

基于 UPLC-Q-TOF/MS 鉴定健脾益肠散大鼠体内外源物成分

孔心雨^{1,2}, 李璐^{2,3}, 商晶^{2,3}, 刘文君^{2,3}, 钱梦雨^{2,3}, 王振中^{2,3}, 肖伟^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210000

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 中药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术研究健脾益肠散在正常大鼠体内的原型成分和代谢产物, 归纳总结不同类型化合物的体内代谢规律。方法 采用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 流动相为甲醇 (A) - 0.1% 甲酸水 (B), 梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 柱温 30 °C, 电喷雾离子源 (ESI), 在正、负离子模式下对色谱流出物进行质谱检测。结果 从大鼠血浆、尿液、粪便中鉴定出 34 个原型成分、79 个代谢成分, 主要代谢途径包括氧化、还原、甲基化、葡萄糖醛酸结合、硫酸结合等。结论 对健脾益肠散在大鼠体内的外源物成分进行快速有效的定性, 为揭示其功效成分的作用机制提供物质基础。

关键词: 健脾益肠散; UPLC-Q-TOF/MS; 原型成分; 代谢产物; 补骨脂素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)06-1908-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.06.014

Identification of xenobiotics of Jianpi Yichang Powder in rats based on UPLC-Q-TOF/MS

KONG Xinyu^{1,2}, LI Lu^{2,3}, SHANG Jing^{2,3}, LIU Wenjun^{2,3}, QIAN Mengyu^{2,3}, WANG Zhenzhong^{2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. National Key Laboratory on Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To study the prototypes and their metabolites of Jianpi Yichang Powder (健脾益肠散) in normal rats by UPLC-Q-TOF/MS, and summarize the metabolic rules of different types of compounds *in vivo*. **Methods** The separation was performed on Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) with methyl alcohol (A) and 0.1% formic acid water (B) as the mobile phase by gradient elution, and the flow rate was 0.4 mL/min, the column temperature was 30 °C. The electro-spray ionization (ESI) was applied for the qualitative analysis of chromatographic effluents under the positive and negative ion modes. **Results** A total of 34 prototypes and 79 metabolites were identified from rat plasma, urine, and feces. The main metabolic pathways mainly included oxidation, reduction, methylation, glucuronic acid binding, sulfuric acid binding and so on. **Conclusion** The rapid and effective qualitative identification of the xenobiotics of Jianpi Yichang Powder in rats would provide a material basis for revealing the mechanism of action of its functional components.

Key words: Jianpi Yichang Powder; UPLC-Q-TOF/MS; prototypes; metabolites; psoralen

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种炎症性肠道疾病, 临床表现为腹痛、排便频率增加、血性腹泻或有黏液分泌物、体质量下降、疲劳, 严重者会出现发烧和呕吐, 极大影响患者的生活

质量^[1]。健脾益肠散 (Jianpi Yichang Powder, JPYCS) 是出自贵州省名老中医董菲洛教授的临床经验方, 对 UC 有确切的治疗效果^[2]。方中黄芪为君药, 具有补气升阳、托毒生肌的功效; 太子参补

收稿日期: 2023-10-25

基金项目: 国家中医药管理局“岐黄学者”项目 (2021)

作者简介: 孔心雨, 硕士研究生, 研究方向为中药新药研发及过程质量控制研究。E-mail: kongxy0102@163.com

*通信作者: 肖伟, 中国工程院院士, 博士生导师, 研究方向为中药新药研发及过程质量控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com

气生津、补脾益肺，白术健脾益气、燥湿利水，白豆蔻温中行气、化湿消痰，败酱草清热解毒、消痈排脓，木香健脾消食、行气止痛，共为臣药；芡实益肾补脾，补骨脂补肾止泻，茯苓健脾渗湿，共为佐药；炙甘草益气和中，调和诸药为使。诸药合用，重在健脾胃之气，渗补涩浊，清热解毒^[3]。目前对 JPYCS 的研究主要集中在药效学方面，已有研究证实该方能够调节结肠组织中 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)、核因子- κ B p65 (nuclear factor kappa B p65, NF- κ B p65)、共刺激分子 CD40、CD86、CD80、和细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、淋巴细胞功能相关分子 1 (lymphocyte function-associated antigen-1, LFA-1)、热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 的表达水平^[4-7]，发挥免疫炎症抑制作用，促进肠黏膜修复。其发挥药效的机制可能还与调控核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)、TLR4/髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)/NF- κ B 信号通路相关，具体的分子机制仍需继续研究^[8]。本实验室前期基于葡聚糖硫酸盐 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导建立 UC 小鼠模型^[9-10]，再次验证了 JPYCS 对 UC 的治疗作用。

药物有效性是指“物质清晰、机制明确、量效精准”，解析复方物质基础功效机制是体现中成药原创优势的核心之一，是建立功效成分群保证中药有效、安全、质量可控的关键一步^[11]。实验前期采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对 JPYCS 全方的化学成分进行表征，总结了不同结构类型化学成分的裂解规律，以便后续的物质基础研究。大多数中药口服给药后，在体内经过吸收、分布、代谢、排泄过程，进入血液的原型成分、代谢成分或发生变化的内源性成分是中药复方发挥药效的直接物质^[12]。本实验基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术，通过对比空白组和给药组血浆、尿液、粪便样品质谱数据的差异，对 JPYCS 给药后在大鼠血浆、尿液、粪便中的原型成分和代谢产物进行鉴定，为进一步研究其作用机制提供了物质基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

HSC-24A 氮吹仪 (武汉爱佩斯科学仪器有限公司); Agilent 1290 型超高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪 (美

国安捷伦科技有限公司); Milli-Q 型纯水仪 (上海密理博有限公司); Mettler Toledo XS205DU 型电子天平 (梅特勒托利多仪器有限公司); Centrifuge 5424R 型高速离心机 (德国艾本德股份公司); KH2200B 型超声清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); Vortex-5 型涡旋混合仪 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

1.2 试剂与材料

黄芪 (批号 Y221012)、太子参 (批号 Y221014)、白术 (批号 Y220305)、木香 (批号 Y221016)、白豆蔻 (批号 Y221013)、茯苓 (批号 Y220701)、芡实 (批号 Y220306)、败酱草 (批号 Y221015)、补骨脂 (批号 Y221011)、炙甘草 (批号 Y220303)，均购自亳州市万珍中药饮片厂。由康济大药房中药执业药师吴舟鉴定，黄芪为膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根，太子参为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根，白术为菊科植物 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎，木香为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根，白豆蔻为姜科植物白豆蔻 *Amomum kravanh* Pierre ex Gagnep. 的干燥成熟果实，茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核，芡实为睡莲科植物芡 *Euryale ferox* Salisb. 的干燥成熟种仁，败酱草为败酱科植物黄花败酱 *Patrinia scabiosaefolia* Fisch. 的干燥全草的加工炮制品，补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实，炙甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎的炮制加工，均符合《中国药典》2020 年版各项要求。

芹菜素 (批号 7366)、芒柄花苷 (批号 3811)、黄芪皂苷 IV (批号 2779)、甘草苷 (批号 7306)、芹糖甘草苷 (批号 6969)，购自上海诗丹德生物技术有限公司；补骨脂素 (批号 110739-201918)、异补骨脂素 (批号 110738-202016)、木香炔内酯 (批号 111524-201711)、去氢木香炔内酯 (批号 111525-201711)，购自中国食品药品检定研究院；补骨脂苷 (批号 Y3J11S20168)、异补骨脂苷 (批号 Y3J11S20168)、甘草酸 (批号 P18A11F111597)，购自上海源叶生物科技有限公司；夏佛塔苷 (批号 20191228)、甘草素 (批号 200708)、芒柄花素 (批号 200713)，购自南京森贝伽生物科技有限公司。以上对照品质量分数均大于 98%。肝素钠 (批号 B805BA0008, BBI Life Science); 甲酸 (质谱级, 美

国西格玛奥德里奇公司); 甲醇(质谱级, 美国赛默飞世尔科技公司)。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 雄性, 体质量 (200 ± 20) g, 购自杭州医学院实验动物中心, 合格证编号: 20230427Aazz0100000734, 许可证号: SCXK (浙) 2019-0002。饲养环境: 室温 (22 ± 2) °C, 相对湿度 50%~60%, 自然光暗周期, 自由饮水进食。大鼠分笼饲养, 2 只/笼, 实验前适应性饲养 1 周。动物实验伦理批准号: 2023042905。

2 方法

2.1 JPYCS 供试品溶液及对照品溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 称取黄芪 15 g、太子参 15 g、白术 12 g、白豆蔻 6 g、木香 6 g、败酱草 30 g、补骨脂 20 g、芡实 12 g、茯苓 12 g、炙甘草 6 g, 混合药材, 浸泡 1 h 后加入 10 倍量水, 加热回流提取 1.5 h, 滤渣加入 8 倍量水继续提取 1.5 h, 合并药液, 减压浓缩干燥得到干膏, 得膏率为 20.4%。取 0.5 g 干膏, 加入 25 mL 50% 甲醇, 超声提取 30 min, 冷却至室温, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 得到待测样品。

2.1.2 对照品溶液的制备 称取对照品芹菜素、芒柄花苷、黄芪皂苷 IV、甘草苷、芹糖甘草苷、补骨脂素、异补骨脂素、木香炔内酯、去氢木香炔内酯、补骨脂苷、异补骨脂苷、甘草酸、夏佛塔苷、甘草素、芒柄花素少量, 加入 50% 甲醇溶解, 配制成各成分质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.2 动物实验及生物样品采集

将 14 只大鼠随机分为 2 组, 空白组 ($n=4$) 和给药组 ($n=10$)。以 0.5% 羧甲基纤维素钠作为给药溶剂, 给药组大鼠按照 70.245 g/(kg·d) (以 JPYCS 生药量计算) 剂量连续 ig 给药 3 d, 空白组同时给予等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液。

大鼠最后 1 次给药前禁食 12 h, 不禁水。收集大鼠给药后 0~12 h 内的粪便和尿液。给药后 0.25、0.5、1、2、4、6 h, 麻醉大鼠, 股动脉取血, 置于预先涂有 1% 肝素钠的 EP 管中, 3 500 r/min 离心 10 min 取上清液。以上样品均置于 -80 °C 冻存备用。

2.3 生物样品供试液的处理

2.3.1 血浆样品制备 给药组各时间点采集的血浆样品混合均匀。分别取空白组和给药组的血浆样品各 2 mL 置于 EP 管中, 加入 6 mL 的甲醇溶液, 涡旋混合, 12 000 r/min 离心 10 min 取上清液, 37 °C 氮吹至

干, 残留物加 200 μL 50% 甲醇复溶, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 得到血浆样品的供试样品。

2.3.2 尿液样品制备 与上述血浆样品供试样品的制备方法相同。

2.3.3 粪便样品制备 将各组粪便样品混合均匀。分别取空白组和给药组的粪便样品 0.5 g 置于 EP 管中, 加入 3 倍量 50% 甲醇溶解, 超声 30 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 37 °C 氮吹至干, 残留物加 200 μL 50% 甲醇复溶, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 得到粪便样品的供试样。

2.4 色谱与质谱条件

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)。流动相为甲醇 (A)-0.1% 甲酸水 (B), 洗脱梯度 (0~10 min, 5%~25% A; 10~20 min, 25% A; 20~24 min, 25%~35% A; 24~36 min, 35%~65% A; 36~48 min, 65%~100% A)。体积流量 0.4 mL/min, 进样量 2 μL , 柱温 30 °C。

2.4.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子模式检测。离子扫描范围设置为 m/z 50~1 500; 雾化气压力 270 kPa; 锥孔电压 65 V; Octopole RF Peak 750 V; 毛细管电压正离子模式 4 000 V、负离子模式 3 500 V, 裂解电压 135 V; 干燥气体积流量 10.0 L/min; 干燥气温度 350 °C; 碰撞能量 10、20、40 V; 图谱采集频率: 1.5 spectra/s。

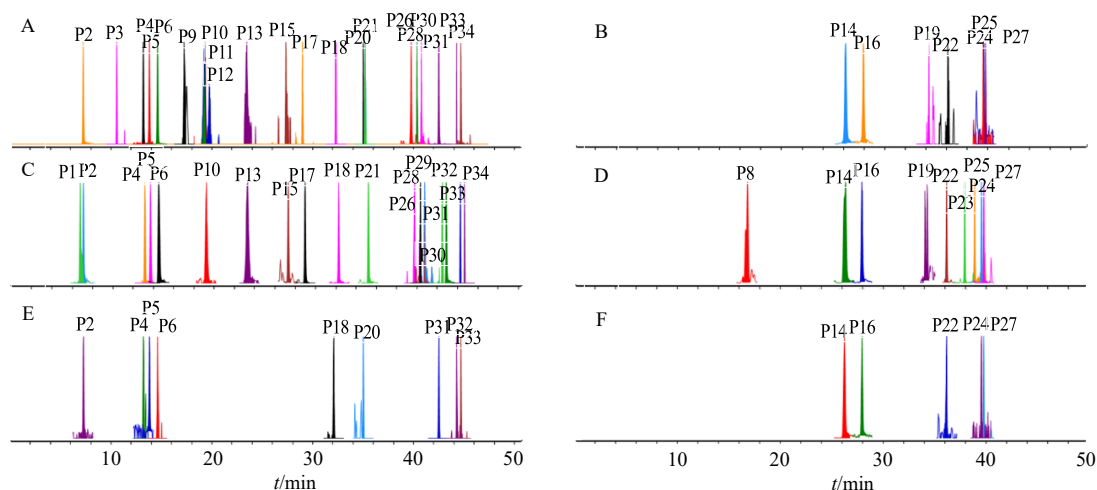
2.5 数据处理

UPLC-Q-TOF/MS 采集的数据由 Agilent MassHunter 软件 (Qualification Analysis 10.0) 处理分析。通过提取各生物样品中目标化合物的 EIC 离子流图, 质量偏差设置为 $\pm 2 \times 10^{-5}$, 对比化合物与对照品保留时间、二级特征碎片离子, 并根据测得的精确相对分子质量参考文献中二级特征碎片离子, 推测各成分代谢产物结构及分子式。

3 结果

3.1 原型成分的鉴定

比对给药样品与空白样品色谱峰的保留时间与峰面积, 结合二级质谱数据, 对 JPYCS 在体内的原型成分进行了检识, 其各样品的 EIC 离子峰叠加图如图 1 所示。在给药组生物样品中共检测到原型成分 34 个, 包括黄酮类成分 17 个、香豆素类成分 6 个、萜类成分 4 个、皂苷类 4 个、有机酸类成分 2 个、其他成分 1 个。其中从血浆中检测到 31 个、尿液中检测到 30 个、粪便中检测到 14 个。具体信息见表 1。



A-血漿 ESI⁻, B-血漿 ESI⁺, C-尿液 ESI⁻, D-尿液 ESI⁺, E-糞便 ESI⁻, F-糞便 ESI⁺。

A-plasma ESI⁻, B-plasma ESI⁺, C-urine ESI⁻, D-urine ESI⁺, E-feces ESI⁻, F-feces ESI⁺。

图 1 大鼠生物样品中原型化合物提取离子色谱图 (EICs)

Fig. 1 Extracted ion chromatograms (EICs) of prototypes in rat biological samples

表 1 大鼠生物样品中 JPYCS 原型成分的 UPLC-Q/TOF-MS 数据

Table 1 UPLC-Q/TOF-MS data of prototypes of JPYCS in rat biological samples

序号	名称	<i>t_R</i> /min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (<i>m/z</i>)	来源
P1	6,7-二羟基香豆素	6.805	C ₉ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	177.019 3	177.019 7	2.26	177.019 4 [M-H] ⁻ , 133.029 5 [M-H-CO ₂] ⁻	U
P2	乙基香兰素	7.209	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	165.055 7	165.056 0	1.82	165.056 7 [M-H] ⁻ , 121.065 0 [M-H-C ₂ H ₅ O] ⁻	P, U, F
P3	二氢红花菜豆酸 4'- O-β-吡喃葡萄糖苷	10.562	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	443.192 5	443.194 4	4.29	443.195 6 [M-H] ⁻ , 219.136 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂ -H ₂ O] ⁻	P
P4	补骨脂苷*	13.163	C ₁₇ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	365.087 8	365.088 8	2.74	365.089 2 [M-H] ⁻ , 203.035 3 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 159.045 3 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	P, U, F
P5	咖啡酸异构体	13.194	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.034 9	179.037 4	13.96	179.037 4 [M-H] ⁻ , 135.044 8 [M-H-CO ₂] ⁻	P, U, F
P6	异补骨脂苷*	14.550	C ₁₇ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	365.087 8	365.089 0	3.29	365.088 0 [M-H] ⁻ , 203.035 4 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 159.045 6 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	P, U, F
P7	黑麦草内酯	14.795	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	197.117 3	197.116 9	-2.03	197.117 0 [M+H] ⁺ , 179.107 3 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 135.115 8 [M+H-H ₂ O-CO ₂] ⁺	P
P8	甘草素*	16.752	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	257.080 9	257.081 0	0.39	257.080 6 [M+H] ⁺ , 137.023 2 [M+H-C ₇ H ₄ O ₂] ⁺	P, U
P9	甘草苷*	17.267	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M-H] ⁻	417.119 1	417.120 2	2.64	417.117 9 [M-H] ⁻ , 255.066 3 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 135.008 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₂] ⁻	P
P10	夏佛塔苷*	19.204	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	[M-H] ⁻	563.140 6	563.140 7	0.18	563.142 8 [M-H] ⁻ , 443.109 9 [M-H-C ₂ H ₄ O ₂] ⁻ , 383.084 6 [M-H-C ₆ H ₁₂ O ₆] ⁻	P, U

表 1 (续)

序号	名称	<i>t_R</i> /min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片信息 (<i>m/z</i>)	来源
P11	芹糖异甘草苷	19.233	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	549.161 3	549.163 7	4.37	549.162 5 [M-H] ⁻ , 417.118 8 [M-H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁻ , 255.066 5 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₅ H ₈ O ₄] ⁻	P, U
P12	芹糖甘草苷*	19.753	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	549.161 3	549.158 4	-5.28	549.161 1 [M-H] ⁻ , 255.067 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₅ H ₈ O ₄] ⁻	P, U
P13	野黄芩苷	23.475	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	461.072 5	461.073 9	3.04	461.073 9 [M-H] ⁻ , 285.040 2 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁻	P, U
P14	补骨脂素*	26.196	C ₁₁ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	187.039 0	187.039 1	0.53	187.038 7 [M+H] ⁺ , 159.045 3 [M+H-CO] ⁺ , 143.055 0 [M+H-CO ₂] ⁺ , 131.049 0 [M+H-2CO] ⁺	P, U, F
P15	黄芩苷	27.301	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 6	445.078 2	1.35	445.080 6 [M-H] ⁻ , 269.047 3 [M-H-GlcUA] ⁻	P, U
P16	异补骨脂素*	27.903	C ₁₁ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	187.039 0	187.039 5	2.67	187.038 4 [M+H] ⁺ , 159.042 4 [M+H-CO] ⁺ , 131.048 9 [M+H-2CO] ⁺	P, U, F
P17	芒柄花苷*	28.974	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	[M+COOH] ⁻	475.124 6	475.125 4	1.68	475.122 7 [M+COOH] ⁻ , 269.046 9 [M+COOH-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	P, U
P18	芹菜素*	32.327	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.043 5	269.043 9	1.49	269.046 5 [M-H] ⁻ , 225.056 0 [M-H-GlcUA] ⁻	P, U, F
P19	补骨脂色酚酮	34.047	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	[M+H] ⁺	341.138 4	341.139 1	2.05	341.139 2 [M+H] ⁺ , 269.079 1 [M+H-C ₄ H ₈ O] ⁺ , 203.096 9 [M+H-C ₈ H ₈ O-H ₂ O] ⁺	P, U
P20	甘草黄酮醇	35.015	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	[M-H] ⁻	353.103 0	353.103 3	0.85	353.104 4 [M-H] ⁻ , 335.092 4 [M-H-CH ₃] ⁻ , 284.269 4 [M-H-C ₅ H ₁₀] ⁻	P, F
P21	芒柄花素*	35.168	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	267.066 2	267.066 9	2.62	267.066 7 [M-H] ⁻ , 252.042 7 [M-H-CH ₃] ⁻ , 223.039 1 [M-H-CH ₃ -HCO] ⁻ , 195.044 2 [M-H-CH ₃ -HCO-CO] ⁻	P, U
P22	补骨脂醇	36.144	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	[M+H] ⁺	339.122 7	339.122 3	-1.18	339.122 3 [M+H] ⁺ , 267.064 2 [M+H-C ₄ H ₈ O] ⁺ , 237.122 6 [M+H-C ₄ H ₈ O-CHO] ⁺ , 137.023 2 [M+H-C ₄ H ₈ O-CHO-C ₈ H ₄] ⁺	P, U, F
P23	补骨脂二氢黄酮	37.875	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	[M+H] ⁺	325.143 5	325.143 8	0.92	325.143 2 [M+H] ⁺ , 269.081 4 [M+H-C ₄ H ₈] ⁺ , 149.023 0 [M+H-C ₄ H ₈ -C ₈ H ₈ O] ⁺	U
P24	去氢木香内酯*	39.493	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	[M+H] ⁺	231.138 0	231.138 1	0.43	231.137 7 [M+H] ⁺ , 213.126 6 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 185.132 5 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 143.086 4 [M+H-H ₂ O-CO-C ₂ H ₄ -CH ₂] ⁺	P, U, F
P25	木香烯内酯*	39.594	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	[M+H] ⁺	233.157 4	233.153 9	-15.01	233.150 8 [M+H] ⁺ , 215.141 4 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 187.145 8 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 159.116 2 [M+H-H ₂ O-CO-C ₂ H ₄] ⁺	P, U
P26	甘草皂苷 P2	39.697	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	[M-H] ⁻	837.390 3	837.393 1	3.34	837.393 7 [M-H] ⁻ , 351.062 1 [M-H-C ₃₀ H ₄₆ O ₅] ⁻	P, U

表 1 (续)

序号	名称	t_R /min	化学式	模式	理论	实测	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (m/z)	来源
P27	新补骨脂异黄酮	39.775	$C_{20}H_{18}O_4$	$[M-H]^-$	323.127 8	323.129 0	3.71	323.129 4 $[M+H]^-$, 267.064 2 $[M+H-C_4H_7]^-$	P, U, F
P28	补骨脂宁	40.317	$C_{20}H_{16}O_4$	$[M-H]^-$	319.097 5	319.097 7	0.63	319.097 9 $[M-H]^-$, 289.049 7 $[M-H-2CH_3]^-$	P, U
P29	甘草酸*	40.782	$C_{42}H_{62}O_{16}$	$[M-H]^-$	821.396 5	821.398 3	2.19	821.398 9 $[M-H]^-$, 351.058 3 $[M-H-C_{30}H_{46}O_4]^-$, 193.036 9 $[M-H-C_{36}H_{52}O_9]^-$	P, U
P30	甘草皂苷 K2	41.431	$C_{42}H_{62}O_{16}$	$[M-H]^-$	821.396 5	821.398 1	1.95	821.397 3 $[M-H]^-$, 351.057 0 $[M-H-C_{30}H_{46}O_4]^-$	P, U
P31	黄芪皂苷 IV	42.443	$C_{41}H_{68}O_{14}$	$[M+COOH]^-$	829.458 0	829.461 1	3.74	829.460 8 $[M+COOH]^-$, 783.463 1 $[M-H]^-$	P, U, F
P32	补骨脂定	42.845	$C_{20}H_{16}O_5$	$[M-H]^-$	335.092 4	335.093 3	2.69	335.092 9 $[M-H]^-$, 280.037 4 $[M-H-C_4H_7]^-$	U
P33	次甘酸查耳酮	44.267	$C_{25}H_{26}O_4$	$[M-H]^-$	389.175 8	389.177 2	3.60	389.177 4 $[M-H]^-$, 320.111 3 $[M-H-C_5H_9]^-$, 265.049 7 $[M-H-C_9H_{16}]^-$	P, U, F
P34	土莫酸	44.698	$C_{31}H_{50}O_4$	$[M-H]^-$	485.363 6	485.364 6	2.06	485.363 3 $[M-H]^-$, 439.345 9 $[M-H-HCOOH]^-$	P, U, F

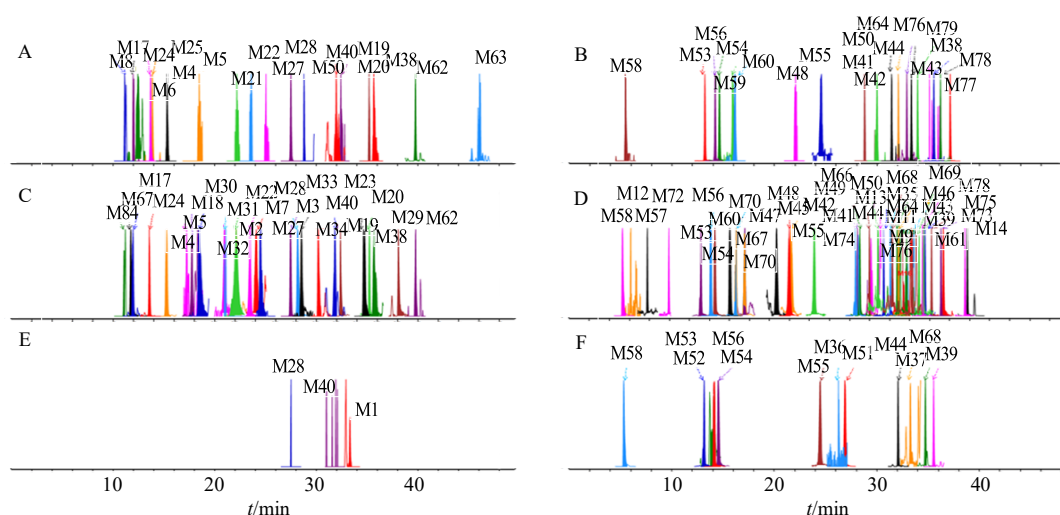
P-原型成分; P、U、F-血浆、尿液、粪便样本; *与对照品比较。

P-prototypes; P, U, F-plasma, urine, feces samples; *compared with the reference substance.

3.2 代谢产物的鉴定

药物代谢分为 I 相反应和 II 相反应, I 相反应指氧化、还原、水解反应, II 相反应指药物或经 I 相反应后的药物代谢产物与内源性结合剂的结合反应。不同结构类型的成分在体内发生的代谢反应不同, 通过查阅文献, 对进入体内的原型成分进行代

谢产物的预测, 提取预测代谢产物的 EIC 离子流图, 比对质谱二级碎片进行人工检识, 各样品的代谢产物 EIC 离子峰叠加图如图 2 所示。在给药组生物样品中共确定了 79 个代谢产物, 其中从血浆中检测到 37 个、尿液中检测到 73 个、粪便中检测到 16 个。具体信息见表 2。



A-血浆 ESI⁻, B-血浆 ESI⁺, C-尿液 ESI⁻, D-尿液 ESI⁺, E-粪便 ESI⁻, F-粪便 ESI⁺。

A-plasma ESI⁻, B-plasma ESI⁺, C-urine ESI⁻, D-urine ESI⁺, E-feces ESI⁻, F-feces ESI⁺。

图 2 大鼠生物样品中代谢产物提取离子色谱图 (EICs)

Fig. 2 Extracted ion chromatograms (EICs) of metabolites in rat biological samples

表 2 大鼠生物样品中 JPYCS 代谢产物的 UPLC-Q/TOF-MS 数据
Table 2 UPLC-Q/TOF-MS data of metabolites of JPYCS in rat biological samples

序号	途径	<i>t</i> _R /min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片信息 (<i>m/z</i>)	来源	原型
M1	P8 还原	33.282	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	[M-H] ⁻	257.081 9	257.081 4	-1.94	257.079 9 [M-H] ⁻ , 239.068 0 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 135.011 5 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻	U, F	甘草素
M2	P8 还原、硫酸结合	21.970	C ₁₅ H ₁₄ O ₇ S	[M-H] ⁻	337.038 0	337.039 3	3.86	337.039 6 [M-H] ⁻ , 257.082 0 [M-H-SO ₃] ⁻ , 135.045 2 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻	U	甘草素
M3	M5 异构体	28.178	C ₁₅ H ₁₄ O ₇ S	[M-H] ⁻	337.038 0	337.039 5	4.45	337.040 1 [M-H] ⁻ , 257.082 3 [M-H-SO ₃] ⁻	U	甘草素
M4	P8 葡萄糖醛酸结合	15.230	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.097 8	431.099 5	3.94	431.098 4 [M-H] ⁻ , 255.066 2 [M-H-GlcUA] ⁻ , 135.024 5 [M-H-GlcUA-C ₇ H ₄ O ₂] ⁻	P, U	甘草素
M5	P8 硫酸结合	17.846	C ₅ H ₁₂ O ₇ S	[M-H] ⁻	335.023 1	335.023 4	0.90	335.023 5 [M-H] ⁻ , 255.066 4 [M-H-SO ₃] ⁻ , 135.009 0 [M-H-SO ₃ -C ₇ H ₄ O ₂] ⁻	P, U	甘草素
M6	P8 葡萄糖醛酸、硫酸结合	12.354	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃ S	[M-H] ⁻	511.054 7	511.056 5	3.52	511.054 7 [M-H] ⁻ , 335.027 1 [M-H-GlcUA] ⁻ , 255.062 9 [M-H-GlcUA-SO ₃] ⁻	P, U	甘草素
M7	P8 还原、氧化、甲基化、硫酸结合	24.059	C ₁₆ H ₁₆ O ₈ S	[M-H] ⁻	367.049 0	367.050 7	4.63	367.049 7 [M-H] ⁻ , 287.092 3 [M-H-SO ₃] ⁻ , 137.024 9 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂ -CH ₂ O] ⁻	U	甘草素
M8	P9 葡萄糖醛酸结合	11.120	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.151 2	593.152 8	2.70	593.153 4 [M-H] ⁻ , 417.120 9 [M-H-GlcUA] ⁻ , 255.066 9 [M-H-GlcUA-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 135.008 9 [M-H-GlcUA-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₂] ⁻	P, U	甘草苷
M9	P23 羟基化	34.271	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	[M+H] ⁺	341.138 4	341.138 7	0.88	341.137 9 [M+H] ⁺ , 149.024 5 [M+H-C ₄ H ₈ -C ₈ H ₈ O ₂] ⁺	U	补骨脂二氢黄酮
M10	P23 环氧化	33.305	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	[M+H] ⁺	341.138 4	341.139 1	2.05	341.138 9 [M+H] ⁺ , 269.080 7 [M+H-C ₄ H ₈ O] ⁺ , 149.024 1 [M+H-C ₄ H ₈ O-C ₈ H ₈ O] ⁺	U	补骨脂二氢黄酮
M11	P23 葡萄糖醛酸结合	34.306	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₀	[M+H] ⁺	501.176 2	501.176 5	0.60	501.172 9 [M+H] ⁺ , 325.143 3 [M+H-GlcUA] ⁺ , 269.081 2 [M+H-GlcUA-C ₄ H ₈] ⁺ , 149.023 4 [M+H-GlcUA-C ₄ H ₈ -C ₈ H ₈ O] ⁺	U	补骨脂二氢黄酮
M12	M9 硫酸结合	6.107	C ₂₀ H ₂₀ O ₈ S	[M+H] ⁺	421.071 7	421.075 3	8.55	421.073 7 [M+H] ⁺ , 245.043 3 [M+H-C ₇ H ₁₂ O ₃ S] ⁺ , 165.089 1 [M+H-C ₁₁ H ₁₂ O ₅ S] ⁺	U	补骨脂二氢黄酮

表 2 (续)

序号	途径	t_R/min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (m/z)	来源	原型
M13	M9 葡萄糖醛结合	30.126	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	517.169 9	517.171 8	3.67	517.168 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 341.139 0U $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}]^+$, 269.080 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$	0U	补骨脂二氢黄酮
M14	M10 重排, 脱水	39.824	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	323.128 3	323.128 7	1.24	323.127 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 255.065 4U $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8]^+$, 203.069 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^+$	4U	补骨脂二氢黄酮
M15	M14 异构体	40.465	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	323.128 3	323.127 3	-3.09	323.126 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 267.064 9U $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 149.023 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}]^+$	9U	补骨脂二氢黄酮
M16	P23 甲基化	33.294	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	339.159 1	339.159 8	2.06	339.159 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269.078 2U $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{CH}_3]^+$	2U	补骨脂二氢黄酮
M17	P10 脱氢	11.990	$\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{14}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	561.125 0	561.126 0	1.78	561.125 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 517.135 9P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}]^-$	9P, U	夏佛塔苷
M18	P10 脱氧	17.788	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	531.150 8	531.150 7	-0.19	531.151 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 355.119 0U $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^-$	0U	夏佛塔苷
M19	P18 羟基化	32.263	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	285.040 9	285.040 9	0.00	285,040 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 239.166 3P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$, 133.029 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$	3P, U	芹菜素
M20	M18 去羟基、甲基化	35.226	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	267.066 3	267.067 2	3.37	267.067 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 252.043 4P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 223.040 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$	4P, U	芹菜素
M21	P18 还原、葡萄糖醛结合	22.181	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	447.092 7	447.094 5	4.03	447.093 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 271.060 3P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{GLcUA}]^-$	3P, U	芹菜素
M22	P18 葡萄糖醛结合	23.400	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	445.075 0	445.078 3	7.41	445.077 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 269.046 0P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}]^-$	0P, U	芹菜素
M23	M19 甲基化	34.731	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	299.056 1	299.056 4	1.00	299.056 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 284.033 2U $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 256.038 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$, 151.002 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2]^-$	2U	芹菜素
M24	M19 葡萄糖醛结合	13.683	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	461.072 4	461.072 2	-0.43	461.069 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 285.039 7P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{GLcUA}]^-$, 241.050 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	7P, U	芹菜素
M25	P15 去羟基化	13.857	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	429.082 7	429.083 4	1.63	429.082 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 253.050 5P $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}]^-$, 175.013 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_6\text{H}_6]^-$, 157.013 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_6\text{H}_6-\text{H}_2\text{O}]^-$, 113.024 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_6\text{H}_6-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$	5P	黄芩苷
M26	P15 去葡萄糖醛	34.208	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	269.045 5	269.045 6	0.37	269.046 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 225.054 8U $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 117.034 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$	8U	黄芩苷
M27	M25 甲基化、硫酸结合	24.956	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	363.017 5	363.019 7	6.06	363.018 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 283.061 7P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	7P, U, F	黄芩苷

表 2 (续)

序号	途径	t_R/min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (m/z)	来源	原型
M28	M25 甲基化、 葡萄糖醛 结合	27.511	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	459.093 3	459.093 3	0.00	459.093 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 441.079 6 P, U, $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 283.061 2 F $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}]^-$, 175.013 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6]^-$, 157.013 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6-\text{H}_2\text{O}]^-$, 113.024 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$	6P, U, 黄芩苷	
M29	P21 羟基化	38.078	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.062 3	283.062 5	0.71	283.062 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 248.255 7 U $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	7U	芒柄花 素
M30	P21 去甲基化	18.427	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	253.050 6	253.051 4	3.16	253.050 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 224.051 4 U $[\text{M}-\text{H}-\text{HCO}]^-$, 196.048 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCO}-\text{CO}]^-$	4U	芒柄花 素
M31	P21 葡萄糖醛 结合	21.917	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	443.097 7	443.098 7	2.26	443.098 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 267.066 0 U $[\text{M}-\text{H}-\text{GlcUA}]^-$, 175.024 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_4\text{O}]^-$	0U	芒柄花 素
M32	P21 水合、硫 酸结合	20.925	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	365.033 7	365.038 1	12.05	365.034 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 285.077 8 U $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	8U	芒柄花 素
M33	M32 异构体	20.925	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	365.033 7	365.038 1	7.12	365.034 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 285.077 8 U $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	8U	芒柄花 素
M34	P21 硫酸结合	30.477	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	347.023 1	365.036 3	2.59	365.034 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 285.077 8 U $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	8U	芒柄花 素
M35	P28 羟基化	32.728	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	339.122 7	339.125 7	8.85	339.124 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.136 9 U $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2]^+$, 213.126 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$, 137.021 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_2]^+$	9U	新补骨 脂异黄 酮
M36	P28 环氧化	26.109	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	339.122 7	339.122 8	0.29	339.124 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 321.112 3 U, F $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 137.020 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_2]^+$	3U, F	新补骨 脂异黄 酮
M37	P28 还原、氧化	33.294	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	341.138 4	341.1385	0.29	341.139 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 339.120 8 U, F $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2]^+$, 223.069 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{CO}_2]^+$	8U, F	新补骨 脂异黄 酮
M38	P28 硫酸结合	35.573	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	401.070 0	401.070 0	0.00	401.070 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 321.113 6 P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$	6P, U	新补骨 脂异黄 酮
M39	P28 葡萄糖醛 结合	35.543	$\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	499.159 9	499.160 1	0.40	499.156 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 481.145 2 P, U, $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 323.127 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}]^+$, 267.064 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$	2P, U, F	新补骨 脂异黄 酮
M40	M35 硫酸结合	31.840	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	417.065 0	417.065 1	0.24	417.065 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 337.107 7 P, U, $[\text{M}-\text{H}-\text{SO}_3]^-$, 265.049 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}]^-$	7P, U, F	新补骨 脂异黄 酮
M41	M35 葡萄糖醛 结合	28.795	$\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	515.154 2	515.156 1	3.69	515.156 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 321.111 9 P, U $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 267.063 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}]^+$	9P, U	新补骨 脂异黄 酮

表 2 (续)

序号	途径	<i>t_R</i> /min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (<i>m/z</i>)	来源	原型
M42 M41	异构体	30.051	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₁	[M+H] ⁺	515.154 2	515.156 1	3.69	515.155 8 [M+H] ⁺ , 339.123 1 [M+H-GlcUA-] ⁺ , 267.067 1 [M+H-GlcUA-C ₄ H ₈ O] ⁺	3 P, U	新补骨脂异黄酮
M43 M36	环化, 脱氧	35.330	C ₂₀ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	321.112 1	321.113 0	2.80	321.111 5 [M+H] ⁺ , 185.092 1 [M+H-C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	5 P, U	新补骨脂异黄酮
M44 P29	双羟基化	32.087	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	[M+H] ⁺	355.117 6	355.118 1	1.41	355.118 1 [M+H] ⁺ , 279.064 1 [M+H-C ₃ H ₆ O-H ₂ O] ⁺	7 P, U, F	补骨脂宁
M45 P29	甲基化	22.152	C ₂₁ H ₁₈ O ₄	[M+H] ⁺	335.127 8	335.128 8	2.98	335.128 3 [M+H] ⁺ , 185.132 1 [M+H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁺	4 U	补骨脂宁
M46 P29	葡萄糖醛结合	35.301	C ₂₆ H ₂₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	497.143 6	497.145 2	3.22	497.143 6 [M+H] ⁺ , 321.111 1 [M+H-GlcUA] ⁺	6 U	补骨脂宁
M47 M46	异构体	20.668	C ₂₆ H ₂₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	497.143 6	497.144 8	2.41	497.143 8 [M+H] ⁺ , 321.112 1 [M+H-GlcUA] ⁺	1 U	补骨脂宁
M48 M47	葡萄糖醛结合	21.919	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	531.149 1	531.150 4	2.45	531.153 6 [M+H] ⁺ , 355.117 1 [M+H-GlcUA] ⁺ , 337.104 3 [M+H-GlcUA-H ₂ O] ⁺ , 279.064 7 [M+H-GlcUA-C ₃ H ₆ O-H ₂ O] ⁺	7 P, U	补骨脂宁
M49 M48	异构体	29.103	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	531.149 1	531.148 0	-2.07	531.150 1 [M+H] ⁺ , 355.115 1 [M+H-GlcUA] ⁺ , 337.106 5 [M+H-GlcUA-H ₂ O] ⁺	8 U	补骨脂宁
M50 P29	氧化, 葡萄糖醛结合	31.402	C ₂₆ H ₂₄ O ₁₁	[M+H] ⁺	513.138 6	513.139 3	1.36	513.139 2 [M+H] ⁺ , 337.106 1 [M+H-GLcUA] ⁺ , 279.067 6 [M+H-C ₃ H ₆ O] ⁺	1 P, U	补骨脂宁
M51 P14	羟基化	26.936	C ₁₁ H ₆ O ₄	[M+H] ⁺	203.033 9	203.034 0	0.49	203.033 8 [M+H] ⁺ , 175.038 1 [M+H-CO] ⁺ , 147.043 6 [M+H-2CO] ⁺ , 119.048 5 [M+H-3CO] ⁺	2 U, F	补骨脂素
M52 M51	异构体	13.761	C ₁₁ H ₆ O ₄	[M+H] ⁺	203.033 9	203.034 0	0.49	203.033 8 [M+H] ⁺ , 175.038 1 [M+H-CO] ⁺ , 147.043 5 [M+H-2CO] ⁺ , 119.047 6 [M+H-3CO] ⁺	9 U, F	补骨脂素
M53 M51	还原	13.194	C ₁₁ H ₈ O ₄	[M+H] ⁺	205.049 5	205.049 7	0.98	205.049 7 [M+H] ⁺ , 187.037 1 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 131.048 8 [M+H ₂ O-CO-CO] ⁺	6 P, U, F	补骨脂素
M54 M53	异构体	14.620	C ₁₁ H ₈ O ₄	[M+H] ⁺	205.049 5	205.049 1	-1.95	205.049 6 [M+H] ⁺ , 187.038 1 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 159.043 5 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 131.049 0 [M+H ₂ O-CO-CO] ⁺	3 P, U, F	补骨脂素
M55 M53	还原	24.625	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	207.064 8	207.064 6	-0.97	207.648 0 [M+H] ⁺ , 147.043 1 [M+H-CH ₂ O] ⁺	9 P, U, F	补骨脂素
M56 M51	水合	14.184	C ₁₁ H ₈ O ₅	[M+H] ⁺	221.045 0	221.044 0	-4.52	221.042 7 [M+H] ⁺ , 203.033 1 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 175.039 6 [M+H ₂ O-CO] ⁺ , 147.043 5 [M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺	4 P, U, F	补骨脂素

表 2 (续)

序号	途径	t_R/min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (m/z)	来源	原型
M57	M56 还原	7.816	$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	223.060 6	223.060 1	-2.24	223.060 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 205.049 3 U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 177.054 1 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 149.043 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CO}]^+$	3 U	补骨脂素
M58	M56 羟基化	5.453	$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	237.039 9	237.039 3	-2.53	237.038 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 219.030 7 P, U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 191.032 9 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	7 P, U, F	补骨脂素
M59	M51 硫酸结合	15.959	$\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_7\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	282.991 2	282.991 9	2.47	282.993 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 203.030 9 P $[\text{M}+\text{H}-\text{SO}_3]^+$, 149.133 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{SO}_3-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_2]^+$	9 P	补骨脂素
M60	M51 葡萄糖醛酸结合	16.163	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	379.066 5	379.065 9	-1.58	379.066 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 203.034 1 P, U $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}]^+$, 133.064 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_2]^+$	1 P, U	补骨脂素
M61	P31 葡萄糖醛酸结合	37.365	$\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	513.139 7	513.141 1	2.73	513.144 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 337.107 7 U $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}]^+$, 281.044 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{GlcUA}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$	7 U	补骨脂定
M62	P29 羟基化	39.726	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	837.391 4	837.391 6	0.24	837.391 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 351.057 7 P, U $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5]^-$	7 P, U	甘草酸
M63	P29 脱糖	46.056	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	469.332 3	469.335 0	5.75	469.334 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 425.334 4 P, F $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$	4 P, F	甘草酸
M64	P24 羟基化	32.934	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	247.132 9	247.134 0	4.45	247.123 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 229.121 1 P, U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 201.126 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 183.117 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	1 P, U	去氢木香内酯
M65	M64 异构体	34.765	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	247.132 9	247.13 4	4.45	247.123 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 229.124 9 F $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 201.125 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 183.116 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	9 F	去氢木香内酯
M66	M64 羟基化	30.822	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	263.127 8	263.127 4	-1.52	263.126 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 245.116 8 U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 227.108 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 199.110 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	8 U	去氢木香内酯
M67	P24 水合	17.543	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	249.148 5	249.148 6	0.40	249.147 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.138 7 U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 203.142 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	7 U	去氢木香内酯
M68	M67 异构体	32.304	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	249.148 5	249.148 3	-0.80	249.149 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.138 3 U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 203.141 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 185.131 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	3 U	去氢木香内酯
M69	M67 水合	34.938	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	267.159 0	267.159 2	0.75	267.160 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.137 5 U $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 203.141 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	5 U	去氢木香内酯

表 2 (续)

序号	途径	t_R/min	化学式	模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片信息 (m/z)	来源	原型
M70	P24 脱氢	16.636	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	229.122 4	229.122 2	-0.87	229.122 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 201.125 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 183.125 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 155.100 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	U	去氢木香内酯
M71	M70 异构	17.502	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	229.122 4	229.122 4	0.00	229.122 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 201.126 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$, 183.116 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 155.085 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	U	去氢木香内酯
M72	M70 脱氢	9.954	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	227.106 8	227.109 3	11.01	227.109 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 209.097 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 181.110 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	U	去氢木香内酯
M73	P24 脱水	39.493	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	213.127 5	213.127 3	-0.94	213.128 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 195.116 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 181.110 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	U	去氢木香内酯
M74	P24 乙酰半胱氨酸结合	28.595	$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	392.152 7	392.153 4	1.79	392.153 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 185.132 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 157.099 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	U	去氢木香内酯
M75	P25 水合	33.696	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	251.167 9	251.163 8	-16.32	251.163 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 233.150 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 205.141 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 159.116 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	U	木香烯内酯
M76	P25 半胱氨酸结合	33.302	$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	352.155 4	352.158 3	8.24	352.163 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.138 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{Cys}]^+$, 185.135 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{Cys}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 159.116 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{Cys}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	P, U	木香烯内酯
M77	P25 乙酰半胱氨酸结合	37.115	$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	394.165 5	394.169 1	9.13	394.168 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 233.150 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}]^+$, 187.147 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 159.116 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$	P, U	木香烯内酯
M78	P25 还原、乙酰半胱氨酸结合	36.184	$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_5\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	396.185 5	396.184 4	-2.78	396.182 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 215.142 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 187.148 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 159.083 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{NAC}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	P, U	木香烯内酯
M79	P25 谷胱甘肽结合	34.001	$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	538.218 9	538.222 5	6.69	538.220 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 231.140 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{GSH}]^+$, 187.146 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{GSH}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	P, U	木香烯内酯

M-代谢产物; P、U、F-血浆、尿液、粪便样本; GlcUA、NAC、Cys、GSH-葡萄糖醛酸、N-乙酰半胱氨酸、半胱氨酸、谷胱甘肽。

M-metabolites; P, U, F-plasma, urine, feces samples; GlcUA, NAC, Cys, GSH-glucuronic acid, N-acetylcysteine, cysteine, glutathione.

3.2.1 黄酮类成分的代谢产物及途径分析 JPYCS 进入大鼠体内的原型成分及代谢成分大多数为黄酮

成分, 这些黄酮成分按照母核结构的特征分类可分为二氢黄酮类、黄酮类、异黄酮类。在 I 相反应中,

黄酮类成分易发生氧化、还原反应^[13]。黄酮类成分的极性较小,进入机体内后多发生 II 相反应,与硫酸、葡萄糖醛酸、甲基结合以增大极性促进其排出体外^[14]。另外,黄酮类成分通常会通过逆狄尔斯-阿德尔(retro diels-alder reaction, RDA)裂解反应,产生系列特征碎片,通过对比原型成分与代谢产物的 RDA 裂解碎片可推测其代谢产物,此处以补骨脂二氢黄酮、夏佛塔昔、新补骨脂异黄酮为例,阐述黄酮类化合物的代谢途径鉴定。

M9~M16 为补骨脂二氢黄酮(P23)的代谢产物。M9、M10 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 均为 m/z 341.138 7, 相较于 P23 高 16, 确定其分子式为 $C_{20}H_{20}O_5$ 。其保留时间分别为 34.271、33.305 min, 并结合文献中报道的出峰顺序^[15], 分别鉴定为补骨脂二氢黄酮的羟基化和环氧化代谢物。M11 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 501.176 2, 相较于 P23 高 176, 并存在碎片 m/z 325.143 3 $[M+H-GlcUA]^+$ 、269.081 2 $[M+H-GlcUA-C_4H_8]^+$ 、149.023 4 $[M+H-GlcUA-C_4H_8-C_8H_8O]^+$, 与 P23 经 RDA 裂解产生的特征碎片 m/z 269.081 4 $[M+H-C_4H_8]^+$ 、149.023 0 $[M+H-C_4H_8-C_8H_8O]^+$ 一致, 鉴定其为补骨脂二氢黄酮与葡萄糖醛酸结合后的代谢产物。同理, M12 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 421.071 7, 相较于 M9 高 80, 确定其分子式为 $C_{20}H_{20}O_8S$, 特征碎片与文献报道一致^[15], 鉴定其为 M9 与硫酸结合

后的产物。M14、M15 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 均为 m/z 323.128 7, 相较于 M10 低 18, 提示其为 M10 碳骨架重排后脱去 1 分子 H_2O 形成的产物。其保留时间分别为 39.824、40.465 min, 在反相色谱柱中, 二氢黄酮类化合物保留时间先于查耳酮类化合物, 因此推测二者结构如图 3 所示。

M17、M18 为夏佛塔昔(P10)的代谢产物。M17 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 561.126 0, 相较于 P10 低 2, 存在碎片 m/z 517.135 9 $[M-H-C_2H_4O]^-$, 鉴定其为夏佛塔昔糖环脱氢后的代谢产物。M18 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 531.150 7, 相较于 P10 低 32, 存在碎片 m/z 355.119 0 $[M-H-C_6H_8O_6]^-$, 鉴定其为夏佛塔昔糖环脱氧后的代谢产物。夏佛塔昔属于黄酮苷类成分, 进入体内后可经糖苷酶水解, 脱去葡萄糖基和阿拉伯糖基转化为芹菜素。据文献报道^[16-17], 芹菜素可在肠道内吸收, 经历 I 相反应后, 在 II 相酶作用下, 发生葡萄糖醛化和硫酸化反应。M19~M24 为芹菜素(P18)的代谢产物, 与文献中的代谢规律相符。夏佛塔昔、芹菜素在体内的代谢途径见图 4。

M35~M43 为新补骨脂异黄酮(P27)的代谢产物。新补骨脂异黄酮与补骨脂二氢黄酮的结构类似, 侧链都为直链异戊烯基, 因此代谢途径上有一定的相似性。M35、M36 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 339.125 7, 与 P28 相比, 相差 16, 确定分子式为

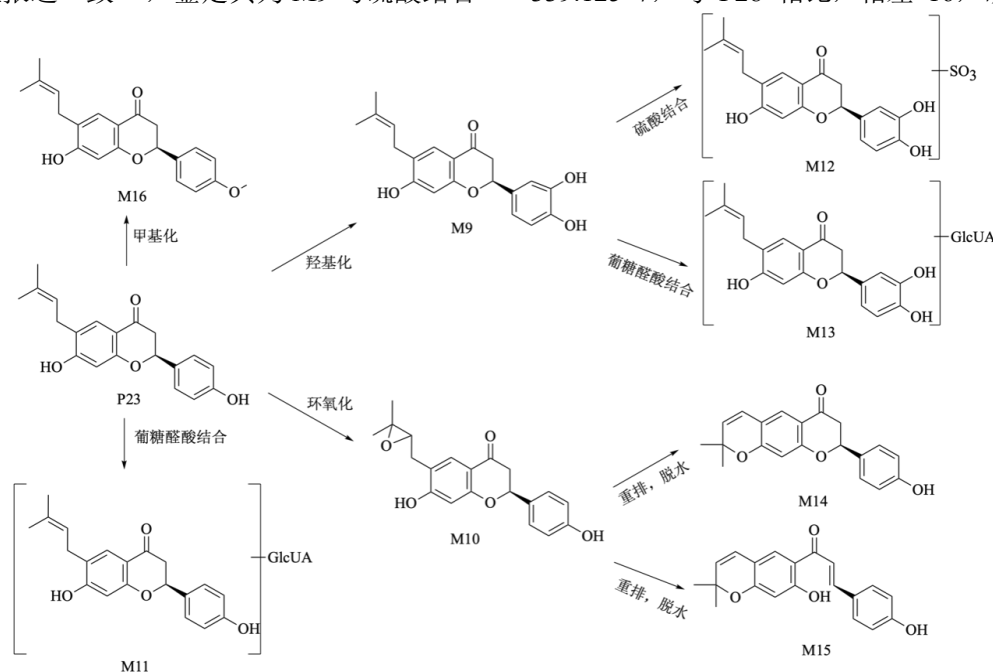


图 3 补骨脂二氢黄酮可能的代谢途径

Fig. 3 Metabolic pathways of bavachin

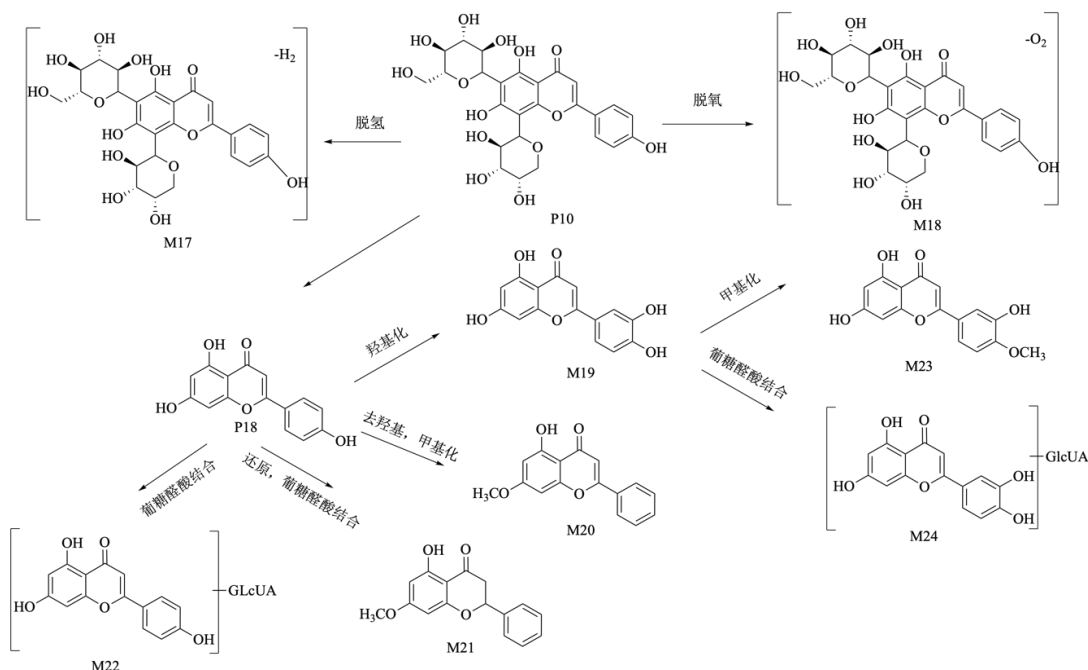


图 4 夏佛塔苷可能的代谢途径

Fig. 4 Metabolic pathways of schaftoside

$C_{20}H_{18}O_5$ 。二者均有特征碎片 m/z 137.020 7 $[M+H-C_{13}H_{14}O_2]^+$ ，因此推测羟基连接在异戊烯基上，查阅文献报道^[15,18-19]可知，直链异戊烯基可在体内肝微粒体酶的作用下发生环氧化反应，也可在体内代谢成 2-羟基-3-甲基-3-丁烯基片段，因此推测 M35、M36 的结构如图 5 所示。新补骨脂异黄酮的主要代

谢途径与补骨脂二氢黄酮类似，主要的代谢包括氧化、还原、环合、脱氧、硫酸结合、葡萄糖醛结合。

3.2.2 香豆素类成分的代谢产物及途径分析 大鼠血浆、尿液、粪便中检测到的香豆素类成分均源于补骨脂，补骨脂素、异补骨脂素及其苷为补骨脂药材的主要功效成分，补骨脂苷和异补骨脂苷在体

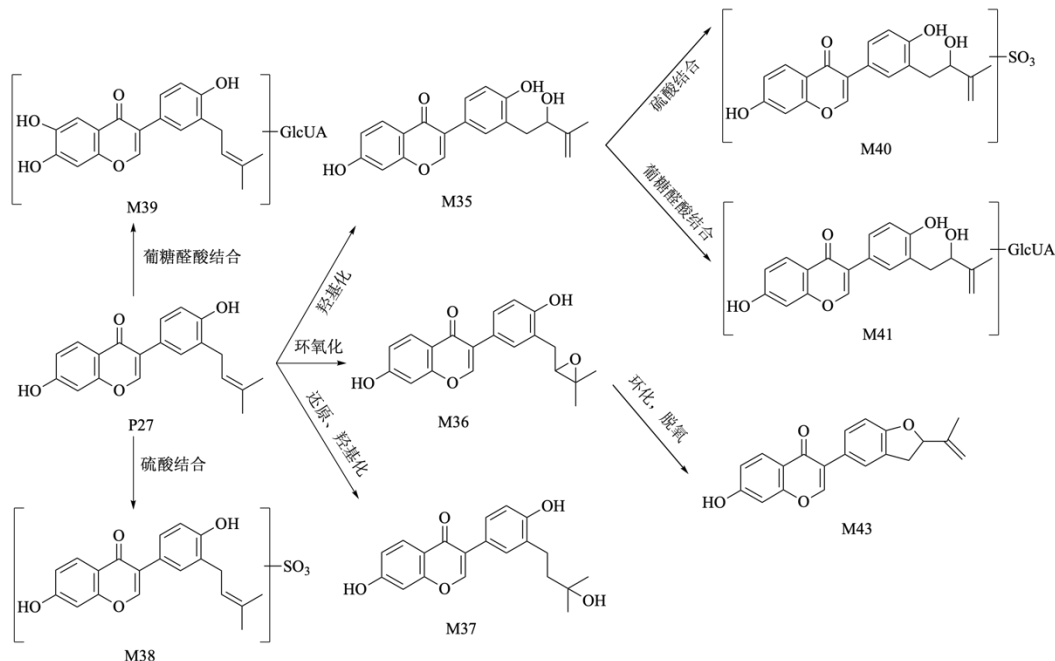


图 5 新补骨脂异黄酮可能的代谢途径

Fig. 5 Metabolic pathways of neobavasioflavone

内可经肠道菌群的作用脱葡萄糖基化转化成相应的苷元补骨脂素和异补骨脂素^[20], 进而发生氧化、还原、葡萄糖醛酸化等一系列反应。M51~M60 为补骨脂素 (P14) 的代谢产物。M51 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 203.034 0, 相较 P14 高 16, 确定分子式为 $C_{11}H_6O_4$, 存在碎片 m/z 175.038 2 $[M+H-CO]^+$, 147.043 6 $[M+H-2CO]^+$, 与 P14 的裂解规律一致, 鉴定其为补骨脂素羟基化代谢物。M56 的准

分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 221.044 0, 相较 M51 高 18, 存在碎片 m/z 203.033 4 $[M+H-H_2O]^+$ 、175.039 6 $[M+H-H_2O-CO]^+$, 鉴定 M56 是 M51 水合反应后的代谢产物。M56 进一步在体内发生还原反应则产生代谢产物 M57, 发生羟基化反应则产生代谢产物 M58。根据上述代谢规律, 推测补骨脂素在体内的代谢途径如图 6 所示。

3.2.3 萜类成分的代谢产物及途径分析 大鼠血

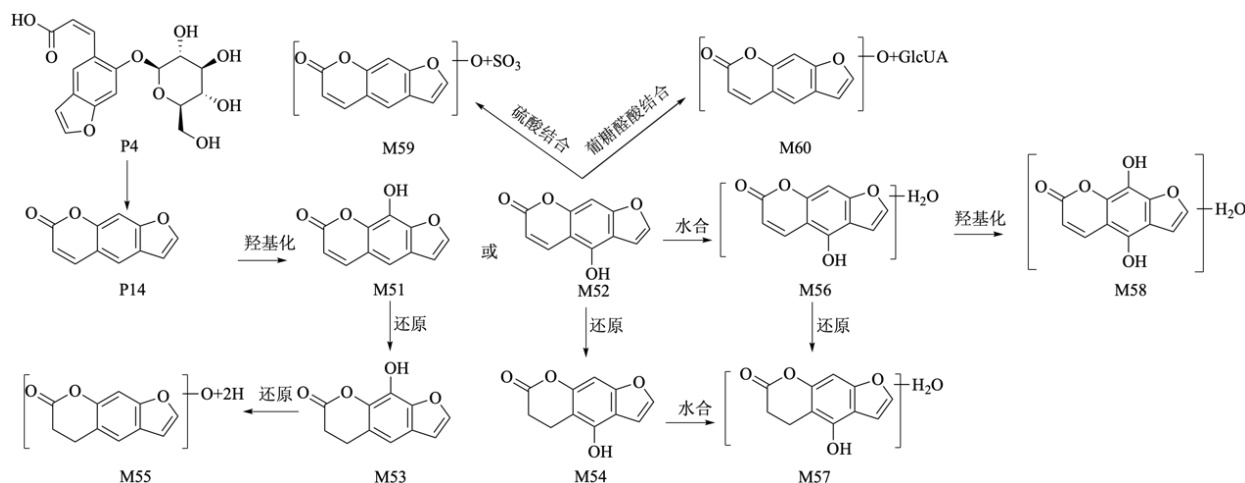


图 6 补骨脂素可能的代谢途径

Fig. 6 Metabolic pathways of psoralen

浆、尿液、粪便中检测到的萜类成分主要源于木香, 去氢木香内酯和木香烯内酯都是倍半萜类成分, 但是其在体内发生的代谢反应并不相同, M64-M74 为去氢木香内酯 (P24) 的代谢产物, M75-M79 为木香烯内酯 (P25) 的代谢产物。根据文献报道^[21], 去氢木香内酯在大鼠体内主要发生 I 相反应, 包括羟基化、水合、脱氢、脱水。P24 进入大鼠体内后连续 2 次羟基化形成 M64、M66, 连续发生 2 次水合反应形成 M67、M69, 连续发生 2 次脱氢形成 M70、M72。M74 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 392.153 4, 确定其分子式为 $C_{20}H_{25}NO_5S$, 且存在碎片 m/z 185.132 4 $[M+H-NAC-H_2O]^+$ 、157.099 8 $[M+H-NAC-H_2O-CO]^+$, 与 P24 的裂解规律一致, 鉴定 M74 为去氢木香内酯与乙酰半胱氨酸结合的代谢产物。根据上述代谢规律, 推测去氢木香内酯在体内的代谢途径见图 7。木香烯内酯主要发生 II 相反应, 包括半胱氨酸结合形成 M76、乙酰半胱氨酸结合形成 M77、谷胱甘肽结合形成 M79, 与文献报道的木香烯内酯在体内可能发生的代谢途径相同^[22]。

4 讨论

本实验通过 UPLC-Q-TOF/MS 技术对 JPYCS

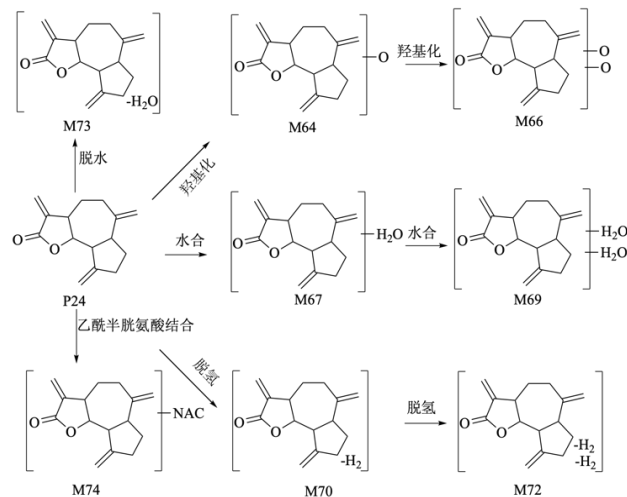


图 7 去氢木香内酯可能的代谢途径

Fig. 7 Metabolic pathways of dehydrocostuslactone

给药后进入体内的原型成分和代谢产物进行检视, 共检视出 34 个原型成分和 79 个代谢产物, 包括黄酮类、香豆素、萜类和皂苷类成分, 在体内的代谢反应主要为氧化、还原、甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸结合等。

JPYCS 是通过多成分、多靶点发挥治疗 UC 的作用。现代药理研究发现, 黄酮类成分可以诱导保

护性细胞因子和酶,通过调节芳香烃受体来增强抗炎作用^[23]。毛蕊异黄酮、芒柄花素是黄芪中主要的黄酮类成分,可经羟基化、脱羟基反应进行相互转化^[24]。本实验发现,芒柄花素在体内能够发生硫酸结合、葡糖醛酸结合等反应,继而以尿液的形式排出体外。毛蕊异黄酮及其葡萄糖苷也是黄芪中的主要黄酮类成分之一,但其原型成分并未在本实验生物样品检测到,可能与毛蕊异黄酮及其葡萄糖苷在体内代谢迅速有关^[25]。

香豆素类成分主要来源于补骨脂,补骨脂在 UC 的临床治疗中为高频用药,补骨脂素能减少肝脏胆汁酸合成及其在结肠处的聚集,从而改善胆汁酸对结肠的损伤^[26]。本实验发现,补骨脂素主要发生的代谢反应有氧化、还原、水合、硫酸结合、葡糖醛酸结合等,而补骨脂苷只以原型形式被检测到,推测补骨脂苷在体内脱糖基转化为补骨脂素,对肠道损伤发挥保护作用。

萜类成分主要来源于木香,有研究表明,大鼠给药木香后,木香烯内酯和去氢木香内酯会在结肠处积累,改善肠道菌群均匀性和多样性,木香烯内酯还可通过抑制 HIF-1 α 介导的糖酵解调节 Th17 细胞的分化来缓解 UC 的治疗^[27-28]。本实验中,在体内不仅检测到去氢木香内酯和木香烯内酯的原型成分,在血浆、尿液中也检测到其多种形式的代谢产物。推测木香烯内酯和去氢木香烯内酯可能是 JPYCS 发挥 UC 药效的重要成分。

皂苷类成分是黄芪中的主要活性成分。其中,黄芪皂苷 IV 能够预防和改善 DSS 诱导 UC 发生的氧化应激损伤^[29]。本实验在给药组血浆、尿液、粪便组中均检测到了原型成分黄芪皂苷 IV,但并未识别到相关代谢产物,黄芪中其他皂苷类原型成分也未被检测到。有研究表明黄芪皂苷 I~III 和黄芪甲苷可在人源肠道菌群中代谢转化^[30],推测是由于皂苷类化学成分的相对分子质量较大,口服给药后吸收率较低,导致在实验生物样品中含量低,难以被检测到;也可能与本实验的生物样品前处理方法导致该类成分的回收率较低有关,应进一步优化生物样品的前处理方法;排泄途径能有效反映药物作用方式,药物及其代谢产物主要经肾脏从尿液中排出或经胆汁从粪便排出,胆汁中的代谢产物易富集^[31],因此后续应增加胆汁中代谢成分的鉴定。

本研究采用 UPLC-Q/TOF-MS 技术,表征了 JPYCS 给药后在体内的移行成分,后期可基于本实

验提供的物质基础继续研究 JPYCS 体内发挥药理活性的作用机制,促进其更广泛的临床应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Baumgart D C, Sandborn W J. Inflammatory bowel disease: Clinical aspects and established and evolving therapies [J]. *Lancet*, 2007, 369(9573): 1641-1657.
- [2] 刘杰民,黄盛文,董菲洛,等. 健脾益肠散合固本保元腹袋治疗溃疡性结肠炎的疗效及机制 [J]. 吉林中医药, 2011, 31(1): 42-43.
- [3] 蔺晓源,李开杨,管洁,等. 健脾益肠散对溃疡性结肠炎大鼠 NLRP3 信号通路 IL-1 β 、IL-18 表达的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(1): 117-121.
- [4] 张文秀,蔺晓源,刘金国,等. 健脾益肠散对溃疡性结肠炎大鼠 TNF- α 、NF- κ Bp65 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(6): 1296-1298.
- [5] 蔺晓源,徐菲,张嘉伦,等. 健脾益肠散对溃疡性结肠炎大鼠 CD86 和 ICAM-1 表达的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(11): 1321-1325.
- [6] 刘杰民,蔺晓源,文中群,等. 健脾益肠散对溃疡性结肠炎大鼠 CD80、LFA-1 表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 114-116.
- [7] 蔺晓源,余星,雷贵玥,等. 健脾益肠散对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 HSP70 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 91-96.
- [8] 蔺晓源,宁杭,李开杨,等. 健脾益肠散对溃疡性结肠炎大鼠 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(16): 154-161.
- [9] Xu Z X, Chen W C, Deng Q C, et al. Flaxseed oligosaccharides alleviate DSS-induced colitis through modulation of gut microbiota and repair of the intestinal barrier in mice [J]. *Food Funct*, 2020, 11(9): 8077-8088.
- [10] Mai C T, Wu M M, Wang C L, et al. Palmatine attenuated dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis via promoting mitophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation [J]. *Mol Immunol*, 2019, 105: 76-85.
- [11] 肖伟,张新庄,曹亮,等. 基于功效成分群的中成药全过程质量控制体系探索 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(9): 743-747.
- [12] 王喜军. 中药及中药复方的血清药物化学研究 [J]. 世界科学技术, 2002, 4(2): 1-4.
- [13] 黄楷迪,朱西杰,牛阳,等. 复方蜥蜴散大鼠血浆、尿液、胆汁、粪便中代谢产物的鉴定 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 678-686.
- [14] Yang X D, Yang Y Y, Ouyang D S, et al. A review of biotransformation and pharmacology of ginsenoside compound K [J]. *Fitoterapia*, 2015, 100: 208-220.

- [15] 任慧, 郭盛, 张祎盈, 等. 补肺活血胶囊大鼠体内代谢产物鉴定及代谢途径分析 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1051-1063.
- [16] 魏雅芹, 王天云, 李雅婷, 等. UPLC-Q/TOF-MS/MS 法分析鉴定夏佛塔苷在小鼠体内的代谢产物 [J]. 药学报, 2022, 57(9): 2811-2820.
- [17] 刘雪艳, 查代君. 黄酮类活性成分的代谢研究进展 [J]. 福建医科大学学报, 2021, 55(4): 358-366.
- [18] Shi X W, Liu M, Zhang M, *et al.* Identification of *in vitro* and *in vivo* metabolites of isoimperatorin using liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2013, 141(1): 357-365.
- [19] Wang P L, Yao Z H, Zhang F X, *et al.* Identification of metabolites of *Psoraleae Fructus* in rats by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 112: 23-35.
- [20] Wang Y F, Liu Y N, Xiong W, *et al.* A UPLC-MS/MS method for *in vivo* and *in vitro* pharmacokinetic studies of psoralenoside, isopsoralenoside, psoralen and isopsoralen from *Psoralea corylifolia* extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 609-617.
- [21] Tian Y Y, Ma B B, Liu C, *et al.* Integrated solid-phase extraction, ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry, and multidimensional data-mining techniques to unravel the metabolic network of dehydrocostus lactone in rats [J]. *Molecules*, 2022, 27(22): 7688.
- [22] Peng Z X, Wang Y, Gu X, *et al.* Study on the pharmacokinetics and metabolism of costunolide and dehydrocostus lactone in rats by HPLC-UV and UPLC-Q-TOF/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(10): 1325-1334.
- [23] Márquez-Flores Y K, Villegas I, Cárdeno A, *et al.* Apigenin supplementation protects the development of dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis by inhibiting canonical and non-canonical inflammasome signaling pathways [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 30: 143-152.
- [24] 吴励萍, 张祎盈, 冯一帆, 等. 杞菊景明颗粒在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中代谢产物的鉴定 [J]. 中成药, 2022, 44(6): 1725-1731.
- [25] 杨妮, 孙韬华, 黄凤华, 等. UPLC-MS/MS 法同时检测大鼠血浆中参芪扶正注射液主要成分的含量及其药动学 [J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(12): 1250-1255.
- [26] 周植星. 补骨脂治疗溃疡性结肠炎活性物质筛选及机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2020.
- [27] Lv Q, Xing Y, Dong D, *et al.* Costunolide ameliorates colitis via specific inhibition of HIF1 α /glycolysis-mediated Th17 differentiation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 97: 107688.
- [28] Yu Z W, Xie Y, Huang Z C, *et al.* Study of the therapeutic effect of raw and processed *Vladimiriae Radix* on ulcerative colitis based on intestinal flora, metabolomics and tissue distribution analysis [J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153538.
- [29] Zhong Y B, Liu W J, Xiong Y X, *et al.* Astragaloside IV alleviates ulcerative colitis by regulating the balance of Th17/Treg cells [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154287.
- [30] 孟欣桐, 乐世俊, 杨智睿, 等. 黄芪皂苷类成分在人源肠道菌群中生物转化特征研究 [J]. 食品与药品, 2018, 20(3): 161-167.
- [31] 王国宏, 贾璐, 王世伟, 等. 黄芪建中汤在大鼠胆汁中代谢产物的鉴定 [J]. 中草药, 2021, 52(19): 5827-5835.

[责任编辑 王文倩]