鸡骨草水提物灌胃大鼠后的体内成分及代谢途径分析Δ

陈奎奎[1,2,3*]，农雨欣[1]，郭忠会[1,2]，谭　勇[1,2]，黄宏婷[1]，黎金满[1]，韦金锐[1]，韦志英[1]，梁　洁[1,3#]（1.广西中医药大学药学院，南宁　530200；2.广西高校中药民族药资源保护与利用重点实验室，南宁　530200；3.广西高校中药提取纯化与质量分析重点实验室，南宁　530200）

中图分类号　R965；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）13-1576-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.13.06

摘　要　目的　分析鸡骨草水提物灌胃大鼠后的入血和入肝成分，并推测其可能的代谢途径，为鸡骨草的药效物质基础分析提供参考。**方法**　将雄性SD大鼠随机分为鸡骨草给药组（0.63 g/kg，以生药量计）、空白组，分别单次灌胃相应药液/超纯水，收集各组大鼠的血浆和肝脏样品。采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱（UPLC-Q-TOF/MS）技术对鸡骨草水提物化学成分及入血、入肝成分进行鉴定。**结果**　从鸡骨草水提物中共鉴定了30个化学成分，主要为生物碱类、黄酮类、有机酸类和环烯醚萜类（如相思子碱、夏佛塔苷和异夏佛塔苷等）等。从血浆样品中鉴定了10个原型成分和9个代谢产物（如原儿茶酸脱羧化硫酸化代谢产物、对羟基苯甲酸还原化硫酸化代谢产物等），从肝脏样品中鉴定了6个原型成分和5个代谢产物（如对羟基苯甲酸硫酸化代谢产物、对羟基苯甲酸脱羧化硫酸化代谢产物等）。代谢途径主要包括羟基化、去甲基化、甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化等。**结论**　生物碱类、黄酮类、有机酸类是鸡骨草水提物入血和入肝的主要成分，主要涉及羟基化、去甲基化、硫酸化等代谢途径。

关键词　鸡骨草；血浆；肝脏；UPLC-Q-TOF/MS；药源性成分

Analysis of *in vivo* components and metabolism pathway in rats after intragastric administration of aqueous extract from *Abrus cantoniensis*

CHEN Kuikui[1,2,3], NONG Yuxin[1], GUO Zhonghui[1,2], TAN Yong[1,2], HUANG Hongting[1], LI Jinman[1], WEI Jinrui[1], WEI Zhiying[1], LIANG Jie[1,3]（1. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Key Laboratory of Protection and Utilization of Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicine Resources, Guangxi Universities and Colleges, Nanning 530200, China; 3. Key Laboratory of TCM Extraction and Purification and Quality Analysis, Guangxi Universities and Colleges, Nanning 530200, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To analyze the chemical components that were the absorbed in blood and liver tissue of rats after intragastric administration of aqueous extract from *Abrus cantoniensis*, and to speculate its possible metabolic pathways, providing reference for basic analysis of pharmacological substance in *A. cantoniensis*. **METHODS** Male SD rats were randomly divided into *A. cantoniensis* group (0.63 g/kg, calculated by crude drug) and blank group; they were given relevant drug solution/ultrapure water intragastrically. After a single dose, plasma and liver samples of rats in each group were collected. UPLC-Q-TOF/MS technology was used to identify chemical components that were absorbed in the blood and liver tissue of rats. **RESULTS** Totally, 30 chemical constituents were identified from the water extracts of *A. cantoniensis*, including alkaloids, flavonoids, organic acids, iridoids (such as L-abrine, schaftoside, isoshaftoside). Ten prototype components and nine metabolites (such as decarboxylation and sulfation metabolites of protocatechuic acid, reduced sulfated metabolites of *p*-hydroxybenzoic acid) were identified from plasma samples; six prototype components and five metabolites (such as sulfated metabolites of *p*-hydroxybenzoic acid, decarboxylation and sulfation metabolites of *p*-hydroxybenzoic acid) were identified from liver samples. The main metabolic pathways included hydroxylation, demethylation, methylation, sulfation, glucuronidation, etc. **CONCLUSIONS** Alkaloids, flavonoids and organic acids are the main components of the aqueous extract from *A. cantoniensis* that are absorbed into the blood and liver, their metabolism mainly involves hydroxylation, demethylation, and sulfation.

KEYWORDS　*Abrus cantoniensis*; plasma; liver; UPLC-Q-TOF/MS; drug-derived ingredients

Δ基金项目 广西自然科学基金项目（No.2023GXNSFBA026276）；国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点支持项目（No.U23A20521）；国家自然科学基金项目（No.82160771）；广西科技基地与人才专项（No.桂科AD21238032）；广西中医药大学第三批“岐黄工程”高层次人才团队培育项目（No.202406）；广西中医药大学青年创新团队项目（No.2018QT001）；广西中医药大学博士科研启动基金项目（No.2020BS015）；广西中医药大学青年基金项目（No.2021QN006）

＊第一作者 讲师，博士。研究方向：中药分析及体内过程研究。E-mail：1358632635@qq.com

 # 通信作者 教授，博士。研究方向：中药药效物质基础与质量控制。E-mail：liangjie1101@126.com

鸡骨草为相思子属植物广州相思子*Abrus cantoniensis* Hance的干燥全株，是“桂十味”道地药材之一，主产于广西、广东等地，味微苦、甘，性凉，归肝、胃经，具有利湿退黄、清热解毒、疏肝止痛的功效[1]。现代研究表明，鸡骨草对多种肝脏疾病具有较好的保护作用，可通过抑

制氧化应激和炎症反应、调节肠道微生物，从而对四氯化碳或对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤发挥改善作用[2－3]；此外，其还可通过调节血脂水平、减少肝脏脂质积累等改善脂肪肝出血综合征[4]。

中药进入体内后以原型成分或代谢产物通过血液介质到达靶器官，从而发挥相应的药理作用。目前关于鸡骨草化学成分的研究多集中在提取物层面，而其是何种成分吸收入血，到达肝脏发挥保肝作用尚不明确。基于此，本研究采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱（UPLC-Q-TOF/MS）技术和UNIFI平台，对鸡骨草水提物、入血成分、入肝成分进行逐层分析，解析其体内药源性成分群，以期为阐释其药效物质基础提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

Acquity UPLC I-Class型超高效液相色谱系统、Xevo G2-XS Q-TOF型四极杆飞行时间质谱仪（配有UNIFI平台和Masslynx 4.1质谱工作站）均购自美国Waters公司；ME204/02型电子天平购自瑞士Mettler Toledo公司；H1650-W型离心机购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；Milli-Q型超纯水制备仪购自美国Millipore公司；Labconco CentriVap制冷型离心浓缩仪购自美国Labconco公司；JXDC-200型氮气吹扫仪购自上海净信实业发展有限公司。

1.2 主要药品与试剂

鸡骨草药材（批号20210101，产地广西）购自北京本草方源药业有限公司，经广西中医药大学药学院谭勇教授鉴定为豆科植物广州相思子*A. cantoniensis* Hance的干燥全株。相思子碱、下箴刺桐碱、原儿茶酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷对照品（批号分别为RFS-X03911812026、RFS-X06801909002、RFS-Y03111812016、AF21061501、AF21062602，纯度均大于98%）均购自成都瑞芬思生物科技有限公司；二甲基亚砜（批号RNBJ6688）购自美国Sigma公司；质谱级乙腈、甲醇、甲酸均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；其余试剂均为分析纯，水为蒸馏水。

1.3 实验动物

本研究所用健康雄性SPF级SD大鼠共9只，体重200～250 g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，动物生产许可证号为SCXK（湘）2019-0004。大鼠购入后在广西中医药大学动物实验中心适应性饲养6 d，自由摄食、饮水，给药前禁食12 h、自由饮水。饲养环境：室温20～25 ℃，相对湿度60%～80%。本实验动物方案已获得广西中医药大学实验动物伦理委员会的批准。

2 方法与结果

2.1 药物制备

2.1.1 对照品溶液的制备

精密称定相思子碱、下箴刺桐碱、原儿茶酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷等对照品各1 mg，用少量二甲基亚砜助溶，以甲醇为溶剂，制备成单个对照品贮备液（1 mg/mL）及混合对照品溶液（各对照品的质量浓度均为10 μg/mL）。

2.1.2 鸡骨草水提物样品的制备

取鸡骨草药材10 kg，加入10倍量水，加热回流提取2次，每次1.5 h；将2次滤液合并、减压浓缩干燥，得到鸡骨草水提物粉末1.2 kg。称取10 mg水提物粉末，加10 mL甲醇，超声30 min（功率150 W，频率50 kHz，下同），经0.22 μm微孔滤膜过滤，得鸡骨草水提物样品（8.33 mg/mL，以生药量计）。

2.2 生物样品制备

2.2.1 血浆和肝脏样品的采集

将SD大鼠随机分为鸡骨草给药组（0.63 g/kg，以生药量计；n=6）和空白组（n=3），禁食（自由饮水）12 h后，各组大鼠灌胃相应药液/超纯水，单次给药。鸡骨草给药组大鼠分别于灌胃0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 h后腹主动脉取血，置于含有肝素钠的离心管内，于4 ℃条件下以4 000 r/min离心15 min，吸取上清液，得给药血浆样品。采集血液样品之后，随即处死大鼠后采集肝脏样品，以生理盐水冲洗肝脏表面浮血，滤纸吸去水分，得到给药肝脏样品。空白组大鼠分别于灌胃超纯水0.5、2.0、6.0 h后取血和肝脏，采集方法同鸡骨草给药组，得到空白血浆样品和空白肝脏样品。所有生物样品于－80 ℃超低温冰箱中冷冻保存，备用。

2.2.2 血浆样品前处理

吸取6个时间点的鸡骨草给药组大鼠血浆样品各1 mL于离心管中合并，加入3倍体积的乙腈（预先4 ℃冷藏24 h）涡旋混匀5 min；于4 ℃条件下以4 000 r/min离心15 min，取上清液，氮气吹干；残渣用500 μL甲醇超声提取10 min，于4 ℃条件下以12 000 r/min离心15 min，取上清液备用。吸取3个时间点空白组大鼠血浆样品各2 mL于离心管中合并，后续处理方法同鸡骨草给药组血浆样品。

2.2.3 肝脏样品前处理

称取6个时间点的鸡骨草给药组大鼠肝脏样品各0.8 g，分别加入0.8 mL生理盐水和若干颗研磨球，置于2 mL离心管中，4 ℃冷冻研磨15 min制成匀浆液。分别吸取上述6个时间点的肝脏匀浆液各1 mL于离心管中合并，加入3倍体积的乙腈（预先4 ℃冷藏24 h）涡旋混匀5 min；于4 ℃条件下以4 000 r/min离心15 min，取上清液，于25 ℃条件下离心浓缩干燥；残渣用500 μL甲醇超声提取10 min，于4 ℃条件下以12 000 r/min离心15 min，取上清液备用。分别称取3个时间点的空白组大鼠肝脏样品各1.6 g，每0.8 g放置于2 mL离心管中，后续处理方法同鸡骨草给药组肝脏样品。

2.3 分析条件

2.3.1 色谱条件

采用ACQUITY PRM HSS T3 FIT色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），以0.1%甲酸（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～3 min，5%B；3～10 min，5%B→

10%B；10～20 min，10%B→30%B；20～30 min，30%B→65%B；30～35 min，65%B→95%B；35～37 min，95%B→100%B；37～40 min，100%B）；进样体积为2 μL；流速为0.3 mL/min；柱温为40 ℃。

2.3.2　质谱条件

离子源为电喷雾离子源，采用全信息串联质谱（MS^E）数据采集模式，质量扫描范围为*m/z* 50～1 500。于正、负离子模式下进行检测，毛细管电压分别为3.0 kV（+）和2.5 kV（－）；锥孔电压为40 V，锥孔气流量为50 L/h；脱溶剂氮气流量为600 L/h，氩气流量为0.15 mL/min；脱溶剂气温度为300 ℃；离子源温度为120 ℃；低能通道中碰撞能量为6 eV，高能通道中碰撞能量为20～35 eV。

2.3.3　数据处理

首先建立鸡骨草的化学成分数据库，基于UNIFI平台快速分析鸡骨草水提物化学成分；然后参照鸡骨草水提物化学成分鉴定结果，经背景扣除、提取离子色谱对比后，以在鸡骨草给药组生物样品、鸡骨草水提物中同时检测到，但在空白组生物样品中未检测到的色谱峰作为原型成分，并进行鉴定。基于原型成分鉴定结果，应用UNIFI代谢产物分析模块，经背景扣除、质量亏损过滤后，以在鸡骨草给药组生物样品中检测到，但在空白组生物样品、鸡骨草水提物中未检测到，且与已鉴定的原型成分之间存在一定代谢转化关系的色谱峰作为代谢产物。此外，低/高能质谱图信息、对照品及文献比对、碎片离子分析等被用于成分的辅助鉴定。

具体参数设定如下：保留时间为0.1～40.0 min；质量范围为*m/z* 50～1 500；正离子模式加合离子为$[M+H]^+$、负离子模式加合离子为$[M-H]^-$、$[M+COOH]^-$；保留时间公差为0.1 min；峰值检测阈值为500 counts；质量精度公差为±10 ppm；正、负离子模式下的校正质量分别为*m/z* 556.276 6、*m/z* 554.262 0；质量偏移窗为±320 Da，质量亏损偏移为±70 mDa；生物转化反应设置为甲基化、去甲基化、乙酰化、羟基化、还原化、脱羧化、半胱氨酸偶联化、葡萄糖醛酸化、硫酸化等。

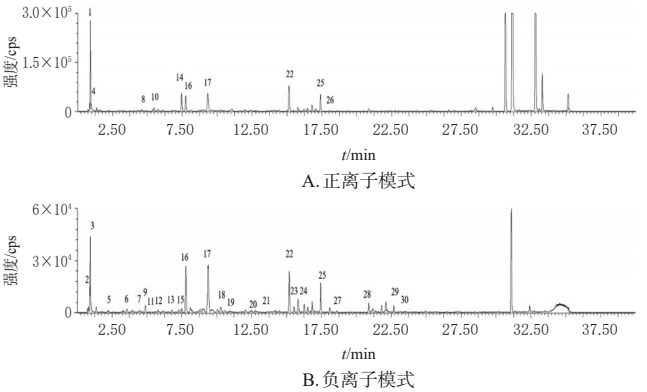
2.4　成分分析

采用UPLC-Q-TOF/MS技术对鸡骨草水提物和入血、入肝成分进行采集和分析，结果共鉴定了60个化学成分，其中从鸡骨草水提物中鉴定了30个化学成分，从血浆样品中鉴定了19个化学成分，从肝脏样品中鉴定了11个化学成分。

2.4.1　鸡骨草水提物化学成分鉴定

鸡骨草水提物在正、负离子模式下得到的基峰色谱图见图1。基于UNIFI平台和自建化学成分数据库，结合质谱数据信息、碎片离子分析、对照品比对及文献查阅等，共鉴定了30个化学成分，其中生物碱类7个、黄酮类8个、有机酸类9个、环烯醚萜类3个和其他类3个，具体质谱数据见表1。另外，笔者选择鸡骨草水提物中生物碱类、黄酮类代表性化学成分阐释其鉴定过程。

（1）生物碱类成分鉴定。本研究共鉴定了7个生物碱类化学成分，该类生物碱的支链容易发生断裂。例如，化学成分**8**的准分子离子峰为*m/z* 219.112 4$[M+H]^+$，推测其化学式为$C_{12}H_{14}N_2O_2$。准分子离子峰丢失1分子CH_3与1分子NH_2生成*m/z* 188.072 0的碎片离子，继续丢失1分子H_2O形成*m/z* 170.047 7的碎片离子。碎片离子*m/z* 143.060 8是在*m/z* 188.072 0的基础上丢失1分子CO_2形成的。准分子离子峰丢失1分子$C_3H_5NO_2$形成*m/z* 132.083 0的碎片离子。通过与文献[5—6]和对照品比对，鉴定化学成分**8**为相思子碱。



A. 正离子模式

B. 负离子模式

图1　鸡骨草水提物在正、负离子模式下的基峰色谱图

（2）黄酮类成分鉴定。本研究共鉴定了8个黄酮类化学成分，以黄酮碳苷为主，六碳糖的碳苷糖容易发生糖环断裂产生90 Da（$C_3H_6O_3$）和120 Da（$C_4H_8O_4$）的特征中性丢失；五碳糖的碳苷则易产生60 Da（$C_2H_4O_2$）和90 Da（$C_3H_6O_3$）的特征中性丢失[6]。例如，化学成分**17**和**19**为同分异构体，化学成分**17**的准分子离子峰是*m/z* 563.139 7$[M-H]^-$，推测其化学式为$C_{26}H_{28}O_{14}$；准分子离子峰丢失1分子$C_3H_6O_3$形成*m/z* 473.107 8的碎片离子，丢失1分子$C_4H_8O_4$形成*m/z* 443.097 8的碎片离子；碎片离子*m/z* 443.097 8丢失1分子$C_2H_4O_2$形成*m/z* 383.067 4的碎片离子，丢失1分子$C_3H_6O_3$形成*m/z* 353.066 4的碎片离子。化学成分**19**的质谱裂解方式与化学成分**17**相似。结合文献[7]和对照品比对，推测化学成分**17**和**19**分别为夏佛塔苷和异夏佛塔苷。

2.4.2　血浆样品中药源性成分鉴定

本研究从给药血浆样品中共鉴定了19个化合物，包括10个原型成分和9个代谢产物，在正、负离子模式下空白血浆样品和给药血浆样品的提取离子色谱图见图2，具体质谱数据见表2。

（1）原型成分鉴定。P1～P10为给药血浆样品中的原型成分，参照鸡骨草水提物化学成分鉴定结果，分别将其鉴定为葫芦巴碱、番石榴酸、相思子碱、原儿茶酸、下箴刺桐碱、维采宁Ⅱ、栀子苷、夏佛塔苷、牡荆素和对羟基苯甲酸。

（2）代谢产物鉴定。PM1～PM9为给药血浆样品中的代谢产物，笔者以PM1～PM5为例阐述其鉴定过程。

PM1和PM3的准分子离子峰分别为*m/z* 188.985 2、188.984 7$[M-H]^-$，推测其化学式为$C_6H_6O_5S$，碎片离子

表1　鸡骨草水提物中化学成分的鉴定结果

序号	时间/min	化学式	实测值(*m/z*)	偏差/ppm	碎片离子(*m/z*)	化合物名称	类型
1	0.93	$C_7H_7NO_2$	138.055 1	−2.9	110.060 0[M+H−CO]$^+$,94.065 3[M+H−CO_2]$^+$	葫芦巴碱	A
2	0.95	$C_7H_{12}O_6$	191.055 6	0	173.033 9[M−H−H_2O]$^-$,129.017 1[M−H−H_2O−CO_2]$^-$	奎宁酸	O
3	1.37	$C_6H_8O_7$	191.091 1	−0.5	128.036 5[M−H−CO_2−H_2O]$^-$,111.008 8[M−H−CO_2−2H_2O]$^-$	柠檬酸	O
4	1.55	$C_5H_5N_5$	136.061 8	−3.7	119.043 9[M+H−NH_3]$^+$	腺嘌呤	A
5	2.27	$C_7H_6O_5$	169.013 7	−3.8	125.029 9[M−H−CO_2]$^-$,97.068 6[M−H−CO_2−CO]$^-$	没食子酸	O
6	3.57	$C_{11}H_{12}O_7$	255.049 3	−4.7	165.054 3[M−H−$C_3H_6O_3$]$^-$,93.033 5[M−H−$C_3H_6O_3$−CO_2−CO]$^-$	番石榴酸	O
7	4.54	$C_{22}H_{28}O_{14}$	515.140 6	1.0	353.088 4[M−H−Glu]$^-$,191.045 3[M−H−Glu−$C_6H_6O_3$]$^-$,173.039 7[M−H−Glu−$C_6H_6O_3$−H_2O]$^-$	4-*O*-(3′-葡萄糖基)-咖啡酰基奎宁酸	O
8	4.63	$C_{12}H_{14}N_2O_2$	219.112 4	−4.6	188.072 0[M+H−CH_3−NH_2]$^+$,170.047 7[M+H−CH_3−NH_2−H_2O]$^+$,143.060 8[M+H−CH_3−NH_2−CO_2]$^+$,132.083 0[M+H−$C_3H_5NO_2$]$^+$	相思子碱	A
9	4.88	$C_{16}H_{24}O_{10}$	375.129 8	1.9	213.077 5[M−H−Glu]$^-$,169.074 0[M−H−Glu−CO_2]$^-$,151.069 9[M−H−Glu−CO_2−H_2O]$^-$	马钱苷酸	I
10	5.40	$C_{14}H_{18}N_2O_2$	247.144 9	0.8	188.072 0[M+H−C_2H_3N]$^+$,143.075 9[M+H−C_3H_9N−CO_2]$^+$,118.067 1[M+H−C_2H_9N−CO_2−C_2H_3]$^+$	下箴刺桐碱	A
11	5.41	$C_7H_6O_4$	153.018 3	−3.3	109.020 9[M−H−CO_2]$^-$	原儿茶酸	O
12	6.13	$C_{16}H_{18}O_9$	353.086 5	−2.3	179.034 1[M−H−$C_7H_{10}O_5$]$^-$,135.045 1[M−H−$C_7H_{10}O_5$−CO_2]$^-$	绿原酸	O
13	6.79	$C_{27}H_{30}O_{16}$	609.146 1	0.8	489.102 2[M−H−$C_4H_8O_4$]$^-$,399.073 2[M−H−$C_6H_8O_4$−$C_3H_6O_3$]$^-$,369.061 2[M−H−2$C_4H_8O_4$]$^-$	木犀草素-6,8-*C*-二葡萄糖苷	F
14	7.45	$C_{16}H_{22}O_9$	359.132 8	−3.9	197.084 2[M+H−Glu]$^+$,179.073 6[M+H−Glu−H_2O]$^+$,151.078 1[M+H−Glu−H_2O−CO]$^+$	tarennoside	I
15	7.47	$C_{17}H_{24}O_{11}$	403.125 1	2.7	241.112 7[M−H−Glu]$^-$,225.091 3[M−H−OGlu]$^-$,207.077 2[M−H−OGlu−H_2O]$^-$	栀子苷	I
16	7.78	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.151 6	1.7	503.121 5[M−H−$C_3H_6O_3$]$^-$,383.076 7[M−H−$C_6H_8O_4$−$C_3H_6O_3$]$^-$,353.066 7[M−H−2$C_4H_8O_4$]$^-$	维采宁Ⅱ	F
17	9.38	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.139 7	−0.7	473.107 8[M−H−$C_3H_6O_3$]$^-$,443.097 8[M−H−$C_4H_8O_4$]$^-$,383.067 4[M−H−$C_4H_8O_4$−$C_2H_4O_2$]$^-$,353.066 4[M−H−$C_4H_8O_4$−$C_3H_6O_3$]$^-$	夏佛塔苷	F
18	10.29	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.139 9	−0.4	473.114 5[M−H−$C_3H_6O_3$]$^-$,353.064 8[M−H−$C_4H_8O_4$−$C_3H_6O_3$]$^-$	维采宁Ⅲ	F
19	10.80	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.140 5	0.7	473.098 0[M−H−$C_3H_6O_3$]$^-$,443.088 6[M−H−$C_4H_8O_4$]$^-$,383.068 8[M−H−$C_4H_8O_4$−$C_2H_4O_2$]$^-$,353.053 7[M−H−$C_4H_8O_4$−$C_3H_6O_3$]$^-$	异夏佛塔苷	F
20	12.06	$C_{21}H_{20}O_{10}$	431.097 7	−0.2	311.054 7[M−H−$C_4H_8O_4$]$^-$,283.061 3[M−H−$C_4H_8O_4$−CO]$^-$	牡荆素	F
21	13.50	$C_7H_6O_3$	137.023 9	5.5	93.033 0[M−H−CO_2]$^-$	对羟基苯甲酸	O
22	15.14	$C_{18}H_{17}NO_5$	328.118 5	−6.1	147.043 5[M+H−$C_9H_{11}NO_3$]$^+$,119.049 0[M+H−$C_9H_{11}NO_3$−CO]$^+$,91.055 5[M+H−$C_9H_{11}NO_3$−2CO]$^+$	顺式-*N*-(4-羟基桂皮酰)酪氨酸	A
23	15.76	$C_{15}H_{10}O_5$	271.059 5	−4.1	147.043 3[M+H−$C_7H_8O_2$]$^+$,119.048 8[M+H−$C_8H_8O_2$]$^+$	大黄素	Ot
24	15.83	$C_{36}H_{34}N_2O_{10}$	653.213 1	−1.4	472.135 7[M−H−$C_9H_{11}NO_3$]$^-$,206.045 3[M−H−2$C_{11}H_{14}NO_4$]$^-$	鸡骨草甲素	A
25	17.45	$C_{36}H_{34}N_2O_{10}$	653.214 3	0.5	472.135 1[M−H−$C_9H_{11}NO_3$]$^-$,206.043 4[M−H−2$C_{11}H_{14}NO_4$]$^-$	鸡骨草乙素	A
26	18.09	$C_{20}H_{22}O_7$	373.127 5	−3.2	358.075 8[M−H−CH_3]$^-$,343.210 8[M−H−2CH_3]$^-$	2′-羟基-2,4,4′,5,6′-五甲氧基查耳酮	F
27	18.84	$C_{17}H_{14}O_6$	315.086 9	0	300.062 0[M+H−CH_3]$^+$,287.147 6 [M+H−CO]$^+$	蓟黄素	F
28	20.89	$C_{21}H_{24}O_7$	387.143 1	−3.4	357.123 5[M−H−2CH_3]$^-$,329.128 8[M−H−2CH_3−2CO]$^-$	5′-甲氧基松脂素	Ot
29	22.69	$C_{16}H_{32}O_4$	287.222 1	−0.3	269.208 2[M−H−H_2O]$^-$,225.139 6[M−H−H_2O−CO_2]$^-$	棕榈酸	O
30	23.55	$C_{48}H_{78}O_{18}$	941.510 9	−0.1	895.7766[M−H−H_2O−CO]$^-$,795.556 0[M−H−Rha]$^-$	大豆皂苷Ⅰ	Ot

A:生物碱类;F:黄酮类;O:有机酸类;I:环烯醚萜类;Ot:其他类。

m/z 108均由准分子离子峰失去1分子SO_3所得;PM1、PM3与原儿茶酸的碎片离子一致,结合UNIFI平台推测PM1和PM3可能是原儿茶酸脱羧化硫酸化代谢产物。

PM2的准分子离子峰为*m/z* 167.033 2[M−H]$^-$,推测化学式为$C_8H_8O_4$,比原儿茶酸的分子离子峰[M−H]$^-$多14 Da(CH_2),可能是原儿茶酸甲基化代谢产物;其碎片离子与原儿茶酸裂解相似,*m/z* 152.009 9和*m/z* 123.039 9可分别由分子离子峰失去1分子CH_3和1分子CO_2所得,推测PM2可能是原儿茶酸甲基化代谢产物。

PM4的准分子离子峰为*m/z* 233.011 6[M−H]$^-$,推测其化学式为$C_8H_{10}O_6S$,该化学式与对羟基苯甲酸相比多CH_4O_3S,碎片离子*m/z* 153.054 5可由准分子离子峰丢失1分子SO_3获得,该碎片离子继续丢失1分子CH_3产生*m/z* 138.031 3的碎片离子,结合UNIFI平台推测其可能是对羟基苯甲酸甲基化还原化硫酸化代谢产物。

PM5的准分子离子峰为*m/z* 218.996 0[M−H]$^-$,推测其化学式为$C_7H_8O_6S$,该化学式与对羟基苯甲酸相比多H_2SO_3,碎片离子*m/z* 139.039 5可由分子离子峰失去1分子SO_3获得,推测PM5可能是对羟基苯甲酸还原化硫酸化代谢产物。

2.4.3　肝脏样品中药源性成分鉴定

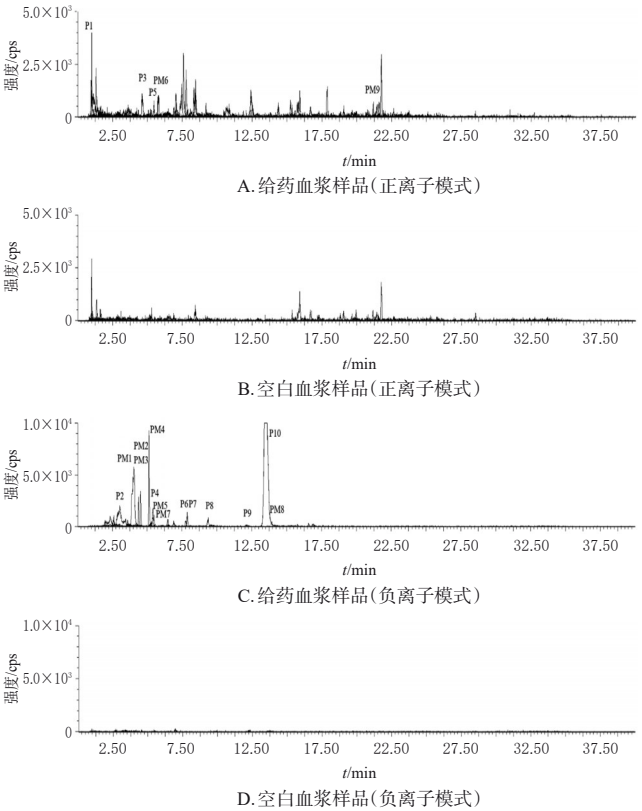
本研究从给药肝脏样品中鉴定了11个化学成分,包括6个原型成分和5个代谢产物,在正、负离子模式下空白肝脏样品和给药肝脏样品的提取离子色谱图见图3,具体质谱数据见表2。

(1)原型成分鉴定。L1～L6的鉴定参照鸡骨草水提物化学成分,其分别被鉴定为葫芦巴碱、下箴刺桐碱、维采宁Ⅱ、栀子苷、夏佛塔苷和对羟基苯甲酸。

(2)代谢产物鉴定。LM1～LM5为给药肝脏样品中鉴定的代谢产物,以LM1～LM3为例阐述其鉴定过程。

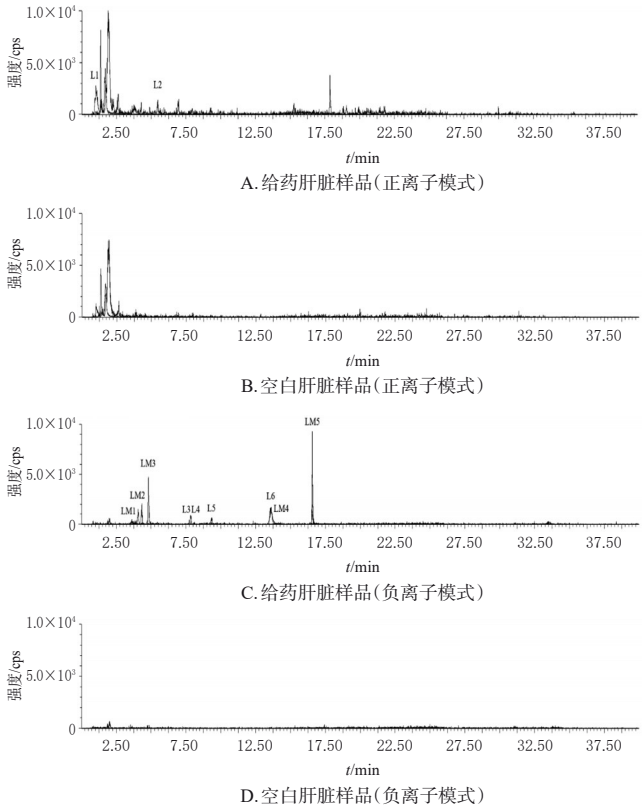
LM1的准分子离子峰为*m/z* 216.980 6[M−H]$^-$,推测化学式为$C_7H_6O_6S$,与对羟基苯甲酸的化学式相比多SO_3,碎片离子*m/z* 137.023 9可由准分子离子峰失去1分子SO_3所得,结合UNIFI平台推测LM1可能是对羟基苯甲酸硫酸化代谢产物。

LM2的准分子离子峰为*m/z* 246.992 2[M−H]$^-$,推测化学式为$C_8H_8O_7S$,化学式与原儿茶酸相比多CH_2SO_3,碎片离子*m/z* 167.034 8可通过准分子离子峰失去1分子SO_3所得,在此基础上继续丢失1分子$C_2H_2O_2$得到*m/z* 108.021 0碎片离子,结合UNIFI平台推测LM2可能是原儿茶酸甲基化硫酸化代谢产物。



A.给药血浆样品(正离子模式)　B.空白血浆样品(正离子模式)　C.给药血浆样品(负离子模式)　D.空白血浆样品(负离子模式)

图2　各组大鼠血浆样品的提取离子色谱图



A.给药肝脏样品(正离子模式)　B.空白肝脏样品(正离子模式)　C.给药肝脏样品(负离子模式)　D.空白肝脏样品(负离子模式)

图3　各组大鼠肝脏样品的提取离子色谱图

LM3的准分子离子峰为*m/z* 172.991 1[M－H]⁻，推测化学式为$C_6H_6O_4S$，碎片离子*m/z* 93.034 2可由准分子离子峰失去1分子SO_3所得，与原型成分对羟基苯甲酸(L6)的碎片离子*m/z* 93.034 1相似，结合UNIFI推测LM3可能是对羟基苯甲酸脱羧化硫酸化代谢产物。

表2　给药血浆样品和给药肝脏样品中化学成分的鉴定结果

序号	时间/min	化学式	实测值(*m/z*)	偏差/ppm	碎片离子(*m/z*)	化合物名称
P1/L1	0.96	$C_7H_7NO_2$	138.055 1	−2.9	110.086 5$[M+H-CO]^+$	葫芦巴碱
P2	3.59	$C_{11}H_{12}O_7$	255.049 6	−3.5	165.054 3$[M-H-C_3H_6O_3]^-$	番石榴酸
P3	4.63	$C_{12}H_{14}N_2O_2$	219.113 8	1.8	188.070 0$[M+H-CH_3-NH_2]^+$，170.059 6$[M+H-CH_3-NH_2-H_2O]^+$，132.083 0$[M+H-C_3H_5NO_2]^+$	相思子碱
P4	5.41	$C_7H_6O_4$	153.018 3	−6.5	109.020 9$[M-H-CO_2]^-$	原儿茶酸
P5/L2	5.46	$C_{14}H_{18}N_2O_2$	247.144 1	−2.4	188.070 0$[M+H-C_3H_9N]^+$，118.063 4$[M+H-C_3H_9N-CO_2-C_2H_3]^+$	下筴刺桐碱
P6/L3	7.75	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.151 3	1.2	473.101 8$[M-H-C_4H_6O_4]^-$，383.079 1$[M-H-C_4H_6O_4-C_3H_6O_3]^-$，353.062 6$[M-H-2C_4H_6O_4]^-$，245.032 6$[M-H-2C_4H_6O_4-C_3H_6O_3-H_2O]^-$	维采宁Ⅱ
P7/L4	7.87	$C_{17}H_{24}O_{11}$	403.124 1	0.2	225.086 8$[M-H-OGlu]^-$	栀子苷
P8/L5	9.37	$C_{26}H_{28}O_{14}$	563.139 6	−4.4	445.216 9$[M-H-C_3H_6O_3-CO]^-$，413.086 7$[M-H-C_3H_6O_3-C_2H_4O_2]^-$，305.097 3$[M-H-2C_4H_8O_4-H2O]^-$	夏佛塔苷
P9	12.10	$C_{21}H_{20}O_{10}$	431.097 0	−1.9	341.081 0$[M-H-C_3H_6O_3]^-$，283.093 2$[M-H-C_4H_6O_4-CO]^-$	牡荆素
P10/L6	13.50	$C_7H_6O_3$	137.023 7	−1.5	93.034 1$[M-H-CO_2]^-$	对羟基苯甲酸
PM1	4.02	$C_6H_6O_5S$	188.985 2	−3.2	108.028 1$[M-H-SO_3]^-$	原儿茶酸脱羧化硫酸化代谢产物
PM2	4.39	$C_8H_8O_4$	167.033 2	−7.2	152.009 9$[M-H-CH_3]^-$，123.039 9$[M-H-CO_2]^-$	原儿茶酸甲基化代谢产物
PM3	4.54	$C_6H_6O_5S$	188.984 7	−5.8	108.028 8$[M-H-SO_3]^-$	原儿茶酸脱羧化硫酸化代谢产物
PM4	5.13	$C_8H_{10}O_6S$	233.011 6	−1.7	153.054 5$[M-H-SO_3]^-$，138.031 3$[M-H-SO_3-CH_3]^-$	对羟基苯甲酸甲基化还原化硫酸化代谢产物
PM5	5.28	$C_7H_8O_6S$	218.996 0	−1.4	139.039 5$[M-H-SO_3]^-$	对羟基苯甲酸还原化硫酸化代谢产物
PM6	5.79	$C_6H_5NO_3$	140.034 9	−0.1	123.079 4$[M+H-NH_3]^+$，112.039 0$[M+H-CO]^+$	葫芦巴碱去甲基化羟基化代谢产物
PM7	5.89	$C_{10}H_{11}NO_6S$	272.021 3	−5.9	192.065 9$[M-H-SO_3]^-$	对羟基苯甲酸羟基化半胱氨酸偶联代谢产物
PM8	13.83	$C_{26}H_{30}O_{13}$	549.160 5	−0.5	531.120 3$[M-H-H_2O]^-$，373.128 8$[M-H-2CO-C_6H_9O_4]^-$	夏佛塔苷脱氧还原化代谢产物
PM9	22.30	$C_{12}H_{14}N_2O_4$	251.103 3	0.4	233.092 7$[M+H-H_2O]^+$，187.083 5$[M+H-CH_4O_3]^+$，118.066 1$[M+H-C_8H_8N]^+$	相思子碱羟基化代谢产物
LM1	3.61	$C_7H_6O_6S$	216.980 6	−0.5	137.023 9$[M-H-SO_3]^-$	对羟基苯甲酸硫酸化代谢产物
LM2	4.33	$C_8H_8O_7S$	246.992 2	4.0	167.034 8$[M-H-SO_3]^-$，108.021 0$[M-H-SO_3-C_2H_2O_2]^-$	原儿茶酸甲基化硫酸化代谢产物
LM3	4.82	$C_6H_6O_4S$	172.991 1	1.1	93.034 2$[M-H-SO_3]^-$	对羟基苯甲酸脱羧化硫酸化代谢产物
LM4	13.81	$C_{27}H_{32}O_{13}$	563.176 8	1.8	533.164 3$[M-H-CH_2O]^-$，343.116 8$[M-H-C_4H_8O_4]^-$，315.122 5$[M-H-C_4H_8O_4-CO]^-$	夏佛塔苷脱氧还原化甲基化代谢产物
LM5	16.57	$C_{27}H_{32}O_{13}$	563.174 6	−3.4	373.129 0$[M-H-GluA]^-$，359.109 2$[M-H-GluA-CH_2]^-$	2′-羟基-2,4,4′,5,6′-五甲氧基查耳酮葡萄糖醛酸化代谢产物

P：血浆中原型成分；PM：血浆中代谢产物；L：肝脏中原型成分；LM：肝脏中代谢产物。

3 讨论

本研究建立了一种快速的UPLC-Q-TOF/MS分析方法，在40 min内实现了对鸡骨草水提物、血浆样品和肝脏样品的分析。生物碱类成分有4个原型成分及2个代谢产物从鸡骨草给药组血浆和肝脏中检出，以发生Ⅰ相代谢反应为主，包括去甲基化羟基化、羟基化。黄酮类成分有2个原型成分和3个代谢产物从鸡骨草给药组血浆和肝脏中检出，以发生Ⅱ相代谢反应为主，包括葡萄糖醛酸化等。有机酸类成分有3个原型成分和8个代谢产物从鸡骨草给药组血浆和肝脏中检出，以发生Ⅱ相代谢反应为主，包括硫酸化、甲基化硫酸化等。

揭示入血及入靶器官的药源性成分是阐释药效物质的重要环节。黄酮类化合物夏佛塔苷的原型成分及代谢产物在鸡骨草给药组血浆和肝脏样品中均被检测出，文献报道夏佛塔苷具有抗炎、抗氧化、抗肝损伤的作用[8－9]。生物碱类成分相思子碱和下箴刺桐碱是在鸡骨草给药组血浆和肝脏中检测到的主要成分，其中相思子碱具有抗炎、保肝、增强免疫、抗氧化和抑制癌细胞增殖的作用[10]；下箴刺桐碱具有抗炎、增强免疫和保肝的作用[11]；相关研究发现二者可以与乙型肝炎相关的15个靶标结合，是鸡骨草治疗乙型肝炎的核心化学成分[12]。由此笔者推测黄酮类、生物碱类成分可能是鸡骨草发挥利湿退黄、清热解毒、疏肝止痛功效的主要药效物质基础。

综上所述，本研究采用UPLC-Q-TOF/MS技术从鸡骨草水提物中鉴定了30个化学成分；从鸡骨草给药组血浆样品中鉴定了10个原型成分和9个代谢产物，从肝脏样品中鉴定了6个原型成分和5个代谢产物。鸡骨草水提物在大鼠体内发生的Ⅰ相代谢反应主要包括羟基化、去甲基化羟基化、还原化等，Ⅱ相代谢反应主要包括甲基化、硫酸化、甲基化硫酸化、葡萄糖醛酸化等。

参考文献

[1] 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，2020：203.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia：part Ⅰ [M]. 2020 edition. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2020：203.

[2] 杨燕玲. 鸡骨草对APAP诱导的小鼠肝损伤的保护作用及机制研究[D]. 赣州：赣南医学院，2023.
YANG Y L. Protective effect and mechanism of *Abrus cantoniensis* on liver injury induced by APAP in mice[D]. Ganzhou：Gannan Medical University，2023.

[3] 林海佳，苏志恒，何颖，等. 鸡骨草提取物对对乙酰氨基酚诱导小鼠急性肝损伤保护作用的研究[J]. 广西医科大学学报，2023，40(5)：733-741.
LIN H J，SU Z H，HE Y，et al. Protective effect of *Abrus cantoniensis* Hance on acetaminophen-induced acute liver injury in mice[J]. J Guangxi Med Univ，2023，40(5)：733-741.

[4] LIU X，PAN Y C，SHEN Y M，et al. Protective effects of *Abrus cantoniensis* Hance on the fatty liver hemorrhagic syndrome in laying hens based on liver metabolomics and gut microbiota[J]. Front Vet Sci，2022，9：862006.

[5] 付振贺，黄玉凤，黄超君，等. HPLC-TOF/MS快速鉴别相思藤中的化学成分[J]. 第二军医大学学报，2018，39(3)：329-333.
FU Z H，HUANG Y F，HUANG C J，et al. Rapid identification of chemical constituents in Yine *Abrus*（Xiangsiteng）by HPLC-TOF/MS[J]. Acad J Second Mil Med Univ，2018，39(3)：329-333.

[6] 郭忠会，郑雪莹，梁洁，等. UPLC-Q-TOF/MS技术结合UNIFI平台快速鉴定鸡骨草化学成分[J]. 中国药房，2022，33(23)：2852-2857，2863.
GUO Z H，ZHENG X Y，LIANG J，et al. Rapid identification of chemical constituents in *Abrus cantoniensis* Hance by UPLC-Q-TOF/MS combined with UNIFI platform[J]. China Pharm，2022，33(23)：2852-2857，2863.

[7] 周子力. 广金钱草中三种黄酮碳苷的制备与含量测定[D]. 成都：西南交通大学，2013.
ZHOU Z L. Preparation and content determination of three flavonoids in *Desmodium Styracifolium*[D]. Chengdu：Southwest Jiaotong University，2013.

[8] 刘美静，张郭慧，黄小桃，等. 夏佛塔苷对高脂饮食诱导小鼠非酒精性脂肪肝的保护作用[J]. 中华中医药杂志，2017，32(11)：5078-5081.
LIU M J，ZHANG G H，HUANG X T，et al. Protection effect of schaftoside on mice with non-alcoholic fatty liver induced by high fat diet[J]. China J Tradit Chin Med Pharm，2017，32(11)：5078-5081.

[9] DANG J，PAUDEL Y N，YANG X L，et al. Schaftoside suppresses pentylenetetrazol-induced seizures in zebrafish via suppressing apoptosis，modulating inflammation，and oxidative stress[J]. ACS Chem Neurosci，2021，12(13)：2542-2552.

[10] YANG M，ZAHARNA M A，CHEN Y S，et al. *In vitro* antioxidant activities and anti-proliferative properties of the functional herb *Abrus cantoniensis* and its main alkaloid abrine[J]. Food Funct，2014，5(9)：2268-2277.

[11] 陈学芬，钟正贤，李燕婧，等. 海帕刺桐碱药理作用的研究[J]. 中国中医药科技，2009，16(5)：372-373.
CHEN X F，ZHONG Z X，LI Y J，et al. Study on pharmacological action of erythrine[J]. Chin J Tradit Med Sci Technol，2009，16(5)：372-373.

[12] 李太平，吴芳芳，孙晖，等. 基于网络药理学和分子对接探究壮药鸡骨草治疗乙型肝炎的作用机制[J]. 现代药物与临床，2022，37(1)：33-41.
LI T P，WU F F，SUN H，et al. Exploring the mechanism of the *Abrus cantoniensis* in the treatment of hepatitis B based on network pharmacology and molecular docking[J]. Drugs Clin，2022，37(1)：33-41.

（收稿日期：2024-01-22　修回日期：2024-06-14）
（编辑：唐晓莲）