

肉苁蓉总苷在人工胃、肠液中的代谢转化研究^Δ

王昕蕾*, 刘博男, 张蒙蒙, 刘贵玉, 胡 扬, 孙向明, 李文兰[#](哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150076)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)01-0053-09

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.01.10

摘要 目的:研究肉苁蓉总苷在人工胃、肠液中的代谢转化,推测其在体内的代谢转化途径。方法:采用超高效液相色谱串联飞行时间质谱法。色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH,柱温为 25 ℃,流动相为 0.2% 甲酸水-乙腈溶液(梯度洗脱),流速为 0.2 mL/min,检测波长为 330 nm;离子源为电喷雾离子源,质荷比(m/z)为 50→1 000;在正、负离子模式下,对肉苁蓉总苷在人工胃、肠液中的代谢成分进行鉴定分析,并结合文献推测肉苁蓉总苷在人工胃、肠液中代谢途径。结果:肉苁蓉总苷经人工胃液代谢后,共推测出 69 个成分,其中 14 个原型成分(如芥子醛葡萄糖苷、胡萝卜苷等)、55 个代谢成分(如 Methyl-O-Kankanoside J、Methyl-O-Kankanoside E 等),推测其代谢途径有甲基化、去甲基化、羟基化、甲氧基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。肉苁蓉总苷经人工肠液代谢后,共推测出 90 个成分,其中 4 个原型成分(如 Kankanoside M、Kankanoside L 等)、86 个代谢成分(如 Methyl-O-Kankanoside、Methyl-O-Kankanoside E 等),推测其代谢途径有甲基化、去甲基化、羟基化、去羟基化、甲氧基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。结论:本研究初步推测肉苁蓉总苷在人工胃、肠液中可能通过甲基化、去甲基化、羟基化等多种途径进行代谢转化,可为肉苁蓉总苷的体内代谢转化研究提供参考依据。

关键词 肉苁蓉总苷;代谢;人工胃液;人工肠液;超高效液相色谱串联飞行时间质谱法;成分分析

Study on Metabolic Transformation of Total Glycosides of *Cistanche deserticola* in Artificial Gastric and Intestinal Juice

WANG Xinlei, LIU Bonan, ZHANG Mengmeng, LIU Guiyu, HU Yang, SUN Xiangming, LI Wenlan (College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the metabolic transformation of total glycosides of *Cistanche deserticola* in artificial gastric and intestinal juice, and to speculate its metabolic transformation pathway *in vivo*. METHODS: UPLC/Q-TOF-MS was adopted. The determination was performed on ACQUITY UPLC BEH column with mobile phase consisted of 0.2% formic acid water-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The detection wavelength was set at 330 nm, and column temperature was 25 ℃. The ion source was electrospray ion source, and mass to charge ratio (m/z) was 50→1 000. In the positive and negative ion mode, the metabolic components of the total glycosides of *C. deserticola* in artificial gastric and intestinal juice were identified analysis, and combined with the literature, the metabolic pathway of total glycosides of *C. deserticola* in artificial gastric and intestinal juice was speculated. RESULTS: After the total glycosides of *C. deserticola* were metabolized by artificial gastric juice, and a total of 69 components were estimated, including 14 prototype components (such as Mustard aldehyde glucoside, daucosstorol) and 55 metabolic components (such as Methyl-O-Kankanoside J, Methyl-O-Kankanoside E), it is speculated that its metabolic pathways were methylation, demethylation, hydroxylation, methoxylation, acetylation, sulfation, and glucuronidation. After the total glycosides of *C. deserticola* were metabolized by artificial intestinal juice, a total of 90 components were estimated, including 4 prototype components (such as Kankanoside M, Kankanoside L) and 86 metabolic components (such as Methyl-O-Kankanoside, Methyl-O-Kankanoside E). It was speculated that its metabolic pathways were methylation, demethylation, hydroxylation, dehydroxylation, methoxylation, acetylation, sulfation and glucuronidation. CONCLUSIONS: This study preliminarily speculates that the total glycosides of *C. deserticola* may be metabolized by methylation, demethylation, hydroxylation and other metabolic pathway in artificial gastrointestinal juice, which may provide reference for the *in vivo* metabolic transformation of total glycosides of *C. deserticola*.

KEYWORDS Total glycosides of *Cistanche deserticola*; Metabolism; Artificial gastric juice; Artificial intestinal juice; UPLC/Q-TOF-MS; Component analysis

肉苁蓉为列当科植物肉苁蓉(*Cistanche desertico* La Y.C.Ma)或花肉苁蓉[*Cistanche tubulosa* (Schenk)

Δ 基金项目:黑龙江省科学基金项目(No.ZD2017014);哈尔滨商业大学校科学基金项目(No.18XN083)

* 硕士研究生。研究方向:中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail:2715543753@qq.com

通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail:lwdzd@163.com

Wight]的干燥带鳞叶的肉质茎^[1]。始载于《神农本草经》,列为上品,性甘、咸、温,归肾、大肠经^[2]。传统药理学研究表明,肉苁蓉具有补肾阳、益精血、润肠通便等作用^[3]。现代药理学表明,其具有抗疲劳、抗衰老、增强机体免疫力及显著的拟雌激素作用^[4-7]。目前,从肉苁蓉中已分离并鉴定出多种化学成分,主要有苯乙醇苷类、环烯醚萜苷类、木脂素类等,其中苯乙醇苷类是肉苁蓉中主要的活性成分^[8-12]。为进一步追踪肉苁蓉总苷的代谢

过程,本课题组采用超高效液相色谱串联飞行时间质谱技术,通过体外人工胃、肠液研究体系,揭示肉苁蓉总苷在体外经胃、肠转化代谢的规律,从体外角度阐明肉苁蓉总苷在胃、肠中的代谢过程,为进一步阐明其药效物质基础提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Acquity 超高效液相色谱仪、Waters 2695 液相色谱系统、LE204E/02 电子分析天平(美国奥豪斯国际有限公司);Neofuge 13R 高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司);1290 型 6530 系列飞行时间质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

肉苁蓉总苷(本课题组参考文献[12]方法自制,含量以毛蕊花糖苷计为 62.5%);毛蕊花糖苷(批号:111530-201411,纯度:>98%);松果菊苷(批号:111670-201304,纯度:>98%)均购自中国食品药品检定研究院;胃蛋白酶(批号:417B0314,活力:3 000~3 500 U)、胰酶(批号:417B0314,活力:3 000~3 500 U)均购自国药集团北京试剂有限公司;甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯;水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 空白灌流液的制备

精密称取 7.80 g NaCl、0.35 g KCl、0.37 g CaCl₂、1.37 g NaHCO₃、0.32 g NaH₂PO₄、0.02 g MgCl₂、1.40 g 葡萄糖,加水定容至 1 000 mL 量瓶中,调 pH 至 7.40,即得空白灌流液。

2.2 供试品溶液的制备

取肉苁蓉总苷 100 g,加入空白灌流液定容至 100 mL,再用 0.22 μm 滤膜过滤,即得供试品溶液。

2.3 人工胃、肠液的制备

2.3.1 人工胃液的制备 参考文献[13]方法,取 16.4 mL 9.5% HCl,加入 800 mL 水以及胃蛋白酶 10 g,充分混匀后加水稀释至 1 000 mL,即得人工胃液。

2.3.2 人工肠液的制备 参考文献[13]方法,取 6.8 g KH₂PO₄,加 500 mL 水使之溶解,采用 0.1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 6.8;另取 10 g 胰酶,加水适量溶解,再将上述两液混合,加水稀释至 1 000 mL,即得人工肠液。

2.4 孵育样品的制备

2.4.1 人工胃液孵育样品的制备 取“2.3.1”项下的人工胃液 100 mL 预温孵 5 min 后,加入“2.2”项下的供试品溶液 5 mL,于 37 °C 下预孵育,1 h 后取样 7 mL,立即用 0.1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 6.7 终止反应,加水定容至 10 mL,再用 0.22 μm 滤膜过滤,即得。

2.4.2 人工肠液孵育样品的制备 取“2.3.2”项下的人工肠液 100 mL 预温孵 5 min 后,加入“2.2”项下的供试品溶液 5 mL,于 37 °C 下预孵育,4 h 后取样 7 mL,立即用 0.1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 6.7 终止反应,加水定容至 10 mL,再用 0.22 μm 滤膜过滤,即得。

2.5 色谱与质谱条件

2.5.1 色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC BEH(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:0.2% 甲酸水(A)-乙腈溶液(B),梯度洗脱(0~2 min,10%→12% B;2~7 min,12% B;7~10 min,12%→17% B;10~17 min,17%→23% B;17~18 min,23% B;18~19 min,23%→25% B;19~20 min,25%→10% B);流速:0.2 mL/min;检测波长:330 nm;柱温:25 °C;进样量:5 μL。

2.5.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子源,正、负离子切换检测;干燥气温度:30 °C;雾化气压力:30 psi;干燥气流速:8.0 L/min;毛细管电压:3.5 kV;鞘气流速:12.0 L/min;鞘气温度:400 °C;扫描范围:质荷比(*m/z*)50→1 000;流速:0.2 mL/min。

2.6 肉苁蓉总苷在人工胃液中的成分分析

取“2.2”项下的供试品溶液、“2.4.1”项下的人工胃液孵育样品各 1 mL,按“2.5”项下色谱与质谱条件于正、负离子模式下进样分析。应用超高效液相色谱串联飞行时间质谱技术对肉苁蓉总苷进行定性分析,通过与对照品的保留时间(*t_R*)及一、二级质谱信息进行比较,利用 Agilent Masshunter Qualitative Analysis B.07.00 软件对数据进行处理,其中的准分子离子峰的 *m/z* 可初步判断化合物的分子量、元素组成和经验分子式,再结合数据库检索各级质谱信息和已有文献报道,对其化学成分进行了结构推测。正、负离子模式下各样品在人工胃液中代谢的总离子流图分别见图 1、图 2。

依据各色谱峰在正离子模式下得到的分子离子峰及其对应碎片离子所得的分子量与试验前期及相关文献报道^[14-16]对比参考,共推测出 36 个化合物,其中 7 个原型成分(如芥子醛葡萄糖苷、松果菊苷)、29 个代谢产物(如 Methyl-*O*-Kankanoside J、乙酰化管花肉苁蓉苷 B);负离子模式下共推测出 33 个化合物,其中 7 个原型成分(如 Kankanoside M、胡萝卜苷)、26 个代谢产物(如 Methyl-*O*-Kankanoside E、羟基化丁香苷)。正、负离子模式下肉苁蓉总苷在人工胃液中代谢的化合物信息分别见表 1、表 2。

基于表 1,笔者简述几种典型化学成分的 MS/MS 推导过程。

1 号峰(*t_R*=1.914 min)分子量为 726.279 9, *m/z* 727.287 7 为 [M+H]⁺ 峰, *m/z* 679.242 8 为 [M+H-CH₂O-H₂O]⁺ 峰, *m/z* 655.206 9 为 [M+H-CH₂O-C₂H₂O]⁺ 峰, *m/z* 637.196 6 为 [M+H-CH₂O-C₂H₂O-H₂O]⁺ 峰,推测其为 Methyl-*O*-Kankanoside J。2 号峰(*t_R*=2.164 min)分子量为 428.131 3, *m/z* 429.139 1 为 [M+H]⁺ 峰, *m/z* 397.111 8 为 [M+H-CH₃OH]⁺ 峰, *m/z* 381.204 3 为 [M+H-CH₂O-H₂O]⁺ 峰, *m/z* 331.219 4 为 [M+H-SO₃-H₂O]⁺ 峰, *m/z* 301.072 8 为 [M+H-SO₃-CH₂O-H₂O]⁺ 峰,推测其为 Kankanoside L sulfuric acid conjugate; 3 号峰(*t_R*=2.331 min)分子量为 530.163 0, *m/z* 531.170 8 为 [M+H]⁺ 峰, *m/z* 499.147 4 为 [M+H-CH₃OH]⁺ 峰, *m/z* 265.080 6 为 [M+H-C₆H₅O₆-3CH₂O]⁺ 峰,推测其为 dehydrodiconiferyl alcohol-4-*O*-β-*D*-glucoside 葡糖醛酸结合物; 4 号峰(*t_R*=2.631 min)分

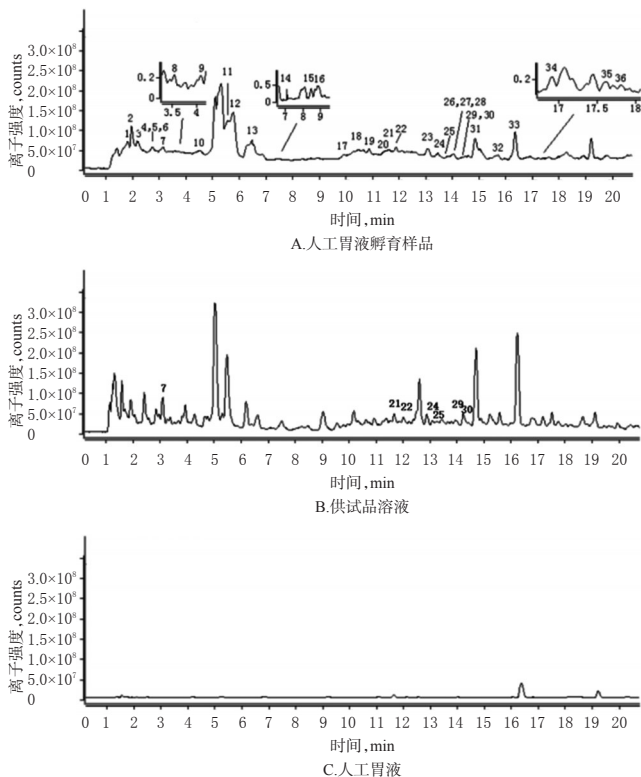


图1 正离子模式下各样品在人工胃液中代谢的总离子流图

Fig 1 Total ion current diagram of each sample in artificial gastric juice under positive ion mode

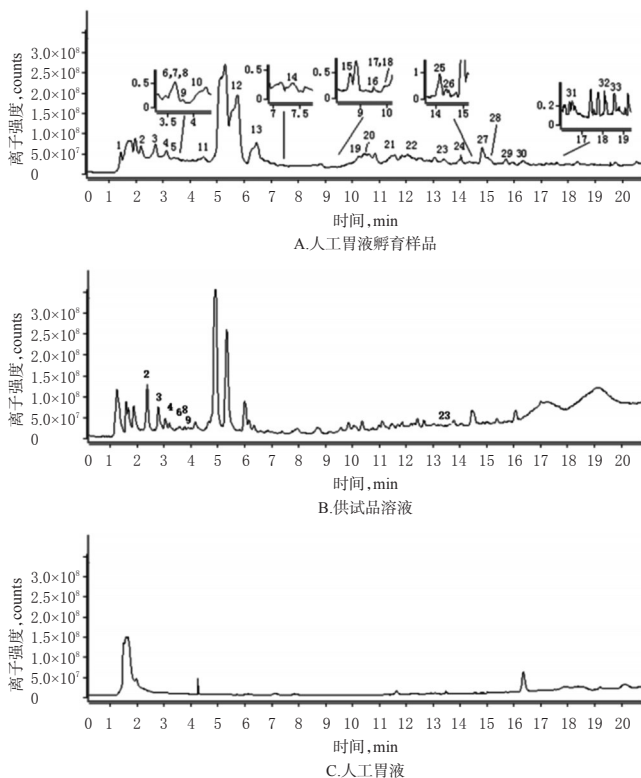


图2 负离子模式下各样品在人工胃液中代谢的总离子流图

Fig 2 Total ion flow diagram of each sample in artificial gastric juice under negative ion mode

子量为 682.230 4, m/z 683.238 2 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 497.135 4 为 $[M+H-C_8H_{10}O_3-CH_3OH]^+$ 峰, m/z 479.217 0 为 $[M+H-C_8H_{10}O_3-CH_3OH-H_2O]^+$ 峰, m/z 349.187 1 为 $[M+H-C_8H_{10}O_3-C_5H_8O_5-H_2O-CH_2O]^+$ 峰, 推测为 Demethyl Kankanoside J; 11 号峰 ($t_R=5.799$ min) 分子量为 710.246 2, m/z 711.254 0 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 379.100 2 为 $[M+H-C_7H_8O_2-C_6H_{10}O_4-CH_2O-CH_3OH]^+$ 峰, 推测其为 Methylation Kankanoside J; 14 号峰 ($t_R=7.183$ min) 分子量为 812.277 3, m/z 813.285 1 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 449.304 6 为 $[M+H-C_2H_2O-C_6H_{12}O_6-C_6H_6O_2-CH_3OH]^+$ 峰, m/z 389.175 4 为 $[M+H-C_2H_2O-C_9H_6O_2-C_6H_{10}O_4-C_3H_6O_3]^+$ 峰, m/z 387.164 0 为 $[M+H-C_2H_2O-C_9H_6O_2-C_6H_{10}O_4-C_2H_4O_2-CH_3OH]^+$ 峰, m/z 369.152 9 为 $[M+H-C_2H_2O-C_9H_6O_2-C_6H_{10}O_4-C_2H_4O_2-CH_3OH-H_2O]^+$ 峰, 推测为乙酰化管花肉苁蓉苷 B。

基于表 2, 笔者简述几种典型化学成分的 MS/MS 推导过程。

1 号峰 ($t_R=1.333$ min) 分子量为 378.094 1, m/z 377.086 3 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 303.163 4 为 $[M-H-CH_2O-CO_2]^-$ 峰, 推测其为 Methyl-*O*-Kankanoside E; 5 号峰 ($t_R=3.567$ min) 分子量为 334.091 1, m/z 333.083 3 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 303.795 4 为 $[M-H-CH_2O]^-$ 峰, m/z 153.964 4 为 $[M-H-C_6H_{12}O_6]^-$ 峰, 推测其为 Demethyl Kankanoside E; 7 号峰 ($t_R=3.751$ min) 分子量为 488.157 1, m/z 487.149 3 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 423.111 5 为 $[M-H-2CH_3OH]^-$ 峰, m/z 393.270 5 为 $[M-H-2CH_3OH-CH_2O]^-$ 峰, m/z 351.743 2 为 $[M-H-C_2H_2O-C_6H_6O]^-$ 峰, 推测其为乙酰化肉苁蓉苷 G; 10 号峰 ($t_R=3.917$ min) 分子量为 652.223 2, m/z 651.215 4 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 523.911 8 为 $[M-H-C_6H_6O_2-H_2O]^-$ 峰, m/z 495.036 0 为 $[M-H-C_8H_{10}O_2-H_2O]^-$ 峰, m/z 443.420 3 为 $[M-H-C_5H_{10}O_5-C_2H_2O_2]^-$ 峰, m/z 425.705 7 为 $[M-H-C_5H_{10}O_5-C_2H_2O_2-H_2O]^-$ 峰, 推测其为去甲基管花苷 B; 11 号峰 ($t_R=4.468$ min) 分子量为 344.107 0, m/z 343.099 2 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 313.191 4 为 $[M-H-CH_2O]^-$ 峰, m/z 279.452 0 为 $[M-H-2CH_3OH]^-$ 峰, m/z 251.829 3 为 $[M-H-CH_3OH-2CH_2O]^-$ 峰, 推测为甲基化巴尔蒂苷; 14 号峰 ($t_R=7.485$ min) 分子量为 388.118 4, m/z 387.110 6 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 295.296 8 为 $[M-H-2OCH_2-CH_3OH]^-$ 峰, 推测其为羟基化丁香苷; 17 号峰 ($t_R=9.853$ min) 分子量为 380.097 4, m/z 379.089 6 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 361.515 0 为 $[M-H-H_2O]^-$ 峰, m/z 283.726 5 为 $[M-H-C_6H_6-H_2O]^-$ 峰, m/z 147.347 2 为 $[M-H-SO_3-C_8H_{10}O-CH_2O]^-$ 峰, 推测为红景天苷硫酸结合物; 30 号峰 ($t_R=16.455$ min) 分子量为 726.516 3, m/z 725.508 5 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 695.607 4 为 $[M-H-CH_2O]^-$ 峰, m/z 549.166 9 为 $[M-H-C_6H_5O_6]^-$ 峰, m/z 485.280 5 为 $[M-H-C_6H_5O_6-2CH_3OH]^-$ 峰, 推测其为 Eucommin A glucuronic acid conjugate。

2.7 人工胃液中各化合物的代谢途径推测

肉苁蓉总苷在人工胃液中成分分析共推测出 55 个代谢物, 根据总苷代谢相关文献^[14-15]推测代谢途径主要有甲基化、去甲基化、羟基化、甲氧基化、乙酰化、硫酸

表1 正离子模式下肉苁蓉总苷在人工胃液中代谢的化合物信息

Tab 1 Identification of chemical composition of total glycosides of *C. deserticola* after metabolism in artificial gastric juice under positive ion mode

峰号	t_R , min	正离子质谱信息, m/z		分子量	化合物推测	原型/代谢
		一级碎片	二级碎片			
1	1.914	727.287 7	679.242 8;655.206 9;637.196 6	726.279 9	Methyl- <i>O</i> -Kankanoside J	代谢
2	2.164	429.139 1	397.111 8;381.204 3;331.219 4;301.072 8	428.131 3	Kankanoside L sulfuric acid conjugate	代谢
3	2.331	531.170 8	449.167 4;265.080 6	530.163 0	Dehydrodiconiferyl alcohol-4- <i>O</i> - β -D-glucoside	代谢
4	2.631	683.238 2	497.135 4;479.217 0;349.187 1	682.230 4	Demethyl Kankanoside J	代谢
5	2.765	451.225 2	177.074 8;159.102 8	450.217 4	芥子醛葡萄糖苷硫酸结合物	代谢
6	2.998	407.175 2	377.187 9;375.186 3;357.178 2;315.162 3	406.167 4	甲基- <i>O</i> -玉叶金花苷酸	代谢
7	3.281	371.169 4	309.139 9;209.148 7;177.137 9	370.161 6	芥子醛葡萄糖苷	原型
8	3.631	843.397 2	473.195 2;383.152 5;341.128 6;315.191 0	842.389 4	2'-乙酰毛蕊花糖苷葡萄糖醛酸结合物	代谢
9	4.115	667.242 6	649.233 1;625.258 0;575.197 6;353.158 6	666.234 8	乙酰化毛蕊花糖苷	代谢
10	4.815	373.181 5	193.085 4;161.065 7	372.173 7	甲基- <i>O</i> -松柏苷	代谢
11	5.799	711.254 0	413.130 5;379.100 2	710.246 2	Methylation Kankanoside J	代谢
12	5.899	553.370 9	521.206 2;359.166 8;313.140 7;179.070 7	552.363 1	玉叶金花苷葡萄糖醛酸结合物	代谢
13	6.582	639.339 2	413.143 0;381.111 1	638.331 4	甲基化毛蕊花糖苷	代谢
14	7.183	813.285 1	449.304 6;389.175 4;387.164 0;369.152 9	812.277 3	乙酰化管花肉苁蓉苷B	代谢
15	8.516	757.267 7	725.270 2;575.268 5;561.197 4	756.259 9	去甲基管花肉苁蓉苷B	代谢
16	9.083	681.451 6	557.183 6;409.068 3	680.443 8	甲基化2'-乙酰毛蕊花糖苷	代谢
17	9.984	457.170 0	439.158 6;359.170 2;331.177 9	456.162 2	玉叶金花苷硫酸结合物	代谢
18	10.350	401.179 3	371.163 8;341.127 7	400.171 5	甲基- <i>O</i> -芥子醛葡萄糖苷	代谢
19	10.951	801.243 9	739.285 0;573.209 2;471.151 2	800.236 1	甲基- <i>O</i> -管花肉苁蓉苷B	代谢
20	11.367	801.378 9	673.241 8;593.210 1;545.200 5	800.371 1	毛蕊花糖苷葡萄糖醛酸结合物	代谢
21	11.717	355.209 6	201.091 5;183.148 9;169.063 1	354.201 8	Dehydrodiconiferyl alcohol-4- <i>O</i> - β -D-glucoside	原型
22	12.051	787.281 0	595.224 8;439.273 7;395.267 0	786.273 2	松果菊苷	原型
23	13.185	369.151 2	311.150 5;233.154 7	368.143 4	Methyl dehydrodiconiferyl alcohol-4- <i>O</i> - β -D-glucoside	代谢
24	13.768	771.285 8	699.215 4;561.284 1;529.257 2;469.245 0	770.278 0	管花肉苁蓉苷B	原型
25	13.835	697.296 3	633.213 5;569.771 3;469.176 9;393.673 6	696.288 5	Kankanoside J	原型
26	14.052	697.522 4	563.279 2;521.279 7;503.396 7;469.229 6	696.514 6	甲基- <i>O</i> -2'-乙酰毛蕊花糖苷	代谢
27	14.102	739.372 6	691.186 0;541.240 6	738.364 8	Acetylated Kankanoside J	代谢
28	14.285	847.301 8	351.204 5;333.218 2	846.294 0	Methyl- <i>O</i> -Kankanoside K	代谢
29	14.468	349.216 4	319.133 3;289.090 7	348.208 6	Kankanoside L	原型
30	14.485	349.212 6	301.104 2;187.075 0	348.204 8	Kankanoside E	原型
31	15.102	525.160 0	187.012 6;137.041 2;119.068 8	524.152 2	Kankanoside L glucuronic acid conjugate	代谢
32	15.852	341.191 5	323.075 0;309.097 1;291.085 0	340.183 7	Demethyl-dehydrodiconiferyl alcohol-4- <i>O</i> - β -D-glucoside	代谢
33	16.352	479.287 5	323.122 6;293.122 6	478.279 7	去甲基肉苁蓉苷E	代谢
34	16.919	435.165 8	325.089 8;233.131 4;203.063 3;171.065 2	434.158 0	Dehydrodiconiferyl alcohol-4- <i>O</i> - β -D-glucoside	代谢
35	17.636	385.182 6	325.092 5;161.104 8	384.174 8	甲基化芥子醛葡萄糖苷	代谢
36	17.819	385.184 3	367.208 6;325.118 5;233.153 4;169.121 7	384.176 5	Methyl- <i>O</i> -dehydrodiconiferyl alcohol-4- <i>O</i> - β -D-glucoside	代谢

注:因有些化合物只存在英文名称,故以英文表述

Note: Because some compounds only have English names, they are expressed in English

化、葡萄糖醛酸化,表明肉苁蓉总苷在人工胃液中主要是以代谢物的形式存在。人工胃液中代谢产物的典型代谢途径见图3。

2.8 肉苁蓉总苷在人工肠液中代谢的成分分析

取“2.2”项下的供试品溶液、“2.4.2”项下的人工肠液孵育样品各1 mL,按“2.5”项下色谱条件与质谱条件于正、负离子模式下进样分析。正、负离子模式下的总离子流图(人工肠液中)分别见图4、图5。

依据各色谱峰在正离子模式下得到的分子离子峰及其对应碎片离子所得的分子量与试验前期及相关文献报道对比参考^[16-18],共推测出40个化合物,其中1个原型成分(如Kankanoside L)、39个代谢产物(如Methyl-*O*-Kankanoside、甲基-*O*-芥子醛葡萄糖苷);负离子模式下共推测出50个化合物,其中3个原型成分(如Kankano-

side M、巴尔蒂苷)、47个代谢产物(如乙酰化红景天苷、Methyl-*O*-Kankanoside E)。正、负离子模式下人工肠液中各色谱峰的化学信息分别见表3、表4。

基于表3,笔者简述几种典型化学成分的MS/MS推导过程。

1号峰($t_R=1.180$ min)分子量为400.151 8, m/z 401.159 6为[M+H]⁺峰, m/z 311.261 4为[M+H-3CH₂O]⁺峰, m/z 309.254 2为[M+H-2CH₂O-CH₃OH]⁺峰, m/z 279.093 3为[M+H-3CH₂O-CH₃OH]⁺峰, m/z 209.158 8为[M+H-CH₂O-C₆H₁₀O₅]⁺峰,推测其为甲基-*O*-芥子醛葡萄糖苷;2号峰($t_R=1.196$ min)分子量为260.148 5, m/z 261.156 3为[M+H]⁺峰, m/z 133.729 6为[M+H-SO₃-CH₂O-H₂O]⁺峰, m/z 131.000 4为[M+H-SO₃-CH₃OH-H₂O]⁺峰, m/z 115.054 5为[M+H-SO₃-CH₂O-2H₂O]⁺峰, m/z

表2 负离子模式下肉苁蓉总苷在人工胃液中代谢的化合物信息

Tab 2 Identification of chemical composition of total glycosides of *C. deserticola* after metabolism in artificial gastric juice under negative ion mode

峰号	t_R, min	负离子质谱信息, m/z		分子量	化合物推测	原型/代谢
		一级碎片	二级碎片			
1	1.333	377.086 3	303.163 4; 183.217 2	378.094 1	Methyl- <i>O</i> -Kankanoside E	代谢
2	2.384	375.130 0	357.343 7; 329.751 4; 299.076 4; 269.525 4	376.137 8	8-表马钱酸	原型
3	2.784	345.119 4	231.451 8; 121.802 2	346.127 2	(2 <i>E</i> , 6 <i>Z</i>)-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy-2, 6-dimethyl-2, 6-octadienoic acid	原型
4	3.167	445.171 7	381.123 7; 267.679 8	446.179 5	肉苁蓉苷 G	原型
5	3.567	333.083 3	303.795 4; 153.964 4	334.091 1	Demethyl Kankanoside E	代谢
6	3.701	595.188 4	533.112 5; 517.773 3	596.196 2	丁香脂素- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	原型
7	3.751	487.149 3	423.111 5; 393.270 5; 351.743 2	488.157 1	乙酰肉苁蓉苷 G	代谢
8	3.784	549.188 4	521.256 8; 341.992 8; 309.431 2	550.196 2	eucommin A	原型
9	3.851	575.165 2	323.582 3; 271.310 4	576.173 0	胡萝卜苷	原型
10	3.917	651.215 4	523.911 8; 495.036 0; 443.420 3; 425.705 7	652.223 2	去甲基管花苷 B	代谢
11	4.468	343.099 2	313.191 4; 279.452 0; 251.829 3	344.107 0	甲基化巴尔蒂苷	代谢
12	5.918	431.192 8	277.424 5; 259.824 6; 93.548 3	432.200 6	去甲基肉苁蓉苷 G	代谢
13	6.602	417.104 6	387.974 6; 295.196 8; 177.165 3; 148.277 5	418.112 4	甲基- <i>O</i> -京尼平苷	代谢
14	7.485	387.110 6	295.296 8; 191.063 0	388.118 4	羟基化丁香苷	代谢
15	8.636	387.112 1	345.773 0; 313.779 5; 283.257 7	388.119 9	乙酰化 6-去氧梓醇	代谢
16	9.419	329.123 2	267.096 5; 237.379 5; 191.843 8	330.131 0	甲基- <i>O</i> -红景天苷	代谢
17	9.853	379.089 6	361.515 0; 283.726 5; 147.347 2	380.097 4	红景天苷硫酸结合物	代谢
18	9.936	461.166 6	367.531 1; 297.699 7	462.174 4	羟基化肉苁蓉苷 G	代谢
19	10.153	611.223 1	563.594 7; 531.093 4; 385.691 8	612.230 9	羟基化丁香脂素- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	代谢
20	10.553	429.177 7	207.181 6; 175.079 5	430.185 5	乙酰化京尼平苷	代谢
21	11.587	835.251 9	695.491 1; 645.883 4; 601.425 0	836.259 7	三糖苯丙素苷硫酸结合物	代谢
22	12.370	521.203 9	489.182 3; 427.963 1; 367.553 8; 203.270 6	522.211 7	甲基- <i>O</i> -肉苁蓉苷 E	代谢
23	13.771	329.170 2	269.161 5; 135.398 0	330.178 0	Kankanoside M	原型
24	14.004	675.215 0	611.102 0; 209.486 3	676.222 8	丁香脂素- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷硫酸结合物	代谢
25	14.237	477.162 6	333.589 5; 289.337 7	478.170 4	羟基化去咖啡酰基毛蕊花糖苷	代谢
26	14.538	739.246 5	647.355 0; 529.161 5; 483.214 2; 463.057 6	740.254 3	Demethyl Kankanoside I	代谢
27	14.971	695.350 9	537.749 6; 519.533 7; 471.866 0	696.358 7	甲基- <i>O</i> -管花苷 B	代谢
28	15.221	579.208 8	441.995 9; 341.105 4; 309.593 7	580.216 6	甲基- <i>O</i> -eucommin A	代谢
29	15.688	833.272 7	753.716 8; 645.251 0; 561.468 4; 479.617 8	834.280 5	Kankanoside I 硫酸结合物	代谢
30	16.455	725.508 5	695.607 4; 549.166 9; 485.280 5	726.516 3	Eucommin A glucuronic acid conjugate	代谢
31	16.872	405.170 2	311.270 3; 211.497 5; 181.814 9	406.178 0	甲基- <i>O</i> -8-表马钱酸	代谢
32	18.155	507.280 0	445.864 1; 353.547 8; 329.160 6	508.287 8	羟基化肉苁蓉苷 E	代谢
33	18.556	841.275 8	601.779 7; 537.571 8; 485.419 9; 349.983 3	842.283 6	管花苷 B 葡萄糖醛酸结合物	代谢

注:因有些化合物只存在英文名称,故以英文表述

Note: Because some compounds only have English names, they are expressed in English

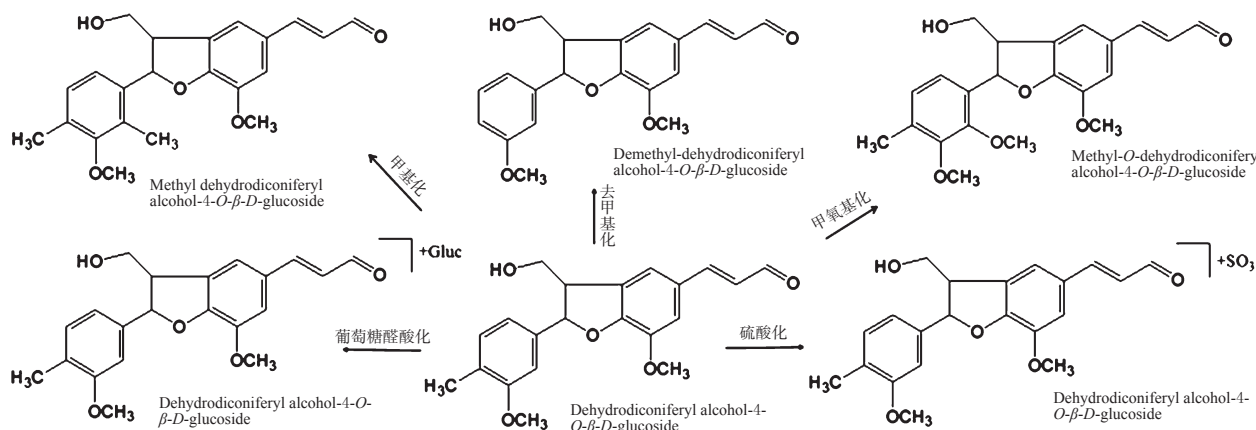


图3 人工胃液中代谢产物的典型代谢途径

Fig 3 Typical metabolic pathway of metabolites in artificial gastric juice

87.245 5 为 $[M+H-SO_3-2CH_2OH-CH_2O]^+$ 峰, 推测其为 *D*-葡萄糖硫酸结合物; 3 号峰 ($t_R=3.280 \text{ min}$) 分子量为

530.284 3, m/z 531.292 1 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 325.126 0 为 $[M+H-C_6H_5O_6-CH_2O]^+$ 峰, 推测为 Dehydrodiconiferyl alco-

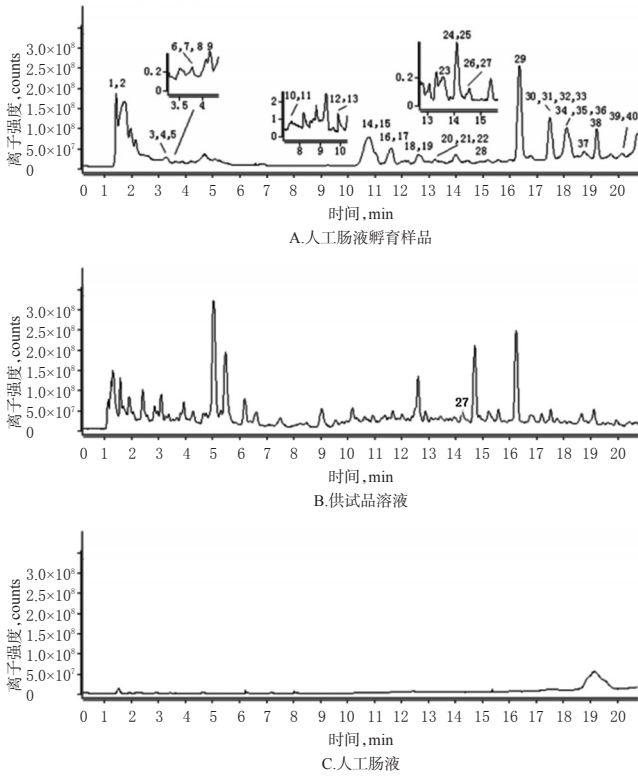


图4 正离子模式下各样品在人工肠液中代谢的总离子流图

Fig 4 Total ion current map of each sample after metabolism in artificial intestinal fluid under positive ion mode

hol-4-*O*- β -*D*-glucoside glucuronic acid conjugate; 4号峰 ($t_R=3.314$ min) 分子量为 858.460 8, m/z 859.468 6 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 649.571 3 为 $[M+H-C_2H_2O-C_9H_{12}O_3]^+$ 峰, m/z 633.092 6 为 $[M+H-C_2H_2O-C_9H_{12}O_4]^+$ 峰, m/z 585.764 0 为 $[M+H-C_2H_2O-C_9H_{12}O_4-CH_2O-H_2O]^+$ 峰, m/z 561.751 1 为 $[M+H-C_2H_2O-C_6H_6O_2-C_6H_{10}O_4]^+$ 峰, 推测其为 Acetylated Kankanoside K; 5号峰 ($t_R=3.464$ min) 分子量为 340.091 0, m/z 341.098 8 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 309.254 1 为 $[M+H-CH_3OH]^+$ 峰, m/z 279.094 3 为 $[M+H-CH_3OH-CH_2O]^+$ 峰, 推测其为 Demethyldehydrodiconiferyl alcohol-4-*O*- β -*D*-glucoside; 7号峰 ($t_R=3.847$ min) 分子量为 370.257 5, m/z 371.265 3 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 279.065 6 为 $[M+H-CH_3OH-2CH_2O]^+$ 峰, 推测其为 Hydroxylated dehydrodiconiferyl alcohol-4-*O*- β -*D*-glucoside; 12号峰 ($t_R=9.833$ min) 分子量为 368.215 6, m/z 369.223 4 为 $[M+H]^+$ 峰, m/z 309.254 5 为 $[M+H-2CH_2O]^+$ 峰, m/z 279.094 1 为 $[M+H-3CH_2O]^+$ 峰, 推测其为 Methylated dehydrodiconiferyl alcohol-4-*O*- β -*D*-glucoside。

基于表4, 笔者简述几种典型化学成分的MS/MS推导过程。

1号峰 ($t_R=1.567$ min) 分子量为 342.109 8, m/z 341.102 0 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 279.688 1 为 $[M-H-CH_3OH-CH_2O]^-$ 峰, m/z 261.051 1 为 $[M-H-CH_3OH-CH_2O-H_2O]^-$

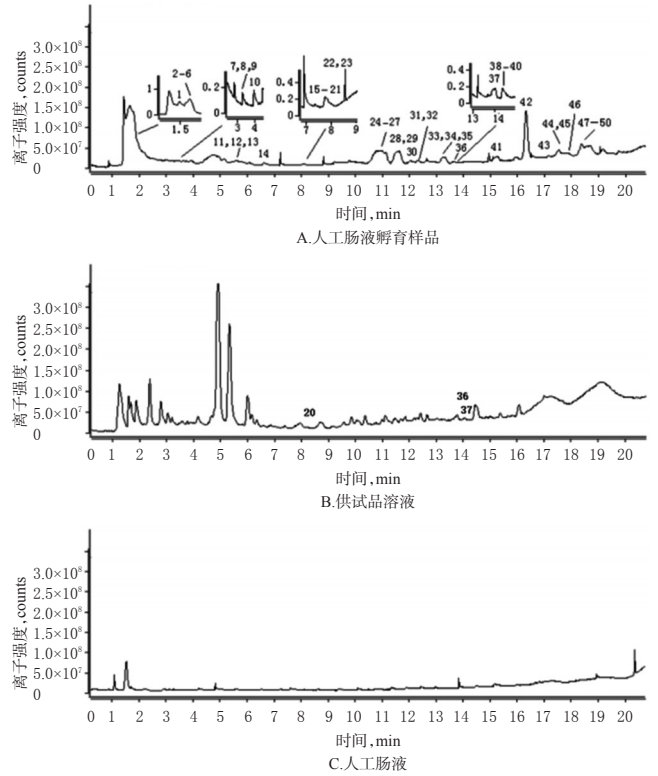


图5 负离子模式下各样品在人工肠液中代谢的总离子流图

Fig 5 Total ion current map of each sample after metabolism in artificial intestinal fluid under negative ion mode

峰, m/z 237.411 5 为 $[M-H-C_2H_2O-CH_3OH-CH_2O]^-$ 峰, 推测其为乙酰化红景天苷; 2号峰 ($t_R=1.834$ min) 分子量为 432.147 8, m/z 431.140 0 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 279.663 8 为 $[M-H-C_8H_{10}O-CH_2O]^-$ 峰, m/z 243.083 3 为 $[M-H-C_8H_{10}O_2-CH_3OH-H_2O]^-$ 峰, m/z 187.886 1 为 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_6O-H_2O]^-$ 峰, m/z 155.037 8 为 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_6O-CH_3OH-H_2O]^-$ 峰, 推测其为去甲基肉苁蓉苷 G; 3号峰 ($t_R=1.951$ min) 分子量为 580.212 0, m/z 579.204 2 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 529.712 4 为 $[M-H-CH_3OH-H_2O]^-$ 峰, m/z 471.026 4 为 $[M-H-3CH_2O-H_2O]^-$ 峰, m/z 359.045 9 为 $[M-H-CH_2O-C_6H_{12}O_6]^-$ 峰, 推测其为 Methyl-*O*-eucommin A; 4号峰 ($t_R=2.101$ min) 分子量为 612.300 4, m/z 611.292 6 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 596.873 7 为 $[M-H-CH_3]^-$ 峰, m/z 401.524 1 为 $[M-H-C_6H_{12}O_6-CH_2O]^-$ 峰, m/z 321.851 7 为 $[M-H-C_6H_{10}O_5-4CH_3OH]^-$ 峰, 推测其为羟基化丁香脂素-*O*- β -*D*-葡萄糖苷; 5号峰 ($t_R=2.384$ min) 分子量为 676.355 1, m/z 675.347 3 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 577.566 9 为 $[M-H-SO_3-H_2O]^-$ 峰, m/z 505.427 1 为 $[M-H-SO_3-3CH_2O]^-$ 峰, 推测其为丁香脂素-*O*- β -*D*-葡萄糖苷硫酸结合物; 6号峰 ($t_R=2.468$ min) 分子量为 524.056 9, m/z 523.049 1 为 $[M-H]^-$ 峰, m/z 385.045 9 为 $[M-H-C_4H_8O_4-H_2O]^-$ 峰, m/z 347.800 0 为 $[M-H-C_6H_8O_6]^-$ 峰, 推测为 Kankanoside L glucuronic acid conjugate; 12号峰 ($t_R=5.552$ min) 分子量为 358.222 6,

表3 正离子模式下肉苁蓉总苷在人工肠液中代谢的化合物信息

Tab 3 Identification of chemical composition of total glycosides of *C. deserticola* after metabolism in artificial intestinal fluid under positive ion mode

特征峰序号	t_R, min	正离子质谱信息, m/z		分子量	化合物推测	原型/代谢
		一级碎片	二级碎片			
1	1.180	401.159 6	311.261 4;309.254 2;279.093 3;209.158 8	400.151 8	甲基-O-芥子醛葡萄糖苷	代谢
2	1.196	261.156 3	133.729 6;131.000 4;115.054 5;87.245 5	260.148 5	D-葡萄糖硫酸结合物	代谢
3	3.280	531.292 1	325.126 0;279.094 2	530.284 3	Dehydrodicoumaroyl alcohol-4-O- β -D-glucoside glucuronic acid conjugate	代谢
4	3.314	859.468 6	649.571 3;633.092 6;585.764 0;561.751 1	858.460 8	Acetylated Kankanoside K	代谢
5	3.464	341.098 8	309.254 1;279.094 3	340.091 0	Demethyldehydrodicoumaroyl alcohol-4-O- β -D-glucoside	代谢
6	3.814	435.224 1	151.043 5;137.050 4	434.216 3	Dehydrodicoumaroyl alcohol-4-O- β -D-glucoside sulfate conjugate	代谢
7	3.847	371.265 3	279.065 6;239.267 7	370.257 5	Hydroxylated dehydrodicoumaroyl alcohol-4-O- β -D-glucoside	代谢
8	3.947	387.295 4	309.254 3;279.093 9	386.287 6	羟基化芥子醛葡萄糖苷	代谢
9	4.281	523.286 6	433.223 0;415.209 4;351.210 8;309.254 5	522.278 8	甲基-O-肉苁蓉苷E	代谢
10	7.749	697.387 1	607.217 5;455.205 7;433.222 9;415.211 1	696.379 3	甲基-O-2'-乙酰毛蕊花糖苷	代谢
11	7.882	457.210 3	165.059 0;135.044 3;121.058 0;119.047 5	456.202 5	玉叶金花苷硫酸结合物	代谢
12	9.833	369.223 4	309.254 5;279.094 1;	368.215 6	Methylated dehydrodicoumaroyl alcohol-4-O- β -D-glucoside	代谢
13	10.066	393.194 4	181.074 7;169.071 1;	392.186 6	羟基化玉叶金花苷酸	代谢
14	10.649	843.513 7	415.206 2;369.173 0;355.181 7	842.505 9	2'-乙酰毛蕊花糖苷葡萄糖醛结合物	代谢
15	11.266	373.232 0	343.148 2;325.142 9;311.289 0;211.021 3	372.224 2	甲基-O-松柏苷	代谢
16	11.400	757.312 0	607.214 2;479.278 2;455.204 7;423.225 9	756.304 2	去甲基管花肉苁蓉苷B	代谢
17	11.700	711.372 7	639.309 3;607.215 5	710.364 9	Methylation Kankanoside J	代谢
18	12.700	727.868 4	625.273 6;455.205 7	726.860 6	Methyl-O-Kankanoside	代谢
19	12.900	777.238 9	607.218 5;455.205 3	776.231 1	Kankanoside J sulfuric acid conjugate	代谢
20	13.167	407.207 7	375.215 9;347.204 2;331.236 0;181.123 6	406.199 9	甲基-O-玉叶金花苷酸	代谢
21	13.284	451.216 0	293.229 9;233.149 1;215.143 6;203.129 8	450.208 2	芥子醛葡萄糖苷硫酸结合物	代谢
22	13.334	739.356 4	639.308 9;607.218 6;533.319 3;455.205 7	738.348 6	Acetylated Kankanoside J	代谢
23	13.717	335.223 6	317.223 8;235.145 4;173.134 2	334.215 8	Demethyl Kankanoside E	代谢
24	13.917	713.094 2	533.321 1;479.279 5;455.205 6	712.086 4	Hydroxylated Kankanoside J	代谢
25	14.134	639.647 9	497.273 6;351.216 0	638.640 1	甲基化毛蕊花糖苷	代谢
26	14.434	847.477 8	649.340 7;533.322 0;465.281 7;455.206 6	846.470 0	Methyl-O-Kankanoside K	代谢
27	14.467	349.239 3	331.114 5;317.096 6	348.231 5	Kankanoside L	原型
28	14.817	705.333 6	465.282 8;447.215 2;433.222 9;415.211 9	704.325 8	毛蕊花糖苷硫酸结合物	代谢
29	16.401	681.517 3	557.182 9;465.285 9	680.509 5	甲基化2'-乙酰毛蕊花糖苷	代谢
30	17.302	553.022 7	523.290 1;329.793 7	552.014 9	玉叶金花苷葡萄糖醛结合物	代谢
31	17.368	385.218 6	223.141 8;133.084 8	384.210 8	甲基化芥子醛葡萄糖苷	代谢
32	17.402	385.213 7	353.231 7;335.222 0;293.110 4	384.205 9	Methyl-O-dehydrodicoumaroyl alcohol-4-O- β -D-glucoside	代谢
33	17.852	813.325 9	499.293 4;481.289 6;455.208 1	812.318 1	乙酰化管花肉苁蓉苷B	代谢
34	17.935	667.306 1	595.348 3;481.285 8	666.298 3	乙酰化毛蕊花糖苷	代谢
35	18.585	683.356 7	537.272 5;481.278 4;463.268 6;411.243 3	682.348 9	羟基化2'-乙酰毛蕊花糖苷	代谢
36	18.635	683.358 1	581.696 1;499.282 7;481.273 1;455.195 3	682.350 3	Demethyl Kankanoside J	代谢
37	18.786	641.300 9	451.250 8;369.158 2;315.109 4	640.293 1	羟基化毛蕊花糖苷	代谢
38	19.336	787.400 6	581.704 0;557.179 2;515.291 7;465.288 7	786.392 8	羟基化管花肉苁蓉苷B	代谢
39	20.053	801.135 7	769.393 7;499.292 8;455.207 3	800.127 9	甲基-O-管花肉苁蓉苷B	代谢
40	20.086	801.336 2	575.258 9;465.277 0;433.937 3	800.328 4	毛蕊花糖苷葡萄糖醛结合物	代谢

注:因有些化合物只存在英文名称,故以英文表述

Note: Because some compounds only have English names, they are expressed in English

m/z 357.214 8 为 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 峰, m/z 311.977 6 为 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCOOH}]^-$ 峰, m/z 149.995 8 为 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{HCOOH}]^-$ 峰,推测其为去羟基京尼平苷酸;16号峰($t_R=7.803 \text{ min}$) 分子量为 388.122 1, m/z 387.114 3 为 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 峰, m/z 319.541 3 为 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{OH}-2\text{H}_2\text{O}]^-$ 峰, m/z 301.728 0 为 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{OH}-3\text{H}_2\text{O}]^-$ 峰,推测其为甲基化京尼平苷酸; 21号峰($t_R=8.153 \text{ min}$)分子量为 388.1224, m/z 387.114 6 为 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 峰, m/z 323.702 8 为 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_3\text{OH}]^-$ 峰, m/z 293.839 4 为 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{O}]^-$ 峰, m/z 263.477 2 为 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_3\text{OH}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^-$ 峰, m/z 159.166 4 为 $[\text{M}-\text{H}-$

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{CH}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 峰,推测其为羟基化丁香苷。

2.9 人工肠液中各化合物的代谢途径

肉苁蓉总苷在人工肠液中成分分析共推测出 86 个代谢物,根据总苷代谢相关文献^[14-15]推测其代谢途径主要有甲基化、去甲基化、羟基化、去羟基化、甲氧基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。表明肉苁蓉总苷在人工肠液中主要是以代谢物的形式存在。人工肠液中代谢产物的典型代谢途径见图 6。

3 讨论

目前大多数药物都为口服给药,胃、肠道是口服给

表4 负离子模式下肉苁蓉总苷在人工肠液中代谢的化合物信息

Tab 4 Identification of chemical composition of the peaks in the artificial intestinal fluid under negative ion mode

峰号	t_R, min	负离子质谱信息, m/z		分子量	化合物推测	原型/代谢
		一级碎片	二级碎片			
1	1.567	341.102 0	279.688 1; 261.051 1; 237.411 5	342.109 8	乙酰化红景天苷	代谢
2	1.834	431.140 0	279.663 8; 243.083 3; 187.886 1; 155.037 8	432.147 8	去甲基肉苁蓉苷G	代谢
3	1.951	579.204 2	529.712 4; 471.026 4; 359.045 9	580.212 0	Methyl- <i>O</i> -eucommin A	代谢
4	2.101	611.292 6	401.524 1; 321.851 7	612.300 4	羟基化丁香脂素- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	代谢
5	2.384	675.347 3	577.566 9; 505.427 1	676.355 1	丁香脂素- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷硫酸结合物	代谢
6	2.468	523.049 1	385.045 9; 347.800 0	524.056 9	Kankanoside L glucuronic acid conjugate	代谢
7	3.568	379.083 7	343.593 7; 331.309 4; 263.064 6; 129.197 5	380.091 5	红景天苷硫酸结合物	代谢
8	3.935	455.101 3	455.101 3; 355.718 1; 337.280 8	456.109 1	乙酰化薯蓣皂苷元	代谢
9	4.102	455.102 1	455.102 1; 423.830 5; 409.794 4; 149.415 6	456.109 9	8-表马钱酸硫酸结合物	代谢
10	5.085	507.265 1	471.787 0; 415.678 1; 187.119 5; 171.453 7	508.272 9	羟基化肉苁蓉苷E	代谢
11	5.435	357.215 3	265.958 9; 119.729 3	358.223 1	半乳糖醇葡萄糖醛酸结合物	代谢
12	5.552	357.214 8	311.977 6; 149.995 8	358.222 6	去羟基京尼平苷酸	代谢
13	5.735	471.171 8	423.621 6; 127.803 7	472.179 6	去羟基肉苁蓉苷F	代谢
14	6.702	377.085 2	285.909 7; 215.578 1; 139.787 2	378.093 0	Methyl- <i>O</i> -Kankanoside E	代谢
15	7.736	695.371 5	637.770 5; 573.319 1; 489.998 1; 445.612 1	696.379 3	甲基- <i>O</i> -管花苷B	代谢
16	7.803	387.114 3	319.541 3; 301.728 0	388.122 1	甲基化京尼平苷酸	代谢
17	7.869	387.114 9	295.868 4; 179.603 1	388.122 7	乙酰化6-去氧梓醇	代谢
18	7.936	387.114 7	355.894 2; 295.145 7; 189.759 8	388.122 5	Acetylation(2 <i>E</i> , 6 <i>Z</i>)-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy-2, 6-dimethyl-2, 6-octadienoic acid	代谢
19	7.986	387.114 2	249.981 1; 225.091 9	388.122 0	Acetylated Kankanoside A	代谢
20	8.086	387.114 4	225.672 4; 135.202 4	388.122 2	京尼平苷	原型
21	8.153	387.114 6	323.702 8; 293.839 4; 263.477 2; 159.166 4	388.122 4	羟基化丁香苷	代谢
22	8.570	477.235 7	417.027 0; 317.623 8; 189.220 7	478.243 5	羟基化去咖啡酰基毛蕊花糖苷	代谢
23	8.653	477.234 4	327.875 3; 285.366 4; 217.185 5	478.242 2	去甲基肉苁蓉苷E	代谢
24	11.004	841.498 6	633.489 2; 477.422 4	842.506 4	管花苷B葡萄糖醛酸结合物	代谢
25	11.137	417.197 5	387.585 8; 345.976 5; 311.481 6; 255.590 8	418.205 3	乙酰化8-表马钱酸	代谢
26	11.204	833.394 6	607.097 3; 591.225 9; 577.587 1	834.402 4	Kankanoside I sulfuric acid conjugate	代谢
27	11.237	417.197 2	309.108 0; 297.993 2	418.205 0	甲基- <i>O</i> -京尼平苷	代谢
28	11.454	487.305 4	455.205 1; 413.286 7; 383.127 3; 299.726 7	488.313 2	乙酰化肉苁蓉苷G	代谢
29	11.887	359.172 2	295.310 7; 179.579 8	360.180 0	Methylation(2 <i>E</i> , 6 <i>Z</i>)-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy-2, 6-dimethyl-2, 6-octadienoic acid	代谢
30	12.054	461.223 1	351.022 3; 269.378 8; 189.834 4	462.230 9	羟基化肉苁蓉苷G	代谢
31	12.238	429.195 2	399.292 8; 309.148 5	430.203 0	羟基化薯蓣皂苷元	代谢
32	12.354	429.195 8	367.200 5; 265.719 5; 189.133 8	430.203 6	乙酰化京尼平苷	代谢
33	13.288	541.212 9	367.294 0; 315.903 0; 315.903 0	542.220 7	去咖啡酰基毛蕊花糖苷硫酸结合物	代谢
34	13.538	329.233 9	251.994 6; 157.457 2; 143.275 2	330.241 7	甲基- <i>O</i> -红景天苷	代谢
35	13.621	329.232 8	253.175 2; 167.025 5; 133.300 2	330.240 6	去羟基6-去氧梓醇	代谢
36	13.788	329.233 5	311.193 7; 293.335 2	330.241 3	Kankanoside M	原型
37	14.088	329.233 2	311.613 6; 293.297 9; 251.254 7; 233.315 3	330.241 0	巴尔蒂苷	原型
38	14.388	651.232 2	593.048 3; 513.012 1; 497.021 8; 441.266 5	652.240 0	去甲基管花苷B	代谢
39	14.488	729.471 9	649.972 1; 437.320 2; 421.827 5	730.479 7	Kankanose sulfuric acid conjugate	代谢
40	14.522	503.269 7	485.937 9; 429.512 6	504.277 5	乙酰化去咖啡酰基毛蕊花糖苷	代谢
41	15.372	739.365 7	569.148 9; 509.782 6; 395.594 9	740.373 5	Demethyl Kankanoside I	代谢
42	16.489	725.508 6	693.131 6; 425.470 5	726.516 4	Eucommin A glucuronic acid conjugate	代谢
43	17.289	491.284 2	345.903 8; 307.480 0; 289.859 5; 265.909 3	492.292 0	甲基- <i>O</i> -去咖啡酰基毛蕊花糖苷	代谢
44	17.539	343.212 3	261.816 4; 249.623 9; 181.646 0	344.220 1	Methylation Kankanoside M	代谢
45	17.573	343.212 5	325.997 3; 279.346 1; 151.330 4; 133.165 1	344.220 3	甲基化巴尔蒂苷	代谢
46	17.923	405.195 2	345.077 0; 325.519 8; 167.549 1	406.203 0	甲基- <i>O</i> -8-表马钱酸	代谢
47	18.156	427.180 8	365.371 1; 315.011 6; 297.786 4	428.188 6	Kankanoside L sulfuric acid conjugate	代谢
48	18.239	445.234 1	253.734 8; 161.156 2; 115.265 5	446.241 9	去羟基去咖啡酰基毛蕊花糖苷	代谢
49	18.323	345.225 7	297.784 0; 281.268 8	346.233 5	Hydroxylated Kankanoside M	代谢
50	18.706	835.376 5	773.015 6; 691.157 1; 545.111 3	836.384 3	三糖苯丙素苷硫酸结合物	代谢

注:因有些化合物只存在英文名称,故以英文表述

Note: Because some compounds only have English names, they are expressed in English

药的必经之路,胃、肠道内的酸碱性以及存在的大量肠道菌群和某些代谢酶,对中药的化学成分有生物转化功能,使某些化学成分的结构发生改变。因此,为了使中药药效发挥增效减毒的作用,中药化学成分的胃、肠道

代谢研究必不可少^[2,19-20]。

体外试验法是研究药物在胃、肠内代谢的主要方法,可以排除体内的干扰因素,更好地控制某些代谢条件,且简单易行^[2,19-20],缺点是不能完全模拟体内环境以

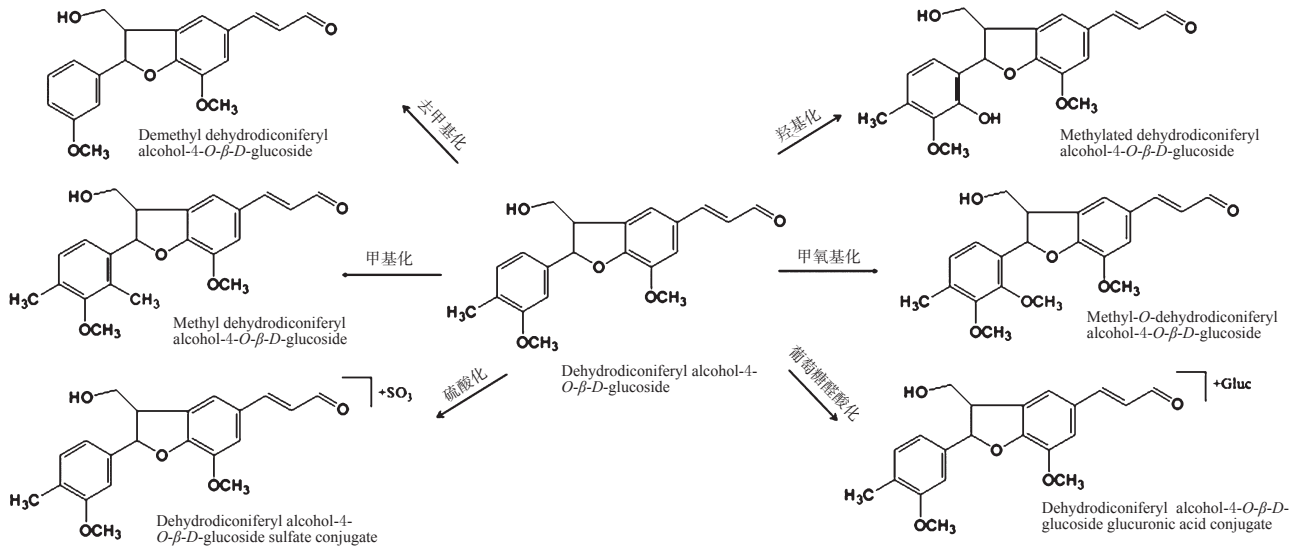


图6 人工肠液中代谢产物的典型代谢途径

Fig 6 Typical metabolic pathway of metabolites in artificial intestinal fluid

全方位地反映药物在体内的代谢情况,不太全面,与实际可能会有所差异。本试验通过采用UPLC/Q-TOF-MS技术对肉苁蓉总苷在人工胃液及肠液中成分进行分析,在人工胃液中,共推测出69个成分,其中14个原型成分(如芥子醛葡萄糖苷、Kankanoside J等)、55个代谢成分(如Methyl-O-Kankanoside J、Methyl-O-Kankanoside E等),推测其代谢途径有甲基化、去甲基化、羟甲基化、甲氧基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。在人工肠液中,共推测出90个成分,其中4个原型成分(如Kankanoside M、Kankanoside L等)、86个代谢成分(如Methyl-O-Kankanoside、Methyl-O-Kankanoside E等),推测其代谢途径有甲基化、去甲基化、羟甲基化、去羟甲基化、甲氧基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸化,进而推测肉苁蓉总苷经胃肠代谢的质变规律,为阐明肉苁蓉总苷的体内代谢过程,进一步揭示肉苁蓉总苷在体内的直接作用物质及其作用过程提供参考,也为深入研究肉苁蓉拟雌激素作用的药效物质基础及新药研发提供依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:135-136.
 [2] 彭颖,李琦,李晓波. 肉苁蓉的抗抑郁活性及体内外代谢[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2018,20(8):1351-1356.
 [3] 陈飞,陈卓,邢雪飞,等. 肉苁蓉的研究进展[J]. 药物评价研究,2013,36(6):469-475.
 [4] TIAN S, MIAO M, BAI M, et al. Phenylethanoid glycosides of Cistanche on menopausal syndrome model in mice[J]. *Saudi Pharm J*, 2017, 25(4):537-547.
 [5] 刘文静,刘瑶,宋青青,等. 利用¹H-NMR比较管花肉苁蓉野生品和栽培品的化学成分组[J]. 中国中药杂志,2018,43(17):3506-3512.
 [6] YANG FR, WEN DS, FANG BW, et al. Prevention of Cistanche salsa extract on hepatic fibrosis induced by carbon

tetrachloride in rats[J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(3):199-204.

[7] 王力伟,曹瑞,房永雨,等. UPLC-QQQMS法测定肉苁蓉中有效成分的含量[J]. 中药材,2017,40(2):295-300.
 [8] 刘文静,曹妍,宋青青,等. 荒漠肉苁蓉花及木质化茎的化学成分定性分析[J]. 中国中药杂志,2018,43(18):3708-3714.
 [9] 王力伟. 肉苁蓉成分的分离鉴定、定量分析及生物活性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2016.
 [10] 王金芳. 肉苁蓉不同部位苯乙醇苷类成分的定性定量研究[D]. 北京:北京协和医学院,2014.
 [11] 覃夏岚. 肉苁蓉增力有效成分及其相互作用初步研究[D]. 北京:北京中医药大学,2018.
 [12] 朱芳菲. 肉苁蓉总苷提取纯化工艺及成分分析[D]. 哈尔滨:哈尔滨商业大学,2016.
 [13] 张继远,刘晓谦,杨立新,等. 常山碱稳定性及其降解动力学研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(16):3178-3184.
 [14] 黄婧嫣. 毛蕊花糖苷的大鼠体内分布和体内外代谢研究[D]. 南昌:南昌大学,2016.
 [15] 钱浩,杨振亚,刘丹丹,等. 人肠道菌群对松果菊苷体外代谢转化的研究[J]. 华西药学杂志,2017,32(6):641-643.
 [16] 邢冷. 肉苁蓉总苷指纹图谱的建立及拟雌激素活性研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨商业大学,2017.
 [17] 潘英妮. 管花肉苁蓉鲜品化学成分及生物活性的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2011.
 [18] LI WL, DING JX, LIU BM, et al. Phytochemical screening and estrogenic activity of total glycosides of *Cistanche deserticola*[J]. *Open Chemistry*, 2019, 17(1):279-287.
 [19] 高佳雪,丁晶鑫,王靖雅,等. 中药化学成分肠道代谢的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2018,34(1):20-23.
 [20] 王娟娟,冯芳. 中药体内代谢研究方法与技术[J]. 广州化工,2016,44(11):1-2.

(收稿日期:2019-08-02 修回日期:2019-11-09)

(编辑:唐晓莲)