

# UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 鉴定茵陈五苓散的化学成分与小鼠灌胃后的吸收成分

林圣<sup>1</sup>, 付国胜<sup>2</sup>, 张瑛<sup>3</sup>, 李荣胜<sup>2</sup>, 张定棋<sup>2</sup>, 付亚东<sup>1</sup>, 汪子康<sup>2</sup>, 王浩文<sup>2</sup>, 刘伟<sup>2</sup>, 徐莹<sup>1\*</sup>

(1. 上海中医药大学中医学院, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属曙光医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 肝病研究所, 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海 201203; 3. 上海市浦东新区北蔡社区卫生服务中心, 上海 201204)

**[摘要]** 目的:采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)快速鉴定茵陈五苓散的化学成分及小鼠血清和组织中的吸收成分。方法:取健康雄性 C57/BL6J 小鼠( $n=12$ ),空白组( $n=3$ )灌胃纯化水,给药组( $n=9$ )按  $10.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  灌胃茵陈五苓散提取液,分别在给药后 0.5、1.5、3 h 各处理 3 只,收集血清和肺、心、脾、肝、肾、回肠组织样本。质谱采集数据后,综合离子峰相对保留时间、精确相对分子量等信息, Xcalibur 4.2 软件拟合组成元素。通过对照品、文献及数据库提供的二级质谱裂解碎片信息比对,实现对茵陈五苓散化学成分及入血、各组织原型移行成分的鉴定。结果:从茵陈五苓散中共鉴定出 208 种化学成分,包括萜类 107 种、黄酮类 41 种、有机酸类 23 种、其他类 11 种、甾体类 10 种、香豆素 10 种、生物碱类及蒽醌类各 3 种。小鼠灌胃茵陈五苓散后,分别在血清 0.5、1.5、3 h,肺、心、肝、脾、肾及回肠中鉴定出 48、43、40、56、32、45、56、50、59 种原型成分。其中泽泻醇 A、茵陈蒿酸 A、泽泻醇 J-23-乙酸酯、4-酮基-白术内酯 III、 $13\beta$ 、 $17\beta$ -环氧泽泻醇 B、红花黄色素 A、猪苓酮 A、猪苓酮 B 等 20 个成分在血清和各组织中均有暴露,可能为潜在药效物质基础。结论:该研究可明确茵陈五苓散物质基础以萜类、黄酮类及有机酸类成分为主,为后续药效物质在血清及组织中的药代动力学研究提供参考。

**[关键词]** 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS); 茵陈五苓散; 化学成分; 入血成分; 组织分布; 经典名方

[中图分类号] R242;R969.1;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)12-0250-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260362

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260326.1924.003>

[网络出版日期] 2026-03-27 12:25:30 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



## Identification of Chemical Components of Yinchen Wulingsan and Their Absorption Profiles Following Oral Administration in Mice by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

LIN Sheng<sup>1</sup>, FU Guosheng<sup>2</sup>, ZHANG Ying<sup>3</sup>, LI Rongsheng<sup>2</sup>, ZHANG Dingqi<sup>2</sup>, FU Yadong<sup>1</sup>,  
WANG Zikang<sup>2</sup>, WANG Haowen<sup>2</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, XU Ying<sup>1\*</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China;  
2. Grade Three Laboratory of TCM Preparations of National Administration of TCM, Institute of Liver Diseases, Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, Ministry of Education, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China;  
3. Beicai Community Health Service Center of Pudong New Area, Shanghai 201204, China)

**[Abstract]** **Objective:** To rapidly identify the chemical constituents of Yinchen Wulingsan and its absorbed components in the serum and tissues of mice by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass

[收稿日期] 2025-12-25

[基金项目] 上海市卫生健康委员会中医药科研项目(2024QN084);重大疑难疾病中西医协作项目(ZDYN-2024-A-075);上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划项目[ZY(2025-2027)-3-1-1]

[第一作者] 林圣,在读硕士,从事中医药防治慢性肝病研究,E-mail:kkllili93@163.com

[通信作者] \*徐莹,博士,副教授,从事中医药防治慢性肝病研究,E-mail:xuying\_doctor@shutcm.edu.cn

spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS). **Methods:** Healthy male C57/BL6J mice ( $n=12$ ) were divided into the blank group ( $n=3$ ) and treatment group ( $n=9$ ). The blank group received purified water via intragastric administration, while the treatment group was given Yinchen Wulingsan extract at a dose of  $10.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  via intragastric administration. At 0.5, 1.5, 3 h post-administration, 3 mice from the treatment group were processed at each time point. Serum and tissue samples from the lung, heart, spleen, liver, kidney, and ileum were collected. Following MS data acquisition, the relative retention time of ion peaks and accurate relative molecular mass were integrated, and elemental compositions were fitted using Xcalibur 4.2 software. The chemical constituents of Yinchen Wulingsan, as well as the prototype compounds absorbed into the blood and distributed in various tissues, were identified by comparing secondary MS fragmentation information with reference substances, literature, and database entries. **Results:** A total of 208 chemical constituents were identified from Yinchen Wulingsan, including 107 terpenoids, 41 flavonoids, 23 organic acids, 11 compounds of other categories, 10 steroids, 10 coumarins, and 3 compounds each of alkaloids and anthraquinones. At 0.5, 1.5, 3 h after intragastric administration of Yinchen Wulingsan to mice, 48, 43, 40 prototype components were detected in the serum, respectively. Additionally, 56, 32, 45, 56, 50, 59 prototype components were identified in the lung, heart, liver, spleen, kidney, and ileum, respectively. Among these, twenty components such as alisol A, capillartemisin A and alisol J-23-acetate were detected in both the serum and all examined tissues, suggesting they may serve as the potential active constituents. **Conclusion:** This study identifies terpenoids, flavonoids, and organic acids as the main constituents of Yinchen Wulingsan, providing a reference for subsequent pharmacokinetic studies of these bioactive components in serum and tissues.

**[Keywords]** ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS); Yinchen Wulingsan; chemical constituents; constituents absorbed into serum; tissue distribution; famous classical formulas

茵陈五苓散为清热利湿退黄的经典方剂,在《金匮要略·黄疸病脉证并治第十五》<sup>[1]</sup>中记载茵陈蒿与五苓散比例为2:1,专为治疗湿重于热型黄疸而设,若将两者用量颠倒则可用于寒湿发黄轻证<sup>[2-3]</sup>。现代研究表明,该方剂含有黄酮类、萜类、有机酸类等多种活性成分,具有保肝、利胆、抗炎、调节代谢等多重药理作用<sup>[4-7]</sup>。在继承传统治疗黄疸与水肿的基础上,其现代临床应用已扩展至代谢性疾病领域<sup>[8-9]</sup>,成为治疗非酒精性脂肪肝、高脂血症、糖尿病等以“水湿内停、湿重于热”为核心病机的多种代谢性疾病的常用方剂。

目前,茵陈五苓散的研究多集中于临床疗效与药理机制。在成分分析方面,则主要聚焦于单味药材中黄酮类(如槲皮素、木犀草素),萜类(如泽泻醇、白术内酯)及有机酸类(如绿原酸、桂皮酸)等指标成分的含量测定<sup>[10-11]</sup>。然而,对该方剂整体物质基础及其体内吸收过程的认识仍不全面,这限制了其临床应用的精准化和现代化发展,因此有必要对该方所含的化学成分进行系统的分析鉴定。超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用法(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)是当前中药及复方化学成分分析的常用手段,具有高分离度、高灵敏度和高准确度等优势,该技术已成功应用于多种中药复方的化学成分及组织分布的成分鉴定<sup>[12]</sup>。因此本实验借助该技术全面解析了茵陈五苓散的化学成分谱,并精确鉴定小鼠灌胃后的吸收成分,为后续该方的质量标准建立及有效成分药代动力学研究提供参考。

## 1 材料

**1.1 仪器** Dionex Ultimate 3000型高压液相色谱仪、Q-Exactive型四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),Milli-Q型超纯水处理系统(美国Millipore公司),BP211D型十万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司),Eppendorf型离心浓缩仪(德国艾本德公司)。

**1.2 药物与试剂** 茵陈蒿(产地陕西省咸阳市,批号241106)、猪苓(产地陕西省汉中市,批号240829)、泽泻(产地四川省乐山市,批号241019)、茯苓(产地安徽省安庆市,批号241205)、桂枝(产地广西玉林市,批号241230)、白术(产地安徽省亳州市,批号250125)等饮片均购自上海康桥药业有限公司,经上海中医药大学附属曙光医院药学部刘伟研究员根据2025年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)一部收载的质量要求,均检验合格。对照品奎宁酸(批号ST15980120)、琥珀酸(批号ST10150120)、(E)-肉桂酸(批号RS04321120)、原儿茶酸(批号RS04101120)、新绿原酸(批号RS06231020)、原儿茶醛(批号RS03301120)、秦皮乙素(批号RS00101120)、绿原酸(批号RS02151120)、3-O-阿魏酰奎尼酸(批号STG4560110)、苍术苷A(批号ST21130120)、隐绿原酸(批号RS07851020)、异绿原酸A(批号STC0680120)、伞形花内酯(批号RS07331120)、5-O-阿魏酰奎尼酸(批号STG4570110)、4-O-阿魏酰奎尼酸(批号STC0880120)、东莨菪内酯(批号RS01531120)、桂皮醛(批号RS01701181)、阿魏酸(批号RS04371120)、

木犀草苷(批号RS00331120)、表儿茶素(批号RS01191120)、金丝桃苷(批号RS00881120)、牡荆素(批号RS00341120)、芫花素(批号RS04151120)、滨蒿内酯(批号RS01051120)、异槲皮苷(批号RS11441120)、异牡荆素(批号RS09651020)、槲皮素-3-*O*-洋槐糖苷(批号STK0230210)、异绿原酸B(批号RS06591020)、槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷(批号RS15601020)、芦丁(批号RS03951120)、槲皮苷(批号RS01811120)、紫云英苷(批号RS07311020)、异绿原酸C(批号RS06601020)、异鼠李素(批号RS03201120)、苍术酮(批号ST22220120)、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷(批号RS16271010)、异鼠李素-3-*O*-刺槐二糖苷(批号STG3300105)、木犀草素(批号RS00071120)、水仙苷(批号RS10941120)、槲皮素(批号RS00231120)、柚皮素(批号RS00221020)、山柰酚(批号RS00451120)、肉桂醇(批号RS06991020)、芹菜素(批号RS00411120)、Polyporoid C(批号STE1400305)、猪苓酮B(批号RSZ0181020)、甲基条叶蓟素(批号STG2720105)、猪苓酮A(批号RSZ0151010)、异泽兰黄素(批号RS07321020)、猪苓酮C(批号STF0360105)、蓟黄素(批号STC9350105)、大黄酚(批号RS01391120)、白术内酯I(批号RS07071120)、白术内酯III(批号RS07081120)、大黄素甲醚(批号RS01411120)、白术内酯II(批号RS07061120)、白术内酯IV(批号STQ6160210)、23-乙酰泽泻醇C(批号RS14521120)、24-乙酰泽泻醇F(批号ST14550105)、大黄素(批号RS01401120)、茯苓酸A(批号RS20541020)、茯苓新酸AM(批号STC7690110)、泽泻醇B(批号ST14490120)、茯苓酸B(批号RS20551020)、双白术内酯(批号STG5360110)、23-乙酰泽泻醇B(批号RS11401120)、猪苓酸C(批号RS20171020)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司,纯度均 $\geq 98\%$ 。甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯,实验用水为超纯水。

**1.3 动物** 10周龄健康雄性C57/BL6J小鼠12只,由上海必凯科翼生物科技有限公司提供,体质量18~20 g,合格证号SCXK(沪)2023-0009,使用许可证号SYXK(沪)2025-0008。饲养于温度22~27℃,相对湿度40%~70%,光照12 h的上海中医药大学动物房。

**1.4 伦理** 本实验流程均符合上海中医药大学实验动物管理委员会对实验动物保护相关要求,伦理批准号PZSHUTCM220711030。

## 2 方法

**2.1 检测条件** 使用ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),色谱条件为流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>,柱温45℃,进样量3 μL,以0.1%甲酸水溶液(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~2 min, 4%B; 2~6 min, 4%~12%B; 6~38 min, 12%~70%B; 38~38.5 min, 70%B; 38.5~39 min, 70%~95%B; 39~43 min, 95%~4%B; 43~45 min, 4%B)。质谱条件为加热电喷雾离子源(H-ESI),辅助气(N<sub>2</sub>)流量13 arb,辅助加热器和离子传输管温度分别为300、320℃,自动增益控制(AGC)1×10<sup>6</sup>,射频水平(S-lens)50。正负离子模式扫描,鞘气(N<sub>2</sub>)流量35 arb,正负离子模式喷雾电压分别为3.5 kV和-2.5 kV,碰撞能梯度10、20、40 eV,扫描范围均 $m/z$  80~1 200,扫描方式采用一级质谱全扫描和数据依赖的二级质谱全扫描(Full MS/dd-MS<sup>2</sup>)模式,一级全扫描分辨率为70 000,二级扫描分辨率为17 500。

### 2.2 样品制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取各对照品约10.00 mg于25 mL量瓶中,精密加入甲醇溶解为0.40 g·L<sup>-1</sup>的单一对照品储备液。精密量取储备液,加20%甲醇水溶液稀释为约1.00 mg·L<sup>-1</sup>的混合溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 本实验中茵陈五苓散药物处方配比,遵循原方茵陈蒿-五苓散的核心配比关系,以《金匮要略·黄疸病脉证并治第十五》记载“茵陈蒿末十分五苓散五分”为依据,茵陈蒿与五苓散两者比例为2:1。五苓散药味剂量遵循《伤寒论》记载:“猪苓十八铢、泽泻一两六铢、茯苓十八铢、白术十八铢、桂枝半两”,五苓散中药物比例为猪苓-泽泻-茯苓-白术-桂枝3:5:3:3:2。称取茵陈蒿230 g,五苓散(猪苓21.5 g、泽泻36.0 g、茯苓21.5 g、白术21.5 g、桂枝14.5 g)115 g,以上饮片共345 g,加饮用水10倍量,浸泡45 min后,加热至98℃,煎煮60 min,纱布过滤;滤渣加饮用水8倍量,煎煮45 min,纱布过滤,合并2次煎煮液,在50℃下减压浓缩至相对密度为1 050 g·L<sup>-1</sup>,转入冷冻干燥,得到冻干粉59.7 g,得率为17.3%。取2 g,精密称定,置50 mL量瓶中,加水50 mL,超声处理(功率300 W,频率53 kHz)45 min放冷,摇匀,滤过,过0.22 μm滤膜,用于质谱分析。

**2.2.3 分组及血清、组织样本的收集** 12只雄性C57/BL6J小鼠,适应性饲养1 d。以给药后0.5、1.5、3 h及空白对照处理随机分为4组( $n=3$ ),空白组给予等体积超纯水,给药组按10.28 g·kg<sup>-1</sup>灌胃865 g·L<sup>-1</sup>

(生药)提取物(小鼠给药剂量按体表面积法由人体等效剂量换算,换算系数为12.3)。空白组小鼠在灌胃纯水后1.5 h处理,给药组分别在给药后0.5、1.5、3 h各处理3只,3%戊巴比妥钠麻醉后摘眼球取血至1.5 mL离心管,静置4 h,在5 000 r·min<sup>-1</sup>(4 °C,离心15 min,离心半径8.6 cm,下同),获得血清,收集肺、心、肝、脾、肾及回肠,用0.9%生理盐水清洗表面残留血,滤纸吸干,置-80 °C保存待用。

**2.2.4 血清及组织样品前处理** 将3只小鼠的空白血清样本合并,给药组含药血清按相同的取样时间点归类合并,即得空白血清和不同时间茵陈五苓散含药血清样本。分别取100 μL,加入甲醇500 μL沉淀蛋白,14 800 r·min<sup>-1</sup>离心,取上清液480 μL至1.5 mL离心管,离心浓缩仪浓缩至干(45 °C),加20%甲醇水溶液80 μL复溶,14 800 r·min<sup>-1</sup>离心,取上清液即得血清供试品溶液。将3只空白组小鼠各组织合并,将3个时间点含药组相同组织合并,即得空白组织和含药组织(肺、心、肝、脾、肾及回肠),分别精密称取各组织100 mg,加入甲醇1 mL,加入3颗钢珠匀浆(60 Hz, 60 s),14 800 r·min<sup>-1</sup>离心,取上清液960 μL至1.5 mL离心管中,离心浓缩仪浓缩至干(45 °C),加20%甲醇水溶液160 μL复溶,14 800 r·min<sup>-1</sup>离心,取上清液即得空白组和含药组各组织供试品溶液。

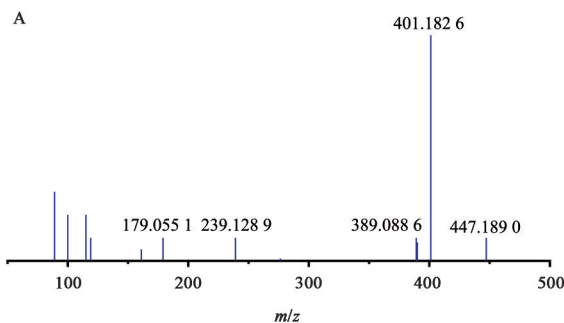
**2.3 检测与分析** 按2.1项下检测条件分别进样对照品混合溶液、茵陈五苓散供试品溶液及小鼠血清、肺、心、肝、脾、肾及回肠组织供试品溶液进行数据采集分析。依据质谱提供的碎片离子信息,一级质谱下提取到准分子离子峰,经Xcalibur 4.2软件在允许误差(1×10<sup>-6</sup>)范围内拟合出可能的元素组成,再结合对

照品、文献报道<sup>[13-15]</sup>及MassBank等数据库提供的二级质谱碎片离子信息比对,进一步鉴定出茵陈五苓散所含化学成分。

### 3 结果

**3.1 茵陈五苓散中化学成分鉴定** 在正、负离子同时扫描模式下从茵陈五苓散中共鉴定208种化学成分,包括萜类107种、黄酮类41种、有机酸类23种、其他类11种、甾体类10种、香豆素10种、生物碱类及蒽醌类各3种。其中67种化学成分经对照品比对确证,茵陈五苓散提取液正、负离子模式总离子流图(TIC)与鉴定结果见增强出版附加材料。

**3.2 萜类成分的质谱裂解表征** 本实验从茵陈五苓散中鉴定出萜类成分107种,主要来源于泽泻、白术、茯苓及猪苓。萜类化合物因其特殊的母核结构在质谱行为易丢失侧链上含的甲基、羟基、糖苷等基团<sup>[15]</sup>。为了进一步证实鉴定化合物的准确性、合理性,选取白术和茯苓药材中的特征化合物**17**和**196**探究其裂解规律。化合物**17**在负离子模式下提取到准分子离子  $m/z$  447.225 1 [M-H]<sup>-</sup>,经拟合元素组成为C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub>,二级质谱中该化合物可能存在2条路径裂解,首先连续丢掉中性碎片,产生  $m/z$  401.182 6[M-H-CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$  179.055 1[M-H-CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>或  $m/z$  179.055 1[M-H-CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>特征碎片离子。其次准分子离子依次丢失C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>与C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>,产生  $m/z$  389.088 6[M-H-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$  239.128 9[M-H-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>特征离子碎片。根据化合物**17**在一级质谱下的相对保留时间,二级质谱提供的碎片离子、拟合出的元素组成,以及对照品比对,确定为苍术苷A。质谱裂解途径见图1。



注:A.质谱图;B.裂解规律图(图2-图6同)

图1 苍术苷A的质谱裂解途径

Fig. 1 MS cracking pathways of atractyloside A

化合物**196**在负离子模式下提取到准分子离子  $m/z$  497.327 7[M-H]<sup>-</sup>,经拟合元素组成为C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>,二级质谱中该化合物可能存在2条路径裂解,首先该

化合物依次丢失CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>基团,产生  $m/z$  451.170 2[M-H-CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>和  $m/z$  361.200 1[M-H-CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>2个特征离子碎片,其次准分子

离子依次丢失  $C_5H_8$  和  $C_4H_2O_4$ , 产生  $m/z$  429.187 5  $[M-H-C_5H_8]^-$  和  $m/z$  315.193 7  $[M-H-C_5H_8-C_4H_2O_4]^-$  特征离子碎片, 根据化合物 **196** 在一级质谱下的相对保留

时间, 二级质谱提供的碎片离子、拟合出的元素组成与对照品比对, 故鉴定其为茯苓酸 A。质谱裂解途径见图 2。

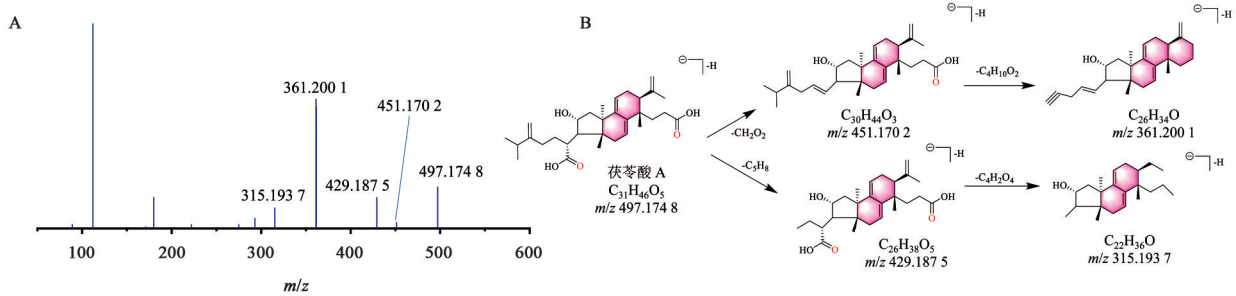


图2 茯苓酸 A 的质谱裂解途径

Fig. 2 MS cracking pathways of poricoic acid A

**3.3 黄酮类成分的质谱裂解表征** 从茵陈五苓散中鉴定出黄酮类成分 41 种, 主要来自茵陈蒿。该类化合物因 C6-C3-C6 的母核结构。在质谱行为中易形成  $m/z$  269  $[M-H]^-$  或  $m/z$  271  $[M+H]^+$  等母核特征碎片离子, 这些特征碎片离子为黄酮类成分的鉴定提供了便捷<sup>[13]</sup>。以化合物 **60** 和 **61** 为例, 阐明黄酮类化合物在质谱中的裂解规律和合理性。化合物 **60** 在负离子模式下提取到准分子离子  $m/z$  477.104 1  $[M-H]^-$ , 经拟

合元素组成为  $C_{22}H_{22}O_{12}$ , 二级质谱中该化合物依次产生  $m/z$  357.061 3  $[M-H-C_3H_4O_5]^-$ 、 $m/z$  315.051 5  $[M-H-C_3H_4O_5-C_3H_6]^-$ 、 $m/z$  300.027 9  $[M-H-C_3H_4O_5-C_3H_6-OH]^-$  和  $m/z$  271.024 2  $[M-H-C_3H_4O_5-C_3H_6-OH-CHO]^-$  4 个特征离子碎片。根据化合物 **60** 在一级质谱下的相对保留时间、二级质谱提供的碎片离子, 拟合出的元素组合, 以及对照物比对, 故鉴定为异鼠李素-3-O-葡萄糖苷。质谱裂解途径见图 3。

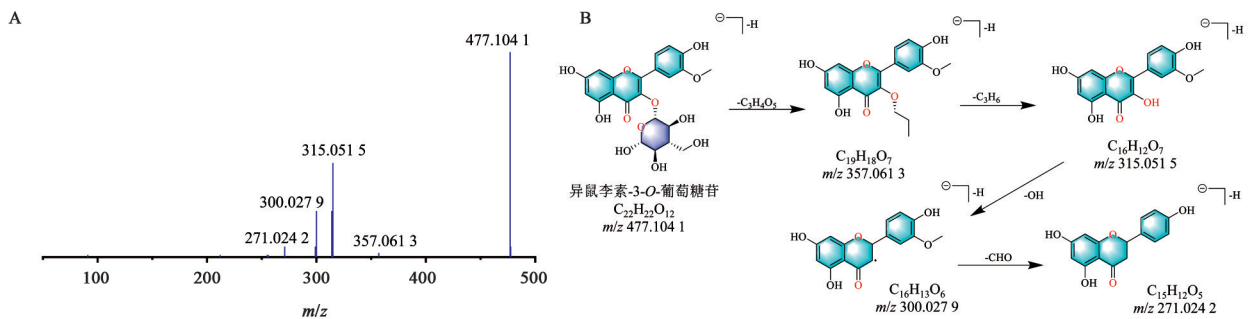


图3 异鼠李素-3-O-葡萄糖苷的质谱裂解途径

Fig. 3 MS cracking pathways of isorhamnetin-3-O-glucoside

化合物 **61** 在负离子模式下提取到准分子离子  $m/z$  623.162 8  $[M-H]^-$ , 经拟合元素组成为  $C_{28}H_{32}O_{16}$ , 二级质谱中该化合物有 1 条裂解途径, 依次产生  $m/z$  314.044 1  $[M-H-C_{12}H_{21}O_9]^-$ 、 $m/z$  299.019 9  $[M-H-C_{12}H_{21}O_9-OH]^-$ 、 $m/z$  271.024 6  $[M-H-C_{12}H_{21}O_9-OH-CO]^-$  及  $m/z$  243.028 7  $[M-H-C_{12}H_{21}O_9-OH-2CO]^-$  4 个特征离子碎片。根据化合物 **61** 在一级质谱下的相对保留时间、二级质谱碎片离子信息, 拟合出的元素组合, 以及对照品比对, 故鉴定为异鼠李素-3-O-刺槐二糖苷。质谱裂解途径见图 4。

**3.4 有机酸类成分的质谱裂解表征** 从茵陈五苓散中共鉴定出 23 种有机酸类成分, 此类化合物不同程度存在于 6 味药材中。为了证实鉴定化合物的准确

性、合理性, 选取化合物 **16** 探究其裂解规律。该化合物在负离子模式下提取到准分子离子  $m/z$  367.104 1  $[M-H]^-$ , 经拟合元素组合为  $C_{17}H_{20}O_9$ , 二级质谱中该化合物存在 1 条裂解途径, 依次丢失  $CO_2$ 、 $C_3H_4O_3$  及  $C_3H_6$  基团, 分别产生  $m/z$  323.026 6  $[M-H-CO_2]^-$ 、 $m/z$  235.118 6  $[M-H-CO_2-C_3H_4O_3]^-$  及  $m/z$  193.049 9  $[M-H-CO_2-C_3H_6O_3-C_3H_6]^-$  3 个特征离子碎片。该化合物裂解规律与 3-O-阿魏酸奎尼酸对照品一致。故鉴定为 3-O-阿魏酸奎尼酸。质谱裂解途径见图 5。

**3.5 其他类成分** 从茵陈五苓散中共鉴定出其他类 11 种, 包括香草酸葡萄糖苷、丁香酸葡萄糖苷、桂皮醛、反式-桂皮醛、苍术烯炔苷 A、肉桂醇、桂皮苷、茵陈炔醇、茵陈二炔、苍术素等成分。甾体类 10 种, 包括

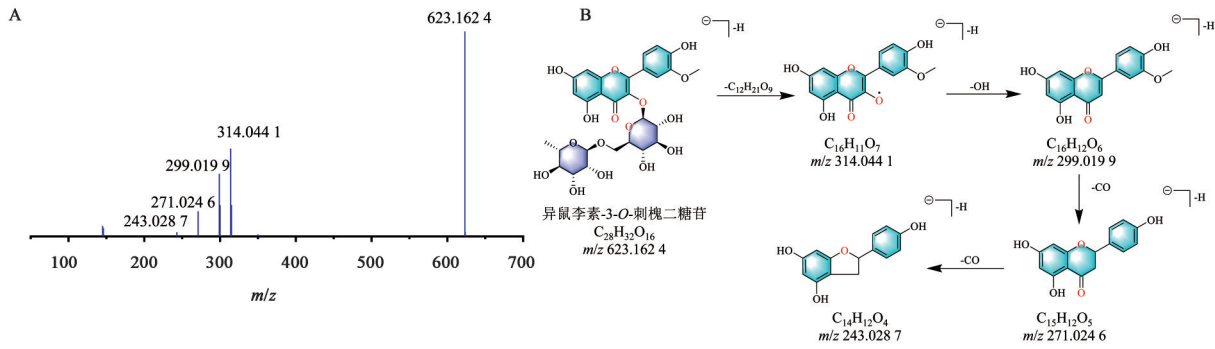


图4 异鼠李素-3-O-刺槐二糖苷的质谱裂解途径  
Fig. 4 MS cracking pathways of isorhamnetin-3-O-robinobioside

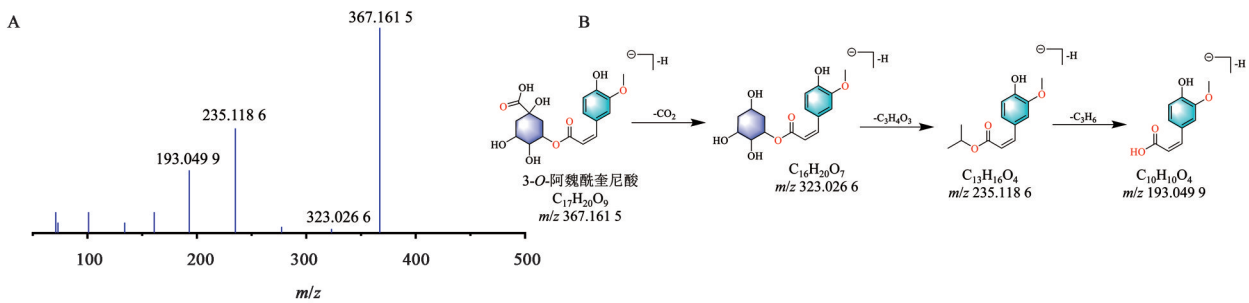


图5 3-O-阿魏酰奎尼酸的质谱裂解途径  
Fig. 5 MS cracking pathways of 3-O-feruloylquinic acid

polyporoid A~polyporoid C、猪苓酮A~猪苓酮F；香豆素10种，包括秦皮乙素、伞形花内酯、东莨菪内酯、滨蒿内酯、脱肠草素、茵陈素。生物碱类及蒽醌类各3种，包括二阿魏酰基-尸胺、*N,N'*-二阿魏酰基-腐胺、白术内酰胺和大黄酚、大黄素甲醚、大黄素。选取猪苓药材中的特征化合物**100**探究其裂解规律。化合物**100**在正离子模式下提取到准分子离子  $m/z$  499.3028  $[M+Na]^+$ ，经拟合元素组成为  $C_{28}H_{44}O_6$ ，

二级质谱中该化合物可能存在1条裂解路径，该离子脱去  $Na^+$  和  $C_6H_{10}O_2$  基团，产生  $m/z$  362.1615  $[M+H-Na-C_6H_{10}O_2]^+$  特征碎片离子，继续脱去  $C_5H_{12}O_4$  基团，产生  $m/z$  226.9509  $[M+H-Na-C_6H_{10}O_2-C_5H_{12}O_4]^+$  特征碎片离子，根据化合物**100**在一级质谱下的相对保留时间，二级质谱提供的碎片离子、拟合出的元素组成与猪苓酮B对照品相关信息相匹配，故鉴定其为猪苓酮B。对应的质谱棒状图和裂解途径见图6。

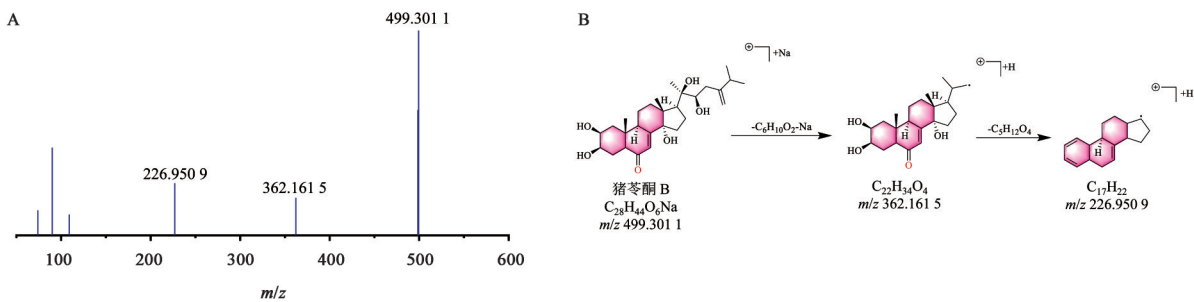


图6 猪苓酮B的质谱裂解途径  
Fig. 6 MS cracking pathways of polyporusterone B

3.6 小鼠灌胃茵陈五苓散后血清及组织中成分鉴定  
基于原方鉴定的208种化学成分对小鼠灌胃茵陈五苓散后血清0.5、1.5、3 h，肺、心、肝、脾、肾脏及回肠组织中原型移行成分跟踪鉴定，血清48种(0.5 h)、43种(1.5 h)、40种(3 h)；肺56种、心32种、肝45种、脾56种、肾50种及回肠59种原型成分见增强出版附

加材料。从上述实验结果分析，血清中检测到的某些原型成分0.5 h的相对峰面积高于1.5 h和3 h时间点，该差异可能与药物成分在体内的代谢消除过程密切相关，提示原型成分的体内暴露水平随着时间呈现动态变化特征。此外，在所有检测时间点及各组织样本中泽泻醇A、茵陈蒿酸A、泽泻醇J-23-乙酸酯、4-酮基-

白术内酯Ⅲ、13 $\beta$ 、17 $\beta$ -环氧泽泻醇B、红花黄色素A、猪苓酮A、猪苓酮B等20个成分均有不同程度暴露。

#### 4 讨论

本实验在原方鉴定的化学成分基础上,对血清和各组织跟踪鉴定,发现48种入血成分中,大部分均在0.5 h具有较高的相对峰面积,提示该时间窗可能为多数成分的血药浓度峰值期。此外,实验发现化合物茯苓新酸AM、猪苓酮A在3 h未检测到,化合物24-去乙酰泽泻醇O、polyporoid A、polyporoid B、16,23-氧化泽泻醇B、槲皮素-7-O-葡萄糖苷在0.5 h均暴露,而在1.5 h和3 h未能检测到,这可能与代谢消除有关。除此以外,23-乙酰泽泻醇C、泽泻醇A、茵陈蒿酸A、泽泻醇B、白术内酯I、16 $\beta$ -羟基-23-乙酰泽泻醇B、滨蒿内酯、茵陈蒿酸B等化合物在3个时间点展现出较好相对峰面积-时间趋势。这些成分建议在后续开展药代动力学实验,同时应增加取样点,尤其的0.5 h之前的取样点。

从现有药理研究来看,泽泻中三萜类成分有着显著的利尿及肾脏保护作用,并且可以通过改善胰岛敏感性等方式影响血糖代谢<sup>[16-17]</sup>。泽泻醇A可通过降低丙二醛(MDA)水平,升高超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH),发挥抗氧化作用<sup>[18]</sup>。3-O-阿魏酰奎尼酸及 alisguaiaone 具抗炎活性,能显著抑制脂多糖诱导的RAW264.7细胞释放一氧化氮<sup>[19-20]</sup>。泽泻醇G可抑制3T3-L1前脂肪细胞分化,改善脂肪代谢,发挥脂肪肝预防作用<sup>[21]</sup>。猪苓酮A、猪苓酮B可以有效减轻炎症反应,对化学性肝损伤有潜在的保护价值<sup>[22]</sup>。茵陈蒿中的红花黄色素A通过降低氧化应激、炎症反应等方式调节糖蛋白非转移性黑色素瘤糖蛋白B(GpnmB)、白细胞介素1受体1型(IL-1R1)等基因表达水平及视黄醇代谢来保护肝脏免受损伤<sup>[23]</sup>。白术中4-酮基-白术内酯Ⅲ通过抑制肝星状细胞活化,进而抑制肝纤维化进程<sup>[24]</sup>。胆汁酸代谢相关的研究中,泽泻醇系列成分可调控胆汁酸合成酶(CYP7A1),促进胆红素代谢与排泄,缓解胆汁淤积<sup>[25]</sup>。

此外,从茵陈五苓散功能主治角度来说,此方以利湿退黄为核心,临床多用于肝胆疏泄失常、脾胃运化失司、膀胱气化不利所致水湿内停、湿浊郁热等病证。组织分布特征显示,回肠中鉴定出的成分数最多,回肠是胆汁酸重吸收关键部位,和胆汁分泌/排泄、肠肝循环直接相关,这一分布特征与茵陈五苓散利胆退黄、利湿泄浊的功效高度契合。其余成分分布依次为肺、脾,再为肾、肝,心脏中分布最少,整体与其宣肺利水、健脾运湿、温肾化气、通调三焦水道的功效

及脏腑生理特点相一致。结合本实验中各成分的体内暴露特征,进一步证实上述20种成分共同构成茵陈五苓散的活性物质基础,其可能通过多成分、多靶点、多途径协同作用,发挥保肝、降脂、利湿退黄等药理效应。据此,后续研究可通过胆汁代谢动力学分析研究,进一步验证上述成分的肝肠循环特性,为阐明其体内作用机制提供更直接的实验依据。

综上,本实验系统开展了茵陈五苓散原方的化学成分分析,以及小鼠灌胃给药后不同时间点血清与各组织中的成分吸收分布。结果显示,从原方中成功鉴定出208种化学成分,同时推测了部分代表性成分的可能裂解方式,丰富并补充了该复方的化学成分研究数据,在此基础上,进一步系统探讨了复方成分在小鼠体内的组织分布特征,为阐明茵陈五苓散的药效物质基础、深入解析其作用机制及指导临床合理应用提供了重要的数据支撑与科学依据。本研究尚未系统解析复方活性成分的体内代谢路径,未来工作应聚焦其生物转化机制,以全面表征药代动力学特征。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突

#### [参考文献]

- [1] 范永升,姜德友. 金匱要略·全国中医药行业高等教育“十四五”规划教材[M]. 北京:中国中医药出版社,2021:182.  
FAN Y S, JIANG D Y. Synopsis of the Golden Chamber: The "14<sup>th</sup> Five-Year Plan" Textbook for Higher Education in the National Traditional Chinese Medicine Industry[M]. Beijing: China Press Tradit Chin Med, 2021: 182.
- [2] 朱丹,孙婷婷,陈兰羽.《金匱要略》诸方治疗非酒精性脂肪性肝病进展[J]. 长春中医药大学学报,2016,32(2):423-425,429.  
ZHU D, SUN T T, CHEN L Y. Progress on formulas in Jingui Yaolue for treating non-alcoholic fatty liver disease [J]. J Changchun Univ Chin Med, 2016, 32(2), 423-425, 429.
- [3] 朱小区. 黄疸“于寒湿中求之”之我见[J]. 浙江中医杂志,2018, 53(11):851.  
ZHU X Q. My perspective on "seeking treatment from cold-dampness" for jaundice[J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2018, 53(11):851.
- [4] YOU L P, WANG K X, LIN J C, et al. Yin-chen Wu-ling powder alleviate cholestatic liver disease: Network pharmacological analysis and experimental validation[J]. Gene, 2023, 851: 146973.
- [5] ULICNÁ O, GREKSÁK M, VANCOVÁ O, et al. Hepatoprotective effect of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) on CCl<sub>4</sub>-induced liver damage in rats[J]. Physiol Res, 2003, 52(4): 461-466.
- [6] LU C, LI Y, HU S, et al. Scoparone prevents IL-1 $\beta$ -induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes through the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 109(106):1169-1174.

- [7] YAHAGI T, YAKURA N, MATSUZAKI K, et al. Inhibitory effect of chemical constituents from *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. on triglyceride accumulation in 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW 264. 7 cells[J]. J Nat Med, 2014, 68(2): 414-420.
- [8] 郑丁. 加味茵陈五苓散治疗非酒精性脂肪性肝炎(湿热蕴结证)的临床观察及机制研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2021.  
ZHENG D. A clinical observation and mechanism study of modified Yinchen Wulingsan in treating non-alcoholic steatohepatitis (dampness-heat accumulation syndrome)[D]. Wuhan:Hubei University Chinese Medicine, 2021.
- [9] 李思韵, 蔡宏桂, 张珏, 等. 茵陈五苓散加减治疗2型糖尿病临床研究[J]. 新中医, 2024, 56(11):7-11.  
LI S Y, CAI H G, ZHANG J, et al. Modified Yinchen Wulingsan in treating type 2 diabetes mellitus: A clinical study[J]. New Chin Med, 2024, 56(11):7-11.
- [10] 陈凌利, 韦雯璐, 李建明, 等. 茵陈蒿黄酮的提取、化学组成及生物活性研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2024, 46(2):263-277.  
CHEN L L, WEI W L, LI J M, et al. Research progress on extraction, chemical composition, and biological activities of flavonoids from *Artemisia capillaris* [J]. Acta Agric Univ Jiangxiensis, 2024, 46(2):263-277.
- [11] 肖先, 荆云, 李春燕, 等. 泽泻主要化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2024, 41(4):378-382.  
XIAO X, JING Y, LI C Y, et al. Research progress on main chemical constituents and pharmacological effects of Alismatis Rhizoma[J]. J Xinxiang Med Univ, 2024, 41(4):378-382.
- [12] 王永丽, 黄广建, 刘从进, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS分析黄连解毒汤的化学成分及大鼠组织分布[J]. 中草药, 2022, 53(22):6985-7000.  
WANG Y L, HUANG G J, LIU C J, et al. Analysis of chemical constituents in Huanglian Jiedu decoction and their tissue distribution in rats by UHPLC-Q-Exactive orbitrap HRMS[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(22):6985-7000.
- [13] 闫雅婕, 王亚亚, 梁轩, 等. 茵陈化学成分、药理作用及在肝胆疾病中的临床应用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11):237-248.  
YAN Y J, WANG Y Y, LIANG X, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects, and clinical application in hepatobiliary diseases of *Artemisia capillaris*[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(11):237-248.
- [14] 李荣胜, 郑德, 刘瑾. 基于UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS技术分析痔血安合剂的化学成分与小鼠口服后的入血成分[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(21):2361-2372.  
LI R S, ZHENG D, LIU J. Analysis of chemical constituents in Zhixue'an mixture and its blood-entering components after oral administration in mice based on UHPLC-Q-exactive orbitrap HRMS[J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(21):2361-2372.
- [15] 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.  
CHEN S J, GAO S Q, WANG X X, et al. Identification of chemical constituents in Zexie Decoction and tissue distribution characteristics of its components in mice based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(24):8336-8352.
- [16] ZHANG X, LI X Y, LIN N, et al. Diuretic activity of compatible triterpene components of Alismatis Rhizoma[J]. Molecules, 2017, 22(9):1459.
- [17] 刘炳城, 王昊, 顾名博, 等. 泽泻及其药对的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2026:1-15. [2025-03-06]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20260319.1048.010>.
- [18] LIU B C, WANG H, GU M B, et al. Research progress on Alismatis Rhizoma and its herb pairs[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2026:1-15. [2025-03-06]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20260319.1048.010>.
- [19] 谢燕, 李贵平, 段月阳, 等. 泽泻提取物改善游离脂肪酸诱导的HepG2脂肪变性细胞模型的脂质代谢及氧化应激异常[J]. 中草药, 2024, 55(6):2002-2012.  
XIE Y, LI G P, DUAN Y Y, et al. Alismatis Rhizoma extract ameliorates lipid metabolism and oxidative stress abnormalities in a free fatty acid-induced HepG2 steatosis cell model[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(6):2002-2012.
- [20] AO X, YAN J, LIU S, et al. Extraction, isolation and identification of four phenolic compounds from *Pleioblastus amarus* shoots and their antioxidant and anti-inflammatory properties *in vitro* [J]. Food Chem, 2022, 374:131743.
- [21] MA Q, HAN L, BI X, et al. Structures and biological activities of the triterpenoids and sesquiterpenoids from *Alisma orientale*[J]. Phytochemistry, 2016, 131:150-157.
- [22] 苏代丰, 张鸿燕, 周洁, 等. 基于UPLC-Q TOF-MS/MS探究泽泻醇G对3T3-L1前脂肪细胞分化过程中脂质代谢的影响[J]. 药物分析杂志, 2025, 45(8):1347-1359.  
SU D F, ZHANG H Y, ZHOU J, et al. Effects of alisol G on lipid metabolism during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes based on UPLC-Q TOF-MS/MS[J]. Chin J Pharm Anal, 2025, 45(8):1347-1359.
- [23] SUN Y, YASUKAWA K. New anti-inflammatory ergostanetype ecdysteroids from the sclerotium of *Polyporus umbellatus* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18(11):3417-3420.
- [24] HOU X M, ZHANG Z Y, MA Y H, et al. Mechanism of hydroxysafflor yellow A on acute liver injury based on transcriptomics[J]. Front Pharmacol, 2022, 13:966759.
- [25] 姚硕, 李源, 段超, 等. 白术内酯Ⅲ调节Hippo/YAP信号通路对非酒精性脂肪肝大鼠肝纤维化的影响[J]. 河北医药, 2024, 46(21):3212-3216, 3221.  
YAO S, LI Y, DUAN C, et al. Effect of atractylenolide III regulating Hippo/YAP signaling pathway on liver fibrosis in rats with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Hebei Med J, 2024, 46(21):3212-3216, 3221.
- [26] ZHOU S, HUA S, CHEN X, et al. Zexieyin formula alleviates atherosclerosis by regulating SBAs levels through the FXR/FGF15 pathway and restoring intestinal barrier integrity[J]. Chin Med, 2025, 20(1):68.

[责任编辑 吕冬梅]