虎杖在急性痛风性关节炎大鼠中的入血成分及代谢产物分析Δ

柯彩依*，沈　蒙，吉　莉，王雪纯，朱雨晴，陈　西，王铖维琦，马　群#（北京中医药大学中药学院，北京 102488）

中图分类号　R965；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）13-1581-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.13.05

摘　要　目的　分析虎杖在急性痛风性关节炎（AGA）大鼠中的入血成分及代谢产物。**方法**　将SD大鼠随机分为空白组、模型组和虎杖给药组（10 g/kg，以生药量计），每组6只。除空白组外，其余各组大鼠通过注射氧嗪酸钾和尿酸钠复制AGA模型，同时灌胃相应药液或水，每天1次，连续10 d。观察大鼠膝关节组织病理学形态；收集大鼠血清样品，采用超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱法分析虎杖的入血成分和代谢产物。**结果**　经虎杖干预后，AGA大鼠膝关节滑膜组织病理形态明显改善，炎症细胞浸润和增生减少，蜂窝状结构完整。在正、负离子模式下，虎杖给药组大鼠血清中共检测出67个化学成分，包括25个原型成分和42个代谢产物，涉及的化合物类型有二苯乙烯类、蒽醌类、萘酚类、黄酮类等，涉及的代谢反应有甲基化、乙酰化、硫酸酯化、葡萄糖醛酸化，其中虎杖苷、白藜芦醇、大黄素等化合物均能以原型入血并发生体内代谢。**结论**　虎杖苷、白藜芦醇、大黄素等化合物可能是虎杖抗AGA的活性成分。

关键词　虎杖；急性痛风性关节炎；入血成分；代谢产物；药效；活性成分；超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱法

Analysis of components migrating to blood and metabolites of *Polygonum cuspidatum* in rats with acute gouty arthritis

KE Caiyi, SHEN Meng, JI Li, WANG Xuechun, ZHU Yuqing, CHEN Xi, WANG Chengweiqi, MA Qun (School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488)

ABSTRACT　OBJECTIVE To analyze the components migrating to blood and metabolites of *Polygonum cuspidatum* in rats with acute gouty arthritis (AGA). **METHODS** SD rats were randomly divided into blank group, model group and *P. cuspidatum* group (10 g/kg, by raw material), with 6 rats in each group. Except for blank group, AGA model was induced in the remaining groups by injecting potassium oxonate and sodium urate; meanwhile, they were administered corresponding drug solutions or water intragastrically, once a day, for 10 consecutive days. The histopathological morphology of the knee joint tissues in rats was observed; rat serum samples were collected, and the components migrating to blood and metabolites of *P. cuspidatum* were analyzed by using UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS. **RESULTS** Following the intervention with *P. cuspidatum*, the histopathological morphology of the knee joint synovial tissue in AGA rats showed significant improvement, with reduced inflammatory cell infiltration and hyperplasia, and the preservation of the honeycomb-like structure integrity. In both positive and negative ion modes, a total of 67 chemical components were detected in the serum of rats from *P. cuspidatum* group, including 25 prototype components and 42 metabolites. The involved compound types encompassed stilbenes, anthraquinones, naphthols, and flavonoids, among others. The metabolic reactions identified included methylation, acetylation, sulfation, and glucuronidation. Notably, compounds such as polydatin, resveratrol and emodin were capable of entering the bloodstream in their prototype forms and undergoing *in vivo* metabolism. **CONCLUSIONS** Compounds such as polydatin, resveratrol and emodin are likely to be the active components responsible for the anti-AGA effects of *P. cuspidatum*.

KEYWORDS　*Polygonum cuspidatum*; acute gouty arthritis; components migrating to blood; metabolites; pharmacokinetics; active components; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

急性痛风性关节炎（acute gouty arthritis，AGA）是由尿酸钠结晶沉积引发的急性关节炎疾病，在全球患病率呈逐年上升趋势，成年人群患病率已达0.68%～3.90%[1]。其现有治疗药物黄嘌呤氧化酶抑制剂、促尿酸排泄药（如秋水仙碱）、非甾体抗炎药等，存在骨髓抑制、胃肠道毒性、肾功能损伤等副作用，且患者依从性差，从而限制了AGA的临床治疗效果[2-3]。

虎杖*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.为蓼科多年生草本植物虎杖的根茎和根，具有散瘀止痛的功效，可用于治疗风湿痹痛等病症[4]。临床和现代药理研究证实，虎杖在AGA治疗中具有明确疗效，是中医临床治疗AGA的核心药物[5-6]。中药的体内代谢产物是研究其作

Δ**基金项目**　国家中医药管理局高水平中医药重点学科（中药分析学）建设项目（No.zyyzdxk-2023265）

* **第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药分析。E-mail：15720963171@163.com

\# **通信作者**　研究员，博士。研究方向：中药药剂、中药分析。E-mail：maqun99@126.com

用机制的重要部分[7]，但目前关于虎杖入血成分和体内代谢过程的研究较少，且对其在AGA模型动物体内的研究鲜有报道[8]。基于此，本研究通过超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱（UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS）法，鉴定虎杖在AGA大鼠中的入血成分，并研究虎杖在AGA大鼠体内的吸收、代谢过程，以期阐明虎杖治疗AGA的药效物质基础，为虎杖的临床应用和进一步开发提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

Ultimate 3000型超高效液相色谱仪和Q-Exactive-Orbitrap-MS仪购自美国Thermo Fisher Scientific公司；BS 124S型万分之一电子天平购自北京赛多利斯仪器系统有限公司；ZDHW型调温型电热套购自北京中兴伟业仪器有限公司；WS-10型光学显微镜购自江苏智跃医疗科技有限公司。

1.2 主要药品与试剂

尿酸钠（批号BCCF5862）购自美国Sigma公司；氧嗪酸钾、乌来糖（批号分别为C14819668、C15887472）均购自上海麦克林生化科技有限公司。虎杖（批号10510201）购自北京三和药业有限公司，经北京中医药大学杨瑶珺教授鉴定为蓼科植物虎杖*P. cuspidatum* Sieb. et Zucc.的干燥根茎和根。

1.3 实验动物

本研究所用SPF级健康雄性SD大鼠共18只，体重（200±20）g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，动物生产许可证号为SCXK（京）20190008。所有大鼠均置于北京中医药大学动物房饲养，使其自由饮食饮水，环境温度为（23±2）℃，相对湿度为（60±5）%，每日12 h光照与12 h黑暗模拟昼夜循环。本实验方案经北京中医药大学医学与实验动物伦理委员会批准（编号BUCM-4-2022040602-2003）。

2 方法

2.1 虎杖提取液的制备

称取虎杖药材200 g，加3倍量75%乙醇浸泡12 h，加热回流1 h，提取3次，合并滤液，于水浴锅80 ℃条件下浓缩成质量浓度为2 g/mL的虎杖提取液（以生药量计）[9]。

2.2 动物分组、造模与给药

18只大鼠适应性喂养3 d后，随机分为空白组、模型组和虎杖给药组，每组6只。参考文献[10—11]方法建立AGA大鼠模型，具体方法如下：模型组和虎杖给药组大鼠腹腔注射3%氧嗪酸钾（0.01 mL/g），每天2次，连续7 d；第8天，两组大鼠腹腔注射乌来糖（0.001 mL/g，下同）麻醉，将右膝关节向后屈曲95°～100°，充分打开关节腔间隙并注入0.2 mL尿酸钠混悬液（25 mg/mL）以造模；空白组大鼠腹腔及右膝关节腔注入等体积生理盐水。造模后，各组取1只大鼠处死，剖取右膝关节组织，固定于4%多聚甲醛溶液中，经脱水、石蜡包埋、切片后，进行苏木素-伊红染色，采用光学显微镜观察膝关节组织病理学变化，若造模大鼠膝关节滑膜处理层的边界模糊、蜂窝状结构消失，并出现大量炎症细胞浸润和异常增生，则表明造模成功。各组大鼠造模与给药同时进行，虎杖给药组大鼠灌胃虎杖提取液10 g/kg（剂量根据预实验结果设置，以生药量计），空白组和模型组大鼠灌胃等体积水，每天1次。造模结束后，各组大鼠又继续灌胃相应药物/水2 d。

2.3 血清样本的采集

末次给药1 h后，各组大鼠腹腔注射乌来糖麻醉，腹主动脉取血。血样于37 ℃促凝1 h、4 ℃收缩30 min；在4 ℃条件下以3 500 r/min离心15 min，吸取上清液，置于−80 ℃冷冻保存，备测。

2.4 膝关节组织病理学形态观察

取血完成后，处死各组大鼠，取其右膝关节组织置于4%多聚甲醛溶液中固定，按“2.2”项下相应方法处理后，采用光学显微镜观察膝关节组织病理学变化。

2.5 虎杖入血成分及代谢产物分析

2.5.1 色谱条件

以ACQUITY UPLC BEH C_{18}（2.1 mm×100 mm，1.7 μm）为色谱柱，以0.1%甲酸溶液（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～5 min，2%B→10%B；5～25 min，10%B→40%B；25～32 min，40%B→60%B；32～37 min，60%B→98%B；37～39 min，98%B；39～40 min，98%B→2%B；40～42 min，2%B）；流速为0.20 mL/min；柱温为30 ℃；进样体积为2 μL。

2.5.2 质谱条件

采用电喷雾离子源（ESI），在正、负离子模式下扫描，扫描范围为100～1 500 Da；毛细管温度为350 ℃；正离子模式喷雾电压为3.5 kV，负离子模式喷雾电压为2.5 kV；鞘气流速为35 arb，辅助气流速为15 arb；碰撞能量为30、50、70 V；一级分辨率为70 000，二级分辨率为17 500；扫描方式为Full MS/dd-MS2模式。

2.5.3 血清样本的前处理

将模型组和虎杖给药组大鼠血清分别混合，各取300 μL，加入3倍量乙腈，涡旋混匀2 min，冰水浴超声10 min，于4 ℃条件下以12 000 r/min离心15 min；取上清液，以氮气吹干，残渣加入200 μL 50%乙腈，涡旋2 min，再次离心15 min，取上清液，按“2.5.1”“2.5.2”项下条件进样分析。

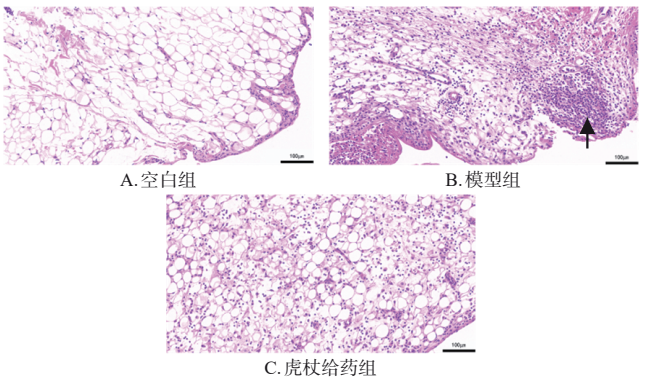
2.5.4 数据分析

将模型组和虎杖给药组大鼠的血清质谱数据以及虎杖提取液的质谱数据导入Xcalibur 3.0软件进行峰提取和峰匹配，设置质量精度误差小于10 ppm，原型成分及代谢产物参考前期研究结果及相关文献[12]，根据化合物的保留时间、精确分子量、碎片离子信息进行鉴定。

3 结果

3.1 大鼠膝关节组织病理学形态观察结果

空白组大鼠膝关节滑膜组织的蜂窝状结构清晰，未发现血管增生和炎症细胞浸润；模型组大鼠膝关节滑膜组织边界模糊，蜂窝状结构消失，出现大量炎症细胞浸润和异常增生；与模型组比较，虎杖给药组大鼠膝关节滑膜组织病理学形态明显改善，炎症细胞浸润和增生减少，蜂窝状结构完整。结果见图1。



A.空白组　B.模型组　C.虎杖给药组

注：箭头所指为炎症浸润部位。

图1　各组大鼠滑膜组织的HE染色图（标尺为100 μm）

3.2 虎杖在大鼠体内的入血成分和代谢产物分析

3.2.1 入血成分和代谢产物分析

在正、负离子模式下分析虎杖提取液以及模型组、虎杖给药组大鼠血清样本，得到总离子流图（图2）。在参考文献[12－13]的基础上，从虎杖给药组大鼠血清中共检测出67个化学成分，包括25个原型成分和42个代谢产物，具体见表1。

3.2.2 原型成分的鉴定

（1）二苯乙烯类：虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出5个以原型入血的二苯乙烯类化合物（Y1～Y5）。以化合物Y3为例，在负离子模式下，其保留时间为12.70 min，准分子离子峰为 *m/z* 389.124 9[M-H]$^-$，分子式为$C_{20}H_{22}O_8$。准分子离子峰 *m/z* 389.124 9[M-H]$^-$在脱去$C_6H_{10}O_5$（162）后生成 *m/z* 227.071 5[M-H-$C_6H_{10}O_5$]$^-$，进一步失去C_2H_2O（42）和$2C_2H_2O$（84）后，分别生成 *m/z* 185.060 9[M-H-$C_6H_{10}O_5$-C_2H_2O]$^-$和 *m/z* 143.050 3[M-H-$C_6H_{10}O_5$-$2C_2H_2O$]$^-$。这与文献报道的白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷裂解规律基本一致[14]，故推测其为白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷。其具体裂解途径见图3。

（2）蒽醌类：虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出5个以原型入血的蒽醌类化合物（Y6～Y10）。以化合物Y6为例，在负离子模式下，其保留时间为23.02 min，准分子离子峰为 *m/z* 269.045 9[M-H]$^-$，分子式为$C_{15}H_{10}O_5$。准分子离子峰 *m/z* 269.045 9[M-H]$^-$脱去CO（28）、CO_2（44），分别生成 *m/z* 241.050 8[M-H-CO]$^-$、*m/z* 225.056 0[M-H-CO_2]$^-$；*m/z* 225.056 0[M-H-CO_2]$^-$进一步失去CH_3（15）、CO（28）、CO_2（44），分别生成 *m/z* 210.032 8[M-H-CO_2-CH_3]$^-$、*m/z* 197.061 0[M-H-CO_2-CO]$^-$、*m/z* 181.066 2[M-H-$2CO_2$]$^-$。这与文献报道的大黄素裂解规律基本一致[15]，故推测其为大黄素。其具体裂解途径见图4。

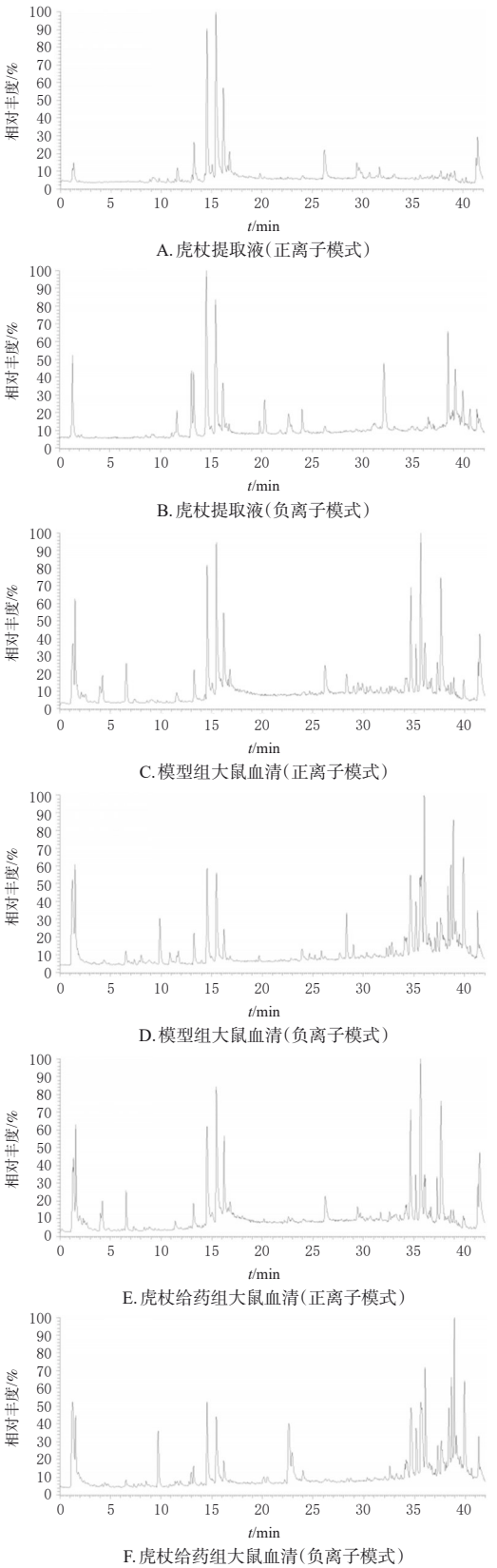


图2　各样品的基峰离子图

（3）萘酚类：虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出2个以原型入血的萘酚类化合物（Y15～Y16），以化合物Y15为例，在负离子模式下，其保留时间为22.67 min，准分子

表1　虎杖在AGA大鼠血清中的原型成分及代谢产物

序号	保留时间/min	分子式	化合物	序号	保留时间/min	分子式	化合物
Y1	12.76	$C_{14}H_{12}O_3$	白藜芦醇	M10	14.43	$C_{14}H_{12}O_6S$	硫酸白藜芦醇[a]
Y2	9.33	$C_{20}H_{22}O_{11}S$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷硫酸盐	M11	16.99	$C_{14}H_{12}O_6S$	硫酸白藜芦醇[a]
Y3	12.70	$C_{20}H_{22}O_8$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷	M12	11.24	$C_{20}H_{22}O_{12}S$	7,8-二氢白藜芦醇葡萄糖醛酸硫酸酯
Y4	16.02	$C_{20}H_{22}O_8$	虎杖苷	M13	18.42	$C_{16}H_{12}O_6$	羟基大黄素-1-甲醚
Y5	9.71	$C_{20}H_{22}O_{11}S$	硫酸虎杖苷	M14	19.41	$C_{16}H_{12}O_6$	ω-羟基大黄素-8-甲醚
Y6	23.02	$C_{15}H_{10}O_5$	大黄素	M15	24.34	$C_{15}H_8O_7$	羟基大黄酸
Y7	20.25	$C_{21}H_{20}O_{10}$	大黄素-8-*O*-葡萄糖苷	M16	20.25	$C_{21}H_{18}O_{10}$	大黄素-*O*-葡萄糖苷
Y8	18.16	$C_{15}H_{10}O_6$	2-羟基大黄素	M17	20.17	$C_{21}H_{18}O_{11}$	大黄素甲醚-*O*-葡萄糖苷[a]
Y9	24.34	$C_{16}H_{12}O_6$	1,3,8-三羟基-6-(2-羟丙基)-9,10-蒽二酮	M18	23.06	$C_{21}H_{18}O_{11}$	大黄素甲醚-*O*-葡萄糖苷[a]
Y10	18.71	$C_{15}H_8O_6$	大黄酸	M19	15.77	$C_{27}H_{26}O_{17}$	大黄酸-*O*-二葡萄糖苷酸
Y11	12.10	$C_{12}H_{10}O_5$	5-羧甲基-2-甲基色酮	M20	17.28	$C_{15}H_{10}O_8S$	硫酸大黄素[a]
Y12	9.52	$C_{12}H_{10}O_8S$	5-羧甲基-2-甲基色酮-硫酸盐	M21	20.87	$C_{15}H_{10}O_8S$	硫酸大黄素[a]
Y13	18.93	$C_{13}H_{12}O_4$	3-乙酰基-2,5-二甲基色酮	M22	26.61	$C_{15}H_{10}O_8S$	硫酸大黄素[a]
Y14	5.76	$C_{11}H_{10}O_3$	2,5-二甲基-7-羟基色酮	M23	11.80	$C_{21}H_{18}O_{14}S$	大黄素-葡萄糖醛酸硫酸酯
Y15	22.67	$C_{14}H_{14}O_4$	决明酮	M24	15.12	$C_{21}H_{18}O_{12}$	羟基大黄素-*O*-葡萄糖苷酸[a]
Y16	22.45	$C_{14}H_{14}O_7S$	决明酮-8-*O*-硫酸盐	M25	20.87	$C_{21}H_{18}O_{12}$	羟基大黄素-*O*-葡萄糖苷酸[a]
Y17	32.15	$C_{15}H_{10}O_5$	芹菜素	M26	24.23	$C_{21}H_{18}O_{12}$	羟基大黄素-*O*-葡萄糖苷酸[a]
Y18	22.68	$C_{14}H_{14}O_4$	异紫花前胡内酯	M27	18.30	$C_{15}H_{10}O_8S$	羟基大黄素硫酸盐[a]
Y19	2.25	$C_{11}H_{10}O_3$	4-甲氧基-5-甲基香豆素	M28	23.50	$C_{15}H_{10}O_8S$	羟基大黄素硫酸盐[a]
Y20	1.54	$C_6H_8O_7$	柠檬酸	M29	28.33	$C_{15}H_{10}O_8S$	羟基大黄素硫酸盐[a]
Y21	8.24	$C_{14}H_{18}O_9$	香草酸-*C*-葡萄糖苷	M30	7.94	$C_{21}H_{18}O_{15}S$	羟基大黄素-*O*-葡萄糖醛酸硫酸盐
Y22	6.29	$C_6H_{14}O_6$	甘露醇	M31	22.16	$C_{22}H_{20}O_{11}$	大黄素甲醚-*O*-葡萄糖醛酸[a]
Y23	41.50	$C_8H_6O_3$	5,7-二羟基异苯并呋喃	M32	22.81	$C_{22}H_{20}O_{11}$	大黄素甲醚-*O*-葡萄糖醛酸[a]
Y24	5.27	$C_{14}H_{16}O_9$	5,7-二羟基-1-(3*H*)-异苯并呋喃酮-*O*-葡萄糖苷	M33	6.52	$C_{21}H_{18}O_{10}$	大黄酚-*O*-葡萄糖醛酸
Y25	8.32	$C_8H_6O_4$	5,7-二羟基-1-(3*H*)-异苯并呋喃酮	M34	15.94	$C_{21}H_{16}O_{13}$	羟基大黄酸-*O*-葡萄糖醛酸
M1	13.10	$C_{21}H_{24}O_8$	甲基白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷	M35	19.81	$C_{15}H_8O_{10}S$	羟基大黄酸-*O*-硫酸酯
M2	13.10	$C_{20}H_{20}O_9$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖醛酸苷[a]	M36	28.80	$C_{16}H_{16}O_6$	甲基儿茶素
M3	15.84	$C_{20}H_{20}O_9$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖醛酸苷[a]	M37	19.07	$C_{13}H_{12}O_7S$	3-乙酰基-2,5-二甲基色酮-硫酸盐
M4	7.72	$C_{26}H_{30}O_{14}$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷葡萄糖苷酸[a]	M38	15.80	$C_{20}H_{24}O_{12}S$	决明酮-*O*-葡萄糖苷硫酸盐
M5	8.69	$C_{26}H_{30}O_{14}$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷葡萄糖苷酸[a]	M39	8.39	$C_9H_{10}O_8S$	1,3-二甲氧基没食子酸硫酸盐[a]
M6	11.95	$C_{26}H_{30}O_{14}$	虎杖苷葡萄糖苷酸	M40	10.45	$C_9H_{10}O_8S$	1,3-二甲氧基没食子酸硫酸盐[a]
M7	10.38	$C_{20}H_{20}O_{12}S$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖醛酸硫酸酯[a]	M41	5.16	$C_8H_8O_8S$	3-甲氧基没食子酸硫酸盐
M8	10.60	$C_{20}H_{20}O_{12}S$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖醛酸硫酸酯[a]	M42	15.47	$C_7H_6O_3$	双脱氧没食子酸
M9	13.07	$C_{20}H_{20}O_{12}S$	白藜芦醇-*O*-葡萄糖醛酸硫酸酯[a]				

Y：原型成分；M：代谢成分；a：同分异构体。

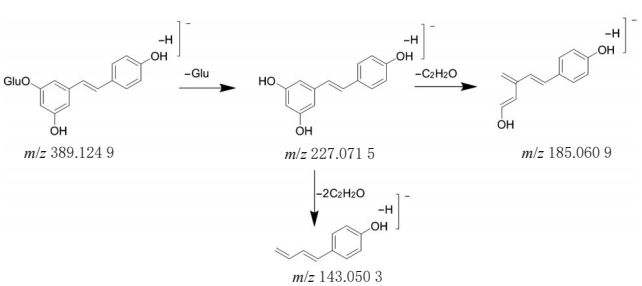


图3　白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷可能的裂解途径

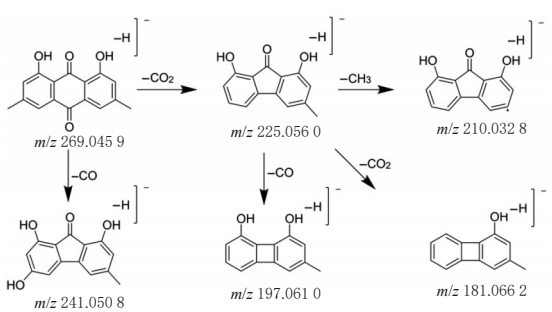


图4　大黄素可能的裂解途径

离子峰为 *m/z* 245.082 1[M-H]⁻，分子式为 $C_{14}H_{14}O_4$。准分子离子峰 *m/z* 245.082 1[M-H]⁻在脱去 CH_3（15）后生成 *m/z* 230.058 6[M-H-CH_3]⁻，进一步失去 CH_3（15）和 2CO（56）后，相继生成 *m/z* 215.035 2[M-H-2CH_3]⁻、*m/z* 159.045 2[M-H-2CH_3-2CO]⁻。这与文献报道的决明酮裂解规律基本一致[16]，故推测其为决明酮。其具体裂解途径见图5。

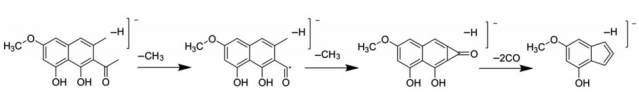


图5　决明酮可能的裂解途径

（4）其他类：虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出13个以原型入血的其他类化合物（Y11～Y14、Y17～Y25）。以黄酮类化合物Y17为例，在负离子模式下，其保留时间为32.15 min，准分子离子峰为 *m/z* 269.045 9[M-H]⁻，分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$。准分子离子峰 *m/z* 269.045 9[M-H]⁻在脱去 CO_2（44）后生成 *m/z* 225.055 7[M-H-CO_2]⁻，进一

步失去CO_2(44)后生成*m/z* 181.065 9[M-H-2CO_2]$^-$。这与文献报道的芹菜素裂解规律基本一致[17],故推测其为芹菜素。其具体裂解途径见图6。

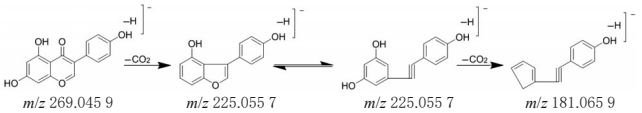


图6　芹菜素可能的裂解途径

3.2.3　代谢产物的鉴定

(1)二苯乙烯类代谢产物:虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出12个二苯乙烯类代谢产物(M1～M12)。以代谢产物M1为例,在负离子模式下,其保留时间为13.10 min,准分子离子峰为*m/z* 403.140 9[M-H]$^-$,分子式为$C_{21}H_{24}O_8$。准分子离子峰*m/z* 403.140 9[M-H]$^-$在脱去CH_2(14)、$C_6H_{10}O_5$(162)后生成*m/z* 227.071 5[M-H-CH_2-$C_6H_{10}O_5$]$^-$,进一步失去C_2H_2O(42)和C_2H_2O(42)后,相继生成*m/z* 185.060 8[M-H-CH_2-$C_6H_{10}O_5$-C_2H_2O]$^-$、*m/z* 143.050 2[M-H-CH_2-$C_6H_{10}O_5$-2C_2H_2O]$^-$,推测该化合物可能是甲基白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷,可能是由白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷经甲基化反应生成。二苯乙烯类化合物在体内可能涉及的代谢途径包括氢化还原、甲基化、硫酸化和葡萄糖醛酸化反应。鉴定结果显示,白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷可通过甲基化反应生成M1,可通过葡萄糖醛酸化反应生成M4、M5;虎杖苷可以与葡萄糖醛酸基团反应生成M6;此外,白藜芦醇及其氢化产物二氢白藜芦醇易发生硫酸化和葡萄糖醛酸化反应生成M3和M12。其具体代谢途径见图7。

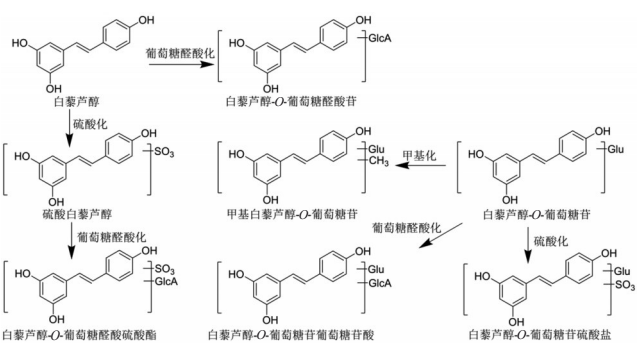


图7　二苯乙烯类化合物的体内代谢途径

(2)蒽醌类代谢产物:虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出23个蒽醌类代谢产物(M13～M35)。以代谢产物M16为例,在负离子模式下,其保留时间为20.25 min,准分子离子峰为*m/z* 431.098 9[M-H]$^-$,分子式为$C_{21}H_{18}O_{10}$。准分子离子峰*m/z* 431.098 9[M-H]$^-$在脱去$C_6H_{10}O_5$(162)、CO_2(44)后相继生成*m/z* 269.045 8[M-H-$C_6H_{10}O_5$]$^-$、*m/z* 225.055 7[M-H-$C_6H_{10}O_5$-CO_2]$^-$,*m/z* 225.055 7[M-H-$C_6H_{10}O_5$-CO_2]$^-$进一步失去CH_3(15)、CO_2(44)分别生成*m/z* 210.033 1[M-H-$C_6H_{10}O_5$-CO_2-CH_3]$^-$、*m/z* 181.066 1[M-H-$C_6H_{10}O_5$-CO_2-CO_2]$^-$,推测该化合物可能是大黄素-*O*-葡萄糖苷,可能是由大黄素经过葡萄糖醛酸化反应生成。蒽醌类化合物可能涉及的代谢途径包括羟基化、甲基化、硫酸化和葡萄糖醛酸化反应。鉴定结果显示,大黄素甲醚可发生羟基反应生成M13和M14,或者羟基大黄素在Ⅱ期代谢中被甲基取代形成M13和M14;大黄酸可发生羟基化反应生成M15,M15进一步发生葡萄糖醛酸化反应生成M34,或者与硫酸基反应生成M35。此外,大多数蒽醌类化合物(大黄素、羟基大黄素、大黄素甲醚、乙酰大黄素、大黄酚等)都可以发生Ⅱ期代谢,如其可与葡萄糖醛酸基团结合生成葡萄糖醛酸化产物,或与硫酸基团结合生成硫酸盐化产物[18],其具体代谢途径图略。

(3)其他代谢产物:虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出7个其他类代谢产物(M36～M42)。以代谢物M38为例,在负离子模式下,其保留时间为15.80 min,准分子离子峰为*m/z* 487.092 2[M-H]$^-$,分子式为$C_{20}H_{24}O_{12}S$。准分子离子峰*m/z* 487.092 2[M-H]$^-$在脱去SO_3(80)、$C_6H_{10}O_5$(162)后相继生成*m/z* 407.137 8[M-H-SO_3]$^-$、*m/z* 245.082 0[M-H-SO_3-$C_6H_{10}O_5$]$^-$,*m/z* 245.082 0[M-H-SO_3-$C_6H_{10}O_5$]进一步脱去CH_3(15)、CH_3(15)和2CO(56)后,相继生成*m/z* 230.058 7[M-H-SO_3-$C_6H_{10}O_5$-CH_3]$^-$、*m/z* 215.035 2[M-H-SO_3-$C_6H_{10}O_5$-2CH_3]$^-$、*m/z* 159.045 2[M-H-SO_3-$C_6H_{10}O_5$-2CH_3-2CO]$^-$,推测该化合物可能是决明酮-*O*-葡萄糖苷硫酸盐,可能是决明酮经过葡萄糖醛酸化和硫酸化反应生成。鉴定结果显示,虎杖中的黄酮类化合物儿茶素可发生甲基化反应生成M36;色酮类化合物3-乙酰基-2,5-二甲基色酮可发生硫酸化反应生成M37;酚酸类化合物没食子酸的甲基化产物可与硫酸基反应生成M39;此外,没食子酸可发生还原反应并失去2个氧原子生成M42。

4　讨论

本研究采用UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS法对虎杖的入血成分及代谢产物进行分析,从虎杖给药组大鼠血清中共鉴定出67个化学成分,其中25个为原型成分、42个为代谢产物,涉及的化合物类型有蒽醌类、二苯乙烯类、黄酮类、萘酚类和酚酸类等;涉及的Ⅰ相代谢反应有氢化还原反应,Ⅱ相代谢反应有甲基化、乙酰化、硫酸酯化、葡萄糖醛酸化反应。

与相关研究[19]筛选出的虎杖潜在活性成分对比,本研究鉴定出的67种化学成分中,虎杖苷、白藜芦醇、大黄素和大黄酸为治疗AGA的活性成分,其中大黄素和白藜芦醇为作用靶点较多的活性成分。药理研究表明,大黄素能通过增加尿排泄来降低血清尿酸浓度,以起到治疗痛风的作用[20];白藜芦醇可抑制NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3,NLRP3)、白细胞介素1β和缺氧诱导因子1α的表达,显著改善AGA的症状[21];虎杖苷可通过抑制尿酸转运蛋白、NLRP3炎症小体和核因子κB通路,降低尿酸浓度,从而发挥抗痛风性关节炎的作用[22]。本研究结果显示,虎杖苷、白藜芦醇、大黄素和大黄酸均能以原型吸收入血,并在体内发生代谢反应,进一步转化为虎杖苷葡萄糖苷酸、白藜芦醇-*O*-葡萄糖苷

葡萄糖苷酸、大黄素-*O*-葡萄糖苷、羟基大黄酸等代谢产物，提示虎杖可能主要通过虎杖苷、白藜芦醇、大黄素等活性成分发挥抗AGA作用。

本课题组前期研究发现，虎杖在正常大鼠中的入血成分有33个[12]，比AGA大鼠入血成分多了8个，分别为大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-甲醚、羟基大黄素-*O*-葡萄糖苷、乙酰大黄素-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-(6′-丙二酰)-葡萄糖苷、决明酮-8-*O*-葡萄糖苷、决明酮-*O*-(乙酰基)-葡萄糖苷、没食子酰葡萄糖苷；而AGA大鼠血清中检测到的代谢产物比正常大鼠也多了8个，主要为二苯乙烯类、蒽醌类和色酮类，涉及的代谢反应有糖基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。研究表明，AGA大鼠血清中尿酸水平较高，而高尿酸水平会损伤肾功能，从而影响肾中Ⅱ相代谢酶（如尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶）的活性，进而导致机体代谢环境发生变化[23－24]。由此笔者推测，虎杖在正常大鼠和AGA大鼠体内的代谢差异可能是病理状态下机体代谢环境发生变化所导致的。

综上所述，本研究通过UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS法鉴定了虎杖在AGA大鼠中的入血成分及代谢产物，其中虎杖苷、白藜芦醇、大黄素等化合物均能以原型入血并发生体内代谢，可能是虎杖发挥抗AGA作用的活性成分。该研究结果有助于阐释虎杖治疗AGA的药效物质基础，并为其药理作用研究和进一步开发利用提供依据。

参考文献

[1] DALBETH N，GOSLING A L，GAFFO A，et al. Gout[J]. Lancet，2021，397(10287)：1843-1855.

[2] TOWIWAT P，PHUNGOEN P，TANTRAWIWAT K，et al. Quality of gout care in the emergency departments：a multicentre study[J]. BMC Emerg Med，2020，20(1)：27.

[3] REN S，MENG F Y，LIU Y T，et al. Effects of external application of compound Qingbi granules on acute gouty arthritis with dampness-heat syndrome：a randomized controlled trial[J]. Chin Med，2020，15(1)：117.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：217-218.

[5] 陈茜，虞斌，王涧，等. 虎杖痛风方治疗急性痛风的疗效及对炎症细胞因子影响[J]. 中国现代医生，2021，59(1)：24-27.

[6] 程晶. 虎杖提取物对急性痛风性关节炎大鼠的关节功能障碍指数及炎症指数的影响[J]. 生物化工，2023，9(4)：94-97.

[7] LIU X G，CHENG C Y，WANG J X，et al. A metabolic exposure-oriented network regulation strategy for the identification of effective combination in the extract of *Ginkgo biloba* L.[J]. J Pharm Biomed Anal，2018，149：151-159.

[8] 郝小燕，王霞，肖海涛，等. 中药虎杖吸收入血移行成分分析[J]. 中国药业，2013，22(12)：28-30.

[9] 王莉婷，李颜伶，徐广，等. 基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS技术的车前子不同溶剂提取物成分分析[J]. 中国药师，2022，25(8)：1341-1347.

[10] 吕军，吕芳，方和金，等. 高尿酸血症并急性痛风性关节炎大鼠模型的建立[J]. 中国现代医学杂志，2013，23(27)：11-16.

[11] CODERRE T J，WALL P D. Ankle joint urate arthritis in rats provides a useful tool for the evaluation of analgesic and anti-arthritic agents[J]. Pharmacol Biochem Behav，1988，29(3)：461-466.

[12] JI L，SHI W J，WANG L T，et al. Characterization of the chemical constituents and metabolic profile of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. in rat plasma，urine，and feces by ultra-high performance liquid chromatography coupled with Quadrupole-Exactive Orbitrap mass spectrometry[J]. J Sep Sci，2022，45(23)：4292-4317.

[13] 梁慧，吕渭升，杨文惠，等. 基于UPLC指纹图谱和含量测定的虎杖标准汤剂质量评价研究[J]. 亚太传统医药，2022，18(1)：31-39.

[14] 潘智然，梁海龙，梁朝晖，等. 基于诊断离子策略的超高压液相色谱-线性离子阱-轨道离子阱质谱联用技术解析中药虎杖的化学成分[J]. 色谱，2015，33(1)：22-28.

[15] 陶婷. 基于药效评价-网络药理学-实验验证的虎杖调节高脂血症的作用及机制研究[D]. 成都：成都中医药大学，2023.

[16] 李丹丹. 基于DNA甲基化调控NLRP3炎性小体通路探讨人参虎杖复方抗AS作用机制[D]. 北京：中国中医科学院，2022.

[17] 韩文杰，张屏，常福厚，等. 内蒙古3种野生藜芦化学成分的定性定量分析[J]. 中国药房，2022，33(8)：937-942，956.

[18] 史旭华，黄舒怡，梁幼玲，等. 基于UPLC-Q-Exactive MS技术的大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷体内代谢研究[J]. 中药材，2021，44(10)：2389-2395.

[19] 杜康，王唯丁，韩彬，等. 基于网络药理学研究“虎杖-女贞子”配伍治疗急性痛风性关节炎机制及实验验证[J]. 中国中药杂志，2022，47(6)：1677-1686.

[20] HOU S W，CHEN S J，SHEN J D，et al. Emodin，a natural anthraquinone，increases uric acid excretion in rats with potassium oxonate-induced hyperuricemia[J]. Pharmaceuticals (Basel)，2023，16(6)：789.

[21] WANG Y M，LI W，ZHANG T H，et al. Resveratrol alleviates MSU-induced gouty arthritis in rats through inhibition of HIF-1α- and NLRP3-derived IL-1β secretion in macrophages[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)，2023，69(7)：28-34.

[22] XU W J，CHEN Y F，LI F F，et al. Polydatin alleviates hyperuricemia combined with gouty arthritis in mice via regulating urate transporters，NLRP3 inflammasome and NF-κB pathway[J]. J Funct Foods，2023，105：105582.

[23] SINGH D K，AHIRE D，DAVYDOV D R，et al. Differential tissue abundance of membrane-bound drug metabolizing enzymes and transporter proteins by global proteomics[J]. Drug Metab Dispos，2024，52(11)：1152-1160.

[24] HERVIEU L，GROO A C，BELLIEN J，et al. Glucuronidation of orally administered drugs and the value of nanocarriers in strategies for its overcome[J]. Pharmacol Ther，2025，266：108773.

（收稿日期：2024-12-19　修回日期：2025-05-16）

（编辑：唐晓莲）