

基于序贯代谢和 UPLC-Q-OT-qIT MS 的一枝蒿入血成分分析

阿地娜·阿不都艾尼¹, 哈木拉提·哈斯木², 程江南², 王新堂², 丁 曼², 毛 艳^{2*}

1. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

2. 新疆维吾尔自治区药物研究院 新疆维吾尔药重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830010

摘要: **目的** 基于序贯代谢方法结合超高效液相色谱-四极杆-轨道阱-线性离子阱质谱 (UPLC-Q-OT-qIT MS) 联用技术, 系统分析一枝蒿提取物及其肠代谢、肝代谢和综合代谢产物, 全面表征其入血原型成分及体内代谢转化规律。**方法** 制备一枝蒿提取物, 通过肠灌注收集肠壁代谢、肠道菌群代谢、肝代谢的血浆样本, 经给药收集综合代谢血浆样本, 结合 UPLC-Q-OT-qIT MS 对各个样本所含成分进行分析与鉴定。**结果** 从一枝蒿提取物中共发现黄酮类、倍半萜类、有机酸类等 53 个化学成分。在肠代谢样品中发现 43 个原型入血成分和 20 个代谢产物, 肝代谢样品中发现 28 个原型入血成分和 20 个代谢产物, 综合代谢组样品中发现 18 个原型入血成分和 17 个代谢产物。**结论** 基于序贯代谢研究, 系统探究一枝蒿于大鼠体内的代谢规律, 鉴定其原型入血成分及代谢产物, 揭示不同代谢部位的成分差异及生物转化过程, 为明确一枝蒿药效物质基础及其质量标准提升提供科学依据与数据支持。

关键词: 一枝蒿; 序贯代谢; UPLC-Q-OT-qIT MS; 肠壁代谢; 肠道菌群代谢; 肝代谢; 代谢产物; 黄芩苷; 紫花牡荆素; 6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮; 一枝蒿酮酸; artepestrin A; 绿原酸; 7-羟基香豆素

中图分类号: R285.61 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)20-7437-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.015

Analysis of components absorbed into blood of *Artemisia rupestris* based on sequential metabolism and UPLC-Q-OT-qIT MS

Adina ABUDUAINI¹, Hamulati HASIMU², CHENG Jiangnan², WANG Xintang², DING Man², MAO Yan²

1. School of Pharmaceutical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

2. Key Laboratory of Xinjiang Uygur Medicine, Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Materia Medica, Urumqi 830010, China

Abstract: Objective To systematically analyze the extract of *Artemisia rupestris* and its intestinal metabolism, liver metabolism and comprehensive metabolic products based on sequential metabolic method combined with ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-Orbitrap-linear ion trap mass spectrometry (UPLC-Q-OT-qIT MS) joint technology, and fully characterize its blood-entering prototype components and the regularity of *in vivo* metabolic transformation. **Methods** The extract of *A. rupestris* was prepared, and after *in vitro* intestinal perfusion, plasma samples of intestinal wall metabolism, intestinal flora metabolism and liver metabolism were separately collected. After intragastric administration, comprehensive metabolic plasma samples were collected. The components contained in each sample were analyzed and identified by UPLC-Q-OT-qIT MS. **Results** A total of 53 chemical components including flavonoids, sesquiterpenes and organic acids, were detected in the extract of *A. rupestris*. A total of 43 prototype blood-entering components and 20 metabolites were detected in the intestinal metabolism samples, 28 prototype blood-entering components and 20 metabolites were detected in the liver metabolism samples, and 18 prototype blood-entering components and 17 metabolites were detected in the comprehensive metabolic group samples. **Conclusion** Based on the sequential metabolic method, the metabolic patterns of *A. rupestris* in rats were systematically analyzed, its prototype blood-entering components and metabolites were identified, and the differences in components among different metabolic sites and the biological transformation process were revealed, providing a scientific basis and data support for clarifying the pharmacodynamic material basis of *A. rupestris* and improving its quality standards.

收稿日期: 2025-07-07

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2023B03012-2); 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目(KY2025088); 新疆维吾尔自治区自然科学基金-杰出青年项目(2021D01E25)

作者简介: 阿地娜·阿不都艾尼(1999—), 女, 硕士研究生, 从事中药药效物质及质量评价研究。E-mail: a2403614065@163.com

*通信作者: 毛 艳(1983—), 女, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药效物质及质量评价研究。E-mail: maoyan7529@163.com

Key words: *Artemisia rupestris* L.; sequential metabolism; UPLC-Q-OT-qIT MS; intestinal wall metabolism; intestinal flora metabolism; liver metabolism; metabolites; baicalin; vitexicarpin; 6-deoxy-4'-*O*-methylcoumarin; rupestonic acid; artepestrin A; chlorogenic acid; 7-hydroxycoumarin

一枝蒿 *Artemisia rupestris* L. 是菊科 (Compositae) 蒿属 *Artemisia* L. 多年生草本植物, 是维吾尔医和哈萨克医用药材, 临床上用于治疗感冒、发烧、消化不良、肝炎、荨麻疹、过敏性疾病等, 是新疆地区独有特色药材, 在新疆民间用药历史悠久且流传着“家有一枝蒿, 不怕毒蛇咬”“家有一枝蒿, 百病都除掉”的谚语。现代研究表明, 一枝蒿含有黄酮类、倍半萜类、挥发油类、生物碱类、有机酸类、氨基酸类、多糖类等化学成分, 具有抗病毒、保肝、缓解功能性消化不良、抗氧化、抗炎、抑菌及调节免疫等多种药理作用^[1]。目前, 学者们主要采用静态研究方法对一枝蒿进行了多角度的成分分析, 确定了一枝蒿酮酸等成分作为质量控制指标, 其代谢研究多集中于特定时间点的代谢产物分析, 如血浆、尿液和粪便中的代谢物。目前, 一枝蒿成分在体内的空间分布及代谢途径尚不明确, 缺乏序贯代谢方法对其口服后动态变化的系统研究。

序贯代谢方法通过调整给药部位, 经肠系膜静脉、股静脉和腹主动脉采血, 动态分析入血成分, 解析代谢途径并追踪靶部位暴露成分, 从而系统揭示中药多成分的动态吸收代谢特征, 在多成分药物代谢研究中具有重要价值^[2]。基于此, 本研究采用序贯代谢方法考察大鼠体内一枝蒿多组分动态变化特征, 分部位解析药物及其代谢产物的动态分布规律, 旨在为该药材质量控制标准的完善及其药效物质基础的阐明提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 200~300 g, 购自新疆医科大学动物中心, 许可证号 SCXK (新) 2023-0001。实验前, 所有大鼠均在新疆维吾尔自治区药物研究院实验动物中心 SPF 级屏障系统中饲养, 实验开始前 12 h 禁食不禁水, 实验单位使用许可证号 SYXK (新) 2022-0002。动物实验经新疆维吾尔自治区药物研究院实验动物伦理委员会批准 (批准号 XJIMM-20241102)。

1.2 药材

一枝蒿药材购自新疆银朵兰药业股份有限公司, 由新疆维吾尔自治区药物研究院毛艳研究员鉴

定为菊科植物一枝蒿 *A. rupestris* L. 的干燥全草。

1.3 药品与试剂

乙腈 (批号 JA073230)、甲酸 (批号 F25P12201) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 氯化钠注射液 (批号 N24100820) 购自四川科伦药业股份有限公司; 肝素钠 (批号 H6060A) 购自上海麦克林试剂有限公司; 娃哈哈纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

1.4 仪器

GL-16A 型高速冷冻离心机 (上海菲恰尔分析仪器有限公司); UltiMate3000 型超高效液相色谱仪、Q-OT-q-IT 杂合型质谱仪、Xcalibur 质谱工作站 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); LT3001E 型电子天平 (常熟市天量仪器有限责任公司); WB-504C 型真空离心浓缩仪 [维根技术 (北京) 有限公司]; BT100-2J 型蠕动泵 (保定齐力恒流泵有限公司); BT100M 型注射泵 (保定创锐泵业)。

2 方法

2.1 溶液的制备

取一枝蒿药材 300 g, 加入 12 倍量水加热回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并滤液, 减压浓缩干燥 (55 °C、-0.08 MPa) 至淡黄色干浸膏。取一枝蒿提取物 50 mg, 精密称定, 置 5 mL 量瓶中, 加 50% 乙腈至刻度, 超声至完全溶解, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 经 0.22 μm 滤膜滤过, 进行液质分析。将适量提取物用水制成 1.0 g/mL (以生药量计) 的一枝蒿水提液, 于 4 °C 储存, 作为灌肠液和灌胃液备用。

2.2 序贯代谢研究

序贯代谢作为中药多成分药物代谢研究的核心策略, 是阐明复杂体系药效物质基础的首要研究内容。该技术通过模拟药物在体内的动态吸收代谢过程, 考察化学成分在肠壁代谢、肠道菌群代谢、肝代谢以及综合代谢中的生物转化规律^[2-5]。

2.2.1 肠壁代谢组 采用大鼠在体肠道灌流联合静脉采血方法, 随机选取 4 只大鼠为供血组, 1 只为实验组。麻醉后, 供血组经腹主动脉采血置肝素钠离心管, 37 °C 水浴加热用于补术中损失的血液。实验组大鼠分离颈静脉插留置针并固定, 连接供血离心管; 切开腹腔, 选十二指肠下约 10 cm 空肠为给药肠段, 注射器抽 37 °C 生理盐水冲洗肠内容物

至流出液澄清,随后注入空气排出残留液体。在选定肠段两端剪口插玻璃管引流,注入 1.0 g/mL 一枝蒿提取液,注射泵体积流量为 0.2 mL/min;结扎肝门静脉,于肠系膜静脉插入肝素化留置针并结扎多余血管,以 0.3 mL/min 的速率同步进行颈静脉输血与肠系膜静脉采血。操作期间用 37 °C 生理盐水润湿的纱布保持肠道湿润,并采用加热垫维持动物体温,实验持续 2 h 后终止。空白组以生理盐水替代提取液,剩余操作同实验组。

2.2.2 肠道菌群代谢组 大鼠麻醉后取盲肠下约 8 cm 结肠作为给药部位,注入 1.0 g/mL 一枝蒿提取液,待药液充满肠段后,立即结扎末端,移除注射器后再结扎前端,剩余操作同“2.2.1”项。空白组以生理盐水替代提取液,剩余操作同实验组。

2.3 肝代谢组

肝代谢实验与肠代谢实验主要差异在于肝代谢组无需结扎肝门静脉,于股静脉采血,其余同“2.2.1”项。空白组以生理盐水替代提取液,剩余操作同实验组。

2.4 综合代谢组

选取 3 只 SD 雄性大鼠,ig 4 mL 一枝蒿提取液(1.0 g/mL),2 次/d,持续 3 d。空白组 ig 生理盐水。第 4 天给药后分别于 0.25、0.5、1、1.5、2 h 由眼眶静脉丛采血 0.3 mL,收集于肝素化的离心管内,4 °C、3 500 r/min 离心 10 min,将所有时间点血浆样品合并,置于-80 °C 保存。

2.5 血液样品处理

取血浆 200 μ L,加入 3 倍量冰乙腈,涡旋 2 min,4 °C、12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,4 °C 离心浓缩至干燥。加入 100 μ L 乙腈-水溶液(2:98)复溶,3 000 r/min 涡旋 300 s,混匀后,10 000 r/min 离心 10 min,过 captiva 96 孔过滤板后转移至进样小瓶,待液质分析。

2.6 色谱条件

采用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(100

mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m),流动相 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~20 min, 95%~50% A; 20~27 min, 50%~2% A; 27~30 min, 2% A; 30~30.1 min, 2%~95% A; 30.1~38 min, 95% A。柱温 40 °C;体积流量 0.45 mL/min;进样体积 5 μ L。

2.7 质谱条件

电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI),正、负离子检测模式;质量扫描范围 m/z 150~1 000;喷雾电压为 3.5 kV 和-3.0 kV;鞘气压力 30 Pa;辅助气压力 15 Pa;辅助气温度 350 °C;离子传输管温度 350 °C;Full MS/dd-MS²扫描模式,Full MS 分辨率 120 000, dd-MS²分辨率 30 000;高能碰撞解离(high energy collision dissociation, HCD)碰撞能量为 15、30、45 eV。

2.8 数据处理

采用正、负离子模式的 UPLC-MS 技术对血浆样本进行分析。原始数据(.wiff 格式)经 ProteoWizard 3.0 转换为 mzXML 格式后,分别使用 XCMS 程序包进行色谱峰识别、对齐及参数优化,获得包含保留时间、质荷比和峰面积的二维数据矩阵;进一步利用 CAMERA 程序包对同位素离子、加合离子及碎片离子进行识别与标注。数据经 Norm ISWSVR 法校正和清洗(包括剔除 QC 样本 RSD>100%的变量、保留组内检出率>50%的变量等)后,导入 MS-DIAL 软件进行代谢物识别。对差异变量进行偏相关分析($r>0.8$),结合保留时间与峰形判断一致性,并依据二级质谱裂解规律,参考自建库、HMDB 等数据库进行结构推测。

3 结果

3.1 一枝蒿提取物中化学成分鉴定

一枝蒿提取物总离子流图见图 1,采用 Thermo Xcalibur Qual Browser 软件与自建库及 HMDB 数据库比对,并结合参考文献,共鉴定出 53 个化合物,主要为黄酮类、倍半萜类、有机酸及其衍生物类、多糖及香豆素类成分,结果见表 1。

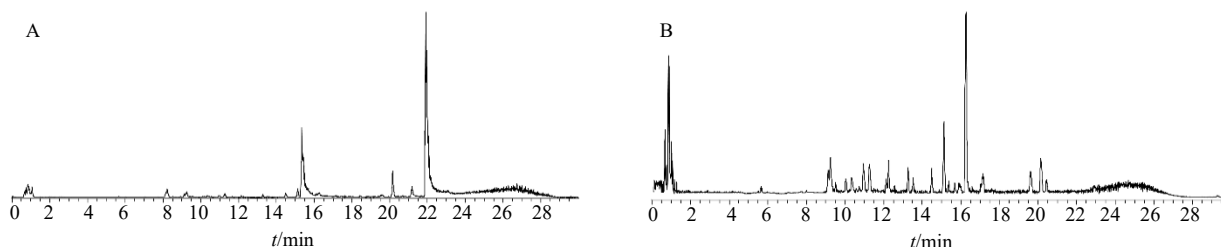


图 1 正(A)、负(B)离子模式下一枝蒿提取物的 UPLC-Q-OT-qIT MS 总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of extract of *A. rupestris* in positive (A) and negative (B) ion modes

表 1 一枝蒿提取物中化学成分的 UPLC-Q-OT-qIT MS 分析

Table 1 Identification of chemical components in extract of *A. rupestris* by UPLC-Q-OT-qIT MS

编号	<i>t_R</i> /min	电离模式	母离子 (<i>m/z</i>)		误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	MS ² 碎片离子 (<i>m/z</i>)	鉴定结果
			理论值	实际值				
M1	0.89	[M-H] ⁻	179.056 1	179.055 8	-1.644	C ₆ H ₁₂ O ₆	161.044 6, 134.987 0, 71.013 0, 59.013 1	葡萄糖 ^[6]
M2	0.90	[M-H] ⁻	179.035 0	179.034 5	3.156	C ₉ H ₈ O ₄	161.044 6, 134.987 0, 85.028 6, 71.013 0, 59.013 1	咖啡酸 ^[7-8]
M3	0.90	[M-H] ⁻	191.056 1	191.055 8	-1.707	C ₇ H ₁₂ O ₆	127.039 0, 93.033 6, 85.028 5, 59.013 1	奎宁酸 ^[7,9]
M4	4.12	[M-H] ⁻	353.087 8	353.086 2	0.323	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.054 8, 179.033 7, 135.043 9	1-咖啡酰奎宁酸 ^[10]
M5	5.57	[M-H] ⁻	353.087 8	353.086 5	-0.067	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.054 9, 179.033 7, 173.044 3, 135.044 0	新绿原酸 ^[9,11]
M6	6.74	[M-H] ⁻	161.024 4	161.023 1	-1.166	C ₉ H ₆ O ₃	133.028 3, 117.033 5, 105.033 5	7-羟基香豆素 ^[11,12]
M7	7.12	[M-H] ⁻	593.151 2	593.151 2	0.001	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	503.118 8, 473.108 0, 383.076 4, 353.065 9	木犀草素- <i>O</i> -鼠李糖- 六碳糖苷 ^[9]
M8	7.37	[M-H] ⁻	153.019 3	153.019 0	-2.438	C ₇ H ₆ O ₄	135.007 7, 109.028 5, 91.018 0	原儿茶酸 ^[8,13]
M9	7.82	[M-H] ⁻	367.103 5	367.103 5	0.169	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	193.049 4, 191.054 8, 173.044 3, 155.033 8, 134.036 2, 111.044 1, 93.033 6	阿魏酰奎宁酸 ^[13]
M10	8.92	[M-H] ⁻	353.087 8	353.087 0	0.521	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.055 1, 179.033 9, 173.044 6, 135.044 1	绿原酸 ^[7,9,14,15]
M11	8.98	[M-H] ⁻	609.146 1	609.146 5	0.895	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	300.026 8, 271.024 2	芦丁 ^[7-9,16,17]
M12	9.13	[M-H] ⁻	533.130 1	533.130 4	0.629	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	175.023 8, 113.023 4, 103.002 8, 95.013 0, 85.028 6, 75.008 0	芹菜素-6,8-二- <i>C</i> -五碳 糖苷 ^[9]
M13	9.20	[M-H] ⁻	463.088 2	463.088 5	0.711	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	301.034 1, 300.026 2, 151.003 0	金丝桃苷 ^[9,18]
M14	9.22	[M-H] ⁻	585.218 9	585.219 3	0.673	C ₂₇ H ₃₈ O ₁₄	337.076 9, 247.133 1, 203.143 2, 163.111 9	一枝蒿酮酸-葡萄糖 醛酸-六碳糖苷 ^[16]
M15	9.53	[M-H] ⁻	447.093 3	447.093 5	0.506	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	327.050 2, 285.039 4, 284.031 8	紫云英苷 ^[9]
M16	9.54	[M-H] ⁻	461.072 6	461.072 8	0.578	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	391.158 3, 285.039 9, 113.023 7	木犀草素-7- <i>O</i> -葡萄糖 醛酸苷 ^[9]
M17	10.04	[M-H] ⁻	515.119 5	515.119 8	1.058	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.086 2, 191.055 0, 173.044 6	异绿原酸B ^[7-8,11,19]
M18	10.34	[M-H] ⁻	515.119 5	515.120 1	1.058	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.086 6, 191.022 4, 179.033 9	异绿原酸A ^[7-8,11,19]
M19	10.35	[M-H] ⁻	353.087 8	353.086 7	0.169	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.054 9, 179.033 8, 173.044 3, 135.044 0	隐绿原酸 ^[7,11]
M20	10.45	[M-H] ⁻	447.093 3	447.093 7	0.914	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	327.050 3, 285.039 6, 284.031 8, 255.029 1, 227.034 2, 174.955 2, 151.002 8	木犀草苷 ^[11]
M21	10.74	[M-H] ⁻	477.103 9	477.104 0	0.378	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	357.060 5, 314.042 0, 299.018 6, 285.039 4, 271.023 8, 257.044 6, 243.028 8	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖 糖苷 ^[20]
M22	10.77	[M-H] ⁻	431.098 4	431.098 4	1.334	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.096 6, 269.044 4, 268.036 6	芹菜素-7- <i>O</i> -葡萄糖 糖苷 ^[9]
M23	10.88	[M-H] ⁻	445.077 6	445.077 9	0.686	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	269.044 9, 175.023 9, 113.023 5, 85.028 6	芹菜素-7-葡萄糖 醛酸 ^[20]
M24	10.90	[M-H] ⁻	445.077 6	445.078 0	1.157	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	269.044 3, 113.023 3, 85.028 5	黄芩苷 ^[9,21]
M25	10.94	[M-H] ⁻	515.119 5	515.119 7	1.058	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.086 8, 335.076 6, 191.055 1, 179.034 0, 173.044 6	异绿原酸C ^[7-9,11]
M26	11.27	[M-H] ⁻	505.098 8	505.099 0	0.529	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	329.065 6, 314.042 4, 299.019 0, 175.023 9, 113.023 5, 85.028 7	槲皮素-乙酰- 六碳糖 ^[9]
M27	11.75	[M-H] ⁻	491.119 5	491.120 2	0.633	C ₂₃ H ₂₅ O ₁₂	329.066 1, 328.058 3, 327.050 4, 313.034 9, 285.040 0	锦葵素-3- <i>O</i> - 葡萄糖糖苷 ^[22]
M28	12.12	[M-H] ⁻	637.141 0	637.141 6	0.860	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₇	337.076 4, 299.054 7, 284.031 5, 192.005 2, 147.007 6, 113.023 3	6-去甲基-4'- <i>O</i> -甲基 茵陈色原酮-葡萄糖 醛酸-六碳糖 ^[6-7,9]
M29	12.23	[M-H] ⁻	387.108 5	387.108 4	-0.105	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	343.117 9, 313.107 5, 298.083 6, 137.023 4	艾黄素 ^[6-7]
M30	12.51	[M-H] ⁻	491.083 1	491.083 5	0.739	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₃	423.164 6, 315.049 6, 193.013 0, 175.023 6, 113.023 3, 85.028 5	异鼠李素-3-葡萄糖 醛酸苷 ^[7,9]
M31	13.30	[M-H] ⁻	283.061 2	283.061 0	-0.662	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	268.060 1, 268.036 8, 265.179 7, 254.879 6, 221.190 4, 197.901 7	刺槐素 ^[6,17]
M32	13.30	[M-H] ⁻	591.171 9	591.172 0	0.152	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	283.059 9, 268.036 8	蒙花苷 ^[7-9,17]
M33	13.54	[M-H] ⁻	285.040 5	285.040 4	-0.376	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	267.029 0, 243.028 8, 217.049 5, 199.038 9, 175.038 8, 151.002 4, 133.028 3, 121.028 4, 107.012 8	木犀草素 ^[7,11,18,23]
M34	14.43	[M-H] ⁻	315.051 0	315.051 0	1.667	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	300.026 5, 271.024 0, 255.029 0, 243.028 8	异鼠李素 ^[13,21]

表 1 (续)

编号	t_R/min	电离模式	母离子 (m/z)		误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	MS ² 碎片离子 (m/z)	鉴定结果
			理论值	实际值				
M35	14.48	[M-H] ⁻	299.056 1	299.056 1	-0.100	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	284.031 7, 192.005 2, 176.010 4, 175.002 6, 164.010 4, 147.007 6, 136.015 5, 119.012 8, 108.020 7, 87.023 1	甲基山奈酚 ^[24]
M36	15.15	[M-H] ⁻	271.061 2	271.060 9	2.048	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	178.208 7, 156.998 1, 151.002 5, 119.049 1	柚皮素 ^[23]
M37	15.31	[M-H] ⁻	269.045 5	269.045 6	0.057	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	225.054 6, 201.054 6, 151.002 5, 149.023 2, 117.033 5, 107.012 8	芹菜素 ^[7,9,18,21]
M38	15.72	[M-H] ⁻	285.040 5	285.040 5	-0.023	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	257.044 8, 241.049 7, 199.039 1, 193.013 2, 192.005 4, 177.018 3, 151.002 7, 147.007 7, 133.028 5,	山奈酚 ^[7,9,18,24]
M39	15.89	[M-H] ⁻	329.066 7	329.066 5	-0.502	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	314.042 1, 299.018 6, 271.023 9, 227.034 0, 161.023 4	苜蓿素 ^[6,13]
M40	16.25	[M-H] ⁻	247.134 0	247.133 0	-0.352	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	203.143 1, 163.111 8, 149.096 2, 109.056 0	一枝蒿酮酸 ^[6-7,17]
M41	16.26	[M-H] ⁻	495.275 2	495.275 7	1.055	C ₃₀ H ₄₀ O ₆	247.133 1, 203.143 2, 163.111 9	洋艾素 ^[9,17]
M42	16.28	[M-H] ⁻	345.061 6	345.061 8	0.531	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	330.036 8, 315.013 3, 287.018 6, 271.023 7, 223.023 6, 203.142 9, 195.028 7, 180.005 2, 164.981 7, 149.023 2, 121.028 4	5,6,8,4'-四羟基-7,3'-二甲氧基黄酮 ^[6]
M43	17.17	[M-H] ⁻	359.077 2	359.077 2	-0.017	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	344.052 9, 329.029 5, 314.006 2, 301.034 7, 286.011 2, 270.016 5, 258.016 5, 242.021 4, 202.026 4, 175.002 8, 149.023 5	猫眼草酮D ^[6-7]
M44	19.61	[M-H] ⁻	343.082 3	343.082 4	1.530	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	328.057 7, 313.034 2, 298.010 8, 270.016 1	半齿泽兰素 ^[25]
M45	19.63	[M-H] ⁻	343.082 3	343.082 3	-0.148	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	328.057 7, 313.034 2, 298.010 8, 270.016 1, 242.021 1	石吊兰素 ^[7,9]
M46	20.14	[M-H] ⁻	373.092 9	373.186 1	0.025	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	313.106 9, 304.913 3, 193.122 5, 174.955 2	金腰乙素 ^[21]
M47	20.17	[M-H] ⁻	373.092 9	373.091 5	-0.233	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	358.068 1, 343.044 5, 328.021 3, 300.026 3, 285.003 1	紫花牡荆素 ^[6-7,17]
M48	20.46	[M-H] ⁻	299.056 1	299.056 0	-0.374	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	284.031 8, 192.005 2, 175.010 4, 147.007 6	6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮 ^[7,9]
M49	23.11	[M-H] ⁻	479.280 3	479.278 8	0.860	C ₃₀ H ₄₀ O ₅	435.289 0, 247.132 8, 203.142 9	artepestrin A ^[7,9,26]
M50	23.64	[M-H] ⁻	479.280 3	479.279 2	-0.043	C ₃₀ H ₄₀ O ₅	435.289 6, 247.133 0, 231.074 0, 203.143 2	artepestrin B ^[7,9,26]
M51	24.25	[M-H] ⁻	479.280 3	479.279 1	-0.171	C ₃₀ H ₄₀ O ₅	435.289 3, 285.148 8, 247.133 1, 203.143 1	artepestrin D ^[7,9,26]
M52	24.79	[M-H] ⁻	479.280 3	479.279 3	0.137	C ₃₀ H ₄₀ O ₅	435.289 0, 391.299 3, 285.148 8, 247.133 0, 203.143 1	artepestrin E ^[7,9,26]
M53	25.44	[M-H] ⁻	233.154 7	233.154 5	-0.689	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	219.013 7, 103.014 0, 59.013 1	rupestric acid ^[6]

3.1.1 黄酮类化合物的鉴定 从一枝蒿提取物中共鉴定出黄芩苷、紫花牡荆素、6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮等 33 个黄酮类化合物。以黄芩苷、紫花牡荆素和 6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮为例进行质谱解析。

化合物 **M24** 准分子离子为 m/z 445.078 0 [M-H]⁻, Qualbrowser 软件给出的精确分子式为 C₂₁H₁₈O₁₁, t_R 为 10.90 min (误差为 1.157×10^{-6})。二级碎片离子为 m/z 269.044 3 [M-H-β-D-glu]⁻、 m/z 269.044 3 发生逆第尔斯-阿尔德反应 (retro Diels-Alder reaction, RDA) 裂解丢失 C₉H₆O₃ 生成 m/z 113.023 3, 继而丢失 1 分子 CO 生成 m/z 85.028 5, 结合文献数据^[9,21]推测其为黄芩苷。

化合物 **M47** 准分子离子为 m/z 373.091 5 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₉H₁₈O₈, t_R 为 20.17 min (误差为 -0.233×10^{-6})。二级碎片离子 m/z 358.068 1 [M-H-CH₃]⁻、343.044 5 [M-H-2CH₃]⁻、328.021 3 [M-H-3CH₃]⁻、300.026 3 [M-H-3CH₃-CO]⁻、285.003 1 [M-H-4CH₃-CO]⁻, 为母离子脱甲基生成 m/z 358.068 1, 进一步连续脱去 2 个甲基依次形

成 m/z 343.044 5、328.021 3。 m/z 300.026 3 由 m/z 328.021 3 裂解丢失 CO 生成, m/z 300.026 3 脱甲基生成 m/z 285.003 1。该化合物可能为黄酮类, 与文献数据^[6-7]对比, 推测其为紫花牡荆素, MS² 质谱图及裂解途径见图 2。

化合物 **M48** 准分子离子为 m/z 299.056 0 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₆H₁₂O₆, t_R 为 20.46 min (误差为 -0.374×10^{-6})。二级碎片离子 m/z 284.031 8 [M-H-CH₃]⁻、192.005 2 [M-H-C₇H₇O]⁻、175.010 4 [M-H-C₆H₄O₃]⁻、147.007 6 [M-H-C₇H₄O₄]⁻, 为母离子脱甲基生成 m/z 284.031 8; 进一步分析发现, C 环与 B 环之间的 C-O 键发生断裂, 导致 B 环 C₇H₇O 丢失生成 m/z 192.005 2, 而 C 环发生 RDA 裂解分别生成 m/z 175.010 4、147.007 6 2 个特征碎片离子。该化合物可能为黄酮类, 与文献数据^[7-9,11]对比, 推测其为 6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮。

3.1.2 倍半萜类化合物鉴定 从一枝蒿提取物中共鉴定出一枝蒿酮酸、artepestrin B、rupestric acid 等 7 个倍半萜类化合物。以一枝蒿酮酸、artepestrin A 为例进行质谱解析。

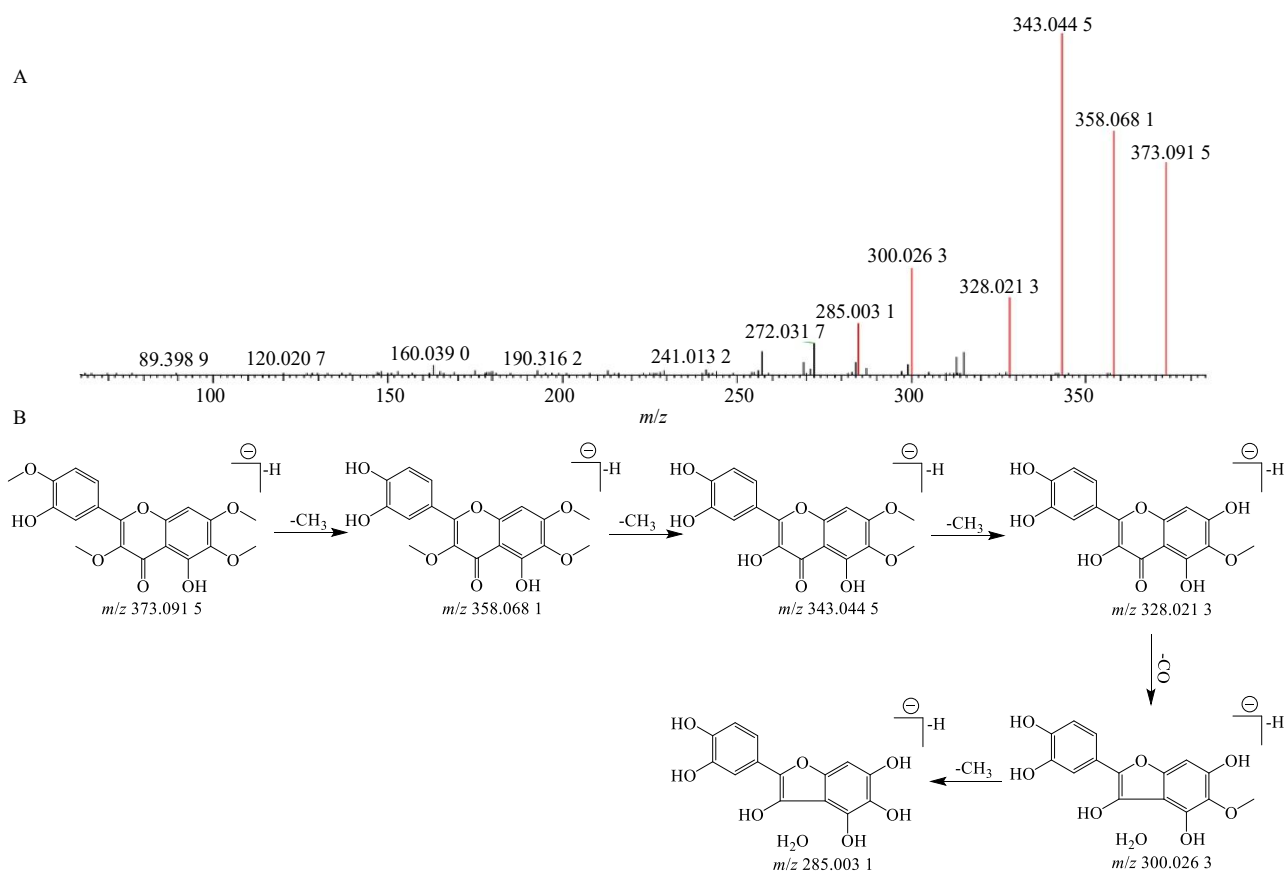


图 2 负离子模式下紫花牡荆素的 MS² 质谱图 (A) 及裂解途径 (B)
Fig. 2 MS² spectra (A) and fragmentation pathways (B) of casticin in negative ion mode

化合物 **M40** 准分子离子为 m/z 247.133 0 [$M-H$]⁻, 分子式为 $C_{15}H_{20}O_3$, t_R 为 16.25 min (误差为 -0.352×10^{-6})。二级碎片离子 m/z 203.143 1 [$M-H-CO_2$]⁻、163.111 8 [$M-H-C_4H_4O_2$]⁻、149.096 2 [$M-H-CO_2-CO-C_2H_2$]⁻、109.065 0 [$M-H-C_8H_{10}O_2$]⁻, 为母离子失去 1 分子 CO_2 生成 m/z 203.143 1, 继而失去 1 分子 CO 、 C_2H_2 形成 m/z 149.096 2, m/z 163.111 8 由母离子通过七元环过渡态发生高能重排裂解 (high-energy rearrangement fragmentation, HRF) 而产生。此外, 母离子经七元环裂解重排生成 m/z 109.065 0 的碎片离子。结合文献数据^[6-7]推测其为一枝蒿酮酸, MS² 质谱图及裂解途径见图 3。

一枝蒿的特征成分还包括倍半萜二聚体, 即以一枝蒿酮酸为核心, 通过酯键、[2+2]环加成或 Diels-Alder 反应与另一倍半萜结合。例如, 化合物 **M49** 准分子离子为 m/z 479.278 8 [$M-H$]⁻, 分子式为 $C_{30}H_{40}O_5$, t_R 为 23.11 min (误差为 0.860×10^{-6})。二级碎片离子 m/z 435.289 0 由母离子裂解丢失 CO_2 产生, m/z 247.133 0 由母离子四元环裂解产生, m/z 203.143 1 由一枝蒿酮酸即 m/z 247.133 0 裂解丢失

CO_2 产生, 结合文献数据^[7,9]推测化合物 **M49** 为 artepestrin A。

3.1.3 有机酸及其衍生物类化合物鉴定 从一枝蒿提取物中共鉴定出绿原酸、奎宁酸、咖啡酸等 11 个有机酸及其衍生物类化合物。以绿原酸为例进行质谱解析。

化合物 **M10** 准分子离子为 m/z 353.087 0 [$M-H$]⁻, 分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$, t_R 为 8.92 min (误差为 0.521×10^{-6})。二级碎片离子 m/z 191.055 1 [$M-H-C_9H_6O_3$]⁻、179.033 9 [$M-H-C_7H_{10}O_5$]⁻、173.044 6 [$M-H-C_9H_6O_3-H_2O$]⁻、135.044 1 [$M-H-C_7H_{10}O_5-CO_2$]⁻, 其酯键断裂产生 m/z 191.055 1 的奎宁酸碎片和 m/z 179.033 9 的咖啡酸碎片。奎宁酸碎片的羟基与羧基成酯时, 丢失 1 分子 H_2O 得到 m/z 173.044 6 碎片离子; 咖啡酸碎片继续丢失 1 分子 CO_2 得到 m/z 135.044 1 碎片离子, 且文献报道^[7,9,14]绿原酸二级质谱裂解规律中 m/z 191.055 1 碎片响应最强, m/z 179.033 9 和 m/z 135.044 1 强度较弱, 因此推测该化合物为绿原酸, MS² 质谱图及裂解规律见图 4。

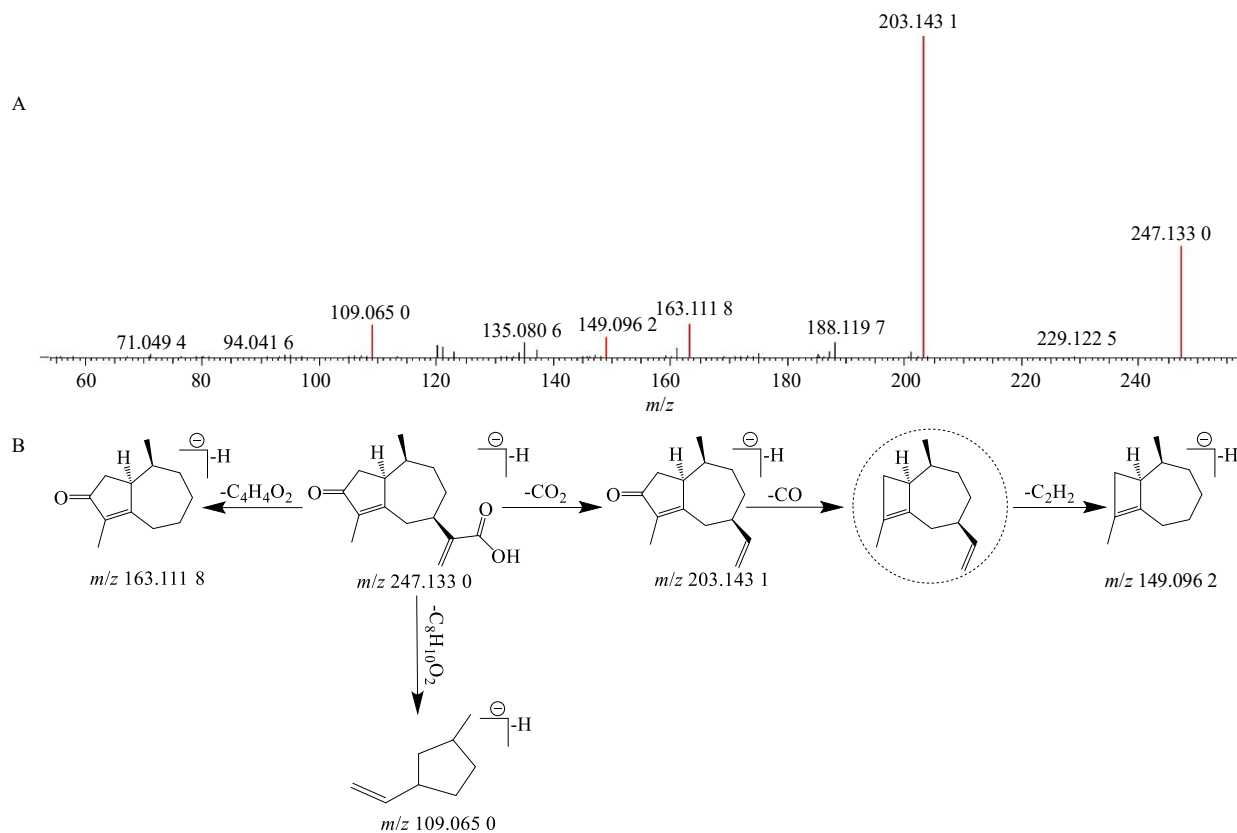


图 3 负离子模式下一枝蒿酮酸的 MS² 质谱图 (A) 及裂解途径 (B)

Fig. 3 MS² spectra (A) and fragmentation pathways (B) of rupestonic acid in negative ion mode

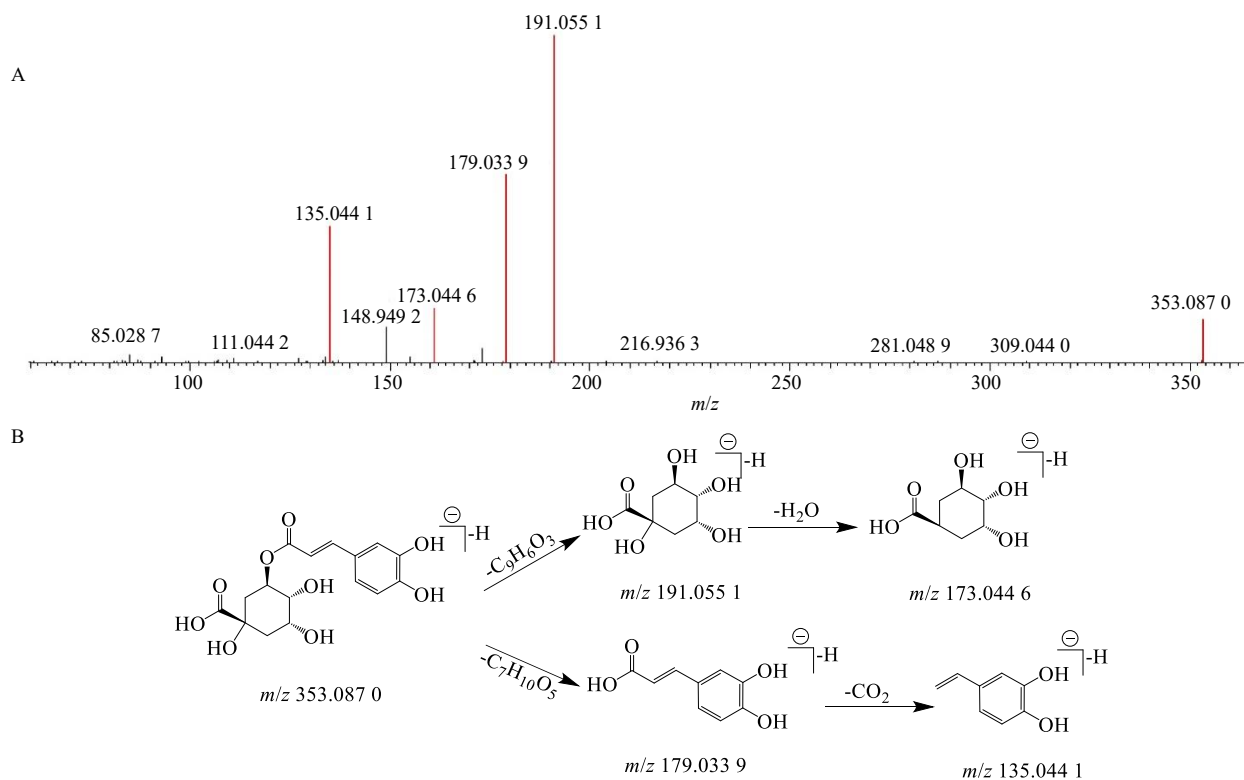


图 4 负离子模式下绿原酸的 MS² 质谱图 (A) 及裂解途径 (B)

Fig. 4 MS² spectra (A) and fragmentation pathways (B) of chlorogenic acid in negative ion mode

3.1.4 香豆素类化合物鉴定 从一枝蒿提取物中鉴定出 7-羟基香豆素, 进行质谱解析。

化合物 **M5** 准分子离子为 m/z 161.023 1 $[M-H]^-$, Qualbrowser 软件给出的精确分子式为 $C_9H_6O_3$, t_R 为 6.74 min (误差为 -1.166×10^{-6})。该化合物主要产生 2 个特征性碎片离子 m/z 133.028 3

$[M-H-CO]^-$ 、117.033 5 $[M-H-CO_2]^-$, 即在负离子模式下母离子裂解丢失 1 分子 CO 生成 m/z 133.028 3, 进一步通过中性丢失 CO_2 产生关键碎片离子 m/z 117.033 5, 结合文献报道的质谱裂解规律^[11-12], 推断该化合物为 7-羟基香豆素, MS^2 质谱图及裂解途径见图 5。

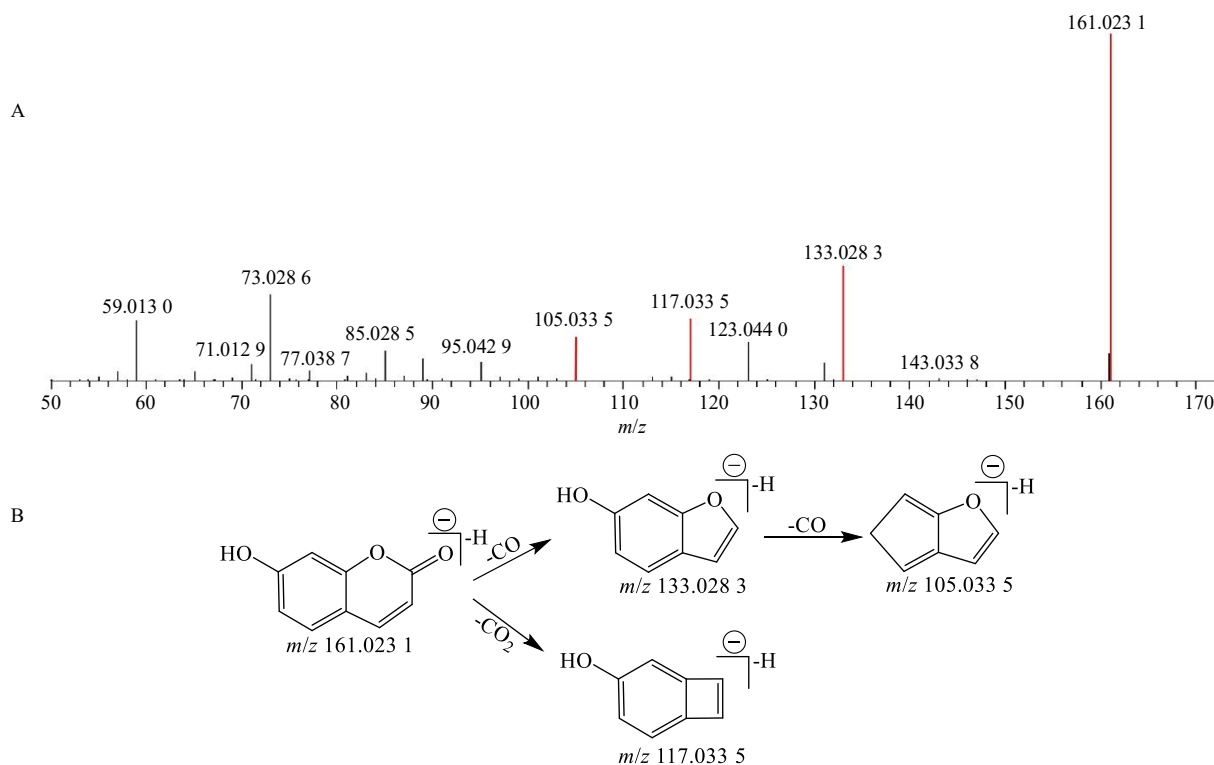


图 5 负离子模式下 7-羟基香豆素的 MS^2 质谱图 (A) 及裂解途径 (B)

Fig. 5 MS^2 spectra (A) and fragmentation pathways (B) of 7-hydroxycoumarin in negative ion mode

3.2 原型入血成分鉴定

通过对比不同处理组血浆与空白血浆, 在各代代谢组血浆样品中共鉴定出 43 个一枝蒿原型入血成分, 大多数为木犀草素及其糖苷衍生物、黄芩苷、6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮等黄酮类成分。结合表 2, 从肠代谢、肝代谢及综合代谢角度对原型入血成分的分布特征及代谢规律进行探讨。在肠道菌群代谢与肠壁代谢组中, 所有成分均能被检测到, 表明一枝蒿化学成分在肠道内稳定性较高, 且能通过肠壁吸收入血。黄酮苷类 (如 **M7**、**M12**) 可能因糖基化结构增强亲水性, 通过肠上皮细胞的主动转运或易化扩散吸收; 而小分子有机酸 (如 **M8**) 可能依赖被动扩散。此外, **M40** (一枝蒿酮酸) 虽未在肝代谢组中检出, 但在综合代谢组中能被检测到, 提示其可能通过肠道直接吸收入血, 或肝脏代谢产物再次转化为原型。**M10** (绿原酸)、**M11** (芦

丁)、**M18** (异绿原酸 A)、**M19** (隐绿原酸)、**M21** (异鼠李素-3-O-葡萄糖苷) 等成分在肝代谢组中未被检出, 推测其可能经肝药酶代谢转化。例如, 绿原酸类 (**M10**、**M18**、**M19**) 可能被细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 酶系水解为咖啡酸与奎宁酸; 黄酮苷 (**M11**、**M21**) 则可能通过尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (uridine diphosphate glucuronosyltransferase, UGT) 或硫酸转移酶 (sulfotransferases, SULF) 发生糖苷键断裂或硫酸化。实验结果发现, 综合代谢组血浆样品的原型入血成分仅有 18 个, 可能因综合代谢研究采用 ig 给药结合定点采血方式, 部分化合物吸收速率较慢而未进入血液循环, 或某些成分吸收、代谢及排泄较快, 以代谢产物形式存在于血液中或已排出体外, 导致血液样本未检测到原型成分。其次, 胃部酸性环境可能导致部分化学物质发生水解反应而分解。

表 2 一枝蒿原型入血成分及代谢位点
Table 2 Prototypical blood components and metabolic sites of *A. rupestris*

编号	化合物	肠代谢		肝代谢	综合代谢
		肠道菌群代谢	肠壁代谢		
M3	奎宁酸	Y	Y	Y	ND
M5	新绿原酸	Y	Y	Y	ND
M7	木犀草素- <i>O</i> -鼠李糖-六碳糖苷	Y	Y	Y	Y
M8	原儿茶酸	Y	Y	Y	Y
M9	阿魏酰奎宁酸	Y	Y	Y	Y
M10	绿原酸	Y	Y	ND	ND
M11	芦丁	Y	Y	ND	ND
M12	芹菜素-6,8-二- <i>C</i> -五碳糖苷	Y	Y	Y	Y
M13	金丝桃苷	Y	Y	Y	ND
M14	一枝蒿酮酸-葡萄糖醛酸-六碳糖苷	Y	Y	Y	ND
M15	紫云英苷	Y	Y	Y	ND
M16	木犀草素-7- <i>O</i> -葡萄糖醛酸苷	Y	Y	Y	ND
M17	异绿原酸B	Y	Y	Y	ND
M18	异绿原酸A	Y	Y	ND	Y
M19	隐绿原酸	Y	Y	ND	ND
M20	木犀草苷	Y	Y	Y	ND
M21	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	Y	Y	ND	ND
M22	芹菜素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	Y	Y	ND	ND
M23	芹菜素-7-葡萄糖醛酸	Y	Y	Y	Y
M24	黄芩苷	Y	Y	Y	Y
M25	异绿原酸C	Y	Y	ND	ND
M26	槲皮素-乙酰-六碳糖	Y	Y	Y	Y
M27	锦葵素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	Y	Y	ND	Y
M28	6-去甲氧基-4'- <i>O</i> -甲基茵陈色原酮-葡萄糖醛酸-六碳糖	Y	Y	Y	ND
M29	艾黄素	Y	Y	ND	ND
M30	异鼠李素-3-葡萄糖醛酸苷	Y	Y	Y	Y
M31	刺槐素	Y	Y	Y	ND
M32	蒙花苷	Y	Y	Y	Y
M33	木犀草素	Y	Y	Y	Y
M34	异鼠李素	Y	Y	Y	ND
M35	甲基山柰酚	Y	Y	Y	Y
M37	芹菜素	Y	Y	Y	ND
M38	山柰酚	Y	Y	Y	Y
M39	苜蓿素	Y	Y	Y	Y
M40	一枝蒿酮酸	Y	Y	ND	Y
M41	洋艾素	Y	Y	Y	Y
M42	5,6,8,4'-四羟基-7,3'-二甲氧基黄酮	Y	Y	ND	ND
M43	猫眼草酚D	Y	Y	Y	ND
M44	半齿泽兰素	Y	Y	ND	ND
M45	石吊兰素	Y	Y	ND	ND
M46	金腰乙素	Y	Y	ND	ND
M47	紫花牡荆素	Y	Y	ND	ND
M48	6-去甲氧基-4'- <i>O</i> -甲基茵陈色原酮	Y	Y	Y	Y

Y 表示检测到的成分，ND 表示未检测到的成分，表 3 同。
Y-detected component, ND-component was not detected, same as table 3.

此外，结肠部位存在大量肠道微生物，这些菌群可能对化合物进行生物转化，进而影响其代谢过程。

3.3 代谢产物鉴定

通过对代谢产物的系统分析，在肠道菌群及肠

壁代谢样品中共鉴定出 20 个相同的代谢产物（表 3），包括艾黄素糖醛酸化产物、甲基-葡萄糖醛酸和一枝蒿酮酸衍生物等，2 组代谢产物基本无差异。

除了 M2、M19，其他 19 个代谢产物在肠道菌群、

表 3 一枝蒿代谢成分鉴定结果
Table 3 Identification of metabolites of *A. rupestris*

编号	<i>t</i> _R /min	电离模式	母离子 (<i>m/z</i>)		误差 (×10 ⁻⁶)	分子式	MS ² 碎片离子 (<i>m/z</i>)	鉴定结果	肠代谢			
			理论值	实际值					肠道菌 群代谢	肠壁 代谢	肝代 谢	综合 代谢
M1	3.56	[M-H] ⁻	261.007 4	261.007 5	0.111	C ₉ H ₁₀ O ₇ S	261.006 6, 181.049 5, 137.059 7, 135.044 1	二氢咖啡酸硫酸酯 化物 ^[13,27]	Y	Y	Y	ND
M2	5.65	[M-H] ⁻	258.991 8	258.991 8	-0.080	C ₉ H ₈ O ₇ S	179.033 9, 146.960 2, 135.044 1	咖啡酸磺酸化 ^[27]	ND	ND	Y	ND
M3	5.86	[M-H] ⁻	275.023 1	275.022 9	-0.734	C ₁₀ H ₁₂ O ₇ S	230.985 3, 195.028 9, 180.041 8, 177.054 7, 133.064 9, 123.044 2	二氢氧甲基咖啡酸 硫酸酯化物 ^[27]	Y	Y	Y	Y
M4	6.11	[M-H] ⁻	273.007 4	273.007 4	-0.118	C ₁₀ H ₁₀ O ₇ S	193.049 5, 178.026 2, 149.059 8, 134.036 3	阿魏酸磺酸化 ^[13]	Y	Y	Y	Y
M5	8.05	[M-H] ⁻	563.140 6	563.141 0	0.647	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	503.118 3, 473.107 5, 443.097 0, 425.086 5, 383.075 8, 353.065 3	芹菜素-C-己糖苷-C- 戊糖苷 ^[9,13]	Y	Y	Y	Y
M6	8.71	[M-H] ⁻	281.139 4	281.139 5	0.214	C ₁₅ H ₂₂ O ₅	263.127 9, 237.148 8, 219.138 0, 201.127 4, 183.116 8, 167.106 8, 159.117 2, 149.096 2	一枝蒿酮酸氢化氧 化产物 ^[9,13]	Y	Y	Y	Y
M7	9.26	[M-H] ⁻	439.161 0	439.161 2	0.607	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₀	263.128 1, 219.138 2, 204.114 7, 175.023 9, 113.023 5, 85.028 7	一枝蒿酮酸羟基基化 糖醛酸化 ^[13]	Y	Y	Y	Y
M8	11.25	[M-H] ⁻	475.088 2	475.088 5	0.650	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.055 0, 284.031 7, 175.023 8, 113.023 4	甲基山柰酚葡萄糖 醛酸化 ^[13]	Y	Y	Y	Y
M9	11.97	[M-H] ⁻	279.123 8	279.123 8	0.069	C ₁₅ H ₂₀ O ₅	261.112 3, 217.122 3, 199.111 8, 189.091 0	一枝蒿酮酸二次单 加氧产物 ^[13]	Y	Y	Y	Y
M10	12.02	[M-H] ⁻	423.166 1	423.166 3	0.662	C ₂₁ H ₂₈ O ₉	286.955 6, 247.132 7, 218.981 1, 203.142 9, 175.023 6, 113.023 3, 85.028 5	一枝蒿酮酸葡萄糖 醛酸化 ^[13]	Y	Y	Y	Y
M11	12.25	[M-H] ⁻	263.128 9	263.128 6	-1.214	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	219.138 2, 204.114 7, 201.127 7	rupestonic B ^[18,28]	Y	Y	Y	Y
M12	13.26	[M-H] ⁻	263.128 9	263.128 6	-1.012	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	219.137 8, 201.127 3, 177.127 3, 137.059 6	rupestonic E ^[7,28]	Y	Y	Y	Y
M13	14.02	[M-H] ⁻	535.109 3	535.109 5	0.383	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₄	359.076 4, 344.052 8, 329.029 6, 301.034 7, 113.023 6	猫眼草酚 D 糖醛酸 化物 ^[13]	Y	Y	Y	Y
M14	14.16	[M-H] ⁻	519.114 4	519.114 7	0.507	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₃	343.081 3, 328.057 9, 313.034 6	异鼠李素葡萄糖醛 酸化 ^[7,13]	Y	Y	Y	Y
M15	14.41	[M-H] ⁻	549.125 0	549.125 2	0.352	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₄	373.091 4, 358.068 2, 343.044 5, 328.021 2, 175.023 6, 113.023 3, 85.028 5	紫花牡荆素葡萄糖 醛酸化 ^[27,29]	Y	Y	Y	Y
M16	14.52	[M-H] ⁻	425.181 7	425.181 7	0.082	C ₂₁ H ₂₆ O ₉	363.178 6, 249.148 6, 175.023 7, 113.023 4	一枝蒿酮酸加氢还 原糖醛酸化 ^[9,13]	Y	Y	Y	Y
M17	15.23	[M-H] ⁻	265.144 5	265.144 5	-0.127	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	247.133 3, 221.153 7, 203.143 3, 195.101 8, 151.111 8	一枝蒿酮酸羟基基化 代谢物 ^[9,13]	Y	Y	Y	Y
M18	15.98	[M-H] ⁻	245.118 3	245.118 2	-0.639	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	225.683 4, 201.127 9, 186.104 4	一枝蒿酮酸脱氢产 物 ^[9,13]	Y	Y	Y	Y
M19	16.21	[M-H] ⁻	441.176 6	441.176 9	0.650	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₀	305.091 6, 265.143 7, 247.133 2, 203.143 1, 193.034 3, 175.023 6, 131.033 9, 113.023 4, 101.023 5, 85.028 6, 72.992 3	一枝蒿酮酸加氢还 原单加氧糖醛酸 化物 ^[9,13]	Y	Y	ND	ND
M20	17.57	[M-H] ⁻	439.034 1	439.034 0	-0.143	C ₁₈ H ₁₆ O ₁₁ S	439.033 3, 359.076 5, 344.052 9, 329.029 7	猫眼草酚 D 磺酸化 物 ^[13]	Y	Y	Y	ND
M21	19.00	[M-H] ⁻	245.118 3	245.118 3	-0.064	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	201.127 3, 186.103 9, 161.096 0, 135.080 4	一枝蒿酮酸脱氢产 物 ^[9,13]	Y	Y	Y	Y

肠壁代谢及肝代谢组中均被检出,表明这些成分在肠道吸收后可直接进入肝循环而未发生显著代谢转化。肝脏代谢组表现出明显的磺酸化修饰特征(如 **M2** 仅在肝代谢中检出),而 **M19** (一枝蒿酮酸加氢还原单加氧葡萄糖醛酸化物)在肝代谢中消失,表明其可能被肝脏进一步转化。综合代谢组中,部分黄酮类葡萄糖醛酸结合物及一枝蒿酮酸衍生物稳定存在,可能作为最终循环或排泄形式,而部分磺酸化产物(如 **M2**、**M20**)未检出,提示其可能被快速清除。代谢途径解析表明,有机酸类成分以磺酸化为主导代谢路径,一枝蒿酮酸类成分依次经历氧化、脱氢和糖醛酸化修饰,并可能伴随脱水与脱羧反应,其代谢过程呈现肠道菌群与肝脏的协同修饰特征。黄酮类成分则以葡萄糖醛酸化为主导代谢路径,异鼠李素、紫花牡荆素等均以葡萄糖醛酸结合物形式稳定存在。

4 讨论

推动中医药高质量发展的核心在于构建科学完善的中药质量评价体系与标准,只有不断创新和完善中药质量评价模式,才能有效引导产业发展,确保中药用药安全^[30]。“十四五中医药发展规划”明确将提升中药质控水平列为重点任务之一^[31]。中药通过多成分、多靶点协同作用发挥疗效,只到达靶标并维持有效血药浓度的成分才具有治疗作用。因此,分析入血成分及其代谢产物,对阐明药效物质基础、提升质量标准至关重要。

本研究通过建立大鼠在体实验模型,采用序贯代谢方法结合 UPLC-Q-OT-qIT MS 技术,系统分析一枝蒿提取物及其肠代谢、肝代谢和综合代谢 3 种处理组的含药血浆样品。其中肠代谢组采用空肠或结肠部位给药,结扎肝门静脉及侧支血管后于肠系膜静脉采血,主要反映肠壁酶和肠道菌群的代谢作用;肝代谢组不结扎肝门静脉,药物经过肠道代谢后还会经过肝脏代谢;综合代谢组则模拟传统煎煮口服给药途径,药物依次经历胃液消化、肠道代谢和肝脏代谢全过程。有效追踪多组分环境下的代谢动态变化,聚焦活性成分筛选范围,克服传统体外研究的局限性,实现对入血成分的系统分析与全面表征,为阐明药物体内吸收代谢规律提供可靠的技术手段。实验结果显示,从一枝蒿提取物中鉴定出 53 个化学成分,在血浆样品中共检测到 43 个原型成分和 21 个代谢产物。其中,咖啡酸、1-咖啡酰奎宁酸、7-羟基香豆素、柚皮素、artepestrin A/B/D/E、

rupestric acid 等 10 个成分未在血样中检出。结合已鉴定的 21 个代谢产物分析,推测咖啡酸可能通过还原或磺酸化反应生成二氢咖啡酸硫酸酯化物和咖啡酸磺酸化物;1-咖啡酰奎宁酸可能水解为奎宁酸或异构化为其他绿原酸类衍生物;7-羟基香豆素可能因羟基化或葡萄糖醛酸化未被检出;柚皮素可能转化为黄酮醇类(如山柰酚、异鼠李素)或其结合态代谢物(如甲基山柰酚葡萄糖醛酸化物)。萜类成分 artepestrin A/B/D/E 及 rupestric acid 可能通过羟基化、葡萄糖醛酸化或氧化还原反应生成 rupestronic B/E 等代谢产物。这些推测提示,未入血成分可能因代谢速率快、浓度低或转化为其他衍生物而未被直接检测,后续研究可通过体外代谢模型进一步验证其具体转化途径。

前期分别考察有机溶剂沉淀法与固相萃取(solid-phase extraction, SPE)法对一枝蒿提取物大鼠血浆样本的处理效果,结果显示有机溶剂沉淀法检出的入血成分显著多于 SPE 小柱法。一方面,可能是由于一枝蒿中的黄酮类和有机酸类成分通常含有酚羟基、羧基等极性基团,易与血浆蛋白通过氢键或疏水作用结合。有机溶剂通过破坏蛋白质高级结构,使结合态成分充分释放,而 SPE 小柱未能完全解离蛋白-小分子复合物,导致部分结合态成分随蛋白沉淀丢失。另一方面, SPE 小柱的保留机制依赖于目标物与固定相的亲和力, C₁₈ 等反相填料对非极性成分(如部分倍半萜类)富集效果较好,但对强极性有机酸(如绿原酸、咖啡酸)或蛋白结合态黄酮的保留能力较弱。此外, SPE 虽能降低磷脂等基质干扰,但由于其操作步骤较多,可能存在吸附不完全或洗脱效率不足的问题,从而导致成分损失。因此,若以全面表征一枝蒿入血成分为目标,有机溶剂沉淀法更具优势;但若需精准定量特定成分,则需优化 SPE 填料及洗脱条件。建议后续研究先通过有机溶剂沉淀法广谱筛查潜在药效成分,再针对关键成分开发 SPE 富集方法,以实现覆盖度与准确性的平衡。

本研究基于中药多组分、多代谢途径的特性,创新性地建立了一枝蒿在大鼠体内的代谢轮廓分析方法,首次揭示了其化学成分在不同代谢部位的动态变化规律。该研究不仅为阐明该药材的药效物质基础提供了关键实验证据,同时为完善中药质量控制体系奠定了重要基础。虽然该研究鉴定出多种入血成分,但由于实验设计中采用“将所有时间点

血浆样品合并”的策略,未能全面反映药物成分的动态代谢过程。后续研究应增加多个关键时间点的采样,结合药动力学分析,系统描绘活性成分的时间-浓度曲线,以更准确评估其在机体内的动态变化规律。在药效物质基础验证方面,目前尚未通过实验直接验证各成分的药效贡献,后续课题组将继续采用活性导向分离技术,结合体外或体内药效模型,直接验证候选成分的生物活性;同时整合网络药理学与分子对接方法,构建“成分-靶点-通路”多维互作网络,为药效物质基础及其作用机制提供更可靠的实验依据。在技术方法上,UPLC-Q-OT-qIT MS 对结构高度相似的异构体或同系物区分能力有限,且有机溶剂沉淀法处理的血浆样本可能遗漏低丰度代谢物,建议在今后的相关研究中辅以核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)等技术进行交叉验证,或引入离子淌度质谱(ion mobility mass spectrometry, IMMS)等增强分离能力的手段,以提高化合物鉴定结果的准确性和覆盖度。此外,一枝蒿在临床上多配伍使用,而本研究仅考察了单味药材的代谢特征,未能反映复方环境对其成分代谢的影响。后续可逐步拓展至复方体系,系统揭示一枝蒿的药效物质基础、动态代谢规律及分子机制,为推动中药现代化与质量标准体系的建立提供更坚实的科学依据。

志谢:中央民族大学王中华副教授对本研究质谱测定工作提供的帮助。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 丁曼,程江南,阿地娜·阿不都艾尼,等.基于指纹图谱和一测多评联合化学计量学、嫡权 TOPSIS 法及加权 RSR 法对一枝蒿的质量评价 [J]. 药物分析杂志, 2025, 45(3): 475-488.
- [2] Luo Z Q, Liu Y, Han X, *et al.* Mechanism of *Paeoniae Radix Alba* in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease based on sequential metabolites identification approach, network pharmacology, and binding affinity measurement [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 677659.
- [3] Yang W N, Jiang X Q, Liu J T, *et al.* Integrated strategy from *in vitro*, *in situ*, *in vivo* to *in silico* for predicting active constituents and exploring molecular mechanisms of Tongfengding Capsule for treating gout by inhibiting inflammatory responses [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 759157.
- [4] 刘慧宁,刘磊,于爽,等.基于 UPLC-HRMS 的大鼠体内栀子多成分序贯代谢研究 [J]. 中草药, 2023, 54(18): 5980-5992.
- [5] 江晓泉,杨文宁,森慕黎,等.基于多成分序贯代谢的石榴皮中枢神经系统保护作用物质基础研究 [J]. 质谱学报, 2022, 43(3): 312-325.
- [6] Zhang P J, Jiang J, Zhang K, *et al.* Shotgun chemome characterization of *Artemisia rupestris* L. Using direct infusion-MS/MS^{ALL} [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1176: 122735.
- [7] 刘明娟,李凯琳,张敏,等.基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 的复方一枝蒿颗粒化学成分快速鉴定 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(3): 507-517.
- [8] 张安娜,陈森杰,周晨阳,等.基于 UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS 分析柴胡清肝汤的物质基础及其体内分布特征 [J]. 中草药, 2025, 56(14): 4947-4965.
- [9] 张佩杰,曹妍,张珂,等.利用 HPLC-IT-TOF-MS 分析新疆一枝蒿的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(19): 4658-4666.
- [10] 殷会敏,黄文哲,肖伟.基于 RRLC-Q-TOF-MS/MS 技术快速分析茛菪颗粒的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4240-4247.
- [11] 陈森杰,高思琦,王星星,等.基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 鉴定泽泻汤化学成分及小鼠体内成分组织分布特征 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8336-8352.
- [12] 刘瑾,徐东川,隋在云.基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的桑白皮大鼠体内入血成分研究 [J]. 中药材, 2022, 45(4): 877-881.
- [13] 张佩杰.新疆一枝蒿化学成分及体内过程分析 [D]. 北京:中央民族大学, 2021.
- [14] 姜娟娟,刘晓闯,张艳艳,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的黄芩清热除痹胶囊化学成分分析 [J]. 分析测试学报, 2024, 43(6): 814-825.
- [15] Zhou Z, Xie B, He B S, *et al.* Multidimensional molecular differences between artificial cultivated and wild *Artemisia rupestris* L. based on metabolomics-transcriptomics integration strategy [J]. *Ind Crops Prod*, 2021, 170: 113732.
- [16] 肖观林,江洁怡,程青云,等.UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分析栳樗叶的化学成分 [J]. 分析测试学报, 2023, 42(11): 1424-1433.
- [17] 陈路路,王中华,周帆,等.基于液相色谱-串联质谱技术的新疆一枝蒿植物代谢组学分析方法研究 [J]. 分析化学, 2018, 46(5): 735-742.
- [18] 王纪阳,周帆,谢冰,等.基于代谢组学的新疆一枝蒿生长关键成分研究 [J]. 分析化学, 2023, 51(3): 390-400.
- [19] 郭旻珊,肖观林,谢灿辉,等.UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 UPLC-QQQ-MS/MS 分析洋甘菊的化学成分 [J]. 分析

- 测试学报, 2024, 43(11): 1803-1812.
- [20] Cao Y, Zang Y C, Huang X Y, *et al.* Chemical constituents from *Artemisia rupestris* and their neuraminidase inhibitory activity [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(11): 1775-1782.
- [21] 胡振宇, 卜俊文, 吴宇, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术分析醋润蜜麸炒柴胡炮制过程中成分差异 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3109-3120.
- [22] 李镇, 李俊, 安若凡, 等. 基于标准提取物的欧洲越橘提取物质量控制方法及药效活性关联研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2561-2570.
- [23] 王迪, 杨洁丽, 施远, 等. 基于 2 种质谱技术的经典名方槐花散指纹图谱建立和化学成分研究 [J]. 中草药, 2025, 56(10): 3499-3512.
- [24] Gu D Y, Yang Y, Abdulla R, *et al.* Characterization and identification of chemical compositions in the extract of *Artemisia rupestris* L. by liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, 26(1): 83-100.
- [25] 雷青会, 靳景惠, 李东阳, 等. 艾绒的化学成分研究 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 3949-3955.
- [26] Chen Z, Wang S, Zeng K W, *et al.* Nitric oxide inhibitory dimeric sesquiterpenoids from *Artemisia rupestris* [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(1): 213-223.
- [27] 刘文静, 曹耘畅, 冯素香, 等. 基于 HPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术的异绿原酸 A 体内代谢产物分析 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(15): 4220-4229.
- [28] Chen Z, Wang S, Zeng K W, *et al.* Rupestonic acids B-G, NO inhibitory sesquiterpenoids from *Artemisia rupestris* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(17): 4318-4322.
- [29] 张可瑜, 符纯清, 马莉, 等. 青蒿化学成分生物合成、体内分析及药代动力学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2): 347-358.
- [30] 马双成, 王莹, 魏锋. 我国中药质量控制模式十年来的实践与探索 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(1): 2-9.
- [31] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6319-6327.

[责任编辑 李亚楠]