

# UPLC-Q-TOF/MS法分析岩大戟内酯B在大鼠体内的代谢产物<sup>Δ</sup>

马天成\*, 孙宇#, 马玉坤, 刘雷, 孙珈, 郭丽娜, 刘琦(齐齐哈尔医学院医药科学研究院, 黑龙江齐齐哈尔161006)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2796-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.12

**摘要** 目的:分析岩大戟内酯B在大鼠体内的代谢产物,预测其代谢途径。方法:将大鼠随机分为空白组(灌胃0.5%羧甲基纤维素钠溶液)和给药组(灌胃岩大戟内酯B,100 mg/kg),每组8只。分别收集给药后0~12、>12~24、>24~36 h的粪便,给药后0~2、>2~8、>8~12、>12~24、>24~36、>36~48 h的尿液以及给药后1、2、8、12、24、36 h的血液样品,分别以超声提取法、固相萃取法、蛋白沉淀法处理后,采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)联用技术和Analyst<sup>®</sup> TF 1.7.1、PeakView<sup>®</sup> 2.2等软件联合分析、鉴定各样品中的代谢产物。结果与结论:从大鼠粪便中共检测到原型药物和7个代谢产物,从尿液和血液样品中分别检测到1、2个代谢产物。岩大戟内酯B灌胃后在大鼠体内经I相的开环、脱水、氧化、脱氧、加氢反应等途径代谢;未检测到II相代谢产物。

**关键词** 岩大戟内酯B;超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术;代谢产物;鉴定;大鼠

## Analysis of Metabolites of Jolkinolide B in Rats by UPLC-Q-TOF/MS

MA Tiancheng, SUN Yu, MA Yukun, LIU Lei, SUN Jia, GUO Lina, LIU Qi (Institute of Medical Sciences, Qiqihar Medical College, Heilongjiang Qiqihar 161006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To analyze the metabolites of jolkinolide B in rats, and predict its metabolism pathway. METHODS: The rats were randomly divided into blank group (0.5% CMC-Na, ig) and administration group (jolkinolide B, ig, 100 mg/kg), with 8 rats in each group. The fecal samples were collected at >0-12, >12-24, >24-36 hours after administration; the urine samples were collected at >0-2, >2-8, >8-12, >12-24, >24-36, >36-48 hours after administration; the blood samples were collected at 1, 2, 8, 12, 24, 36 hours after administration. UPLC-Q-TOF/MS combined with Analyst<sup>®</sup> TF 1.7.1 and PeakView<sup>®</sup> 2.2 software were used to analyze and identify the metabolites in the samples after treated with ultrasonic extraction, solid phase extraction and protein precipitation. RESULTS & CONCLUSIONS: Prototype drugs and seven metabolites were detected in rat's fecal samples, and one or two metabolites were detected in urine and blood samples, respectively. After intragastric administration, the metabolism of jolkinolide B in rats is mainly through ring opening, oxidation, dehydration, deoxygenation and hydrogenation of phase I, but no phase II metabolites were detected.

**KEYWORDS** Jolkinolide B; UPLC-Q-TOF/MS; Metabolites; Identification; Rats

狼毒大戟(*Euphorbia fischeriana* Steud.)主要生长于我国内蒙古、东北及河北等地区;其根入药为中药狼毒,是我国传统中药材。该药味苦、辛,性平,有毒,具有泄水逐饮、破积杀虫的功效,主治水腫腹脹、痰食虫積、心腹疼痛、結核、疥癬等症<sup>[1]</sup>。狼毒大戟的主要化学成分为脂溶性二萜类成分<sup>[2-3]</sup>,其中岩大戟内酯B为其指标性成分,分子式为C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>,具有抗肿瘤、抗病毒、抑菌等多种活性<sup>[4-9]</sup>。

天然药物成分经口服后,在体内以原型形式存在的较少,大多数成分在吸收过程中会受到胃肠道酸碱环

境、肠道微生物及肝药酶的影响,发生一系列代谢反应而转化成新的物质。由此可见,药物在体内真正发挥药效作用的既有可能是原型成分,也有可能是该成分发生生物转化后形成的代谢产物。因此,对药物代谢进行研究将有助于了解其在体内的代谢转化过程,可为确定其在体内的代谢规律、代谢产物的化学结构及作用机制提供科学依据<sup>[10]</sup>。飞行时间质谱(TOF-MS)可进行高分辨率质谱数据采集,并提供精确的相对分子质量以及裂解信息,可为中药化学成分的体内代谢研究提供可靠、有效的技术保障<sup>[11-12]</sup>。鉴于岩大戟内酯B的药用价值,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)联用技术,系统分析了该化合物在大鼠体内的代谢产物,并对其代谢途径进行预测,旨在为其今后的药效物质基础和作用机制研究奠定基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

30A型UPLC仪(日本Shimadzu公司);Triple TOF

<sup>Δ</sup> 基金项目:黑龙江省教育厅省属高校基本科研业务费科研项目(No.2017-KYYWF-0702);黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划(No.UNPYSCT-2018031)

\* 研究实习员,硕士。研究方向:中药质量控制与成分分析。电话:0452-2663371。E-mail:matiancheng2@126.com

# 通信作者:助理研究员,博士。研究方向:天然药物活性成分提取分离及结构鉴定。电话:0452-2663371。E-mail:zsy5811321@126.com

4600型质谱仪(美国AB Sciex公司);AB135-S型分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);Centrifuge 5417R型离心机(德国Eppendorf公司);Elix Essential 5 UV型纯水仪(德国Merck Millipore公司);B8800型超声波清洗器(美国Branson公司);HYQ-2121A型涡旋混匀器(美国Crystal公司);MTN-2800D型氮吹浓缩装置(天津市泰斯特仪器有限公司)。

## 1.2 药品与试剂

岩大戟内酯B、岩大戟内酯A对照品均由本实验室制备(经高效液相色谱法检测,纯度均大于98%);甲醇、乙腈为色谱纯,甲酸为质谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 1.3 动物

清洁级健康SD大鼠,雄性,4~5周龄,体质量200~220 g,购自辽宁长生生物技术有限公司,动物生产合格证号:SCXK(辽)2015-0001。

## 2 方法与结果

### 2.1 岩大戟内酯B混悬液的制备

精密称取岩大戟内酯B对照品300 mg,加0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液30 mL,摇匀,制成质量浓度为10 mg/mL的混悬液,备用。

### 2.2 分组与给药

所有SD大鼠均适应性喂养1周后,随机分为空白组和给药组,每组各8只。禁食、不禁水12 h后,给药组大鼠单次灌胃“2.1”项下岩大戟内酯B混悬液(100 mg/kg,剂量参照本课题组前期预实验结果确定),空白组大鼠单次灌胃等体积0.5% CMC-Na溶液。

### 2.3 样品采集与处理

2.3.1 粪便和尿液 随机选取空白组和给药组大鼠各4只,分别收集其给药后0~12、>12~24、>24~36 h的粪便以及给药后0~2、>2~8、>8~12、>12~24、>24~36、>36~48 h的尿液,分别混合后于-20℃下冻存,备用。

粪便样品采用超声提取法处理。将干燥后的粪便样品研磨均匀,称取1.0 g,加甲醇20 mL超声(功率:280 W,频率:40 kHz)处理30 min,然后以3 500 r/min离心10 min;取上清液200  $\mu$ L,在37℃下以氮气流吹干;残渣加乙腈200  $\mu$ L复溶,涡旋30 s,以14 000 r/min离心10 min,取上清液1  $\mu$ L,进行UPLC-Q-TOF/MS分析。

尿液样品采用固相萃取法处理。将尿液样品于室温下解冻,量取200  $\mu$ L,以3 500 r/min离心10 min;取上清液100  $\mu$ L,经活化的Bond Elut C<sub>18</sub> cartridges固相萃取柱(填料量:500 mg,柱容量:3 mL;依次用甲醇2 mL、水2 mL反复洗脱3次以活化),依次用水2 mL、甲醇2 mL洗脱,收集甲醇洗脱液,用氮气流吹干;残渣加甲醇100  $\mu$ L复溶,涡旋30 s,以14 000 r/min离心10 min,取上清液3  $\mu$ L,进行UPLC-Q-TOF/MS分析。

2.3.2 血浆 选取空白组和给药组余下的大鼠各4只,分别于给药后1、2、8、12、24、36 h自眼眶后静脉丛取血

0.5 mL,置于涂有肝素的离心管中,以3 000 r/min离心10 min,分离血浆,混合后于-20℃冻存,备用。

血浆样品采用蛋白沉淀法处理。取血浆样品200  $\mu$ L,加甲醇800  $\mu$ L,涡旋30 s,以16 000 r/min离心10 min;取上清液,于37℃下以氮气流吹干;残渣加乙腈200  $\mu$ L复溶,涡旋30 s,以14 000 r/min离心10 min,取上清液3  $\mu$ L,进行UPLC-Q-TOF/MS分析。

## 2.4 色谱与质谱条件

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex C<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm,1.7  $\mu$ m);流动相:水(含0.1%甲酸,A相)-乙腈(含0.1%甲酸,B相),梯度洗脱(0~0.01 min,20%B;0.01~1 min,20%B→30%B;1~7 min,30%B→50%B;7~10 min,50%B→70%B;10~15 min,70%B→100%B;15~16 min,100%B;16~16.1 min,100%B→20%B;16.1~18 min,20%B);柱温:40℃;流速:0.3 mL/min;进样量:3  $\mu$ L(尿液、血液)或1  $\mu$ L(粪便)。

2.4.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子源(ESI);离子喷雾电压:5.5 kV;离子源温度:600℃;去簇电压(DP):100 V;碰撞能(CE):10 eV。雾化气、辅助气和气帘气:氮气;雾化气压力:55 psi;辅助气压力:55 psi;气帘气压力:35 psi。扫描模式:正离子;扫描范围:100~1 200 amu全扫描;累积扫描时间:250 ms。采用数据依赖采集(IDA)模式进行分析,即对每个分析物中质谱响应超过100 cps的15个碎片离子进行子离子扫描,扫描范围为100~1 200 amu,累积扫描时间为100 ms。采用自动校准系统(CDS)对质谱进行自动调谐和校正。

### 2.5 岩大戟内酯B的质谱裂解途径分析

称取岩大戟内酯B对照品适量,加入适量0.5% CMC-Na溶液,制成质量浓度为1.0  $\mu$ g/mL的对照品溶液。取上述对照品溶液1  $\mu$ L,按“2.4”项下色谱与质谱条件进样分析,结果见图1。

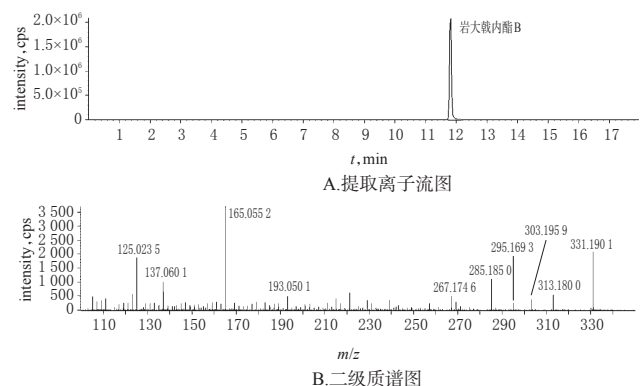


图1 岩大戟内酯B的提取离子流图和二级质谱图  
Fig 1 Extraction ion flow maps and MS/MS spectra of jolkinolide B

由图1可见,岩大戟内酯B的保留时间( $t_R$ )约为11.8 min,其准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 $m/z$  331.1901。其碎片离子峰中, $m/z$  313.1800、295.1693推测是由准分子离子依次脱去1分子H<sub>2</sub>O而得; $m/z$  303.1959、285.1850、

267.174 6 推测是由准分子离子依次脱去 1 分子 CO 和 2 分子 H<sub>2</sub>O 而得;  $m/z$  193.050 1、165.055 2、137.060 1、125.023 5 为岩大戟内酯 B 裂环后产生的离子碎片。该化合物可能的裂解途径见图 2。由于大多数代谢产物仍会保留原型的基本骨架或母核结构,因此以上对岩大戟内酯 B 的质谱裂解规律可作为其代谢产物结构鉴定的重要参考依据。

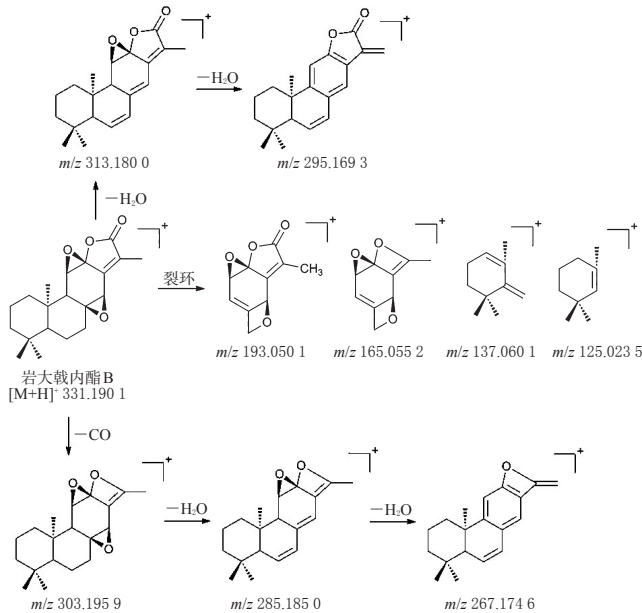


图 2 岩大戟内酯 B 的裂解途径

Fig 2 Fragmentation pathways of jolkinolide B

## 2.6 岩大戟内酯 B 在大鼠体内代谢产物的分析鉴定

取“2.3”项下粪便、尿液、血液预处理后样品各适量,按“2.4”项下色谱与质谱条件进样分析。采用 Analyst®TF 1.7.1 和 PeakView®2.2 软件采集并处理数据,采用 MetabolitePilot 1.5 和 MasterView 1.1 软件对代谢产物进行预测与鉴定,采用 MultiQuant 3.0.2 软件对各代谢产物的峰面积进行积分,各组大鼠各样品的提取离子流图见图 3~图 5。结果,从粪便样品中共检测到 8 个化合物,包括原型( $M_0$ )和 7 个代谢产物( $M_1$ ~ $M_7$ );从尿液样品中共检测到 1 个代谢产物( $M_6$ );从血液样品中共检测到 2 个代谢产物( $M_1$ 、 $M_5$ ),代谢产物的二级质谱图见图 6,其代谢分析结果见表 1。

由上述结果可见, $M_0$ 的分子式为  $C_{20}H_{26}O_4$ , $t_R$ 为 11.82 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  331.190 9,通过比对相应对照品,确定  $M_0$ 为岩大戟内酯 B 原型。

$M_1$ 的分子式为  $C_{20}H_{30}O_4$ , $t_R$ 为 8.16 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  335.221 3,分子量约比  $M_0$ 多 4。由于岩大戟内酯 B 原型中存在 2 个三元氧环,推测在体内可能发生了氧环开裂。二级质谱图中,碎片离子  $m/z$  317.212 0、299.200 1、281.198 0 为  $m/z$  335.221 3 依次脱去 1 分子 H<sub>2</sub>O 而得, $m/z$  271.204 1 为  $m/z$  299.200 1 进一步脱去 CO 而得, $m/z$  189.125 1 为  $M_1$ 开环而产生的碎片离子。由此推测, $M_1$ 为  $M_0$ 中 2 个氧环开裂而形成的代谢产物。

$M_2$ 的分子式为  $C_{20}H_{26}O_6$ , $t_R$ 为 10.80 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  363.216 7,分子量约比  $M_0$ 多 32,推测可能发生了氧化反应。二级质谱图中,碎片离子  $m/z$  345.204 3、331.188 8、313.179 6 为  $m/z$  363.216 7 依次脱去 1 分子 H<sub>2</sub>O 而得, $m/z$  285.182 4 为  $m/z$  313.179 6 进一步脱去 CO 而得, $m/z$  207.065 1 等为  $M_2$ 开环而产生的碎片离子。由此推测, $M_2$ 为二羟基岩大戟内酯 B,为  $M_0$ 的氧化产物。

$M_3$ 的分子式为  $C_{20}H_{28}O_3$ , $t_R$ 为 11.52 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  317.211 8,分子量约比  $M_0$ 少 14,推测可能发生了脱氧再加氢的反应。二级质谱图中,碎片离子  $m/z$  299.200 4 为  $m/z$  317.210 0 脱去 1 分子 H<sub>2</sub>O 而得, $m/z$  271.203 2 为  $m/z$  299.200 4 进一步脱去 CO 而得, $m/z$  179.069 2、133.064 6 等为  $M_3$ 开环而产生的碎片离子。由此推测, $M_3$ 为岩大戟内酯 B 脱氧加氢的产物。

$M_4$ 的分子式为  $C_{20}H_{26}O_3$ , $t_R$ 为 12.84 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  315.195 5,分子量约比  $M_0$ 少 16,推测其可能发生了氧环开环后的脱水反应。通过比对应对照品,鉴定  $M_4$ 为岩大戟内酯 A,为  $M_0$ 的开环脱水代谢产物。

$M_5$ 的分子式为  $C_{20}H_{28}O_2$ , $t_R$ 为 13.93 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  301.215 9,分子量约比  $M_3$ 少 16,推测可能发生了脱氧反应。二级质谱图中,碎片离子  $m/z$  283.206 8 为  $m/z$  301.215 9 脱去 1 分子 H<sub>2</sub>O 而得, $m/z$  255.208 3 则为  $m/z$  283.206 8 进一步脱去 CO 而得; $m/z$  231.135 1、217.123 3 则为 A 环裂解所产生的碎片离子, $m/z$  199.150 8、173.131 7 为脱酯及环裂解所产生的碎片离子。由此推测, $M_5$ 为  $M_3$ 的脱氧产物。

$M_6$ 的分子式为  $C_{20}H_{32}O_2$ , $t_R$ 为 14.52 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  305.248 3,分子量约比  $M_5$ 多 4,推测可能发生了加氢反应。二级质谱图中,碎片离子  $m/z$  287.236 4、269.221 7 为  $m/z$  305.248 3 依次脱去 1 分子 H<sub>2</sub>O 而得, $m/z$  259.206 3 为  $m/z$  287.236 4 进一步脱去 CO 而得; $m/z$  235.168 8、221.157 3 为 A 环裂解而产生的碎片离子, $m/z$  203.181 2 为脱酯及环裂解产生的碎片离子。由此推测, $M_6$ 为  $M_5$ 的加氢产物。

$M_7$ 的分子式为  $C_{20}H_{26}O_2$ , $t_R$ 为 14.74 min, $[M+H]^+$ 为  $m/z$  299.200 9,分子量约比  $M_0$ 少 36,推测可能发生了脱水反应。二级质谱图中,碎片离子  $m/z$  215.105 9、201.089 9 为 A 环裂解而得, $m/z$  175.075 7、161.059 5 为 B 环裂解而得。由此推测, $M_7$ 为  $M_1$ 的脱水产物。

## 2.7 岩大戟内酯 B 代谢途径预测

从大鼠粪便、尿液、血液样品中共鉴定得到了 7 个代谢产物,且主要集中在粪便样品中。经分析, I 相代谢产物较多,主要经氧化、脱氧、加氢、开环等反应而得;未发现 II 相代谢产物。其主要代谢途径见图 7。

## 3 讨论

在预实验中,笔者同时采用了正、负离子两种质谱扫描模式,结果发现正离子扫描模式可获得更好的二级碎片,故最终采用正离子模式对代谢产物的结构进行解

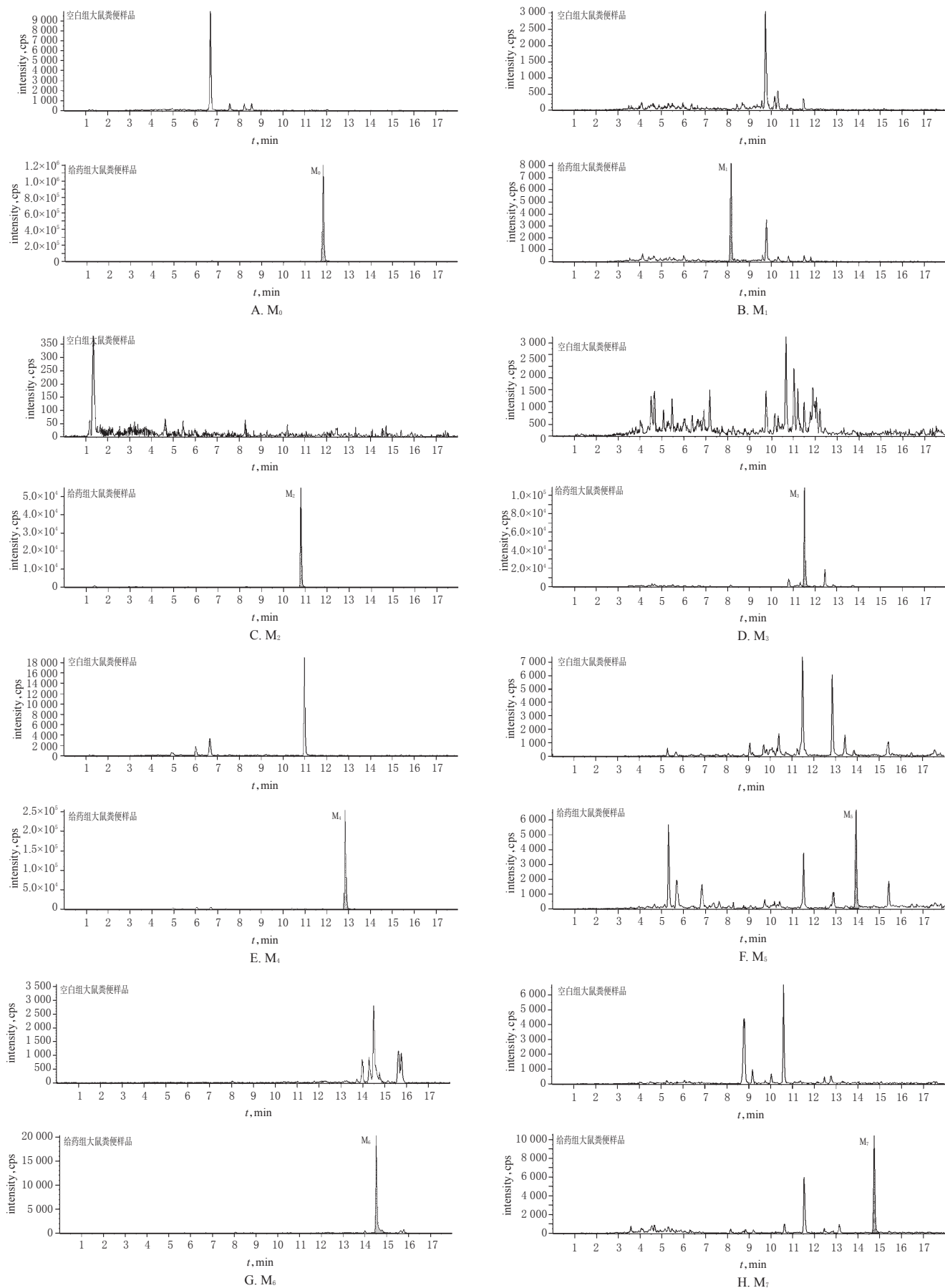


图3 空白组和给药组大鼠粪便样品的提取离子流图

Fig 3 Extraction ion flow maps of fecal samples of rats in blank group and administration group

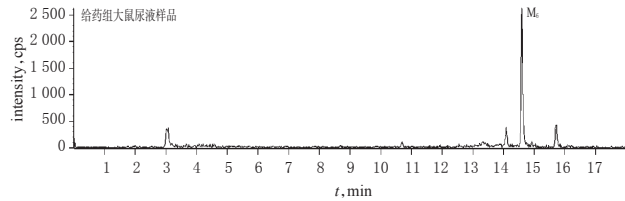
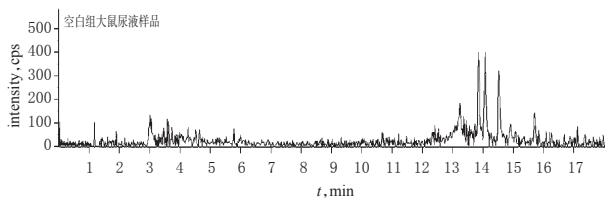


图4 空白组和给药组大鼠尿液样品的提取离子流图

Fig 4 Extraction ion flow maps of urine samples of rats in blank group and administration group

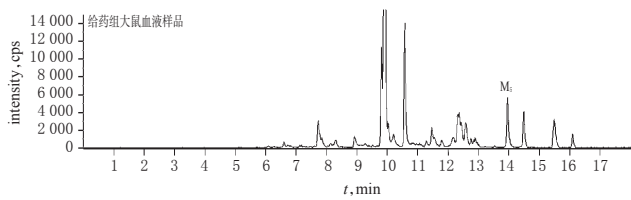
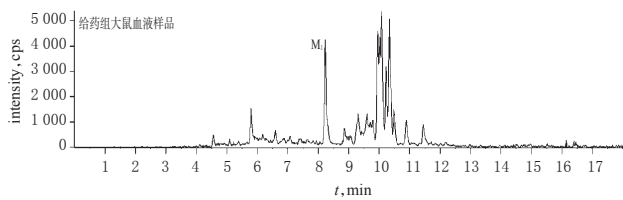
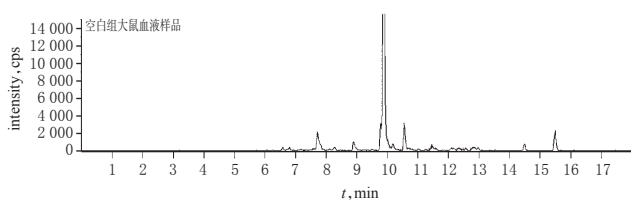
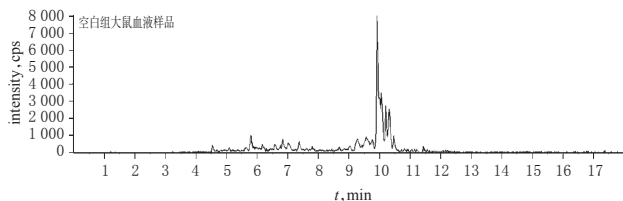


图5 空白组和给药组大鼠血液样品的提取离子流图

Fig 5 Extraction ion flow maps of blood samples of rats in blank group and administration group

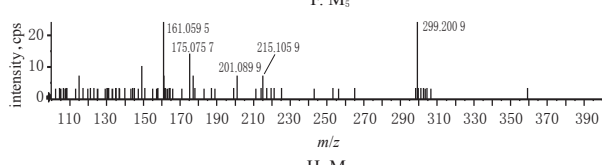
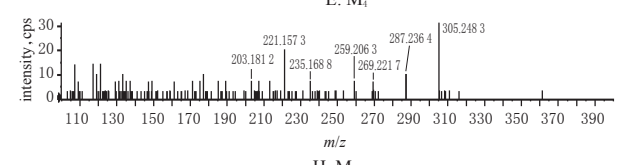
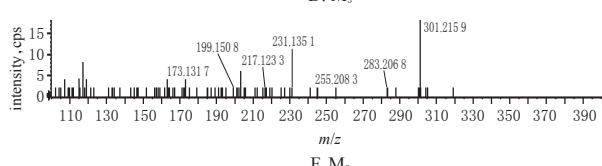
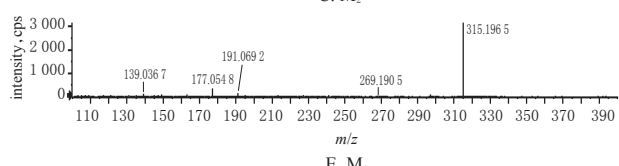
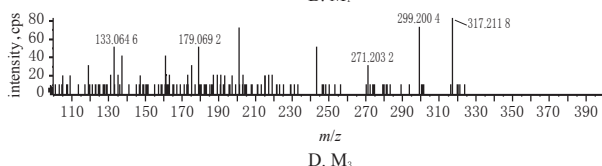
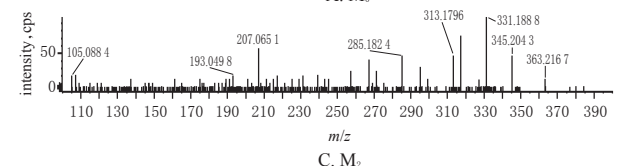
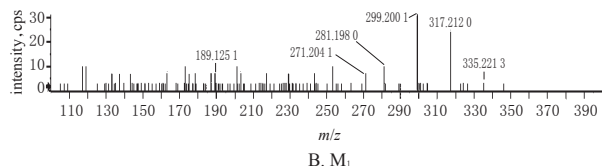
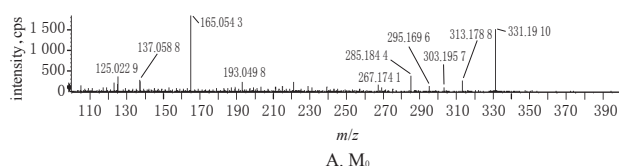


图6 原型药物 ( $M_0$ ) 和代谢产物 ( $M_1 \sim M_7$ ) 的二级质谱图

Fig 6 MS/MS spectra of prototype drug ( $M_0$ ) and metabolites ( $M_1 \sim M_7$ )

表1 岩大戟内酯B在大鼠体内的代谢分析结果

Tab 1 Analysis results of jolkinolide B metabolites in rats

序号	$t_R$ , min	分子式	$[M+H]^+(m/z)$	偏差, ppm	碎片离子信息( $m/z$ )	组织分布	代谢反应
$M_0$	11.82	$C_{23}H_{26}O_4$	331.190 9	1.5	313.178 8, 303.195 7, 295.169 6, 285.184 4, 267.174 1, 193.049 8, 165.054 3, 137.058 8, 125.022 9	粪便	原型
$M_1$	8.16	$C_{23}H_{26}O_4$	335.221 3	-1.2	317.212 0, 299.200 1, 281.198 0, 271.204 1, 189.125 1	粪便、血液	开环
$M_2$	10.80	$C_{23}H_{26}O_6$	363.216 7	2.1	345.204 3, 331.188 8, 313.179 6, 285.182 4, 207.065 1, 193.049 8, 105.068 4	粪便	氧化
$M_3$	11.52	$C_{23}H_{26}O_3$	317.211 8	2.2	299.200 4, 271.203 2, 179.069 2, 133.064 6	粪便	脱氧加氢
$M_4$	12.84	$C_{23}H_{26}O_3$	315.195 5	0.1	269.190 5, 191.069 2, 177.054 8, 139.036 7	粪便	开环脱水
$M_5$	13.93	$C_{23}H_{26}O_2$	301.215 9	-1.0	283.206 8, 255.208 3, 231.135 1, 217.123 3, 199.150 8, 173.131 7	粪便、血液	脱氧加氢
$M_6$	14.52	$C_{23}H_{26}O_2$	305.248 3	2.6	287.236 4, 269.221 7, 259.206 3, 235.168 8, 221.157 3, 203.181 2, 189.128 7	粪便、尿液	脱氧加氢
$M_7$	14.74	$C_{23}H_{26}O_2$	299.200 9	1.0	215.105 9, 201.089 9, 175.075 7, 161.059 5	粪便	脱水

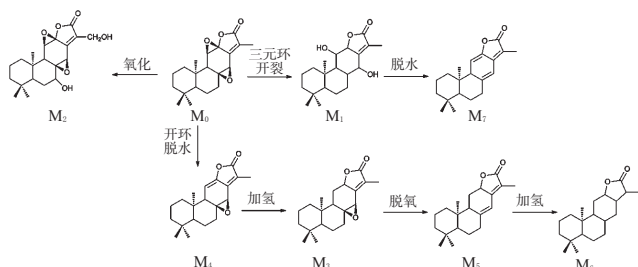


图7 岩大戟内酯B在大鼠体内的代谢途径

Fig 7 Metabolic pathway of jolkinolide B in rats

析。此外,笔者还考察了流动相体系(甲醇-水、乙腈-水以及在上述流动相体系两相中均添加适量甲酸)对色谱分离的影响,结果发现使用水(含0.1%甲酸)-乙腈(含0.1%甲酸)作为流动相时分离效果较好。

本研究在优化色谱与质谱条件的基础上,对岩大戟内酯B在大鼠体内的代谢情况进行了系统研究。结果,在粪便样品中共检出原型和7个代谢产物,在尿液和血液样品中分别检出1个和2个代谢产物,其原因可能为岩大戟内酯B的极性偏小,经胃肠道代谢后,随粪便排出体外,而在尿液和血液中的含量较低,故难以被检出<sup>[13]</sup>。代谢途径预测结果显示,岩大戟内酯B在大鼠体内主要发生了氧化、脱氧、氧环开裂、加氢、脱水等I相代谢反应。通过数据解析可知,岩大戟内酯B可通过氧化反应生成产物M<sub>2</sub>,C7、C17位可能是其氧化位点<sup>[14-16]</sup>;岩大戟内酯B的三元氧环可发生开环反应,生成产物M<sub>1</sub>,随后M<sub>1</sub>继续脱水,生成产物M<sub>7</sub>;与此同时,岩大戟内酯B亦可直接发生开环、脱水反应,生成产物M<sub>4</sub><sup>[15]</sup>;此外,M<sub>4</sub>可依次通过加氢、脱氧、加氢等反应生成产物M<sub>3</sub>、M<sub>5</sub>、M<sub>6</sub>。

岩大戟内酯B是狼毒大戟的主要活性成分,具有较强的药理活性,也是该药材物质基础研究的重点之一。本研究首次采用UPLC-Q-TOF/MS联用技术,根据岩大戟内酯B的结构及碎片离子特征,分析并鉴定出大鼠粪便、尿液和血液样品中的7个I相代谢产物。但由于二萜类成分结构复杂,且质谱对同分异构体的鉴定具有一定的局限性,故有必要对其代谢产物进行分离纯化,并借助核磁共振等手段对其具体结构进行确证;此外,各时间段生物样品代谢产物的差异也有待进一步分析。

### 参考文献

[1] SUN YX, LIU JC. Chemical constituents and biological activities of *Euphorbia fischeriana* Steud[J]. *Chem Biodivers*, 2011, 8(7): 1205-1214.  
 [2] JIAN BY, ZHANG H, HAN CC, et al. Anti-cancer activities of diterpenoids derived from *Euphorbia fischeriana* Steud[J]. *Molecules*, 2018. DOI: 10.3390/molecules23020-387.  
 [3] JIAN BY, ZHANG H, LIU JC. Structural diversity and biological activities of diterpenoids derived from *Euphorbia fischeriana* Steud[J]. *Molecules*, 2018. DOI: 10.3390/molecules23040935.

[4] LIN Y, CUI H, XU H, et al. Jolkinolide B induces apoptosis in MDA-MB-231 cells through inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(6): 1976-1980.  
 [5] LUO H, WANG A. Induction of apoptosis in K562 cells by jolkinolide B[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2006, 84(10): 959-965.  
 [6] MA X, LIU Y, ZHANG Y, et al. Jolkinolide B inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis by suppressing the activation NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 445(2): 282-288.  
 [7] WANG JH, ZHOU YJ, BAI X, et al. Jolkinolide B from *Euphorbia fischeriana* Steud induces apoptosis in human leukemic U937 cells through PI3K/Akt and XIAP pathways[J]. *Mol Cells*, 2011, 32(5): 451-457.  
 [8] LIU WK, HO JCK, QIN GW, et al. Jolkinolide B induces neuroendocrine differentiation of human prostate LNCaP cancer cell line[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 63(5): 951-957.  
 [9] 王慧, 李晓鸥, 张晓伟, 等. 岩大戟内酯B对小鼠内毒素血症模型的保护作用研究[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(11): 1752-1754.  
 [10] SUN Y, LIU LY, PENG Y, et al. Metabolites characterization of timosaponin A III in vivo and in vitro by using liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015. DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.06.015.  
 [11] 苏红宁, 李淳瑞, 王玉峰, 等. UPLC-MS/MS法鉴定五味子甲在大鼠体内的代谢产物[J]. *中国药房*, 2015, 26(13): 1759-1762.  
 [12] ZHOU P, HU O, FU HY, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based untargeted metabolomics coupled with chemometrics approach for Tieguanyin tea with seasonal and year variations[J]. *Food Chem*, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.050.  
 [13] STYLOS E, CHATZIATHANASIADOUA MV, SYRIOPOULOVA A, et al. Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) based bioavailability determination of the major classes of phytochemicals[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.12.022.  
 [14] LIANG XX, FEI WB, HE M, et al. Enhanced antioxidant capacities in vivo caused by the change in key constituent of *Terminalia chebula* Retz. treated with Tibet traditional process[J]. *Wuhan Univ J Nat Sci*, 2016, 21(6): 544-548.  
 [15] LEE JW, LEE C, JIN Q, et al. Diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana* with inhibitory effects on nitric oxide production[J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(1): 126-131.  
 [16] WANG YB, HUANG R, WANG HB, et al. Diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana*[J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(6): 967-970.

(收稿日期:2019-03-02 修回日期:2019-08-06)  
(编辑:张元媛)