构体	U, P
M82	24.63	C ₁₂ H ₂₂ O ₅	[M-H] ⁻	245.139 4	245.139 0	-1.74	227.128 8, 171.102 9, 141.128 3, 125.097 0	9-羟基-甲基-羟基-乙酰基-壬酸/ 异构体	U
M83*	25.13	C ₁₅ H ₈ O ₉ S	[M-H] ⁻	362.981 6	362.981 4	-0.76	283.024 7, 239.034 9, 183.045 1, 167.050 1	大黄酸-O-硫酸酯	U, P
M84	25.22	C ₁₅ H ₁₀ O ₈ S	[M-H] ⁻	349.002 3	349.001 9	-1.26	269.045 4, 241.050 7, 135.008 5, 117.034 4	芹菜素-O-硫酸酯	U
M85	25.44	C ₁₂ H ₁₄ O ₅	[M-H] ⁻	237.076 8	237.076 6	-1.25	193.086 8, 175.076 3, 165.055 1, 137.060 8	脱羟基-甲基-乙酰基-丹参素	U
M86	25.59	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	[M+H] ⁺	195.101 6	195.101 2	-1.75	177.164 0, 167.142 7, 107.085 6, 93.069 9	脱二羟基-二甲基-丹参素	U
M87*	26.57	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 6	445.077 2	1.51	269.045 5, 241.050 8, 225.055 8	大黄素-O-葡萄糖醛酸/异构体	P
M88	28.36	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	[M+H] ⁺	187.132 9	187.132 4	-2.57	169.122 3, 151.111 8, 109.101 3, 99.080 3	甲基-壬醛酸	U
M89	37.70	C ₁₆ H ₁₆ O ₈ S	[M-H] ⁻	367.049 3	367.048 7	-1.72	287.092 7, 272.068 8, 255.066 2, 136.016 4	甲基-4-羟基-柚皮素-O-硫酸酯	U
M90	37.72	C ₁₅ H ₁₂ O ₈ S	[M-H] ⁻	351.018 0	351.017 4	-1.86	323.023 2, 271.061 2, 256.036 9, 243.065 6	9(10)-羟基-大黄素-O-硫酸酯	U
M91	37.72	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ S	[M-H] ⁻	335.023 1	335.022 5	-1.81	307.028 4, 255.066 6, 227.069 5	脱羟基-9(10)-羟基-大黄素-O-硫酸酯	U, F
M92	37.72	C ₁₅ H ₁₄ O ₈ S	[M-H] ⁻	353.033 7	353.033 0	-1.82	273.077 1, 255.066 3, 199.006 5, 137.024 2	4-羟基-柚皮素-O-硫酸酯	U, F

*文献中已经报道的已知代谢物; U-尿液样本; P-血浆样本; F-粪便样本。

*known metabolites reported in the literature; U-urine sample; P-plasma sample; F-feces sample.

M20 经过甲基化反应的产物, 亦可能是 **M41** 与甘氨酸结合的产物。

M33 的母离子和碎片离子均比香草酸大 14 (CH₂), **M33** 是香草酸的甲基化产物。**M25**、**M29**、**M34** 的准分子离子 [M-H]⁻ (m/z 261.01) 比 **M33** 高 80 (SO₃), 碎片离子相同, 它们是由 **M33** 硫酸化产生的, 经鉴定为甲基-香草酸-O-硫酸酯或其异构体。同样, **M3** 和 **M24** 被鉴定为香草酸-O-硫酸酯或其异构体。

大鼠 iv SKI 后, 检测到丹参素 (**P6**) 的 19 种代谢物, 代谢途径如图 5 所示。**M39** 的碎片离子 m/z 193.05、178.03 和 134.04 是从母离子连续丢失 H₂O、CH₃ 和 CO₂ 产生, 均比丹参素高 14 (CH₂),

M39 被认为是丹参素的甲基化产物^[19]。由于碎片离子相同且分子式多 SO₃, **M22** 是 **M39** 的硫酸化产物, 被鉴定为甲基-丹参素-O-硫酸酯。**M5**、**M9** 也是丹参素的硫酸化产物^[24]。**M45** 显示其特征碎片离子为 m/z 181.04 [M-H-CH₂OCO]⁻ 和 179.04 [M-H-CH₃COOH]⁻, 且其母离子比丹参素高 42 (C₂H₂O), 因此, **M45** 是丹参素的乙酰化产物^[18]。**M28** 的特征碎片离子为 m/z 135.04 [M-H-HCOOH]⁻ 和 109.03 [M-H-HCOOH-C₂H₂]⁻, 其母离子比丹参素少 16 (O), 这表明 **M28** 是脱羟基化产物, 且脱羟基位置发生在羧基的 α -C。**M15** 的母离子比 **M28** 高 176 (C₆H₈O₆), 为葡萄糖醛酸化产物, 经鉴定为脱羟基-丹参素-O-葡萄糖醛酸。由

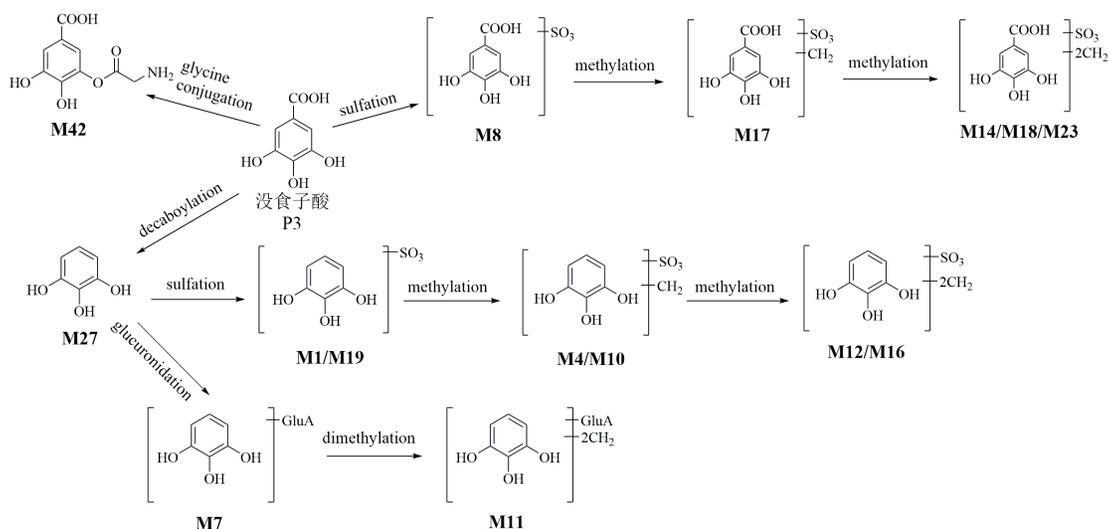


图3 没食子酸在大鼠体内的代谢途径

Fig. 3 Metabolic pathway of gallic acid in rats

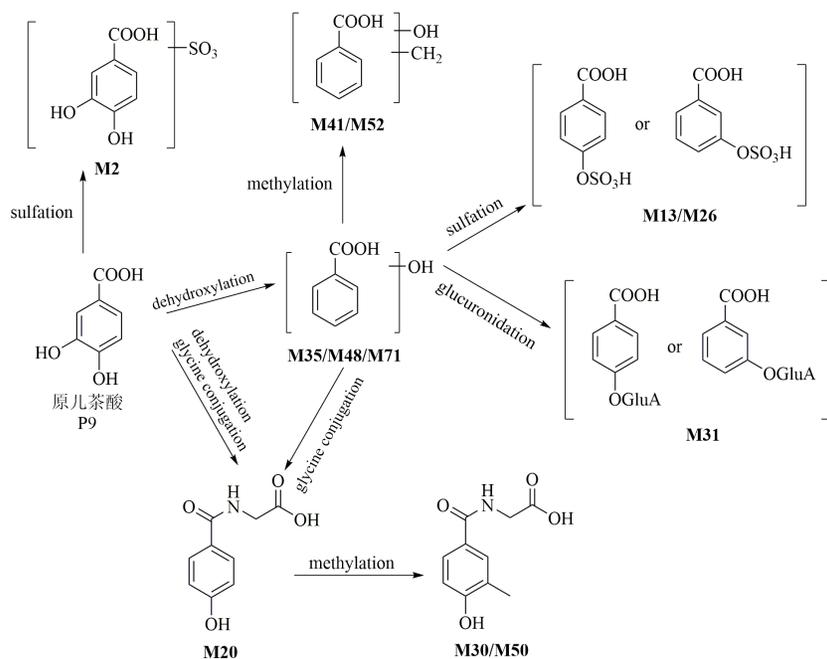


图4 原儿茶酸在大鼠体内的代谢途径

Fig. 4 Metabolic pathway of protocatechuic acid in rats

于 O 的减少和 CH₂ 的加入, **M36** 的母离子比丹参素小 2, 其特征碎片离子 m/z 151.08 [M+H-HCOOH]⁺、137.06 [M+H-CH₃COOH]⁺ 和 123.04 [M+H-CH₃COOH-CH₂]⁺ 表明对应的基团变化是去羟基化和甲基化, **M36** 可鉴定为脱羟基-甲基-丹参素。同时, **M40**、**M44** 又是 **M36** 的硫酸化产物, 经鉴定为脱羟基-甲基-丹参素-O-硫酸酯或其异构体。**M79** 的特征碎片离子为 m/z 120.06 [M-H-CO₂-CH₃COO]⁻, 其母离子比 **M28** 高 42 (C₂H₂O),

因此, **M79** 为乙酰化产物, 初步鉴定为脱羟基-乙酰基-丹参素。**M85** 为 **M79** 的甲基化产物, 初步鉴定为脱羟基-甲基-乙酰基-丹参素。依据文献报道^[24], **M57**、**M60** 作为已知代谢物被提取验证, 结果表明, **M57**、**M60** 是丹参素的脱二羟基产物。另外, **M38**、**M46** 是 **M57**、**M60** 的硫酸化产物, 鉴定为脱二羟基-丹参素-O-硫酸酯或其异构体。由于减少 2O 和增加 2CH₂, **M86** 的母离子比丹参素少 4, **M86** 可能是丹参素的脱二羟基和二甲基化产物。**M56**、**M66** 的母

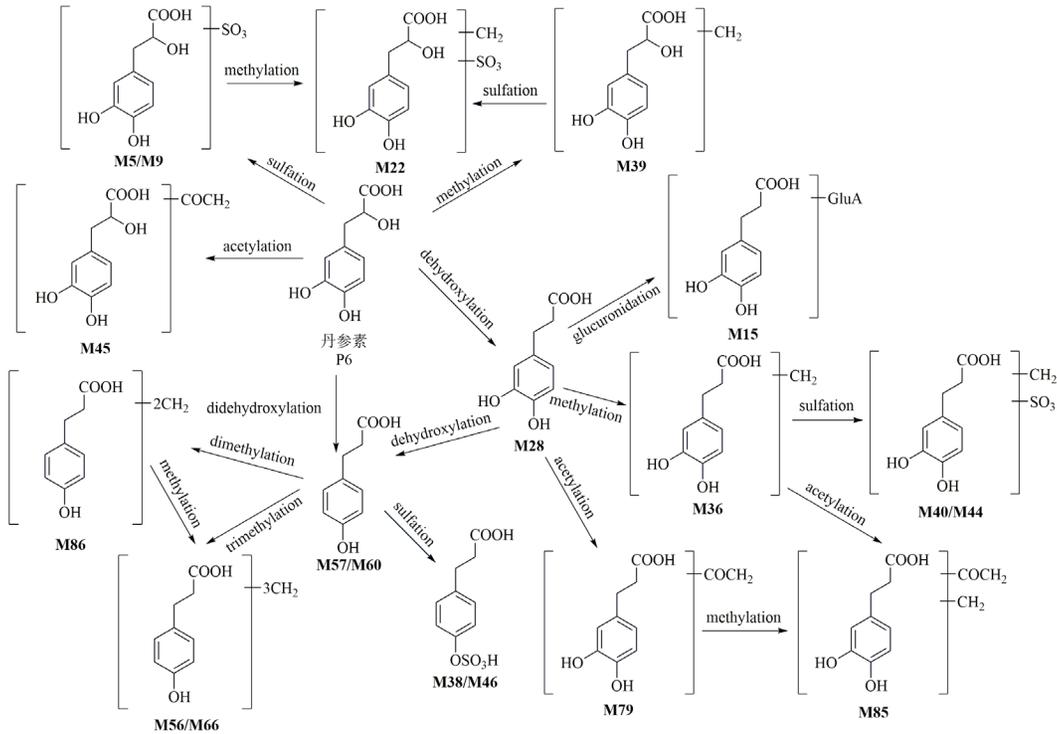


图5 丹参素在大鼠体内的代谢途径

Fig. 5 Metabolic pathway of danshensu in rats

离子比 **M86** 高 14 (CH_2), 初步鉴定为脱二羟基-三甲基-丹参素或其异构体。

M6 和 **M32** 的碎片离子与咖啡酸相同, 但母离子比咖啡酸高 80 (SO_3), **M6** 和 **M32** 是咖啡酸的硫酸化代谢产物。**M51** 的碎片离子 m/z 193.05、178.03 和 134.04 由母离子连续丢失 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ 、 CH_3 和 CO_2 产生。结合文献数据, **M51** 是咖啡酸的甲基化和葡萄糖醛酸化产物, 且甲基化位置发生在羧基^[19]。基于文献报道的质谱数据^[23], **M67** 和 **M43** 在总离子流图中提取得到。MS² 碎片离子结果表明, **M67** 是由咖啡酸经去羟基产生的, **M43** 是 **M67** 的硫酸化产物。

M49 和 **M37** 具有共同的碎片离子 m/z 193.05、178.03、149.06 和 134.04, 且与阿魏酸相同。此外, **M49** 和 **M37** 的母离子分别比阿魏酸大 80 (SO_3) 和 176 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)。因此, **M49** 是阿魏酸的硫酸化产物, **M37** 是阿魏酸的葡萄糖醛酸化产物^[25]。**M69** 的母离子 m/z 209.04 和碎片离子 m/z 165.06 均比阿魏酸大 16 (O), 结合其他碎片离子, **M69** 可能是阿魏酸的羟基化产物。**M54** 的母离子比阿魏酸大 57 ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}$), 结合碎片离子 m/z 177.06 [$\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}_2$]⁻ 和 134.04 [$\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CH}_3-\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}$]⁻, **M54** 是阿魏酸的甘氨酸结合产物。**M80**

的特征碎片离子 m/z 193.05 [$\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}$]⁻ 与阿魏酸的母离子相同, 且其母离子比丹酚酸 **D** 高 14 (CH_2), 认为 **M80** 为丹酚酸 **D** 的甲基化产物^[18]。

3.2.2 蒽醌类代谢物 **M73**、**M87** 和 **M75** 具有共同的碎片离子 m/z 269.04、241.05、225.06, 与大黄素一致。根据文献报道, **M73** 和 **M87** 为大黄素的葡萄糖醛酸化产物, **M75** 为大黄素-O-葡萄糖苷的葡萄糖醛酸化产物^[26-27]。由于加入 SO_3 和 2H, **M90** 的母离子比大黄素大 82, 且其碎片离子 m/z 271.06 和 243.06 比大黄素的碎片离子 m/z 269.04 和 241.05 也大 2。因此, **M90** 是大黄素的还原氢化和硫酸化产物, 经鉴定为 9(10)-羟基-大黄素-O-硫酸酯。**M91** 的母离子和主要碎片离子均比 **M90** 小 16 (O), 故初步鉴定 **M91** 为脱羟基-9(10)-羟基-大黄素-O-硫酸酯。**M68** 的母离子比芦荟大黄素高 176 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), 两者均有特征碎片离子 m/z 269.04 和 240.04。**M68** 是芦荟大黄素的葡萄糖醛酸化产物。**M74** 的母离子经连续丢失 $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ (162) 和 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (176) 产生碎片离子 m/z 429.08 和 253.05, 且与大黄酚具有相同的碎片离子 m/z 253.05 和 225.06, **M74** 被认为是大黄酚-O-葡萄糖苷-O-葡萄糖醛酸。**M62** 的母离子比大黄素甲醚高 176 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), 碎片离子相同,

M62 是大黄素甲醚的葡萄糖醛酸化产物。**M70** 也是大黄酸的葡萄糖醛酸化产物,而 **M83** 是大黄酸的硫酸化产物。

3.2.3 黄酮类代谢物 **M84** 的母离子比芹菜素 (**P26**) 大 80 (SO_3), 碎片离子相同, **M84** 被鉴定为芹菜素-*O*-硫酸酯。由于增加了 $2\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, **M53** 的母离子比芹菜素高 352, **M53** 是芹菜素的二葡萄糖醛酸反应产物。**M76** 和 **M59** 的母离子分别比大豆昔元 (**P23**) 高 80 (SO_3) 和 176 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), 两者和大豆昔元具有相同的碎片离子 m/z 253.05、225.06、209.06、197.06、135.01 和 133.03, 因此, **M76** 为硫酸化产物, **M59** 为葡萄糖醛酸化产物^[28-29]。**M63** 也是毛蕊异黄酮通过葡萄糖醛酸化反应产生的代谢物。由于增加 SO_3 和 2H, **M92** 的母离子比柚皮素高 82, 此外, 其开环的特征碎片离子 m/z 199.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4, 1,3\text{B}]^-$ 和 137.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2, 0,3\text{A}]^-$ 表明 **M92** 是柚皮素的还原氢化和硫酸化产物, 且硫酸化的位置发生在 B 环。因此, **M92** 被表征为 4-羟基-柚皮素-*O*-硫酸酯。**M89** 的母离子 m/z 367.05 和碎片离子 m/z 287.09 与 151.04 均比 **M92** 高 14 (CH_2), 另外, 通过比较 **M89** 的特征碎片离子 m/z 272.07 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_3]^-$ 与 136.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2-\text{CH}_3, 0,3\text{A}]^-$ 和 **M92** 的特征碎片离子 m/z 273.08 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$ 与 137.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2, 0,3\text{A}]^-$, **M89** 可确认为 **M92** 的甲基化产物, 鉴定为甲基-4-羟基-柚皮素-*O*-硫酸酯。

3.2.4 壬二酸类代谢物 大鼠 iv SKI 后, 检测到壬

二酸 (**P22**) 的 11 种代谢物, 代谢途径如图 6 所示。由于 CH_2 和 O 的加入, **M64** 的母离子比壬二酸高 30, 其碎片离子 m/z 199.10 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、157.09 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{COOH}]^-$ 和 143.07 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_2]^-$ 表明 **M64** 很可能是壬二酸的甲基化和羟基化产物。初步鉴定 **M64** 为羟基-甲基-壬二酸。**M58** 的主要碎片离子 m/z 215.09、197.08、155.07、153.09、135.08、111.08 比 **M64** 均少 2 (2H), **M58** 是脱饱和和产物。**M65**、**M81** 的母离子由于 CH_2 的加入和 2H 的损失比壬二酸的母离子高 12, 推测 **M65**、**M81** 是壬二酸经过甲基化和脱饱和的产物。**M72** 的主要碎片离子 m/z 199.10、181.08、153.09、135.08、107.08 和 93.07 比 **M65** 少 2 (2H), **M72** 是脱饱和产物。**M88** 的母离子由于 CH_2 的加入和 O 的减少比壬二酸小 2, 结合生物转化和碎片离子, 推测 **M88** 是壬二酸的甲基化和还原 ($-\text{O}$) 产物, 其中 1 个羧基 ($-\text{COOH}$) 还原为醛基 ($-\text{CHO}$)。**M47** 的碎片离子 m/z 124.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_3, \text{C}_2\text{H}_6\text{NO}_3\text{S}]^-$ 和 106.98 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_3-\text{NH}_3, \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_3\text{S}]^-$ 表明它是牛磺酸的结合产物, 另外, 中性丢失 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_3$ 表明其为脱饱和和产物。因此, **M47** 被鉴定为壬烯二酸-牛磺酸结合物。**M61** 的碎片离子及归属为 m/z 261.12 $[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3]^+$ 、201.11 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{NS}]^+$ 、183.10 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{NS}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、155.11 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{NS}-\text{HCOOH}]^+$ 、137.10 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{NS}-\text{H}_2\text{O}-\text{HCOOH}]^+$ 和 123.08 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{NS}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{COOH}]^+$, 半胱氨酸的分子式是 $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$ ($\text{C}_2\text{H}_6\text{NS}-\text{COOH}$), 由此可推测它是半胱氨酸结合

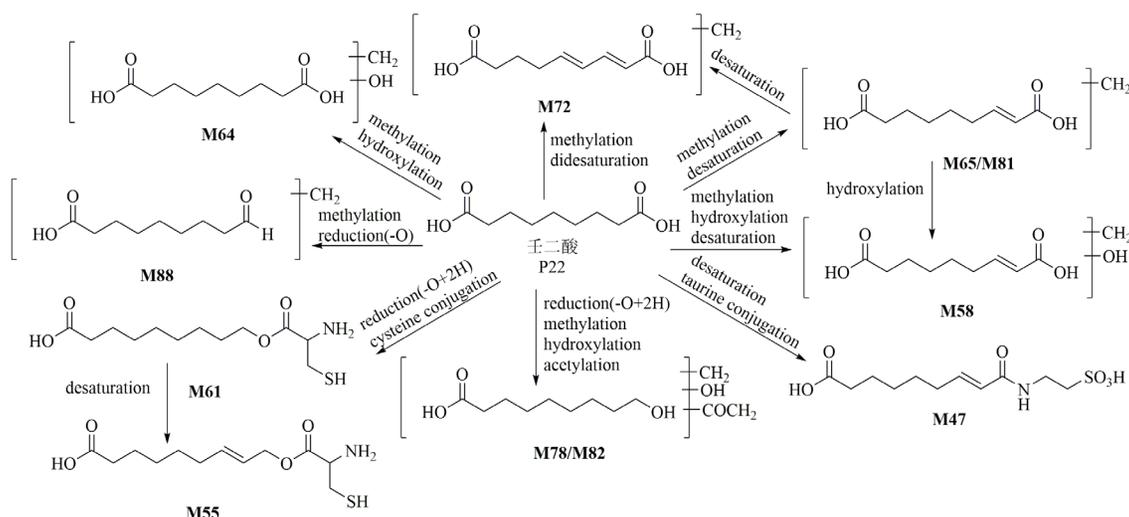


图 6 壬二酸在大鼠体内的代谢途径

Fig. 6 Metabolic pathway of azelaic acid in rats

产物；另外，根据拟合的分子式也表明它经历了还原反应（ $-O, +2H$ ），其中 1 个羧基（ $-COOH$ ）还原为醇羟基（ $-CH_2OH$ ），最后鉴定 **M61** 为 9-羟基-壬酸-半胱氨酸结合物。**M55** 的大部分碎片离子比 **M61** 小 2（ $2H$ ），**M55** 是 **M61** 的脱饱和产物，鉴定为 9-羟基-壬烯酸-半胱氨酸结合物。**M78**、**M82** 的碎片离子及归属分别为 m/z 167.11 $[M-H-CH_3COOH-H_2O]^-$ 、153.09 $[M-H-CH_3COOH-H_2O-CH_2]^-$ 、141.13 $[M-H-CH_3COOH-CO_2]^-$ 和 125.10 $[M-H-CH_3COOH-CH_3COOH]^-$ ，结合 CD 软件分析的生物转化反应，**M78**、**M82** 经历了羟化、甲基化、还原（ $-O, +2H$ ）和乙酰化反应，初步鉴定为 9-羟基-甲基-羟基-乙酰基-壬酸/异构体。

3.2.5 其他代谢物 **M21** 的母离子比 5-羟甲基糠醛（**P12**）大 73，质量的变化是由于增加了 NH_2CH_2COOH （甘氨酸，75）并脱去 $2H$ ，结合其碎片离子 m/z 168.03 $[M-H-HCHO]^-$ 、154.05 $[M-H-CO_2]^-$ 和 136.04 $[M-H-CO_2-H_2O]^-$ ，表明 **M21** 是甘氨酸结合产物^[30]，结合部位发生在甘氨酸的氨基和 5-羟甲基糠醛的醛基，生成了酰胺。**M77** 的母离子比二氢丹参酮 I 高 16（ O ），且其碎片离子 m/z 277.09、267.10、249.09、239.11 和 221.10 与文献报道的羟基-二氢丹参酮 I 相同^[31]，可鉴定为羟基-二氢丹参酮 I。

4 讨论

在 iv SKI 后的大鼠尿液、血浆和粪便中鉴定出 29 种原型成分，分别为酚酸类、蒽醌类、黄酮类和壬二酸类等。然而，仅发现了其中 16 种原型成分的代谢产物。另外，有趣的是，一些原型成分的代谢物（**M62**、**M68**、**M73**~**M75**、**M77**、**M87**、**M89**~**M92**）很容易被检测到，但它们的原型化合物（大黄素、芦荟大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、柚皮素和二氢丹参酮 I 等）在大鼠的尿液、血浆和粪便中没有被检测到。这些现象表明体内药物代谢研究的难点仍在于复杂成分的生物样本中痕量的原型化合物或代谢物，加之受到内源性物质的干扰^[23,31]。

SKI 在大鼠体内的原型化合物和代谢产物来源于尿液样本较多，而血浆和粪便样本中较少，与文献报道结果一致^[17,22]，这可能与药物半衰期、蛋白结合率、取样方式、代谢排泄途径等有关。大鼠体内 SKI 成分主要经历了 I 相代谢反应（羟化、还原、脱饱和）和 II 相代谢反应（甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化、乙酰化、甘氨酸结合、半胱氨酸结合和牛磺酸结合）。值得注意的是，甘氨酸、半胱

氨酸和牛磺酸是具有重要生物学功能的内源性物质^[32]。对与甘氨酸、半胱氨酸和牛磺酸结合的代谢物（**M20**、**M30**、**M42**、**M47**、**M50**、**M54**、**M55**、**M61**）的进一步研究可能有助于阐明 SKI 在体内的作用机制。

本研究共鉴定了 SKI 在大鼠体内的 121 种化合物。其中，通过一些代谢反应从原型中产生了 92 种代谢物，参与的代谢反应主要包括羟化、脱饱和、甲基化、硫酸化和葡萄糖醛酸化等。其中有 53 种代谢物是首次在大鼠的生物样本中鉴定出来的。一些与内源性物质甘氨酸、半胱氨酸和牛磺酸结合的代谢物由于其潜在的活性将被重点研究。本研究将为 SKI 在体内的药效学、毒理学、网络药理学及作用机制的进一步研究奠定了物质基础。同时，本文基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 和 CD 代谢平台，提出的“提取-化合物筛选-鉴定-验证”的鉴定策略能快速、系统、全面的鉴定体内化合物原型及其代谢产物，有助于体内药效物质的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 谢欣颖, 张萌, 张莹莹, 等. 肾康注射液治疗 III 期糖尿病肾病的 Meta 分析 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(10): 3676-3679.
- [2] 蒋志伟, 吕延英, 夏结来, 等. 肾康注射液治疗慢性肾功能衰竭的 IV 期临床观察研究 [J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(10): 941-945.
- [3] Zhang Y F, Sun J X, Liu H, *et al.* Effects of injection Shenkang and alprostadil combination on contrast-induced nephropathy in patient with diabetes complicated with mild to moderate renal insufficiency [J]. *Bangladesh J Pharmacol*, 2017, 12(3): 308-312.
- [4] Fu B Q, Yang J, Chen J, *et al.* Preventive effect of Shenkang injection against high glucose-induced senescence of renal tubular cells [J]. *Front Med*, 2019, 13(2): 267-276.
- [5] 刘洋, 马强, 杨光, 等. 糖尿病大鼠肾小管间质早期病变及肾康注射液的干预治疗 [J]. 中华医学杂志, 2015, 95(4): 289-293.
- [6] Xu S Z, Lv Y Y, Zhao J, *et al.* Inhibitory effects of Shenkang injection and its main component emodin on the proliferation of high glucose-induced renal mesangial cells through cell cycle regulation and induction of apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3381-3388.
- [7] Jiang X F, Zhou L, Zuo L H, *et al.* Pharmacokinetics and metabolism research of Shenkang injection in rats based

- on UHPLC-MS/MS and UHPLC-Q-orbitrap HRMS [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14: 1837-1850.
- [8] Cocconi E, Franceschini B, Previdi M P. Identification of spoilage by *Alicyclobacillus* bacteria in tomato-based products by UHPLC-MS/MS [J]. *J Mass Spectrom*, 2018, 53(9): 903-910.
- [9] Swortwood M J, Carlier J, Ellefsen K N, et al. *In vitro*, *in vivo* and *in silico* metabolic profiling of α -pyrrolidino-pentiothiophenone, a novel thiophene stimulant [J]. *Bioanalysis*, 2016, 8(1): 65-82.
- [10] Carlier J, Diao X X, Scheidweiler K B, et al. Distinguishing intake of new synthetic cannabinoids ADB-PINACA and 5F-ADB-PINACA with human hepatocyte metabolites and high-resolution mass spectrometry [J]. *Clin Chem*, 2017, 63(5): 1008-1021.
- [11] Sun Z, Zuo L H, Sun T W, et al. Chemical profiling and quantification of XueBiJing Injection, a systematic quality control strategy using UHPLC-Q Exactive hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 16921.
- [12] Yang J E, Sun Z, Li D L, et al. A novel liquid chromatography Orbitrap mass spectrometry method with full scan for simultaneous determination of multiple bioactive constituents of ShenKang injection in rat tissues: Application to tissue distribution and pharmacokinetic studies [J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(10): e4306.
- [13] Li S Z, Liu S, Liu Z Q, et al. A target-group-change strategy based on the UPLC-Q-TOF-MS^E method for the metabolites identification of Fufang-Xialian-Capsule in rat's plasma [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1085: 42-53.
- [14] Wu X X, Guan Y, Yan J J, et al. ShenKang Injection suppresses kidney fibrosis and oxidative stress via transforming growth factor- β /Smad3 signalling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67(8): 1054-1065.
- [15] 孙志, 周霖, 禹明洋, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的 6-姜酚在大鼠体内代谢产物的鉴定及代谢途径的分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(24): 7420-7427.
- [16] Guo X, Lin S, Yang P M, et al. Rapid characterization and identification of the chemical constituents and rat metabolites of Deng-Zhan-Xi-Xin injection using ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(18): 3569-3582.
- [17] Song R, Xu L, Xu F G, et al. *In vivo* metabolism study of rhubarb decoction in rat using high-performance liquid chromatography with UV photodiode-array and mass-spectrometric detection: A strategy for systematic analysis of metabolites from traditional Chinese medicines in biological samples [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(45): 7144-7152.
- [18] 陈勇勇. 丹红注射液对大鼠脑内神经递质影响及体内代谢研究 [D]. 西安: 西北大学, 2016.
- [19] Zhang Z C, Xu M, Sun S F, et al. Metabolic analysis of four phenolic acids in rat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 871(1): 7-14.
- [20] Song R, Lin H, Zhang Z J, et al. Profiling the metabolic differences of anthraquinone derivatives using liquid chromatography/tandem mass spectrometry with data-dependent acquisition [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23(4): 537-547.
- [21] Zhang Y Z, Xu F, Dong J, et al. Profiling and identification of the metabolites of calycosin in rat hepatic 9000 \times g supernatant incubation system and the metabolites of calycosin-7-O- β -D-glucoside in rat urine by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MSⁿ technique [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 70: 425-439.
- [22] 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.
- [23] Chen J F, Song Y L, Guo X Y, et al. Characterization of the herb-derived components in rats following oral administration of *Carthamus tinctorius* extract by extracting diagnostic fragment ions (DFIs) in the MSⁿ chromatograms [J]. *Analyst*, 2014, 139(24): 6474-6485.
- [24] 梅晓丹, 王喻淇, 王子健, 等. 丹参素在大鼠体内代谢产物的鉴定分析 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(19): 3933-3939.
- [25] Zhou M J, Zhu Y X, Corredor P, et al. Determination of the phase I and II metabolites of caffeic and chlorogenic acids in rats by LC/MS/MS [J]. *Asian J Pharmacodyn Pharmacokinet*, 2008, 8(1): 51-62.
- [26] Wang M, Fu J F, Lv M Y, et al. Effect of wine processing and acute blood stasis on the serum pharmacochimistry of rhubarb: A possible explanation for processing mechanism [J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(18): 2499-2503.
- [27] Zhu H Y, Bi K S, Han F, et al. Identification of the absorbed components and metabolites of Zhi-Zi-Da-Huang Decoction in rat plasma by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 111: 277-287.

- [28] Shi J, Zheng L, Lin Z F, *et al.* Study of pharmacokinetic profiles and characteristics of active components and their metabolites in rat plasma following oral administration of the water extract of *Astragali Radix* using UPLC-MS/MS [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 169: 183-194.
- [29] Xu F, Zhang Y, Xiao S Y, *et al.* Absorption and metabolism of *Astragali Radix* Decoction: *In silico*, *in vitro*, and a case study *in vivo* [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34(6): 913-924.
- [30] Prior R L, Wu X L, Gu L W. Identification and urinary excretion of metabolites of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural in human subjects following consumption of dried plums or dried plum juice [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(10): 3744-3749.
- [31] Sun J H, Yang M, Han J A, *et al.* Profiling the metabolic difference of seven tanshinones using high-performance liquid chromatography/multi-stage mass spectrometry with data-dependent acquisition [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(14): 2211-2226.
- [32] Wu G Y. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition [J]. *Amino Acids*, 2009, 37: 1-17

[责任编辑 王文倩]