

瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的体内代谢产物鉴定比较分析

张潇予^{1,2,3}, 夏凯柔^{1,3}, 宋雪瑜³, 刘培³, 刘玉萍², 刘谊民^{1,2}, 陈彦^{2*}, 张黄琴^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中医药研究院 中药组方与微生态研究中心, 江苏 南京 210028

3. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 研究瓜蒌 *Trichosanthis Fructus*、瓜蒌皮 *Trichosanthis Pericarpium*、瓜蒌子 *Trichosanthis Semen* 提取液在大鼠体内的代谢特征异同。方法 采用超高效液相色谱-线性离子阱-静电轨道阱串联质谱 (UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS) 采集瓜蒌、瓜蒌皮及瓜蒌子提取液及大鼠 ig 各提取液后的血浆、胆汁、尿液、粪便的多级质谱信息, 利用质量亏损过滤技术进行代谢产物鉴定及代谢途径分析。结果 在 ig 瓜蒌、瓜蒌皮和瓜蒌子提取液的大鼠体内分别鉴定到 37、38、31 种原型成分, 其中, ig 不同提取液的大鼠体内均鉴定到槲皮素、木犀草素、柚皮素、葫芦素 D、腺苷、苯丙氨酸等, 而芦丁、山柰酚、葫芦素 B 等仅在 ig 瓜蒌、瓜蒌皮提取液的大鼠体内被鉴定到。对共同鉴定到的芹菜素、橘红素、异槲皮苷、槲皮素和葫芦素 D 进行进一步的代谢产物鉴定, 涉及的相关代谢产物有 36 种, 主要代谢途径包括甲基化、羟基化、葡萄糖醛酸化、硫酸化等。值得注意的是, 虽然代谢产物的数量和种类几近相同, 但在生物样品中的分布却有差异。结论 系统地鉴定了瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的成分及在大鼠体内的原型成分, 并对芹菜素、橘红素、异槲皮苷、槲皮素和葫芦素 D 体内的代谢产物及代谢过程进行分析, 阐明了三者的多元成分差异及其体内代谢特征, 为进一步探讨其药动学行为及药效物质基础差异提供了参考, 为瓜蒌资源的充分利用与临床合理用药提供了思路。

关键词: 瓜蒌; 瓜蒌皮; 瓜蒌子; UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS; 代谢产物; 芹菜素; 橘红素; 异槲皮苷; 槲皮素; 葫芦素 D

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)20-6845-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.20.003

Identification and comparative analysis of metabolites in rats after oral administration of *Trichosanthis Fructus*, *Trichosanthis Pericarpium* and *Trichosanthis Semen*

ZHANG Xiaoyu^{1, 2, 3}, XIA Kairou^{1, 3}, SONG Xueyu³, LIU Pei³, LIU Yuping², LIU Yimin^{1, 2}, CHEN Yan², ZHANG Huangqin^{1, 2, 3}

1. State Key Laboratory on Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Multi-component of Traditional Chinese Medicine (TCM) and Microecology Research Center, Jiangsu Province Academy of TCM, Nanjing 210028, China

3. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To investigate the similarities and differences in metabolic characteristics of Gualou (*Trichosanthis Fructus*), Gualoupi (*Trichosanthis Pericarpium*), and Gualouzi (*Trichosanthis Semen*) extracts in rats after oral administration. **Methods** The ultra-high performance liquid chromatography-LTQ Orbitrap mass spectrometry (UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS) was applied to collect multi-level mass spectrometry fragment information of *Trichosanthis Fructus*, *Trichosanthis Pericarpium*, and *Trichosanthis Semen*.

收稿日期: 2024-03-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82104348); 国家自然科学基金资助项目 (82274404); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20210694, BK20201403); 江苏省科研与实践创新计划项目 (SJCX22_0801, SJCX22_0855)

作者简介: 张潇予, 女, 硕士研究生。E-mail: cauchy666zhang@163.com

*通信作者: 张黄琴, 女, 讲师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: 520002@njucm.edu.cn

陈彦, 研究员, 从事中药质量控制及其制剂研究。E-mail: ychen202@hotmail.com

After the administration, plasma, bile, urine, and feces were qualitatively analyzed and the metabolites were identified by mass defect filter (MDF). **Results** A total of 38, 39, and 33 prototype components were identified in rats with different extract solutions of *Trichosanthis Fructus*, *Trichosanthis Pericarpium*, and *Trichosanthis Semen*, respectively. Quercetin, luteolin, naringin, cucurbitacin D, adenosine, and phenylalanine were identified jointly in rats with different extract solutions. However, rutin, kaempferol and cucurbitacin B were only identified in rats that were intragastric with *Trichosanthis Fructus* and *Trichosanthis Pericarpium* extract. In addition, further metabolites were identified for apigenin, tangerine, isoquercetin, quercetin and cucurbitacin D, and 36 related metabolites were involved. The *in vivo* main metabolic pathways included methylation, hydroxylation, gluconylation, sulfation. It was worth noting that although the number and types of metabolites were almost the similar, the distribution in biological samples was different. **Conclusion** This study systematically identified the components and the metabolites information of *Trichosanthis Fructus*, *Trichosanthis Pericarpium* and *Trichosanthis Semen* and clarified their multiple component differences and metabolic characteristics *in vivo*. This study provided a reference for further study of pharmacokinetic behavior and pharmacodynamic material basis differences, and provided ideas for the full utilization of *Trichosanthis Fructus* resources and rational clinical drug use.

Key words: *Trichosanthis Fructus*; *Trichosanthis Pericarpium*; *Trichosanthis Semen*; UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS; metabolites; apigenin; tangeretin; isoquercetin; quercetin; cucurbitacin D

瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子分别为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 或 双边栝楼 *T. rosthornii* Harms 的干燥成熟果实、果皮和种子。瓜蒌清热涤痰、宽胸散结、润燥滑肠；瓜蒌皮清热化痰、利气宽胸；瓜蒌子润肺化痰、滑肠通便。现代名老中医在临床开方时也考虑加入瓜蒌或瓜蒌皮或瓜蒌子以发挥其清热化痰之效^[1-3]。瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子三者有相近的药效，这或许与三者具有许多共同成分密切相关。由于瓜蒌不易保存，在临床有以不同配伍比例的瓜蒌皮-瓜蒌子代替瓜蒌使用的现象^[4]。瓜蒌包含瓜蒌皮和瓜蒌子，但其并不等于瓜蒌皮与瓜蒌子的简单相加，由于部位的不同，药效也有所偏重。有研究指出^[5-6]，瓜蒌长于治疗结胸痞满、乳痈等症；瓜蒌皮具有改善心血管疾病、胸闷胁痛的功效；而对于燥咳痰黏、肠燥便秘等症，瓜蒌子为首选。同时，有报道显示^[7]，虽然瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中含有诸多相同的成分，但也有一些成分例如异栝楼仁二醇，仅在瓜蒌子中鉴定到。因此，尽管目前治疗部分疾病时瓜蒌皮、瓜蒌子与瓜蒌之间可互为替用，但三者药效有所偏重，对三者药效物质基础的异同鲜有探讨^[8-9]。

中药成分复杂多样，其药效物质基础难以确定，近些年的研究表明，基于体内代谢过程的药效物质探索是一种研究药效成分的常用方法^[10-11]。中药口服进入体内一是在肝脏被代谢，而后一部分通过胆汁流入肠道，另一部分进入血液分布到身体各处，最终通过尿液、粪便排出体外；二是直接进入肠道被肠道菌群及其酶代谢，通过“肝肠循环”入血吸收又分布，最终排出体外，因此中药发挥药效与其在体内吸收、

分布、代谢、排泄（即 ADME）密切相关，研究瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子在体内的代谢过程对于探索其产生药效差异的物质基础具有重要意义^[12-14]。

液质联用技术由于其高灵敏度、高选择性的特点，已成为研究体内代谢的最常用的手段^[15]。线性离子阱-静电轨道阱串联质谱（LTQ-Orbitrap-MS）技术能够得到多级质谱信息，且具有高分辨率、高质量准确度的特点，适用于中药代谢产物的鉴定研究^[16-18]。Metworks 及 Mass Frontier 能够辅助代谢产物的结构鉴定，使质谱数据的解析更加快速、便捷。因此，本研究采用超高效液相色谱-线性离子阱-静电轨道阱串联质谱联用技术（UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS），对瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中的化学成分及三者在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中的原型药物鉴定分析，进一步对其主要代谢产物鉴定分析，以期探索瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子药效偏重的物质基础提供数据支撑，为瓜蒌系列药材的质量控制、临床合理用药提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Ulti Mate 3000 型超高效液相色谱仪（美国 Thermo 公司）；LTQ-Orbitrap Velos Pro 质谱仪（美国 Thermo 公司）；Xcalibur 3.0、Metworks 1.3 及 Mass Frontier 7.0 分析软件（美国 Thermo 公司）；GENTRI VAP 抗酸型离心浓缩仪（北京照升行仪器设备有限公司）；Anke GL-16GII 型离心机（上海安亭科学仪器厂）；Milli-Q 超纯水系统（美国 Millipore 公司）；WH-微型涡旋混合仪（上海沪西分析仪器厂有限公司）；MS105、ML204 电子分析天平 [梅特勒-托利

多仪器(上海)有限公司]; XO25-12DT 超声波清洗机(南京先欧仪器制造有限公司)。

1.2 药物及试剂

实验用瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子采自安徽省农科院瓜蒌品种选育与示范基地,批号为 WL20211117,经安徽省农业科学院园艺研究所董玲研究员鉴定、南京中医药大学刘培研究员复核为葫芦科栝楼属植物栝楼 *T. kirilowii* Maxim. 的果实、果皮及种子。

乙腈(HPLC 级,德国 Merck 公司);甲醇(HPLC 级,德国 Merck 公司);甲酸(阿拉丁试剂公司);超纯水(美国 Millipore 公司);其他试剂均为分析纯。

对照品葫芦素 D(批号 DST220118-081)、山柰酚(批号 DSTDS005601)购自成都德思特生物技术有限公司;对照品橘红素(批号 lw16011401)、柚皮素(批号: lw200109100)、对照品葫芦素 E(批号 lw16101901)购自南京良纬生物科技有限公司;对照品芹菜素(批号 QCS20141104)、槲皮素(批号 HPS20151226)、芦丁(批号 MXCS20161208)、木犀草素(批号 MXCS20161208)、山柰素(批号 SNS20200613)购自南京春秋生物有限公司;对照品异槲皮苷(批号 250004-202011)、木犀草苷(批号 130014-202010)购自上海鸿永生物科技有限公司;对照品葫芦素 B(批号 Z02M7X10137)购自上海源叶生命科技有限公司,以上对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量(200 ± 20) g,由南通大学提供,合格证号 SCXK(京)2019-0001,动物伦理经江苏省中医药研究院实验动物中心批准(批号 AEWC-20220105-182),实验操作者经江苏省实验动物协会专业技能培训(培训记录证号 220213095)。每笼 5 只饲养,置于室温(22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度(60 ± 5)%、光照/黑暗(12 h/12 h)的环境下,并适应性饲养 1 周。

2 方法

2.1 瓜蒌、瓜蒌皮及瓜蒌子动物给药药液的制备

分别称取适量干燥后的瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子药材,加入 8 倍量的水,浸泡 0.5 h 后,煎煮 2 次,每次 1 h。药渣再用 8 倍量的 80%乙醇煮沸提取 1 h,提取 2 次。将水提液及醇提液合并后浓缩,浓缩至生药 1 g/mL,冷冻保存备用。

2.2 动物分组及给药

SD 大鼠 33 只,随机分为空白组及 3 个给药组(瓜蒌组、瓜蒌皮组、瓜蒌子组),空白组 6 只,每

个给药组 9 只,各给药组随机分为血浆组、胆汁组、尿液/粪便组,每组 3 只。瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子给药剂量为 5 g/(kg $\cdot$ d)(按人日服剂量进行大鼠等效剂量 5 倍量换算^[19]),给药体积为 10 mL/kg。分别连续 ig 3 d,空白组给予等体积生理盐水。

2.3 生物样品采集

末次给药前禁食不禁水 12 h。血浆组大鼠末次给药后 40 min 及 1、2、4、6、8、12 h,进行眼眶取血,置于预先涂有 1%肝素钠生理盐水的离心管,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min (3 000 r/min),取上清液作为血浆样品。胆汁组大鼠用乌拉坦麻醉(500 g/L, 2.33 mL/kg),行胆管插管术,给药后收集 10 h 内胆汁。尿液/粪便组大鼠给药后置于代谢笼中,收集 0~6 h、6~12 h、12~24 h 的尿液和粪便。样品均置于 -80°C 下保存。

2.4 生物样品前处理

2.4.1 血浆样品供试液的制备 将不同时间点血浆样品等体积混合均匀,取 500 μL 混合样品,加入 3 倍体积甲醇,涡旋 1 min,超声 2 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min (13 000 r/min),取上清液,离心浓缩,以 100 μL 甲醇复溶,涡旋 3 min,超声 2 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min (13 000 r/min),取上清液,即得血浆样品供试液。

2.4.2 胆汁样品供试液的制备 取 200 μL 胆汁样品,按“2.4.1”项下方法制备胆汁样品供试液。

2.4.3 尿液样品供试液的制备 将不同时间点尿液样品等体积混合均匀,取 500 μL 混合样品,按“2.4.1”项下方法制备尿液样品供试液。

2.4.4 粪便样品供试液的制备 取碾碎混匀的粪便 0.5 g,加入 3 mL 甲醇后,涡旋 3 min,超声提取 30 min,沉淀蛋白,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min (13 000 r/min),取上清液,离心浓缩。以 200 μL 甲醇复溶,涡旋 3 min,超声 2 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min (13 000 r/min),取上清液,即得粪便样品供试液。

2.5 药材供试品溶液的制备

各药液以 70%乙醇稀释,经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过后,取续滤液作为供试品溶液。

2.6 对照品溶液的制备

取干燥至恒定质量的对照品适量,精密称定,以甲醇-水(8:2)溶解并定容,配制成木犀草苷、芦丁、异槲皮苷、槲皮素、木犀草素、柚皮素、芹菜素、山柰酚、橘红素、山柰素、葫芦素 B、葫芦素 D、葫芦素 E 的对照品储备液,将对照品溶液按一定比例混合,制成混合对照品储备液,通过甲醇

稀释混合对照品储备液得到不同质量浓度的混合对照品溶液。

2.7 色谱与质谱条件

采用 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱(0~7 min, 95%→90% A; 7~10 min, 90%→80% A; 10~12 min, 80% A; 12~14 min, 80%→55% A; 14~21 min, 55%→20% A; 21~27 min, 20%→0 A; 27~28.5 min, 0→95% A; 28.5~30 min, 95% A), 体积流量 0.4 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样量 2 μL。

采用电喷雾离子源(ESI), 正离子扫描模式测定, 扫描范围 *m/z* 50~1 000, 采集时间为 0~30 min。主要质谱参数为蒸发器温度 350 ℃, 毛细管温度 350 ℃, 辅助气流 15 kPa, 鞘气流 40 kPa, 喷雾电

压 3.5 V, 源电流 100 μA。数据处理采用 Networks 1.3 和 Mass Frontier 7.0 分析软件。

3 结果与分析

3.1 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的成分及大鼠体内的原型成分鉴定

基于 Xcalibur 软件, 结合瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取物化学成分数据库信息及对照品、提取物供试品溶液中各成分的保留时间、质荷比、二级质谱裂解碎片, 对 3 种提取液所含成分及给药后大鼠体内的原型成分进行鉴定分析。在瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取物中分别鉴定出 40、41、38 种成分。将 ig 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子大鼠的血浆、胆汁、尿液、粪便质谱图与各空白组生物样品质谱图进行比对, 分别在大鼠体内鉴定得到 37、38、31 种原型成分, 结果如表 1 所示。

表 1 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中主要成分及其在大鼠体内的原型药物鉴定
Table 1 Identification of major components in *Trichosanthis Fructus*, *Trichosanthis Pericarpium*, and *Trichosanthis Semen* and their prototype components in rats

序号	化合物	分子式	<i>t_R</i> / min	离子模式	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	误差 (×10 ⁻⁶)	药材来源			大鼠体内来源		
								瓜蒌	瓜蒌皮	瓜蒌子	瓜蒌	瓜蒌皮	瓜蒌子
1	木犀草苷 ^[20]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	12.13	[M+H] ⁺	449.107 0	449.102 6	-9.80	+	+	+	P、U、F	P、U	P、U
2	芦丁 ^[21]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	12.16	[M+H] ⁺	611.160 7	611.159 5	-1.96	+	+	+	P	P、B、F	/
3	异槲皮苷 ^[22]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	12.59	[M+H] ⁺	465.102 8	465.098 4	-9.46	+	+	+	B、F	P、B、F	B、F
4	槲皮素 ^[22]	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	15.22	[M+H] ⁺	303.049 0	303.046 7	-7.59	+	+	+	P、B、F	P、B、F	B、F
5	木犀草素 ^[20]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	15.15	[M+H] ⁺	287.054 2	287.051 8	-8.36	+	+	+	P、F	P、U	P、U、F
6	柚皮素 ^[23]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	15.54	[M+H] ⁺	273.074 9	273.072 9	-7.32	+	+	+	P、B、F	P、U、F	P、U、F
7	芹菜素 ^[20]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	15.70	[M+H] ⁺	271.060 1	271.058 3	-6.64	+	+	+	P、B、U	P、U、F	P、B、U
8	山柰酚 ^[21]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	15.90	[M+H] ⁺	287.054 5	287.051 8	-9.41	+	+	+	U、F	U、F	/
9	橘红素 ^[24]	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	17.11	[M+H] ⁺	373.126 8	373.124 3	-6.70	+	+	+	P、B、U	P、U	P、B、U
10	山柰素 ^[25]	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	17.38	[M+H] ⁺	301.070 1	301.067 4	-8.97	+	+	+	B	U	B、U
11	香叶木 ^[26]	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	13.99	[M+H] ⁺	301.070 6	301.068 2	-8.17	+	+	-	B、F	B、F	/
12	香叶木素-7- O-β-D-葡萄糖 苷 ^[26]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	12.11	[M+H] ⁺	463.123 4	463.119 4	-8.64	+	+	+	/	/	/
13	柯伊利素-7- O-β-D-葡萄糖 苷 ^[27]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	14.02	[M+H] ⁺	463.123 5	463.119 6	-8.40	+	+	-	/	/	/
14	葫芦素 B ^[24]	C ₃₂ H ₄₆ O ₈	16.77	[M+NH ₄] ⁺	576.353 1	576.348 8	-7.46	+	+	+	B、F	B、F	/
15	葫芦素 D [*]	C ₃₀ H ₄₄ O ₇	15.59	[M+H] ⁺	517.316 0	517.313 4	-5.03	+	+	+	P、U、F	P、F	P、F
16	葫芦素 E ^[24]	C ₃₂ H ₄₄ O ₈	17.42	[M+NH ₄] ⁺	574.337 4	574.333 1	-7.49	+	+	+	B	B、F	/
17	香草酸 ^[28]	C ₈ H ₈ O ₄	9.21	[M+H] ⁺	169.049 5	169.048 4	-6.74	+	+	+	U	B、U	/
18	香草酸-4-O- β-D-葡萄糖 苷 ^[28]	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	17.35	[M+H] ⁺	331.102 3	331.105 2	8.58	+	+	+	/	/	/
19	β-谷甾醇 ^[29]	C ₂₉ H ₅₀ O	17.62	[M+H] ⁺	415.393 4	415.397 5	9.77	-	+	+	/	P、U	P

表 1 (续)

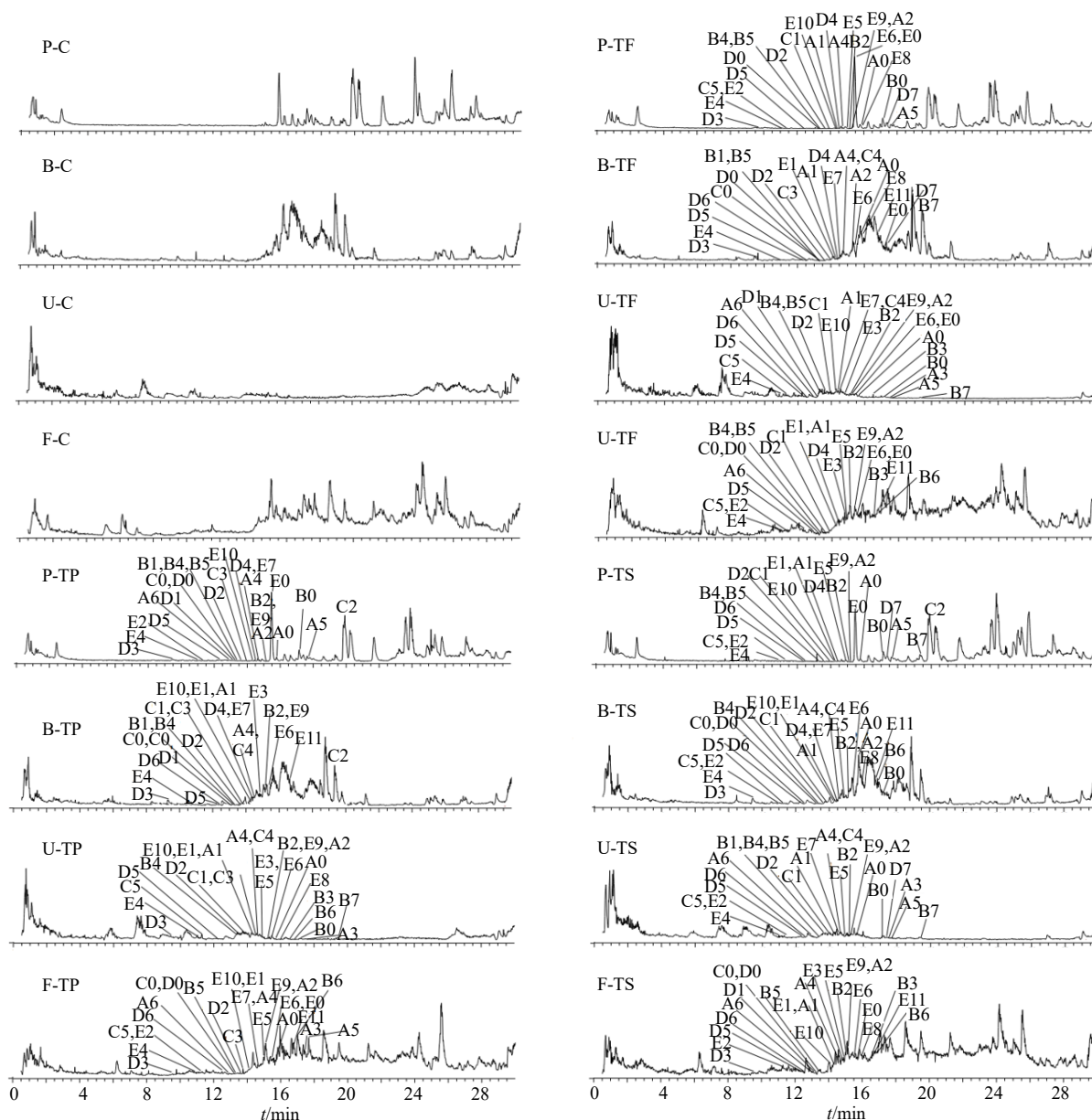
序号	化合物	分子式	<i>t</i> _R /min	离子模式	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	误差 (×10 ⁻⁶)	药材来源			大鼠体内来源		
								瓜蒌	瓜蒌皮	瓜蒌子	瓜蒌	瓜蒌皮	瓜蒌子
20	α-菠菜甾醇 ^[30]	C ₂₉ H ₄₈ O	22.51	[M+H] ⁺	413.377 8	413.375 6	-5.30	+	+	-	U、F	B、U	/
21	胸腺嘧啶核苷 ^[31]	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅	1.28	[M+H] ⁺	243.097 5	243.096 2	-5.55	+	+	+	P、U、 F	P、U、 F	U、F
22	2'-脱氧尿苷 ^[31]	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₅	0.84	[M+H] ⁺	229.081 9	229.083 4	6.55	+	+	+	P、U	P、U	P
23	腺苷 ^[28]	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	0.73	[M+H] ⁺	268.104 0	268.101 9	-7.83	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
24	黄嘌呤 ^[31]	C ₅ H ₄ N ₄ O ₂	3.48	[M+H] ⁺	153.040 7	153.040 0	-4.57	+	+	+	P、B、 U、F	B、U、 F	F
25	鸟嘌呤 ^[31]	C ₅ H ₅ N ₅ O	0.59	[M+H] ⁺	152.056 7	152.055 7	-6.58	+	+	+	P、U、 F	P、B、 F	P、B
26	2'-脱氧鸟苷 ^[31]	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	0.72	[M+H] ⁺	268.104 0	268.101 9	-7.83	+	+	+	P、B、 U	P、B、 U、F	B、U、 F
27	苯丙氨酸 ^[28]	C ₉ H ₁₁ NO ₂	1.28	[M+H] ⁺	166.086 3	166.084 9	-8.43	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
28	L-亮氨酸 ^[28]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	0.76	[M+H] ⁺	132.101 9	132.101 9	0.00	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
29	L-色氨酸 ^[31]	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	2.40	[M+H] ⁺	205.097 2	205.096 0	-5.85	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
30	异亮氨酸 ^[28]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	0.89	[M+H] ⁺	132.101 9	132.100 7	-9.08	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
31	γ-氨基丁酸 ^[31]	C ₄ H ₉ NO ₂	0.84	[M+H] ⁺	104.070 6	104.069 7	-8.65	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
32	L-蛋氨酸 ^[28]	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	0.72	[M+H] ⁺	150.058 3	150.057 1	-8.00	+	+	+	P、B、 F	P、B、 F	P、B、 U、F
33	L-脯氨酸 ^[31]	C ₅ H ₉ NO ₂	0.64	[M+H] ⁺	116.070 6	116.070 0	-5.17	+	+	+	P、U、 F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
34	L-酪氨酸 ^[28]	C ₉ H ₁₁ NO ₃	0.76	[M+H] ⁺	182.081 2	182.079 5	-9.17	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
35	L-丙氨酸 ^[31]	C ₃ H ₇ NO ₂	0.60	[M+H] ⁺	90.055 5	90.055 3	-2.22	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
36	L-苏氨酸 ^[28]	C ₄ H ₉ NO ₃	0.61	[M+H] ⁺	120.065 5	120.064 5	-8.50	+	+	+	P、U、 F	P、B、 U、F	P、B、 U
37	L-谷氨酸 ^[31]	C ₅ H ₉ NO ₄	0.64	[M+H] ⁺	148.060 4	148.059 2	-8.31	+	+	+	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、 U、F
38	L-谷氨酰胺 ^[31]	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	0.61	[M+H] ⁺	147.076 4	147.075 2	-8.30	+	+	+	P、B、 U	P、B、 U	P、B、 U
39	L-丝氨酸 ^[31]	C ₃ H ₇ NO ₃	0.59	[M+H] ⁺	106.049 9	106.048 9	-9.15	+	+	+	P、U、 F	P、B、 F	P、U、F
40	L-瓜氨酸 ^[31]	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	0.61	[M+H] ⁺	176.103 0	176.101 5	-8.35	+	+	+	P、B	P、B、 U	P、B
41	L-精氨酸 ^[28]	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.64	[M+H] ⁺	175.118 9	175.117 4	-8.85	+	+	+	P、B、 F	P、B、 U	P、B、 U、F

*与对照品比对; P-血浆, B-胆汁, U-尿液, F-粪便, 表 2 同。
*compare with reference standards; P-plasma, B-bile, U-urine, F-feces, same as table 2.

3.2 芹菜素、橘红素、异槲皮苷、槲皮素、葫芦素 D 的代谢产物鉴定与代谢途径推测

各组生物样品的总提取离子流图如图 1 所示。在共同被鉴定所得的 31 种原型成分中,以芹菜素、橘红素、异槲皮苷、槲皮素、葫芦素 D 为例,鉴定其在不同给药大鼠体内的代谢产物,以考察这些共有成分在 ig 不同药液的大鼠体内的代谢差异。通过 MetWorks 代谢物鉴定软件中的质量亏损过滤(mass defect filter, MDF)技术,除去基质中的信号干扰,

结合对照品及参考文献中的保留时间、一级、二级质谱信息,参考 Mass Frontier 软件的理论敲击功能,鉴定芹菜素(A0)、橘红素(B0)、异槲皮苷(C0)、槲皮素(D0)、葫芦素 D(E0)的代谢产物,共得到 36 种代谢产物,其中在 ig 瓜蒌提取液的大鼠生物样品中,共鉴定到 35 个代谢物,血浆中 22 个、胆汁中 24 个、尿液中 26 个、粪便中 25 个;在 ig 给予瓜蒌皮提取液的大鼠生物样品中,共鉴定到 35 个代谢物,其中血浆中 25 个、胆汁中 27 个、尿液中



C-空白组; TF-瓜蒌组; TP-瓜蒌皮组; TS-瓜蒌子; *与对照品比对。

C-control group; TF-Trichosanthis fructus group; TP-Trichosanthis Pericarpium group; TS-Trichosanthis Semen group; *compare with reference standards.

图 1 正离子模式下大鼠血浆 (P)、胆汁 (B)、尿液 (U) 和粪便 (F) 中的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms in plasma (P), bile (B), urine (U) and feces (F) in positive ion mode

27 个、粪便中 26 个；在 ig 瓜蒌子提取液的大鼠生物样品中，共鉴定到 35 个代谢物，其中血浆中 25 个、胆汁中 27 个、尿液中 26 个、粪便中 25 个。主要鉴定信息见表 2。

表 2 大鼠分别 ig 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取液后的血浆、胆汁、尿液、粪便样本中部分原型成分及其代谢产物分析
Table 2 Analysis of partial prototype components and metabolites in plasma, bile, urine and feces of rats after intragastric administration of extract of *Trichosanthis Fructus*, *Trichosanthis Pericarpium*, and *Trichosanthis Semen*

编号	<i>t</i> _R /min	离子模式	分子式	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS 碎片离子	鉴定结果	来源		
									瓜蒌	瓜蒌皮	瓜蒌子
A0	15.67	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.060 1	271.057 6	-9.22	255.636 8 [M+H-O] ⁺ , 243.099 2 [M+H-CO] ⁺ , 227.177 1 [M+H-CO ₂] ⁺	芹菜素*	P、B、U	P、U、F	P、B、U
A1	14.35	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	447.092 1	447.091 6	-1.12	271.201 8 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁺ , 243.099 9 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO] ⁺ , 227.126 0 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO-O] ⁺	A0 葡萄糖醛酸化	P、B、U、F	B、U	P、B、U、F
A2	15.17	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.055 0	287.052 7	-8.01	271.152 9 [M+H-O] ⁺ , 243.157 9 [M+H-CO] ⁺	A0 羟基化	B、U、F	P、U、F	P、B、U、F
A3	17.47	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₀ O ₈ S	351.016 9	351.013 5	-9.69	271.203 5 [M+H-SO ₃] ⁺	A0 硫酸化	U	U、F	U
A4	14.58	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273.075 7	273.074 5	-4.39	257.222 8 [M+H-O] ⁺ , 229.142 1 [M+H-CO] ⁺	A0 还原	P、B	P、B、U、F	B、U、F
A5	17.62	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₂ O ₈ S	353.032 6	353.034 0	3.97	273.052 0 [M+H-SO ₃] ⁺	A4 硫酸化	P、U	P、F	P、U
A6	12.85	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433.112 9	433.109 8	-7.16	271.167 2 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	A0 糖苷化	U、F	P、F	U、F
B0	17.10	[M+H] ⁺	C ₂₀ H ₂₁ O ₇	373.128 1	373.127 1	-2.68	358.279 3 [M+H-CH ₃] ⁺ , 357.275 6 [M+H-O] ⁺ , 297.110 5 [M+H-C ₂ H ₄ O ₃] ⁺	橘红素*	P、B、U	P、U	P、B、U
B1	13.31	[M+H] ⁺	C ₂₀ H ₂₁ O ₈	389.123 0	389.121 9	-2.83	374.361 2 [M+H-CH ₃] ⁺ , 373.271 6 [M+H-O] ⁺ , 357.275 6 [M+H-CH ₄ O] ⁺	B0 羟基化	B	P、B	U
B2	15.10	[M+H] ⁺	C ₂₀ H ₂₃ O ₇	375.143 8	375.146 6	7.46	361.281 9 [M+H-CH ₂] ⁺ , 357.275 6 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 333.239 9 [M+H-C ₂ H ₂ O] ⁺	B0 还原	P、U、F	P、B、U	P、B、U、F
B3	16.51	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₃ O ₈	403.138 7	403.138 7	0.00	373.272 8 [M+H-CH ₂ O] ⁺ , 361.281 9 [M+H-C ₂ H ₂ O] ⁺	B0 甲氧基化	U、F	U	F
B4	13.33	[M+H] ⁺	C ₁₉ H ₁₉ O ₇	359.110 7	359.112 5	5.01	345.207 6 [M+H-CH ₂] ⁺ , 341.207 6 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 330.250 1 [M+H-CH ₂ -CH ₃] ⁺	B0 去甲基化	P、U、F	P、B、U	P、B、U
B5	13.33	[M+H] ⁺	C ₁₈ H ₁₇ O ₇	345.096 8	345.095 9	-2.61	330.259 3 [M+H-CH ₃] ⁺ , 315.194 3 [M+H-CH ₂ O] ⁺	B4 去甲基化	P、B、U、F	P、F	P、U、F
B6	16.84	[M+H] ⁺	C ₁₉ H ₁₉ O ₈	375.107 4	375.110 2	7.46	357.275 6 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 347.219 0 [M+H-CO] ⁺	B0 去甲基化、羟基化	F	U、F	B、F
B7	19.42	[M+H] ⁺	C ₁₉ H ₁₉ O ₁₁ S	455.064 2	455.065 7	3.30	373.270 1 [M+H-SO ₃ H ₂] ⁺ , 355.259 5 [M+H-C ₄ H ₄ O ₃] ⁺	B6 硫酸化	B、U	U	P、U
C0	13.21	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465.102 7	465.106 5	8.17	358.257 8 [M+H-C ₄ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 303.229 1 [M+H-Glc] ⁺ , 275.162 6 [M+H-Glc-CO] ⁺	异槲皮苷*	B、F	P、B、F	B、F
C1	13.86	[M+H] ⁺	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	507.113 3	507.112 3	-1.97	465.224 0 [M+H-C ₂ H ₂ O] ⁺ , 303.190 9 [M+H-C ₂ H ₂ O-Glc] ⁺	C0 乙酰化	P、U、F	B、U	P、B、U
C2	19.82	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₃	483.113 3	483.109 1	-8.69	481.344 6 [M+H-H ₂] ⁺ , 463.347 4 [M+H-H ₂ -H ₂ O] ⁺	C0 水合	-	P、B	P
C3	13.97	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	481.097 6	481.102 3	9.77	445.286 2 [M+H-2H ₂ O] ⁺ , 421.533 5 [M+H-C ₂ H ₄ O ₂] ⁺	C0 羟基化	B	P、B、U、F	-
C4	14.61	[M+H] ⁺	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	479.118 4	479.119 5	2.30	461.315 4 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 415.254 2 [M+H-C ₂ H ₈ O ₂] ⁺	C0 甲基化	B、U	B、U	B、U

表 2 (续)

编号	t_R/min	离子模式	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS/MS 碎片离子	鉴定结果	来源		
									瓜蒌	瓜蒌皮	瓜蒌子
C5	11.25	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	449.107 8	449.105 8	-4.45	433.223 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{O}]^+$, 421.260 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$	C0 去羟基化	P、U、 F	U、F	P、B、U
D0	13.25	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	303.049 9	303.050 3	1.32	285.183 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 257.264 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$, 151.060 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^+$	槲皮素*	P、B、 F	P、B、 F	B、F
D1	13.10	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	317.065 5	317.063 6	-5.99	303.106 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2]^+$, 181.120 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3]^+$, 167.011 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3]^+$	D0 甲基化	U	P、B	F
D2	13.59	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_8$	319.044 8	319.043 0	-5.64	275.274 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$, 209.233 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2]^+$	D0 羟基化	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、U
D3	9.53	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{13}$	479.082 0	479.078 5	-7.31	303.192 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$, 153.065 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{O}_9]^+$	D0 葡萄糖醛酸化	P、B	P、B、 U、F	B、F
D4	14.45	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_{10}\text{S}$	383.006 7	383.004 0	-7.05	355.126 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 303.121 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{SO}_3]^+$	D0 硫酸化	P、B、 F	P、B	P、B
D5	12.30	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$	305.065 5	305.068 2	8.85	303.191 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2]^+$, 177.111 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3]^+$	D0 还原	B、U、 F	P、B、 U	P、B、 U、F
D6	12.49	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_6$	275.055 0	275.052 8	-8.00	257.224 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 241.141 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{O}]^+$	D0 脱 CO	B、U	B、F	P、B、 U、F
D7	17.38	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_8$	331.044 8	331.041 9	-8.76	303.193 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 285.241 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$	D0 加 CO	P、B	—	P、U
E0	15.55	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_7$	517.316 0	517.320 9	9.47	503.651 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2]^+$, 485.179 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_8]^+$, 469.289 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4\text{O}_2]^+$	葫芦素 D*	P、U、 F	P、F	P、F
E1	14.30	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_8$	533.310 9	533.311 3	0.75	519.557 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2]^+$, 501.580 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$	E0 羟基化	B、F	B、F	P、B、F
E2	11.29	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_8$	547.326 5	547.328 5	3.65	491.530 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_4\text{O}]^+$, 489.672 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2]^+$	E1 甲基化	P、F	P、F	P、B、 U、F
E3	14.80	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_{10}\text{S}$	597.272 8	597.276 7	6.53	563.860 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{O}]^+$, 553.316 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}]^+$	E0 硫酸化	U、F	B、U	F
E4	10.94	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_7$	503.300 3	503.303 4	6.16	483.247 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2]^+$, 453.343 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{O}]^+$	E0 去甲基化	P、B、 U、F	P、B、 U、F	P、B、U
E5	14.91	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_7$	489.284 6	489.288 4	7.77	453.337 7 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 451.228 0 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2]^+$	E4 去甲基化	P、F	U、F	P、B、 U、F
E6	15.46	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_6$	499.305 4	499.303 1	-4.61	483.659 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4]^+$, 443.077 3 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_2-\text{CO}]^+$	E0 脱水	B、U、 F	B、U、 F	B、F
E7	14.50	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_7$	515.300 3	515.300 1	-0.39	501.380 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2]^+$, 483.353 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_8]^+$	E0 脱氢	B、U	P、B、 U、F	B、U
E8	15.88	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_8$	559.326 5	559.330 6	7.33	533.351 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2]^+$, 525.132 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{O}]^+$	E0 乙酰化	P、B	U	B、F
E9	15.16	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7$	519.331 6	519.331 2	-0.77	517.309 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2]^+$, 501.316 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	E0 还原	P、U、 F	P、B、 U、F	P、U、F
E10	14.23	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_6$	489.321 0	489.322 8	3.68	475.226 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2]^+$, 457.342 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$	E0 脱 CO	P、U	P、B、 U、F	P、B、F
E11	16.72	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_5$	473.326 1	473.324 3	-3.80	459.231 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2]^+$, 455.315 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	E10 脱氧	B、F	B、F	B、F

3.2.1 黄酮类化合物的代谢产物鉴定 根据文献报道, Retrodeleel-Alder (RDA) 裂解和丢失中性离子(如 CO 、 CO_2 、 CH_3 、 CH_2O 等)是黄酮类物质裂解的基本途径^[32-33]。黄酮类成分主要进行葡萄糖醛酸结合、硫酸化、甲基化等 II 相反应。

化合物 A0 在 ig 瓜蒌和瓜蒌皮大鼠的血浆、胆汁、尿液、粪便中都能检测到, 其 t_R 是 15.67 min, 准分子离子峰为 m/z 271.057 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$), 具有脱去 1 分子羰基的特征碎片离子 m/z 243.069 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、B 环断裂的特征碎片离子 m/z 177.021 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 且含有 A 环未被代谢时 RDA 裂解的特征碎片 m/z 153.064 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 提示该化合物是黄酮, 如图 2 所示, 与芹菜素对照品一致^[34]。化合物 A1 的 t_R 为 14.35 min, 其准分子离子 m/z 为 447.091 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 比 A0 多 176, 产生的碎片离子 m/z 271.201 8 与 A0 的准分子离子峰相同, 二级碎片离子 m/z 243.099 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}]^+$ 、 m/z 227.126 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}-\text{O}]^+$, 与芹菜素的裂解方式相似, 推测 A1 为芹菜素葡萄糖醛酸化产物^[16]。化合物 A2 的准分子离子峰为 m/z 287.052 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 比 A0 多 16, 脱氧得到特征碎片离子 m/z 271.152 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 再脱去 1 分子羰基得到碎片离子 m/z 243.157 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 推测 A2 为芹菜素的羟基化产物。化合物 A3 的准分子离子峰为 m/z 351.013 5 $[\text{M}+$

$\text{H}]^+$, 且有二级碎片离子 m/z 271.203 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{SO}_3]^+$, 推测 A3 为芹菜素硫酸化产物^[16]。化合物 A4 的准分子离子峰为 m/z 273.074 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 比 A0 多 2, 有特征碎片离子 257.222 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{O}]^+$ 、229.142 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、179.069 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 推测 A4 为芹菜素还原产物^[35]。化合物 A5 的准分子离子峰为 m/z 353.034 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{S}$), 比 A4 多 80, 具有丢失 1 分子硫酸的碎片离子 m/z 273.052 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 推测 A5 为 A4 的硫酸化产物。化合物 A6 的准分子离子峰 m/z 433.109 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 比芹菜素大 162, 且产生脱去 $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ 的碎片离子 m/z 271.167 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 推测为芹菜素糖苷化产物^[36]。芹菜素及其代谢产物结构见图 3。

橘红素在大鼠体内主要发生还原、去甲基化、羟基化、硫酸化、甲氧基化等反应。B0 的 t_R 为 17.10

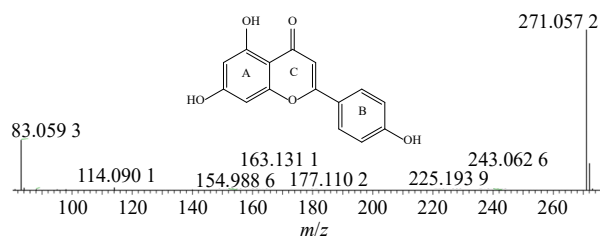


图 2 正离子模式下芹菜素对照品的 MS/MS 质谱图

Fig. 2 MS/MS spectra of apigenin under positive ion mode

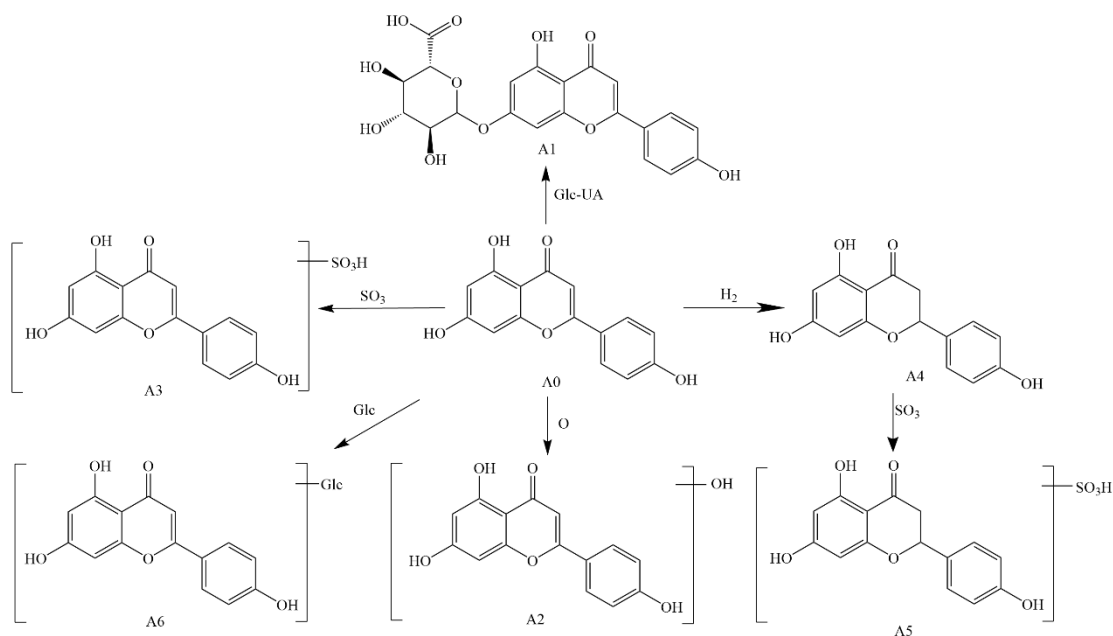


图 3 芹菜素体内代谢途径

Fig. 3 *In vivo* metabolic pathways of apigenin

min, 其准分子离子峰为 m/z 373.127 1 $[M+H]^+$ ($C_{20}H_{21}O_7$), m/z 358.179 3 $[M+H]^+$ 、357.275 6 $[M+H]^+$ 分别为母离子丢失 1 分子甲基、脱氧得到的碎片离子, 如图 4 所示, 其裂解方式与橘红素对照品相符, 具有黄酮类成分裂解的特征碎片 m/z 177.110 1 $[M+H]^+$ 、153.064 3 $[M+H]^+$, 结合文献报道^[37], 推测其为橘红素。化合物 B1 的准分子离子峰为 m/z 389.121 9 $[M+H]^+$, 比橘红素的准分子离子峰多 16, 推测分子式为 $C_{20}H_{21}O_8$, m/z 374.361 2、357.275 6 为其丢失 1 分子甲基、1 分子甲氧基的碎片离子峰, 结合 Mass Frontier 7.0 理论敲击规律, 推测该化合物是橘红素的羟基化产物。化合物 B2 在正离子模式下的分子离子峰为 m/z 375.146 6 ($C_{20}H_{23}O_7$), 与橘红素准分子离子峰相差 2, 且其具有丢失 1 分子氧的碎片离子 m/z 359.219 3 $[M+H]^+$, 推测其可能

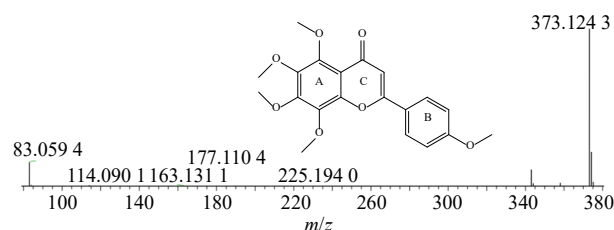


图 4 正离子模式下橘红素对照品的 MS/MS 质谱图

Fig. 4 MS/MS spectra of tangeretin under positive ion mode

为橘红素还原产物。化合物 B3 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 403.138 7, 比橘红素多 30, 推测其分子式可能为 $C_{21}H_{23}O_8$, 二级碎片显示 m/z 373.272 8 $[M+H-CH_2O]^+$, 符合裂解规律, 推测其为橘红素的甲氧基化产物。化合物 B4 的准分子离子峰为 m/z 359.112 5 $[M+H]^+$, 比 B0 小 14, 具有二级碎片离子 m/z 345.207 6 $[M+H-CH_2]^+$ 、341.207 6 $[M+H-H_2O]^+$ 、330.250 1 $[M+H-CH_2-CH_3]^+$, 推测该化合物是橘红素的去甲基化产物。化合物 B5 的准分子离子峰为 m/z 345.095 9 $[M+H]^+$ ($C_{18}H_{17}O_7$), 其二级质谱图中存在 m/z 330.259 3 (失去 1 分子 CH_3)、315.194 3 (失去 1 分子 CH_2O) 等碎片离子, 推测该化合物是橘红素的双去甲基化产物^[26]。化合物 B6 产生的准分子离子峰 m/z 375.110 2 $[M+H]^+$, 比 B0 多 2, 其碎裂方式与 B2 不同, 具有碎片离子 m/z 357.275 6 $[M+H-H_2O]^+$ 、330.219 0 $[M+H]^+$ 特征离子, 表明其裂解行为与 B4 类似, 推测是橘红素去甲基化后又发生代谢, B6 可能是橘红素的去甲基化、羟基化产物。B7 在正离子模式下产生 m/z 455.065 7 的准分子离子峰, 较之 B6 多 80, 由其相对分子质量推测出分子式为 $C_{19}H_{19}O_{11}S$, 且具有 m/z 373.270 1 $[M+H-SO_3H_2]^+$ 的碎片离子, 推测其为 B6 的硫酸化产物。橘红素及其代谢产物结构见图 5。

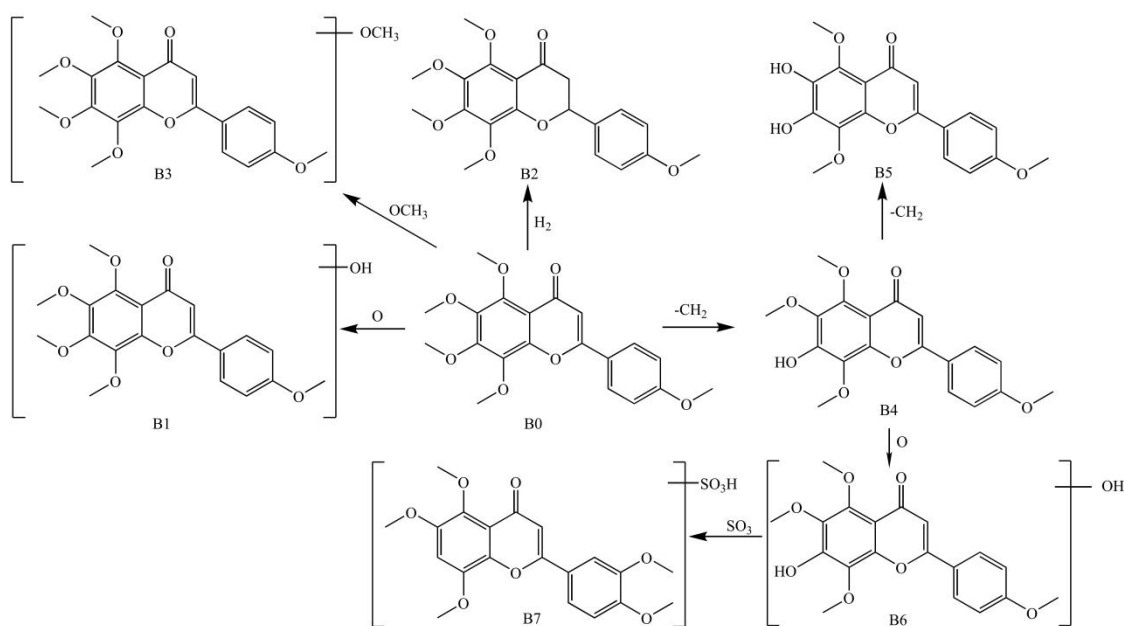


图 5 橘红素体内代谢途径

Fig. 5 *In vivo* metabolic pathways of tangeretin

化合物 C0 的准分子离子峰为 m/z 465.102 7 $[M+H]^+$, m/z 303.229 1 $[M+H]^+$ 为其丢失 1 分子葡萄糖的碎片, 如图 6 所示, 与对照品裂解方式一致, 化合物 C0 为异槲皮苷, 主要在胆汁中检测到。化合物 C1 的准分子离子峰为 m/z 507.112 3 $[M+H]^+$, 比异槲皮苷多 42, 预测其分子式为 $C_{23}H_{22}O_{13}$, 产生丢失 1 个乙酰基的碎片离子 m/z 465.224 0 $[M+H]^+$,

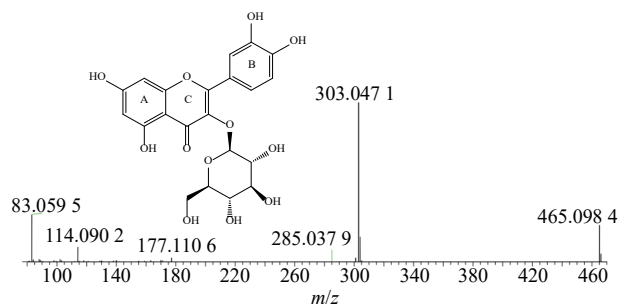


图 6 正离子模式下异槲皮苷对照品的 MS/MS 质谱图

Fig. 6 MS/MS spectra of isoquercetin under positive ion mode

故推测 C1 为异槲皮苷的乙酰化产物^[38]。化合物 C2 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 483.109 1, 比 C0 多 18, 二级碎片 m/z 481.344 6 $[M+H-H_2]^+$ 、463.347 4 $[M+H-H_2-H_2O]^+$, 推测 C2 为异槲皮苷水合产物。化合物 C3 的准分子离子峰为 m/z 481.102 3 $[M+H]^+$, 比 C0 多 16, 具有丢失 2 分子水的碎片离子 m/z 445.286 2, 推测化合物 C3 为 C0 的羟基化产物。化合物 C4 的准分子离子峰为 m/z 479.119 5 $[M+H]^+$, 比 C0 多 14, 其化学式为 $C_{22}H_{22}O_{12}$, 具有丢失 1 分子甲基的碎片离子 m/z 465.183 7 $[M+H]^+$, 以及丢失 1 分子 Glc 的碎片离子 m/z 317.210 4 $[M+H]^+$, 推测 C4 为异槲皮苷甲基化产物^[39-40]。化合物 C5 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 449.105 8, 比异槲皮苷少 16, 其化学式可能为 $C_{21}H_{20}O_{11}$, 具有丢失 1 个羟基的碎片离子 m/z 433.223 5、失去 1 个羰基的碎片离子 m/z 421.260 5, 推测其为 C0 的去羟基化产物。异槲皮苷及其代谢产物结构见图 7。

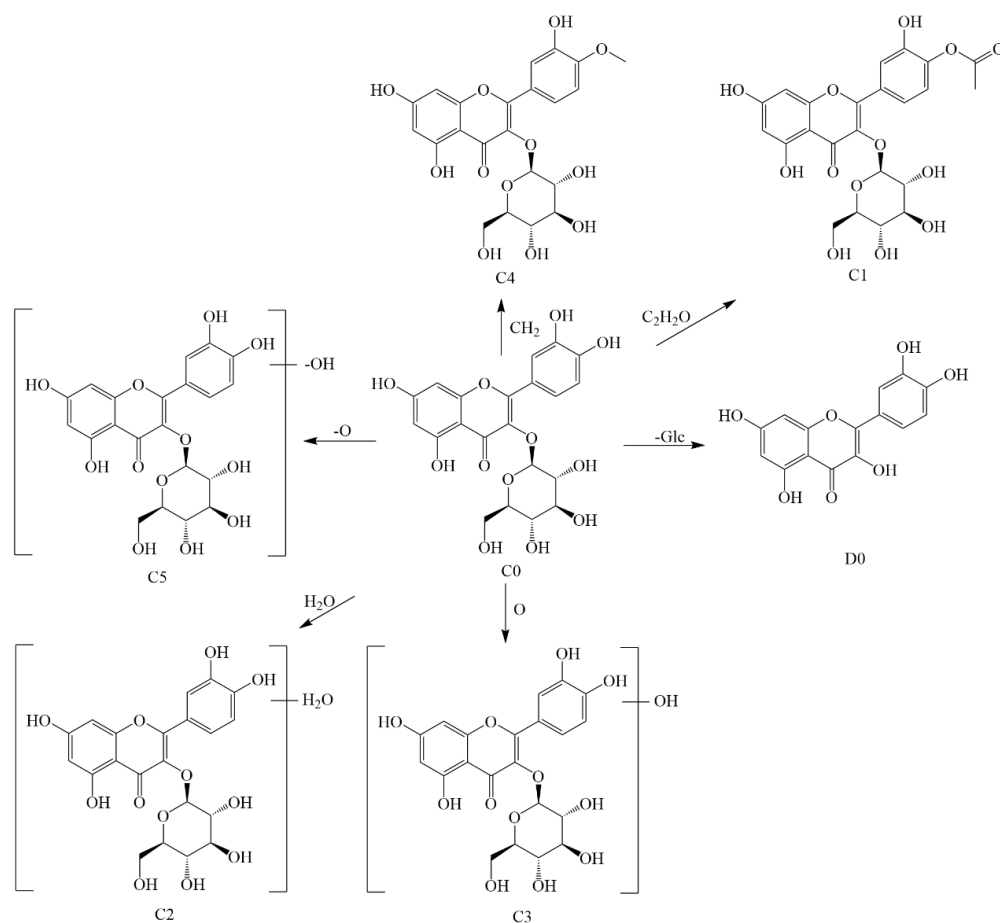


图 7 异槲皮苷体内代谢途径

Fig. 7 *In vivo* metabolic pathways of isoquercetin

化合物 D0 的准分子离子峰为 m/z 303.052 8 $[M+H]^+$, 比 C0 少 162, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$, 产生丢失 1 分子羰基和 2 分子 H 的碎片离子 m/z 273.072 6 $[M+H]^+$, 并存在 m/z 177.110 5 $[M+H]^+$, 为黄酮类化合物典型碎片离子, 如图 8 所示, 经对照品比对后, 推测 D0 为异槲皮苷去糖基化的代谢物即槲皮素^[41]。槲皮素的邻二酚羟基结构为其甲基化提供可能, 检测到 D1 的准分子离子为 m/z 317.063 6 $[M+H]^+$, 较 D0 多 14, 预测其分子式为 $C_{16}H_{12}O_7$, 产生丢失 1 分子甲基的碎片离子 m/z 303.106 7 $[M+H]^+$ 和特征碎片离子 m/z 167.011 8 $[M+H]^+$, 故推测 D1 为槲皮素的甲基化产物^[42]。化合物 D2 的准分子离子峰为 m/z 319.043 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_8$, 与 D0 相比多 16, 具有脱氧和丢失 1 分子羰基的碎

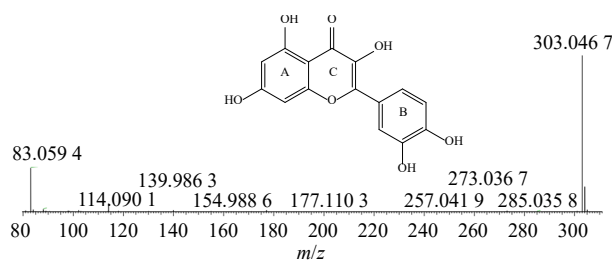


图 8 正离子模式下槲皮素对照品的 MS/MS 质谱图

Fig. 8 MS/MS spectra of quercetin under positive ion mode

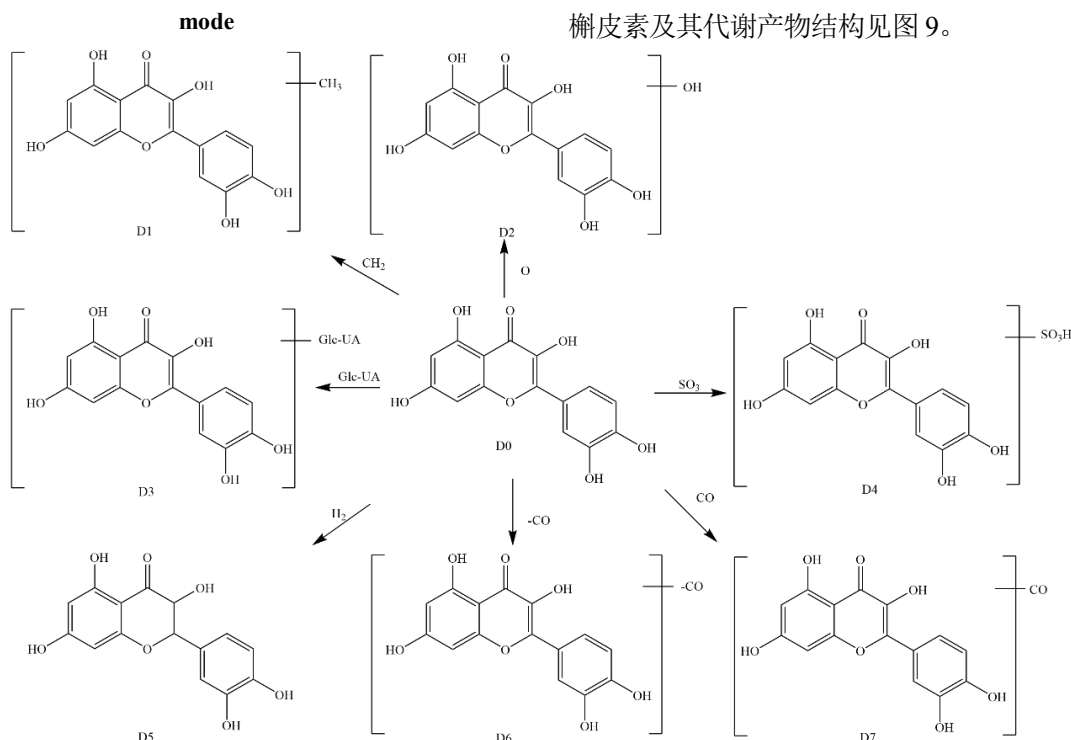


图 9 槲皮素体内代谢途径

Fig. 9 *In vivo* metabolic pathways of quercetin

片离子 m/z 275.274 3 $[M+H]^+$, 故推测 D2 为槲皮素的羟基化产物。化合物 D3 的准分子离子峰为 m/z 479.078 5 $[M+H]^+$, 预测其分子式为 $C_{21}H_{18}O_{13}$, 具有丢失 176 的碎片离子 m/z 303.192 5 $[M+H]^+$ 和 RDA 裂解产生的特征离子碎片 m/z 153.065 0 $[M+H]^+$, 故推测 D3 为槲皮素的葡萄糖醛酸化产物^[43]。化合物 D4 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 383.004 0, 与 D0 相比多了 80, 预测其分子式为 $C_{15}H_{10}O_{10}S$, 具有二级碎片离子 m/z 355.126 5 $[M+H-CO]^+$ 、303.121 2 $[M+H-SO_3]^+$, 故推测 D4 为槲皮素的硫酸化产物。D5 的准分子离子峰为 m/z 305.068 2 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_7$, 具有特征碎片离子 m/z 303.191 4 $[M+H-H_2]^+$ 、287.047 5 $[M+H-H_2O]^+$ 、277.350 7 $[M+H-CO]^+$, 故推测 D5 为槲皮素的还原产物即二氢槲皮素。化合物 D6 的准分子离子峰为 m/z 275.052 8 $[M+H]^+$, 较 D0 少 28, 预测分子式为 $C_{14}H_{10}O_6$, 二级碎片 m/z 257.224 3 $[M+H-H_2O]^+$ 、241.141 2 $[M+H-H_2O-O]^+$, 故推测 D6 为槲皮素脱去 1 分子羰基的产物。化合物 D7 的准分子离子峰为 m/z 331.041 9 $[M+H]^+$, 较 D0 多 28, 分子式为 $C_{16}H_{10}O_8$, 具有 m/z 303.193 1 $[M+H-CO]^+$ 、285.241 4 $[M+H-CO-H_2O]^+$ 的离子碎片, 故推测 D7 为槲皮素得到 1 分子羰基的代谢产物^[41]。槲皮素及其代谢产物结构见图 9。

3.2.2 四环三萜类化合物的代谢产物鉴定 在瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子药材中鉴定到葫芦素 B、葫芦素 D、葫芦素 E, 为三萜类成分, 具体鉴定信息见表 1。以葫芦素 D 为例, 进一步分析瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中三萜类成分在大鼠体内的代谢产物特征。

葫芦素 D 在大鼠体内主要发生还原、甲基化、羟基化、硫酸化、乙酰化、脱水、脱 CO 等反应。化合物 E0 的 t_R 为 15.55 min, 正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 517.320 9, 分子式为 $C_{30}H_{44}O_7$, 含有碎片离子 m/z 499.315 6、481.286 9、463.292 3, 如图 10 所示, 与对照品一致, 推测其为葫芦素 D。化合物 E1 的准分子离子峰为 m/z 533.311 3 $[M+H]^+$, 比 E0 多 16, 其分子式为 $C_{30}H_{44}O_8$, 二级碎片 m/z 519.557 7 $[M+H-CH_2]^+$ 、501.580 3 $[M+H-CH_2-H_2O]^+$, 推测 E1 是葫芦素 D 的羟基化产物。化合物 E2 的准分子离子峰为 m/z 547.328 5 $[M+H]^+$, 比 E1 多 14, 推测分子式为 $C_{31}H_{46}O_8$, 且具有和 E1 相似的碎裂方式, 具有丢失 1 分子甲基的碎片离子 m/z 533.238 7 $[M+H]^+$, 推测 E2 是 E1 的甲基化产物。化合物 E3 的准分子离子峰为 m/z 597.276 7 $[M+H]^+$, 比 E0 多 80, 其分子式为 $C_{30}H_{44}O_{10}S$, 具有丢失 1 分子水和脱氧的碎片离子 m/z 563.860 4 $[M+H]^+$, 推测 E3 是葫芦素 D 的硫酸化产物。化合物 E4 的准分子离子峰为 m/z 503.303 4 $[M+H]^+$, 比葫芦素 D 少 14, 分子式是 $C_{29}H_{42}O_7$, 二级碎片 483.247 6 $[M+H-H_2O-H_2]^+$ 、453.343 1 $[M+H-H_2O-2O]^+$, 推测是 E0 丢失 1 个甲基的产物。化合物 E5 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 489.288 4 $[M+H]^+$, 较 E4 少了 14, 分子式为 $C_{28}H_{40}O_7$, 具有丢失 2 分子水的碎片离子 m/z 453.337 7 $[M+H]^+$, 推测其为 E4 的去甲基化产物。化合物 E6 的准分子离

子峰为 m/z 499.303 1 $[M+H]^+$, 比 E0 少了 18, 分子式为 $C_{30}H_{42}O_6$, 二级碎片 m/z 443.077 3 $[M+H-2CH_2-CO]^+$, 推测 E6 是葫芦素 D 的脱水产物。化合物 E7 的准分子离子峰为 m/z 515.300 1 $[M+H]^+$, 比 E0 少 2, 分子式为 $C_{30}H_{42}O_7$, 具有丢失 1 分子甲基的碎片离子 m/z 501.380 9 $[M+H]^+$, 推测 E7 是葫芦素 D 脱去两个 H 得到的产物。化合物 E8 的准分子离子峰是 m/z 559.330 6 $[M+H]^+$, 比葫芦素 D 多 42, 其分子式为 $C_{32}H_{46}O_8$, 具有丢失 1 分子水和脱氧的碎片离子 525.132 5 $[M+H-H_2O-O]^+$, 推测其为葫芦素 D 的乙酰化产物。化合物 E9 的准分子离子峰为 m/z 519.331 2 $[M+H]^+$, 比 E0 多 2, 分子式是 $C_{30}H_{46}O_7$, 二级碎片 m/z 517.309 2 $[M+H-H_2]^+$ 、501.316 7 $[M+H-H_2O]^+$, 推测 E9 是葫芦素 D 的还原产物。化合物 E10 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 489.322 8, 比 E0 少了 28, 分子式为 $C_{29}H_{44}O_6$, 具有丢失 1 分子甲基的碎片离子 m/z 475.226 5 $[M+H]^+$ 以及再丢失 1 分子水的碎片 m/z 457.342 8 $[M+H]^+$, 提示其可能为葫芦素 D 脱去 1 分子羰基得到的产物。化合物 E11 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 473.324 3, 较 E10 少了 16, 提示可能是 E10 脱氧的产物, 二级碎片 m/z 459.231 5 $[M+H-CH_2]^+$ 、455.315 2 $[M+H-H_2O]^+$, 推测 E11 可能是葫芦素 D 失去 1 分子羰基和脱氧得到的产物。葫芦素 D 及其代谢产物结构见图 11。

3.3 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子药材成分、体内原型及代谢的差异分析

本研究鉴定到的 41 种化学成分中, 瓜蒌含有 40 种、瓜蒌皮含有 41 种、瓜蒌子含有 38 种。在瓜蒌中未鉴定到 β -谷甾醇, 在瓜蒌子中未鉴定到香叶木素、柯伊利素-7- O - β -D-葡萄糖苷、 α -菠菜甾醇, 成分的差异可能是影响三者药效偏重的一部分原因。

在 ig 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的大鼠体内分别鉴定得到 37、38、31 种原型成分, 这些原型成分大多存在于血浆中, 而在胆汁、尿液、粪便中稍少一些。研究表明, 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中的香草酸-4- O - β -D-葡萄糖苷和柯伊利素-7- O - β -D-葡萄糖苷在大鼠体内均未被鉴定到; 各类黄酮类原型成分在 ig 瓜蒌皮和瓜蒌的大鼠体内较多, 而在 ig 瓜蒌子的大鼠体内相对较少; 葫芦素 D 及氨基酸类成分在 ig 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的大鼠体内均被鉴定到。

代谢产物的鉴定结果表明, ig 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的大鼠体内代谢产物数量并无明显差异, 但

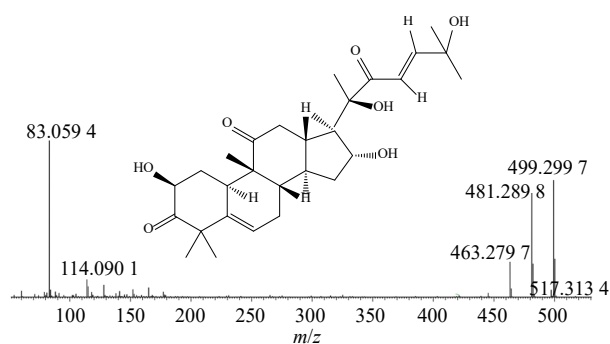


图 10 正离子模式下葫芦素 D 对照品的 MS/MS 质谱图

Fig. 10 MS/MS spectra of cucurbitacin D under positive ion mode

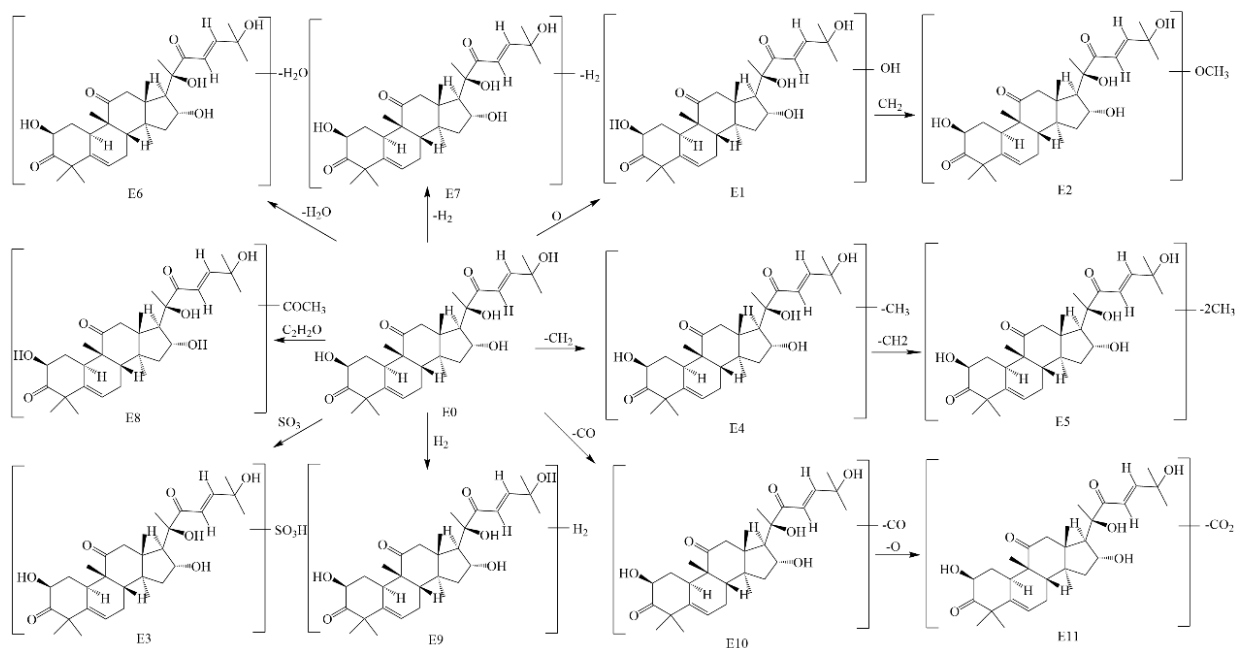


图 11 葫芦素 D 体内代谢途径

Fig. 11 *In vivo* metabolic pathways of cucurbitacin D

代谢产物的分布略有不同。各生物样品中的代谢产物总和皆为 35 个, 涉及一相、二相代谢反应, 如在给予瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取液的大鼠尿液中均鉴定到芹菜素的硫酸化产物、橘红素的还原产物、异槲皮苷的乙酰化产物、槲皮素的羟基化产物、葫芦素 D 的去甲基化产物; 芹菜素和橘红素在给予瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取液的大鼠血浆、尿液中均被鉴定到; 槲皮素在给予瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取液的大鼠胆汁、粪便中均被鉴定到。瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的体内代谢有诸多相似, 但也有不同, 例如, 异槲皮苷的羟基化产物在给予瓜蒌子的大鼠生物样品中未被鉴定到, 在给予瓜蒌的大鼠胆汁中鉴定到, 而在给予瓜蒌皮的大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中均被鉴定到; 槲皮素的甲基化产物分别在不同的生物样品中被鉴定到, 即给予瓜蒌提取液的尿液、给予瓜蒌皮提取液的血浆和胆汁、给予瓜蒌子提取液的粪便中。总体而言, 瓜蒌“一果三用”, 同样的成分在体内的代谢产物相近, 但其部位的不同, 可能会造成各成分含量有所差异, 进而影响三者的体内代谢物的分布情况。

4 讨论

对于瓜蒌、瓜蒌皮和瓜蒌子之间的关系, 从药材来源来说, 瓜蒌包含瓜蒌皮和瓜蒌子; 从化学成分来看, 瓜蒌、瓜蒌皮和瓜蒌子中含有较多相同的成分, 包括黄酮类、三萜类、氨基酸类、核苷类等,

但由于其药用部位不同, 除了化学成分种类的差异外, 含量上也可能存在较大的不同^[24]。瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中的香草酸-4-*O*- β -D-葡萄糖苷在大鼠体内均未被鉴定到, 一方面可能是其本身在各药材中含量较少, 另一方面也有可能是其进入体内被水解成活性更高的香草酸, 有报道^[44-45]指出酚酸类的抗氧化活性与其所含的酚羟基数目密切相关。瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子共有的芦丁和香叶木素在 ig 瓜蒌、瓜蒌皮的大鼠体内均被鉴定到, 在 ig 瓜蒌子的大鼠体内却未被发现, 有研究^[9,24]指出, 瓜蒌子中芦丁含量仅为瓜蒌皮的几百分之一, 而香叶木素在瓜蒌子和瓜蒌皮中的含量也存在显著差异, 因此药材中较低的含量可能是 ig 后体内未被检测到的原因之一。另外山柰酚在大鼠血浆中未被鉴定到, 有研究指出^[46]山柰酚在体内易被代谢为山柰酚葡萄糖醛酸, 致使在血浆中可检测到山柰酚葡萄糖醛酸化代谢产物, 而未发现山柰酚原型成分。

黄酮类成分一直因其多种生物活性备受关注, 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中的黄酮类成分主要包括槲皮素、异槲皮苷、芹菜素、橘红素等。槲皮素是一个为人熟知的黄酮醇类成分, 多项研究证实其具有抗氧化、抗肿瘤和抗过敏等生物活性^[47], 而由于其水溶性不高导致口服利用度较低的问题, 难以在日常膳食中作为添加剂补充使用。一般认为, 槲皮素因其疏水性在胃肠被动扩散, 有研究发现, 经过酶

修饰的槲皮素能够有效提高其在胃肠的吸收^[48]。本研究在大鼠的血浆、胆汁和粪便中鉴定得到槲皮素，其硫酸化产物、葡萄糖醛酸化产物多集中在血浆、胆汁中，推测其在小肠发生结合反应后进入体循环或进入胆汁而后排泄。小肠具有葡萄糖醛酸化和硫酸化的酶活性，被认为是槲皮素和其他类黄酮代谢转化的场所，同时也是槲皮素葡萄糖苷类成分的有效吸收位点^[49]。芹菜素与槲皮素同为黄酮苷元，具有显著的抗肿瘤、抗菌活性等，是胃肠道癌症的良好细胞调节剂，但面临着和槲皮素一样的水溶性较差、生物利用度较低等问题^[50]。芹菜素在体内的代谢过程与槲皮素相近，有数据显示，芹菜素在体内的主要代谢产物有芹菜素葡萄糖苷酸与芹菜素硫酸盐，在尿液中含量较多^[51]，与本研究结果较为一致：芹菜素在大鼠体内经羟基化、葡萄糖醛酸化、硫酸化等生成相应的水溶性高的产物，其代谢产物多见于大鼠胆汁、尿液、粪便中^[11,37]。亦有研究表明，芹菜素还可以与肠道微生物菌群相互影响，肠道微生物将芹菜素降解为较小的代谢物，芹菜素调节肠道微生物从而发挥其显著的疗效作用^[52-53]。异槲皮苷是槲皮素的葡萄糖苷，水溶性比槲皮素好，文献报道其主要在小肠吸收，在小肠粘膜上的 β -葡萄糖苷酶的作用下可水解为槲皮素，进而被动扩散进入细胞^[54]。一个有趣的发现的是，本次研究结果显示瓜蒌和瓜蒌子中异槲皮苷原型成分在胆汁和粪便中能被鉴定到，而瓜蒌皮中的异槲皮苷在血浆也能被鉴定到，有研究报道显示，ig 异槲皮苷溶液后大鼠血浆浓度持续较高^[55]，这可能与瓜蒌和瓜蒌子中异槲皮苷的含量较低^[24]以及其植物基质影响相关。亦有研究证明，与单一化合物相比，植物基质可能会在一定程度上影响成分的吸收^[56]，例如富含槲皮素的洋葱在生物利用度方面似乎优于槲皮素补充剂，可能是因为植物基质增强了肠道对槲皮素的吸收^[57]。另外，槲皮素的甲基化产物仅在给予瓜蒌皮的大鼠血浆中鉴定到，而给予瓜蒌与瓜蒌子的大鼠血浆中却未鉴定到，有研究指出^[58]，槲皮素及其甲基化产物能够引起大鼠心血管系统、物质代谢与吸收等有关的生物学途径基因的甲基化改变，通过调控 DNA 的甲基化状态从而减轻其异常化在动脉粥样硬化发生发展中带来的负面影响，这可能与瓜蒌皮长于心血管疾病的治疗具有一定的联系。槲皮素-O-甲基化衍生物较与槲皮素具有更高的生物利用度及代谢稳定性，常被认为是槲皮素重要的活性

中间体^[59]。有研究表明^[60-61]，3'-O-甲基槲皮素具有抗心肌缺血、缓解心绞痛等药理活性，4'-O-甲基槲皮素具有抗心肌肥大的作用，二者具有良好的治疗心血管疾病的生物活性。文献报道显示^[62-63]，与多酚类黄酮相比，多甲氧基化黄酮橘红素的代谢稳定性及膜转运显著增加，提高了生物利用度，有利于其发挥对癌症的化学预防作用。橘红素属于多甲氧基化黄酮，结构上的酚羟基皆被甲氧基取代，此类成分由于其特殊的官能团，极易发生脱甲基反应，目前报道表明橘红素的脱甲基位点多在 B 环的 4' 位，且其大部分代谢产物都在脱甲基后产生^[64]。

除了黄酮类成分，本研究还鉴定到葫芦素 D 及其代谢产物，葫芦素 D 属于达玛烷型四环三萜，瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子中还有葫芦素 B、葫芦素 E 等四环三萜类成分。此类化合物在大鼠体内的代谢特征此前并未被详尽报道，本研究结果显示，葫芦素 D 在大鼠体内主要发生羟基化、甲基化、去甲基化等代谢反应，其原型成分仅在尿液和粪便中检测到，而代谢产物也多分布于尿液、粪便中，这可能与四环三萜口服生物利用度较低有关^[65-66]。

5 结论与展望

本研究采用 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS 技术，建立了大鼠 ig 瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子提取液后体内代谢物的检测方法，明确了其在体内的移行成分，三者所含多元成分间的配比及相互作用可能会影响代谢过程，进而影响药效的发挥，为揭示瓜蒌“一果三用”的物质基础提供数据支撑。后续可对瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子的成分进行定量，结合瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子在不同病理模型下的代谢特征，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] 曹灿, 邵静, 赵若楠, 等. 邵静辨治老年不寐经验撷萃 [J]. 国医论坛, 2023, 38(5): 51-53.
- [2] 丁振洋, 孙子凯, 刘芳, 等. 曹世宏治疗支气管扩张症稳定期经验撷萃 [J]. 河北中医, 2023, 45(5): 713-716.
- [3] 王施玮, 王薇, 黄梅英, 等. 清金化痰汤穴位离子导入联合西药治疗痰热蕴肺型重症肺炎 40 例 [J]. 福建中医药, 2023, 54(6): 5-8.
- [4] 邹纯才, 徐启祥, 鄢海燕, 等. 不同配伍比例的瓜蒌皮-瓜蒌子与瓜蒌的化学指纹特征相似性研究 [J]. 国际药学研究杂志, 2017, 44(3): 278-281.
- [5] 唐昀彤, 杜正彩, 郝二伟, 等. 基于栝楼不同药用部位化学成分和性效关系的质量标志物分析 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1617-1627.

- [6] 徐何方, 杨颂, 李向日, 等. 瓜蒌(瓜蒌皮、瓜蒌子)炮制、化学成分和药理作用的研究进展 [A] // 2014 年全国中药炮制学术年会暨中药饮片创新发展论坛及协同创新联盟会议 [C]. 南京: 中华中医药学会, 2014: 210.
- [7] Yu X K, Tang L Y, Wu H W, *et al.* *Trichosanthis Fructus*: Botany, traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 177-194.
- [8] 高兆慧. 瓜蒌皮干预大鼠急性心肌缺血药效学研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [9] 马维彤, 王宗伟, 闫广利, 等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 和多变量统计分析的瓜蒌皮和瓜蒌籽差异化学成分研究 [J]. 中国医药导刊, 2022, 24(4): 413-417.
- [10] 邹纯才, 宗倩妮, 鄢海燕. 瓜蒌与瓜蒌条抗大鼠心肌缺血-再灌注损伤的谱效关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(1): 92-99.
- [11] Zhong C J, Jiang C, Ni S Y, *et al.* Identification of bioactive anti-angiogenic components targeting tumor endothelial cells in Shenmai Injection using multidimensional pharmacokinetics [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(9): 1694-1708.
- [12] Fedi A, Vitale C, Ponschin G, *et al.* *In vitro* models replicating the human intestinal epithelium for absorption and metabolism studies: A systematic review [J]. *J Control Release*, 2021, 335: 247-268.
- [13] Wollmer E, Ungell A L, Nicolas J M, *et al.* Review of paediatric gastrointestinal physiology relevant to the absorption of orally administered medicines [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 181: 114084.
- [14] Sun X Y, Liu X J, Chen S Q. The pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of pinostrobin in rats: Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with linear trap quadrupole orbitrap mass spectrometry studies [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 574638.
- [15] 乔雪, 张亚群, 果德安, 等. 中药药效物质研究方法及其进展 [J]. 中国科学: 生命科学, 2022, 52(6): 908-919.
- [16] 时海燕, 徐男, 王平, 等. 基于 UPLC-QE-Orbitrap-MS 技术分析鉴定中药三棱入血成分 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(8): 910-919.
- [17] 徐晓敏, 房城, 卢芳. 基于代谢组学技术的黄芩-白芍对 2 型糖尿病模型小鼠的作用机制 [J]. 世界中医药, 2023, 18(5): 600-605.
- [18] Zhao Z H, Liu Y, Zhang Y S, *et al.* Evaluation of the chemical profile from four germplasms sources of *Pruni Semen* using UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS and multivariate analyses [J]. *J Pharm Anal*, 2022, 12(5): 733-742.
- [19] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [20] 韩娜娜, 王鹏龙, 陈红珊, 等. 基于成分分析-活性筛选-网络药理学的白花秦艽抗氧化物质基础研究 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(10): 5883-5890.
- [21] 孟爱莲. 苦笋壳多酚的提取鉴定与抗氧化降血糖活性研究 [D]. 成都: 西华大学, 2022.
- [22] 张哲, 孙卓然, 潘鹏超, 等. 复方金钱草颗粒化学成分的 UHPLC-Q-TOF/MS 分析 [J]. 药学实践杂志, 2022, 40(2): 146-151.
- [23] 蒋勋, 陶会, 宋杰玉, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap 高分辨质谱分析贵州红茶的品质特征 [J]. 中国食品学报, 2023, 23(5): 341-351.
- [24] Zhang H Q, Liu P, Duan J A, *et al.* Hierarchical extraction and simultaneous determination of flavones and triterpenes in different parts of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 167: 114-122.
- [25] 文琪. 益智提取物活性多成分在大鼠体内药代动力学研究 [D]. 海口: 海南医学院, 2018.
- [26] 欧蓉蓉. 六种植物特征性化合物剖析、对高良姜黄酮生物可及度的影响及具有降尿酸潜力的复合提取物制备 [D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [27] 张鸽. 超滤离心质谱法筛选中药中的酶抑制剂 [D]. 大连: 大连理工大学, 2017.
- [28] 李欣. 基于 UPLC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS 技术的瓜蒌薤白半夏汤物质基础研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2019.
- [29] 乌仁吉如拉. 草乌的质量标志物 (Q-Marker) 研究 [D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2023.
- [30] 徐冉, 陈瑞, 朱高峰, 等. UPLC-Q-TOF-MS 方法分析四季感冒片中的化学成分 [J]. 广州化工, 2017, 45(5): 82-85.
- [31] Zhang H Q, Liu P, Duan J N, *et al.* Comparative analysis of carbohydrates, nucleosides and amino acids in different parts of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. by (ultra) high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry and evaporative light scattering detector methods [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 1440.
- [32] Wei X, Gao M L, Sheng N, *et al.* Mechanism investigation of Shi-Xiao-San in treating blood stasis syndrome based on network pharmacology, molecular docking and *in vitro/vivo* pharmacological validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 301: 115746.
- [33] Liang Y, Xu M, Tang C, *et al.* The study of chemical components in Qishiwei Zhenzhu Pills and its anti-apoptotic mechanism in cerebral ischemic based on LC-MS and network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 302(Pt A): 115891.
- [34] Lin P, Qin Z F, Yao Z H, *et al.* Metabolites profile of Gualou Xiebai Baijiu Decoction (a classical traditional Chinese medicine prescription) in rats by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1085: 72-88.
- [35] 林丽华, 孟晓伟, 李家荣, 等. 基于血清药物化学和网络

- 络药理学的泽漆抗慢阻肺药效物质基础分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(14): 150-156.
- [36] 张亚洲, 王涛, 邹树良, 等. 芹菜素在大鼠体内代谢产物的鉴定与分析 [J]. 中国药房, 2016, 27(4): 479-482.
- [37] 马贝贝, 娄天宇, 梁耀月, 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive 质谱法分析桔红素在大鼠体内的代谢过程 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4153-4161.
- [38] 陆林玲. 黄葵胶囊主要成分 PK、PD 研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [39] Vacek J, Papoušková B, Kosina P, *et al.* Biotransformation of flavonols and taxifolin in hepatocyte *in vitro* systems as determined by liquid chromatography with various stationary phases and electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 899: 109-115.
- [40] 吴耽, 李莹, 陈思颖, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS^E 技术研究红禾麻提取物在大鼠粪便中的代谢产物 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(13): 3220-3227.
- [41] 胡珏, 黄光强, 梁洁, 等. 龙眼叶乙醇提取物在大鼠体内的代谢产物初步研究 [J]. 中国药房, 2022, 33(21): 2572-2577.
- [42] 徐炜杰. 芒果止咳片药代动力学及药物代谢研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [43] 丁珊珊. 糖尿病肾病相关风险因子分析及黄葵胶囊对其治疗作用的潜在药效物质基础研究 [D]. 宜春: 宜春学院, 2022.
- [44] Rice-Evans C A, Miller N J, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. *Free Radic Biol Med*, 1996, 20(7): 933-956.
- [45] Kim D O, Lee C Y. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44(4): 253-273.
- [46] 陈娜. 西红花去柱头花部抗高尿酸血症活性、机制及物质基础研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- [47] Kim D H, Khan H, Ullah H, *et al.* MicroRNA targeting by quercetin in cancer treatment and chemoprotection [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147: 104346.
- [48] Makino T, Shimizu R, Kanemaru M, *et al.* Enzymatically modified isoquercitrin, alpha-oligoglucosyl quercetin 3-O-glucoside, is absorbed more easily than other quercetin glycosides or aglycone after oral administration in rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(12): 2034-2040.
- [49] Murota K, Terao. Antioxidative flavonoid quercetin: Implication of its intestinal absorption and metabolism [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2003, 417(1): 12-17.
- [50] Tang D, Chen K L, Huang L Q, *et al.* Pharmacokinetic properties and drug interactions of apigenin, a natural flavone [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2017, 13(3): 323-330.
- [51] Borges G, Fong R Y, Ensunsa J L, *et al.* Absorption, distribution, metabolism and excretion of apigenin and its glycosides in healthy male adults [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 185: 90-96.
- [52] Wang M Q, Firman J, Liu L S, *et al.* A review on flavonoid apigenin: Dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 7010467.
- [53] Bian S C, Wan H J, Liao X Y, *et al.* Inhibitory effects of apigenin on tumor carcinogenesis by altering the gut microbiota [J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 7141970.
- [54] Németh K, Plumb G W, Berrin J G, *et al.* Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans [J]. *Eur J Nutr*, 2003, 42(1): 29-42.
- [55] 杜飞飞. 槲皮素及其苷类化合物大鼠体内药代动力学比较研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [56] Graefe E U, Wittig J, Mueller S, *et al.* Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans [J]. *J Clin Pharmacol*, 2001, 41(5): 492-499.
- [57] Terao. Factors modulating bioavailability of quercetin-related flavonoids and the consequences of their vascular function [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 139: 15-23.
- [58] 高蔚娜. 槲皮素调节甲基化途径的作用及其意义研究 [Z]. 天津市: 军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所, 2018-03-06.
- [59] 郭瑞霞, 李力更, 霍长虹, 等. 槲皮素甲基化衍生物的半合成及构效关系 [J]. 中草药, 2013, 44(3): 359-369.
- [60] Li W Q, Li J, Liu W X, *et al.* Isorhamnetin: A novel natural product beneficial for cardiovascular disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2022, 28(31): 2569-2582.
- [61] Fan C, Li Y, Yang H, *et al.* Tamarixetin protects against cardiac hypertrophy via inhibiting NFAT and AKT pathway [J]. *J Mol Histol*, 2019, 50(4): 343-354.
- [62] Walle T. Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass? [J]. *Semin Cancer Biol*, 2007, 17(5): 354-362.
- [63] Raza W, Luqman S, Meena A. Prospects of tangeretin as a modulator of cancer targets/pathways [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 161: 105202.
- [64] Nielsen S E, Breinholt V, Cornett C, *et al.* Biotransformation of the citrus flavone tangeretin in rats. Identification of metabolites with intact flavane nucleus [J]. *Food Chem Toxicol*, 2000, 38(9): 739-746.
- [65] Dai S, Wang C, Zhao X T, *et al.* Cucurbitacin B: A review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 187: 106587.
- [66] 王丽, 杨冰, 牛玉清, 等. 中药四环三萜类化合物吸收转运机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(1): 162-170.

[责任编辑 王文倩]