

· 药物代谢 ·

UPLC-Q-TOF/MS 鉴定大鼠灌服枳壳提取物后的 入血成分及其代谢产物

魏飞亭, 程昊, 乔日发, 张敏, 钟民勇, 杨武亮*, 袁金斌*

(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 基础医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:对枳壳进行血清药物化学研究,探讨枳壳提取物在大鼠体内的药效物质基础。方法:利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF/MS)技术,通过比较在相同检测条件下枳壳提取物、空白血浆以及给药血浆的图谱差异,根据相对保留时间、精确相对分子质量、二级质谱裂解碎片及代谢产物的中性丢失等鉴定和推测大鼠灌胃给予枳壳提取物后的血中移行成分及其代谢产物。结果:枳壳提取物口服给药后,从血浆中鉴定和表征了74个入血成分,其中49个为原型成分(包括二氢黄酮类、多甲氧基黄酮、柠檬苦素类、香豆素类及生物碱类),25个为代谢产物(包括黄酮苷类和多甲氧基黄酮类化合物的葡萄糖醛酸结合物、硫酸结合物、羟基化产物,以及葡萄糖醛酸化与硫酸化产物)。结论:入血成分及其代谢产物可能为枳壳体内直接作用的药效成分,其中生物碱、多甲氧基黄酮和香豆素类化合物主要以原型入血并发挥作用,而指标成分柚皮苷和新橙皮苷等主要通过水解成苷元而发挥功效。

[关键词] 枳壳; 血清药物化学; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF/MS); 原型成分; 代谢产物; 二氢黄酮类; 多甲氧基黄酮

[中图分类号] R22;R969.1;R28;O657; **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)21-0161-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201555

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200518.1649.001.html>

[网络出版日期] 2020-5-18 17:15

Identification of Prototype Compounds and Their Metabolites in Rat Plasma After Oral Administration of Aurantii Fructus Extract by UPLC-Q-TOF/MS

WEI Fei-ting, CHENG Hao, QIAO Ri-fa, ZHANG Min, ZHONG Min-yong,
YANG Wu-liang*, YUAN Jin-bin*

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, School of Basic Medical Sciences, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the serum pharmacology of Aurantii Fructus (AF), and to investigate the pharmacological material basis of AF extract in rats. **Method:** Rapid identification and speculation of the prototype constituents and their metabolites *in vivo* were carried out according to the relative retention time, accurate relative molecular mass, cleavage fragments of MS/MS and neutral loss of metabolites with ultrahigh performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) technique by comparing the differences between different samples such as AF extracts, blank plasma, and administered plasma under the same chromatographic and mass spectrometric conditions. **Result:** After oral administration of the AF extract, 74 transitional constituents absorbed into the blood were detected in

[收稿日期] 20200326(037)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81860698,81760680);江西省“双一流”学科建设项目(JXSYLXK-ZHYAO064)

[第一作者] 魏飞亭,在读硕士,从事中药物质基础与质量控制研究,Tel:0791-87118658,E-mail:wftdoctor@163.com

[通信作者] *袁金斌,博士,教授,从事中药物质基础与质量控制研究,Tel:0791-87118658,E-mail:kings2008@163.com;

*杨武亮,教授,从事中药物质基础与质量控制研究,Tel:0791-87118659,E-mail:yangwuliang@163.com

serum, in which 49 compounds were prototype constituents and the other 25 were metabolites. The prototype constituents could be divided into dihydroflavones, polymethoxyflavonoids, limonins, coumarins and alkaloids. The identified metabolites included glucuronic acid conjugates, sulfuric acid conjugates, hydroxylated products of flavonoid glycosides and polymethoxyflavonoids, as well as the simultaneous glucuronidation and sulfation products. **Conclusion:** The constituents absorbed into the blood and their metabolites may be the pharmacodynamic components of AF. Among them, alkaloids, polymethoxyflavonoids and coumarins are mainly introduced into the blood in the prototype form, while naringin and neohesperidin (the index components) exert effect mainly through hydrolysis into aglycones. This work will help to further elucidate the material basis of AF.

[Key words] Aurantii Fructus; serum pharmacology; ultrahigh performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS); prototype components; metabolites; dihydroflavones; polymethoxyflavonoids

枳壳具有理气宽中、行滞消胀之功效,用于治胸胁气滞、胀满疼痛、食积不化、痰饮内停、脏器下垂等证^[1]。其主要含有黄酮类、生物碱类、香豆素类及挥发油等化学成分^[2]。近年来,黄酮糖苷、多甲氧基黄酮和香豆素类化合物均被认为具有广泛的生物活性,例如抗抑郁^[3]、抗炎^[4]、抗癌^[5]、抗肝毒性^[6]、抗过敏^[7]等。综合国内外文献可知,枳壳化学成分和药理作用的研究^[2-3,8-9]已取得很大进展,但其体内作用成分及代谢过程的研究报道较少,主要集中于单体柚皮苷^[10]、柚皮素^[11]、多甲氧基黄酮^[12]以及枳壳在复方中^[13]的体内代谢过程,缺乏对枳壳提取物入血成分及代谢成分的整体分析。因此,有必要对入血成分进行全面研究,以明确药效成分,阐明药效物质基础。有文献报道了口服枳壳水提取物在小鼠体内的代谢成分^[14],但在血浆中只检测到6个原型成分和4个代谢产物。ZHANG等^[15]采用HPLC-ESI-MS/MS技术研究口服枳壳甲醇提取物后大鼠体内的有效成分,在生物样本中鉴定了18个原型成分和11个代谢成分,但该研究数据采集时间过长,不适合大量样品的检测。

中药血清药物化学研究以经典的药物化学研究手段和方法为基础,运用现代分离技术及多维联用技术,分析、鉴定或表征口服中药后人/动物血清中移行成分,以阐明中药体内直接作用物质,从而达到中药及其复方质量的标准化^[16]。中药所含成分虽然复杂,但只有被吸收入血的成分才能发挥作用^[16-17]。UPLC-Q-TOF/MS技术具有高分离效率、高分辨率、高灵敏的定性能力和强大的结构表征能力^[18],适用于大部分中等极性和部分小极性化合物的分离和检测,为血中移行成分的检测和鉴定提供了有效的分析手段,能够全面获得中药体内直接作

用物质的信息^[19]。为了更好地了解口服枳壳提取物在体内的代谢过程,本实验在前期研究基础上,采用血清药物化学研究方法,利用UPLC-Q-TOF/MS技术,对大鼠口服枳壳提取物后的血中移行成分进行鉴定,为确定枳壳体内直接作用物质,阐明枳壳的药效物质基础提供实验依据。

1 材料

Triple-TOF™ 5600+型质谱仪(美国AB SCIEX公司,包括Analyst TF 1.6数据采集工作站和PeakView 1.2数据分析软件),Nexera X2型高效液相色谱仪(日本岛津公司,包括DGU-30A3型在线真空脱气机,LC-30AD型泵,SIL-30AC型自动进样器,CTO-30A型柱温箱),AE-240型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司),XH-B型旋涡混合器(江苏康健医疗用品有限公司),MTN-2800D型氮吹仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司),5430R型高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司),Milli-Q型超纯水器(美国密理博公司)。枳壳药材于2018年在江西省宜春樟树市采集,经江西中医药大学杨武亮教授鉴定为芸香科植物酸橙栽培变种香橙*Citrus aurantium* 'Xiangcheng'的干燥未成熟果实,按2015年版《中国药典》相关项下方法将枳壳药材制成枳壳饮片,贮存于阴凉、干燥处备用。水为纯化水,甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF级雄性SD大鼠,体质量(200±20)g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号SCXK(湘)2016-0002。在20~22℃,光照/黑暗12h/12h条件下饲养,自由饮食、饮水,适应性饲养1周后开始实验。本文所涉及的动物实验经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准号JXTCMI-0001。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 称取枳壳饮片100 g,粉碎成粗粉,置于60 °C烘箱中干燥至恒重(约2 h),称取粗粉60 g,加10倍量甲醇回流提取2次,每次2 h,过滤,合并滤液,旋转蒸发至无醇味,水浴挥干至浸膏状,冷藏备用。取适量浸膏加水溶解成质量浓度为0.54 g·mL⁻¹的药液,置于4 °C冰箱中保存备用。

2.2 给药溶液的制备 精密吸取0.54 g·mL⁻¹药液1 mL,置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,得0.054 g·mL⁻¹醇提液。

2.3 给药与样品采集 取12只大鼠随机分为2组,即空白组和给药组,两组大鼠给药前禁食12 h(可自由饮水)。空白组灌胃给予蒸馏水,参考枳壳提取物药理作用相关文献中给药剂量,并结合药材中有效成分含量折算,给药前将2.1项下制得的浸膏溶解在0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液中得到混悬液,按剂量10.8 g·kg⁻¹(以生药量计算)灌胃给予大鼠,连续给药3 d,末次给药60 min后腹腔注射10%水合氯醛(0.3 mL·kg⁻¹)麻醉,腹主动脉取血置于含肝素钠离心管中,于4 °C,4 000 r·min⁻¹(离心半径9.5 cm,下同)离心10 min,取上清液置于温度-20 °C保存,备用。

2.4 血浆样品处理 取血浆300 μL,加入3倍量乙腈,涡旋2 min,超声10 min,离心(12 000 r·min⁻¹,时间10 min,下同),取上清液置氮吹仪中40 °C吹干,残留物加50%乙腈50 μL复溶,涡旋3 min,超声处理10 min,离心,取上清液供血清药物化学研究用。

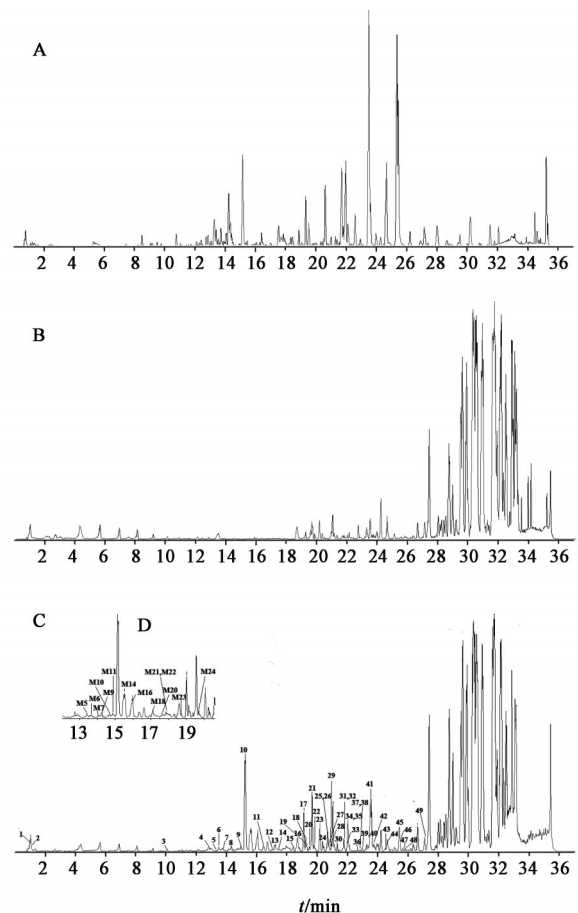
2.5 色谱条件 Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),流动相0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~8 min, 5%~15%B; 8~17 min, 15%~30%B; 17~19 min, 30%~38%B; 19~30 min, 38%~55%B; 30~32 min, 55%~95%B; 32~34 min, 95%B; 34~34.1 min, 95%~5%B; 34.1~37 min, 5%B),流速0.3 mL·min⁻¹,柱温30 °C,进样量3 μL。

2.6 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),选择正、负离子扫描模式,质量扫描范围 m/z 100~1 500 Da,辅助气1(GS1)和GS2压力均为344.75 kPa,气帘气压力275.8 kPa,离子源温度500 °C;正离子模式下其他主要参数为离子喷雾电压5.5 kV,去簇电压100 V,母离子碰撞能量10 V,子离子碰撞能量设定40 V,子离子碰撞能量差15 V。负离子模式下其他主要参数为离子喷雾电压设定4.5 kV,去簇电压设

定-100 V,母离子碰撞能量-10 V,子离子碰撞能量-40 V,子离子碰撞能量差15 V。

3 结果

3.1 枳壳入血原型成分的分析与鉴定 本课题组前期已采用UPLC-Q-TOF/MS对枳壳提取物进行了系统的成分辨识,共鉴别了133个化合物。在此基础上,本研究对枳壳入血成分与代谢产物进行鉴定。通过比对提取物、空白血浆、含药血浆对应的色谱图,根据化合物的保留时间、精确相对分子质量和二级质谱裂解碎片,并结合前期研究结果及相关文献,分析鉴定了给药后血样中药物入血原型成分49个。根据化合物的类型,这些入血成分大致可分为五类,即二氢黄酮类、多甲氧基黄酮、柠檬苦素类、香豆素类及生物碱类,其中黄酮类成分较多。图1,2分别为各典型样品在正、负离子模式下的基峰色谱图(BPC),色谱峰1~49为入血原型成分,其指认结果见表1。



A. 枳壳提取物; B. 空白血浆; C. 给药血浆; D. 代谢产物(图2同)

图1 典型样品在正离子模式下的BPC

Fig. 1 Base peak chromatograms (BPC) of typical samples in positive ion mode

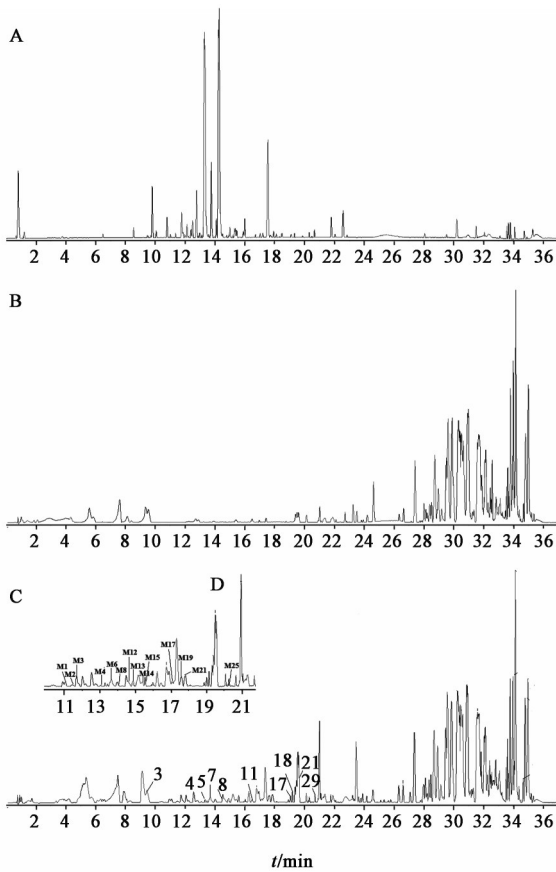


图2 典型样品在负离子模式下的BPC

Fig. 2 BPC of typical samples in negative ion mode

表1 枳壳提取物入血原型成分的鉴定与分析

Table 1 Identification and analysis of prototype components of Aurantii Fructus extract into blood

化合物	名称	t_R /min	分子式	精确相对 分子质 量/Da	[M+H] ⁺		[M-H] ⁻		碎片离子(m/z)	
					实测值 /Da	δ /ppm	实测值 /Da	δ /ppm	正离子模式	负离子模式
1	呱啉乙酸	0.906	C ₇ H ₁₃ NO ₂	143.094 6	144.102 0	-1.1	-	-	128.069 4, 102.055 5	-
2	5-羟甲基糠醛	1.284	C ₆ H ₆ O ₃	126.031 7	127.039 8	1.6	-	-	110.037 6, 109.028 8, 108.022 6	-
3	伞形花内酯	9.960	C ₉ H ₆ O ₃	162.031 7	163.039 1	-0.2	161.025 8	4.7	119.050 0, 107.050 6	133.031 9, 121.030 4, 117.036 4, 105.037 6
4	芸香柚皮苷	12.738	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	580.179 2	581.186 7	0.4	579.170 3	-2.5	273.076 1, 195.028 5, 153.017 9	271.061 0, 151.004 6
5	柚皮苷	13.285	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	580.179 2	581.186 1	0.4	579.169 5	-2.5	405.118 8, 273.076 3, 263.053 0, 153.018 3	459.114 2, 271.060 3, 151.004 2
6	柚皮素-7- O-葡萄糖苷	13.435	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	434.121 3	435.129 9	0.4	-	-	273.087 4, 231.101 3, 189.055 6, 165.054 4, 153.078 2	-
7	橙皮苷	13.726	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	610.189 8	611.195 7	0.1	609.181 0	2.8	413.124 8, 369.096 0, 303.085 7, 247.096 6, 195.028 8	301.071 7, 286.051 3
8	新橙皮苷	14.243	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	610.189 8	611.195 2	0.1	609.180 6	2.8	303.086 9, 247.096 5, 177.053 4	343.083 9, 301.072 2, 286.049 0, 242.059 3
9	4',5'-二氢 补骨脂素	15.093	C ₁₁ H ₈ O ₃	188.047 3	189.054 4	-1.0	-	-	131.049 4, 103.054 9	-
10	水合橙皮内酯	15.139	C ₁₅ H ₁₈ O ₅	278.115 4	279.122 4	-0.6	-	-	261.111 6, 243.101 5, 189.054 0, 131.048 6, 103.054 5	-

3.2 代谢产物的分析鉴定

3.2.1 大鼠血浆中代谢产物的鉴定 有研究表明,大部分黄酮类化合物代谢的主要部位为肝脏和消化道^[20],相关的代谢反应有氧化、葡萄糖醛酸化、硫酸化、谷胱甘肽结合等^[11,14,21-23]。利用UPLC-Q-TOF/MS进行检测,通过观察黄酮类化合物常见代谢途径生成产物相对分子质量的变化来鉴别代谢产物,包括羟基化(M+16),硫酸化(M+80),葡萄糖醛酸化(M+176),以及同时发生硫酸化和葡萄糖醛酸化(M+80+176)等。如图1(D)和2(D)所示, M1~M25为可能的代谢产物。先根据疑似准分子离子的同位素离子丰度、碎片离子、中性丢失等质谱信息确定其准分子离子,完成对代谢产物的搜寻;再通过二级质谱所给出的丰富碎片离子对代谢产物进行分析^[24-25];最后将分析结果与文献比较^[14-15,26]以进一步验证,结果鉴定了25个代谢产物,见表2。

3.2.2 大鼠体内主要代谢产物的结构解析 代谢产物M1:在负离子模式下,准分子离子峰为[M-H]⁻ m/z 527.047 5,该化合物二级质谱中产生特征碎片离子 m/z 271.060 6, 151.004 0,符合柚皮素的裂解规律。由于 m/z 447.092 4比 m/z 271.060 6多176 Da,而176 Da是葡萄糖醛酸结合的特征性中性丢失碎片离子。同理碎片离子 m/z 351.017 2

续表 1

化合物	名称	t_R /min	分子式	精确相对 分子质 量/Da	[M+H] ⁺		[M-H] ⁻		碎片离子(m/z)	
					实测值 /Da	δ /ppm	实测值 /Da	δ /ppm	正离子模式	负离子模式
11	异紫花前胡 内酯	16.372	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246.089 2	247.096 5	-0.2	245.082 0	0.6	229.085 5, 201.053 7, 187.038 7, 175.038 3, 159.043 7, 147.043 5, 131.048 5, 119.048 8	227.071 1, 215.070 3, 183.082 9, 145.031 1
12	未知	16.989	-	-	551.140 4	-	-	-	389.107 4, 345.060 2,	-
13	枸橼苷	17.044	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	594.158 5	595.166 7	1.5	-	-	419.133 9, 404.110 6, 389.086 6, 371.076 4	-
14	新枸橼苷	17.384	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	594.158 5	595.165 1	1.5	-	-	470.266 8, 419.134 8, 404.111 6, 389.088 1, 345.188 6	-
15	4'-羟基-5, 6,7-三甲氧基 黄酮	18.461	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	328.094 7	329.102 3	0.9	-	-	314.080 7, 299.057 0, 271.059 1, 268.073 7	-
16	3-羟基-5, 7,8-三甲氧 基黄酮	18.723	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	328.094 7	329.217 4	0.9	-	-	311.200 0, 299.058 7, 293.189 7, 275.178 7, 271.169 8, 195.117 0, 181.100 4, 153.070 6	-
17	枸橼苷	19.023	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	594.158 5	595.166 8	1.5	593.149 0	0.8	419.131 6, 404.107 8, 389.084 3, 386.098 1, 371.075 0, 361.090 1	417.118 3, 402.094 8, 387.071 2, 359.076 4, 344.053 4, 329.030 4, 113.027 4
18	柚皮素	19.148	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.068 5	273.075 8	-0.2	271.060 3	3.4	153.018 0, 147.044 2, 119.049 0	151.004 2, 119.051 5, 107.015 6
19	珊瑚菜内酯	19.230	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.099 8	301.118 9	0.8	-	-	255.113 1, 240.089 7, 227.118 5, 199.123 0	-
20	melitidin	19.316	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₈	724.221 5	725.230 4	2.1	-	-	419.135 1, 404.112 2, 389.087 9	-
21	橙皮素	19.767	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302.079 0	303.086 1	0.8	301.092 6	2.1	177.055 3, 153.018 7, 145.028 2, 117.034 8	285.046 6, 242.057 3, 199.039 1, 164.011 5, 136.017 2
22	5-羟基-6, 7,3',4'-四甲 氧基黄酮	19.844	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	358.105 3	359.112 9	0.9	-	-	343.082 0, 329.066 5, 315.087 5, 298.083 9, 283.060 5, 255.065 1, 153.017 8	-
23	四羟基二甲 氧基黄酮	20.067	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	346.068 9	347.072 6	1.0	-	-	329.210 2, 301.034 5, 293.1892, 289.034 7, 273.039 2, 261.039 3, 145.099 7, 121.063 8, 105.069 5	-
24	异米拉素	20.361	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	260.104 9	261.112 0	-0.4	-	-	189.052 7, 159.042 0, 131.047 5, 103.053 5	-
25	环氧橙皮油 素	20.502	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	314.151 8	315.159 2	0.6	-	-	175.038 8, 163.038 9, 135.117 3, 119.049 1, 107.049 8	-
26	马尔敏	20.518	C ₁₉ H ₂₄ O ₅	332.162 4	333.169 8	-2.4	-	-	213.054 7, 175.037 8, 163.038 7, 153.127 7, 107.049 5	-
27	5-羟基-6, 7,8,4'-四甲氧 基黄酮	20.581	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	358.105 3	359.113 1	1.4	-	-	344.088 3, 329.065 0, 314.041 8, 301.070 2, 286.046 6, 283.059 7	-
28	5,7,8,3',4'- 五甲氧基黄酮 (异甜橙黄酮)	20.627	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.120 9	373.128 7	0.8	-	-	357.096 4, 343.080 5, 329.102 6, 315.085 5, 299.054 8, 153.017 9	-
29	sudachinoid A	20.658	C ₂₆ H ₃₄ O ₉	490.220 3	491.228 0	0.9	489.210 9	-4.4	473.216 7, 455.205 3, 437.197 4, 411.217 0, 369.206 3, 351.195 2, 243.101 6, 175.074 7, 161.058 7	471.200 4, 411.180 1, 333.169 9, 261.149 2, 203.109 3
30	异橘皮内酯	21.505	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	260.104 9	261.111 9	-0.4	-	-	189.054 7, 159.046 7, 131.048 5, 115.054 0, 103.054 5	-

续表 1

化合物	名称	t_R /min	分子式	精确相对 分子质 量/Da	[M+H] ⁺		[M-H] ⁻		碎片离子(m/z)	
					实测值 /Da	δ /ppm	实测值 /Da	δ /ppm	正离子模式	负离子模式
31	橘皮内酯	21.634	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	260.104 9	261.112 5	-0.4	-	-	189.054 1, 159.043 3, 131.048 6, 115.054 2, 103.054 7	-
32	三羟基四甲 氧基黄酮	21.681	C ₁₉ H ₁₈ O ₉	390.095 1	391.104 8	0	-	-	361.057 3, 343.046 7, 315.232 5, 197.008 3, 169.012 8, 107.086 4	-
33	3,4',6,7,8- 五甲氧基黄酮	21.837	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.120 9	373.128 7	0	-	-	357.097 6, 343.081 3, 329.102 0, 315.086 5, 163.075 4, 153.018 4	-
34	4',5,7,8-四 甲氧基黄酮	21.946	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	342.110 3	343.118 6	1.7	-	-	328.093 6, 313.070 1, 285.074 5, 181.012 1, 153.017 5	-
35	5-O-去甲基 川陈皮素	22.070	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	388.115 8	389.123 7	1.4	-	-	359.075 3, 341.065 3, 331.080 6, 313.070 4, 169.012 6	-
36	花椒毒酚	22.410	C ₁₁ H ₆ O ₄	202.026 6	203.103 3	-1.1	-	-	173.059 8, 143.086 2, 128.062 2, 115.054 6	-
37	柠檬苦素	22.560	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	470.194 1	471.201 8	0.9	-	-	425.196 7, 367.090 8, 213.090 2, 161.095 8, 105.071 0	-
38	3',4',7,8- 四甲氧基黄酮	22.639	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	342.110 3	343.296 0	1.7	-	-	313.073 6, 240.232 4, 183.175 4, 109.101 8	-
39	诺米林酸	22.829	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₀	532.230 9	533.239 0	1.5	-	-	515.231 2, 455.209 8, 437.196 9, 369.207 4, 341.211 8, 215.106 5, 187.076 0, 161.059 5, 133.065 0, 105.070 1	-
40	5,7,4'-三甲 氧基黄酮	22.923	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	312.099 8	313.107 4	0.4	-	-	298.083 6, 269.080 8, 255.064 9, 227.069 5	-
41	川陈皮素	23.482	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	402.131 5	403.139 4	1.1	-	-	388.113 8, 373.090 1, 355.080 0, 330.071 9, 327.083 9, 301.069 1, 259.069 1, 211.022 5	-
42	5,6,7,4'-四 甲氧基黄酮	23.589	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	342.110 3	343.117 9	1.7	-	-	327.086 8, 313.070 8, 299.091 6, 285.075 6, 267.064 5, 256.073 0, 239.070 7, 181.012 8, 153.017 5, 135.043 3	-
43	诺米林	24.268	C ₂₈ H ₃₄ O ₉	514.220 3	515.228 4	1.1	-	-	469.223 4, 437.195 8, 411.217 8, 393.220 6, 369.209 9, 205.049 6, 161.057 7, 133.062 8	-
44	3',4',3,5, 6,7,8-七甲氧 基黄酮	24.658	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	432.142 0	433.149 6	1.0	-	-	418.127 2, 403.102 9, 385.092 5, 373.056 0, 360.084 8, 345.060 6	-
45	5,6,7,3', 4'-五甲氧基黄 酮(甜橙黄酮)	25.317	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.120 9	373.128 7	0.8	-	-	358.103 5, 343.080 2, 325.069 8, 315.085 3, 297.074 3, 283.059 5, 271.058 9, 211.022 9, 183.027 9	-
46	5,6,7,8,4'- 五甲氧基黄酮 (橘皮素)	25.356	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.120 9	373.128 5	0.8	-	-	358.103 1, 343.079 7, 325.069 2, 315.085 0, 297.074 2, 271.058 5, 211.022 3, 183.027 3	-
47	5-羟基-3, 6,7,8,3',4'- 六甲氧基黄酮	25.408	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.126 4	419.133 8	0.8	-	-	404.110 5, 389.086 7, 371.076 3, 361.091 4, 346.068 6, 328.058 1, 303.049 5	-
48	3-羟基-5, 6,7,8,3',4'- 六甲氧基黄酮	25.439	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.126 4	419.133 7	0.8	-	-	404.110 7, 389.087 9, 371.077 4, 328.058 4, 313.036 8	-
49	7-羟基-4', 3,5,6,8-五甲 氧基黄酮	27.142	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	388.115 8	389.123 6	1.4	-	-	374.100 4, 359.076 7, 341.066 1, 327.086 0, 169.012 0	-

表2 枳壳灌胃给药后生物样本中代谢产物的鉴定与分析

Table 2 Identification and analysis of metabolites in rat plasma after oral administration of Aurantii Fructus extract

代谢产物	名称	t_R /min	分子式	[M+H] ⁺		[M-H] ⁻	
				实测值/Da	碎片离子	实测值/Da	碎片离子
M1	naringenin-sulfate-glucuronide	11.394	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₄ S	-	-	527.047 5	447.092 4, 351.017 2, 271.060 6, 151.004 0
M2	hesperidin-O-glucuronide 或 neo hesperidin-O-glucuronide	11.565	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₁	-	-	785.212 8	609.180 9, 489.138 4, 301.071 1, 175.027 0
M3	hesperidin-O-sulfate 或 neo hesperidin-O-sulfate	11.628	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₈ S	-	-	689.137 9	609.179 7, 489.138 7, 381.026 2, 343.084 8, 301.070 4
M4	hesperetin-O-glucuronide-O-sulfate	13.058	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₅ S	-	-	557.058 3	477.102 9, 381.027 1, 301.071 5, 254.982 9, 175.026 4
M5	单羟基-四甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	13.269	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	535.144 7	359.112 7, 344.088 4, 329.065 2	-	-
M6	柚皮素-7-O-葡萄糖醛酸苷 或 柚皮素-4'-O-葡萄糖醛酸苷	13.616 (13.635)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.108 0	273.075 8, 153.017 8, 147.043 8	447.091 7	271.061 6, 151.004 8, 119.052 6, 113.026 7, 107.016 0
M7	单羟基-三甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	14.061	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₂	505.134 3	329.102 2, 314.078 3, 299.054 6, 285.075 5, 268.073 0	-	-
M8	橙皮素-7-O-葡萄糖醛酸结合物	14.086	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	-	-	477.103 4	301.071 0, 286.047 9, 242.058 4, 199.038 8, 164.012 6
M9	单羟基-三甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	14.233	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₂	505.134 2	329.101 8, 314.078 4, 299.054 7, 268.072 7	-	-
M10	单羟基-四甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	14.690	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	535.144 6	359.112 8, 344.089 2, 329.065 6, 315.086 4, 298.083 6	-	-
M11	单羟基-五甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	14.736	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	565.155 9	389.123 2, 374.100 2, 359.076 6, 341.066 4	-	-
M12	橙皮素-5-O-葡萄糖醛酸结合物	14.738	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	-	-	477.102 9	301.071 4, 286.047 7, 242.058 7, 199.039 7, 175.026 4, 151.004 1
M13	橙皮素-3'-O-葡萄糖醛酸结合物	15.050	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	-	-	477.101 9	415.101 6, 301.071 7, 286.048 5, 199.043 0, 174.024 2, 151.007 9
M14	单羟基-四甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	15.416/ 15.546	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	535.145 7	359.111 4, 344.087 6, 329.064 4, 283.059 5	533.127 9	357.097 2, 342.073 9, 327.050 4, 269.008 7, 207.030 1, 113.027 7
M15	hesperetin-7-O-sulfate 或 hesperetin-3'-O-sulfate	15.623	C ₁₆ H ₁₄ O ₉ S	-	-	381.026 9	301.071 8, 286.049 5, 199.040 6, 164.012 4, 151.005 7
M16	单羟基-三甲氧基黄酮-羟基化结合物	16.106	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	345.097 7	329.066 4, 315.050 3, 301.071 3, 287.055 2, 284.068 0, 153.018 1	-	-
M17	单羟基-三甲氧基黄酮-硫酸结合物	17.096	C ₁₈ H ₁₆ O ₉ S	-	-	407.042 6	327.086 7, 312.063 1, 297.040 2, 269.045 5
M18	单羟基-五甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	17.152	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	565.156 1	389.123 7, 374.100 8, 359.076 8	-	-
M19	单羟基-四甲氧基黄酮-硫酸结合物	17.542	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₀ S	-	-	437.053 1	357.097 6, 342.074 4, 327.050 9, 312.027 3, 269.009 2, 207.030 5
M20	单羟基-四甲氧基黄酮-硫酸结合物	17.681	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₀ S	439.069 8	359.111 6, 344.088 5, 329.065 0, 257.043 9, 283.060 0	-	-
M21	单羟基-五甲氧基黄酮-硫酸结合物	17.603/ 17.759	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₁ S	469.080 4	389.123 1, 359.076 0, 313.070 6, 344.052 4, 211.022 9	467.063 6	387.108 1, 372.084 4, 357.061 4, 342.038 0, 327.015 0, 314.042 5, 299.020 0, 283.996 2, 207.031 4

续表 2

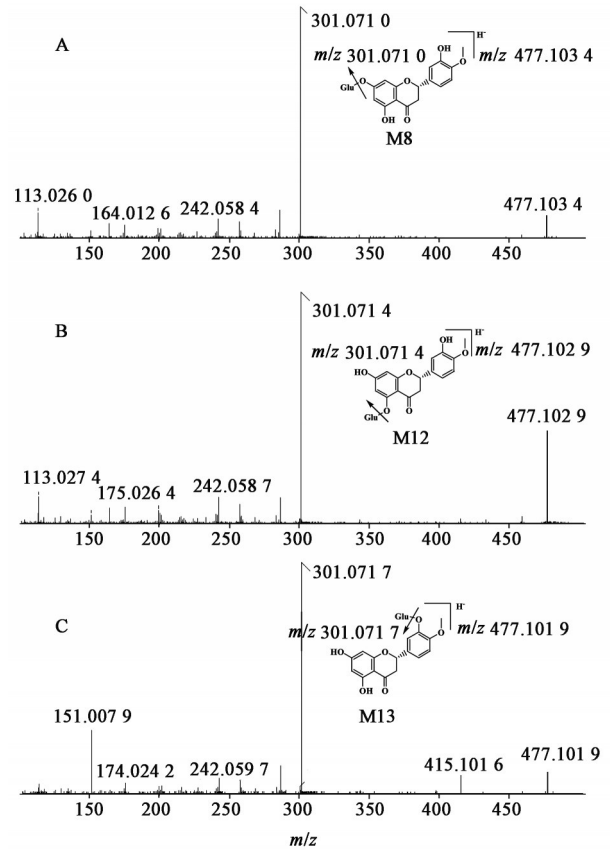
代谢产物	名称	t_R /min	分子式	[M+H] ⁺		[M-H] ⁻	
				实测值/Da	碎片离子	实测值/Da	碎片离子
M22	单羟基-五甲氧基黄酮-硫酸结合物	17.867	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₁ S	469.079 1	389.123 2, 374.100 2, 359.075 9, 341.065 7, 313.070 8	-	-
M23	单羟基-四甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	18.880	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	535.144 9	359.113 4, 344.090 2, 326.078 8, 301.071 0, 283.060 9	-	-
M24	单羟基-五甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物	19.705	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	565.155 8	389.122 9, 374.099 3, 359.075 6, 331.081 2	-	-
M25	naringenin-4'-O-sulfate 或 naringenin-7-O-sulfate	20.495	C ₁₅ H ₁₂ O ₈ S	-	-	351.156 5	271.052 6, 177.027 5, 151.056 2, 119.032 9

比 m/z 271.060 6 多 80 Da, 推测为柚皮素硫酸结合物的特征离子峰。综上分析, 推测代谢产物 M1 为柚皮素同时发生葡萄糖醛酸化和硫酸化的代谢产物, 由于分析技术有限, 不能明确给出葡萄糖醛酸化和硫酸化的结合位点。

代谢产物 M8, M12, M13: 在负离子模式下, 三者准分子离子峰均为 [M-H]⁻ m/z 477, 且三者的主要碎片离子为 m/z 301, 由于 m/z 477 比 m/z 301 多 176 Da, 而 176 Da 为葡萄糖醛酸化代谢途径的质谱特征, 根据文献[11]报道, 黄酮类化合物上的羟基位(7, 5, 3' 或 4') 位易发生葡萄糖醛酸化反应, 该反应结合位点的优先级为 7, 5, 3' 或 4' 位, 因此, 初步推测橙皮素的 3 个羟基均可能是发生葡萄糖醛酸化的结合位点, 根据文献[27]报道, 橙皮素-7-O-葡萄糖醛酸结合物的极性高于橙皮素-5-O-葡萄糖醛酸结合物, 因此, 鉴定代谢产物 M8, M12 和 M13 分别为橙皮素-7-O-葡萄糖醛酸结合物, 橙皮素-5-O-葡萄糖醛酸结合物, 橙皮素-3'-O-葡萄糖醛酸结合物。三者的二级质谱图及裂解途径见图 3。

代谢物 M10: 在正离子模式下, 分子离子峰为 [M+H]⁺ m/z 535.144 6, 该化合物二级质谱中产生的特征碎片离子为 m/z 359.112 8, 344.089 2, 329.065 6, 符合单羟基-四甲氧基黄酮的裂解规律。 m/z 535.144 6 比 m/z 359.112 8 多 176 Da, 而 176 Da 是葡萄糖醛酸结合的特征性中性丢失碎片离子。故推测 M10 为单羟基-四甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物。准分子离子峰为 [M+H]⁺ m/z 535 的还有代谢产物 M5, M14, M23, 其二级质谱图均与 M10 一致, 仅能推测其为单羟基-四甲氧基黄酮-葡萄糖醛酸结合物, 但不能明确给出葡萄糖醛酸化的结合位点。

代谢产物 M22: 在正离子模式下, 分子离子峰为 [M+H]⁺ m/z 469.079 1, 该化合物二级质谱中产生



A.M8; B.M12; C.M13; Glu. 葡萄糖醛酸(图 4, 5 同)

图 3 负离子模式下代谢产物 M8, M12, M13 的 MS/MS

Fig. 3 MS/MS spectra of metabolites M8, M12 and M13 in negative ion mode

的特征碎片离子为 m/z 389.123 2, 374.100 2, 359.075 9, 341.065 7, 313.070 8, 其中 m/z 389.123 2 为单羟基-五甲氧基黄酮的特征碎片离子峰; m/z 374.100 2, 359.075 9, 341.065 7, 313.070 8 为单羟基-五甲氧基黄酮的特征性碎片离子峰。由于 m/z 469.079 1 与 m/z 389.123 2 比较, 相对分子质量增加

了80 Da,符合硫酸化代谢途径的质谱特征,故推测M22为单羟基-五甲氧基黄酮-硫酸结合物,但不能明确给出硫酸化的结合位点。分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 469的还有代谢产物M21,其二级质谱图和M22一致,故仅能推测M21为单羟基-五甲氧基黄酮-硫酸结合物。

综上所述,枳壳甲醇提取物灌胃给药后在大鼠血浆中检测到了代谢产物25个,这些代谢产物主要

为黄酮类化合物(二氢黄酮类、多甲氧基黄酮类)与葡萄糖醛酸、硫酸结合物以及羟基化产物,其中M1, M6, M25为柚皮苷的相关代谢产物;M2, M3, M4, M8, M12, M13, M15为新橙皮苷的相关代谢产物, M16为单羟基-三甲氧基黄酮的羟基化产物,其他的则均为多甲氧基黄酮的葡萄糖醛酸结合物和硫酸结合物。枳壳中柚皮苷在大鼠体内可能的代谢途径见图4,新橙皮苷在大鼠体内可能的代谢途径见图5。

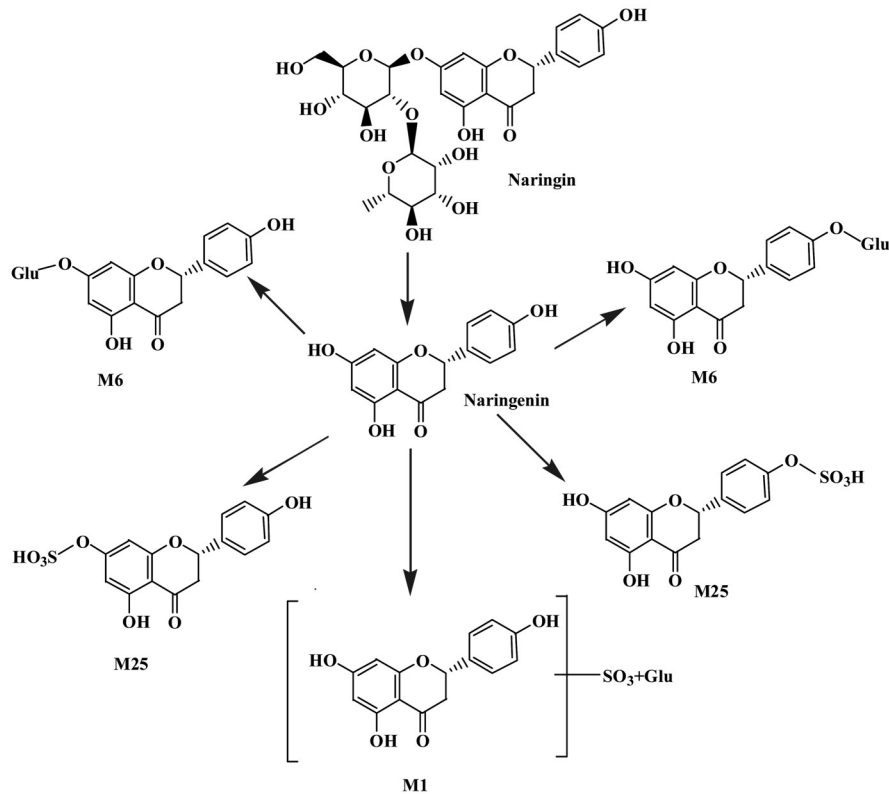


图4 柚皮苷在大鼠体内可能的代谢途径

Fig. 4 Possible metabolic pathways of naringin in rats

4 讨论

枳壳所含化学成分较多,极性分布很广,很多活性成分如黄酮苷元、多甲氧基黄酮、香豆素类化合物已确定为其药效组分,但这些成分在水提取物中提取效率不高。枳壳传统入药方式多为水煎剂,但研究表明传统煎煮方式悬混了很多水不溶性成分。而甲醇对极性、弱极性化合物均有较好的提取效率,以甲醇提取则兼顾了枳壳全成分^[15]。基于此,本文采用UPLC-Q-TOF/MS技术对大鼠灌胃枳壳甲醇提取物后的血中移行成分进行系统分析,结果在大鼠给药血浆中共指认出了74个入血成分,其中49个原型成分,25个代谢成分。结合现有文献报道,鉴别主要为黄酮类成分、多甲氧基黄酮类,以及少量生物碱类成分的原型及其代谢产物,主要发生

的代谢反应有羟基化、葡萄糖醛酸化、硫酸化以及葡萄糖醛酸化与硫酸化结合等。这与现有研究中关于枳壳水提取物^[14]的体内成分分析结果存在交叉和不同。ZHANG等^[15]在大鼠口服枳壳甲醇提取物后的生物样本中鉴定出了18个原型成分以及11个代谢成分,从化合物类型上总体可分为三类,即黄酮苷、黄酮葡萄糖酸苷以及多甲氧基黄酮。该研究与本研究分析结果存在一定差异,这可能与提取物来源不同以及检测条件、方法上的差异有关。

相比前人研究结果,本研究建立的UPLC-Q-TOF/MS能鉴定出更多的化合物。预试验考察了给药后5个采血点(10, 30, 60, 90, 180 min),选择图谱中色谱峰数量及强度为评价标准,利用PeakView 1.2软件中的XIC Manager插件,以前期建立的枳壳

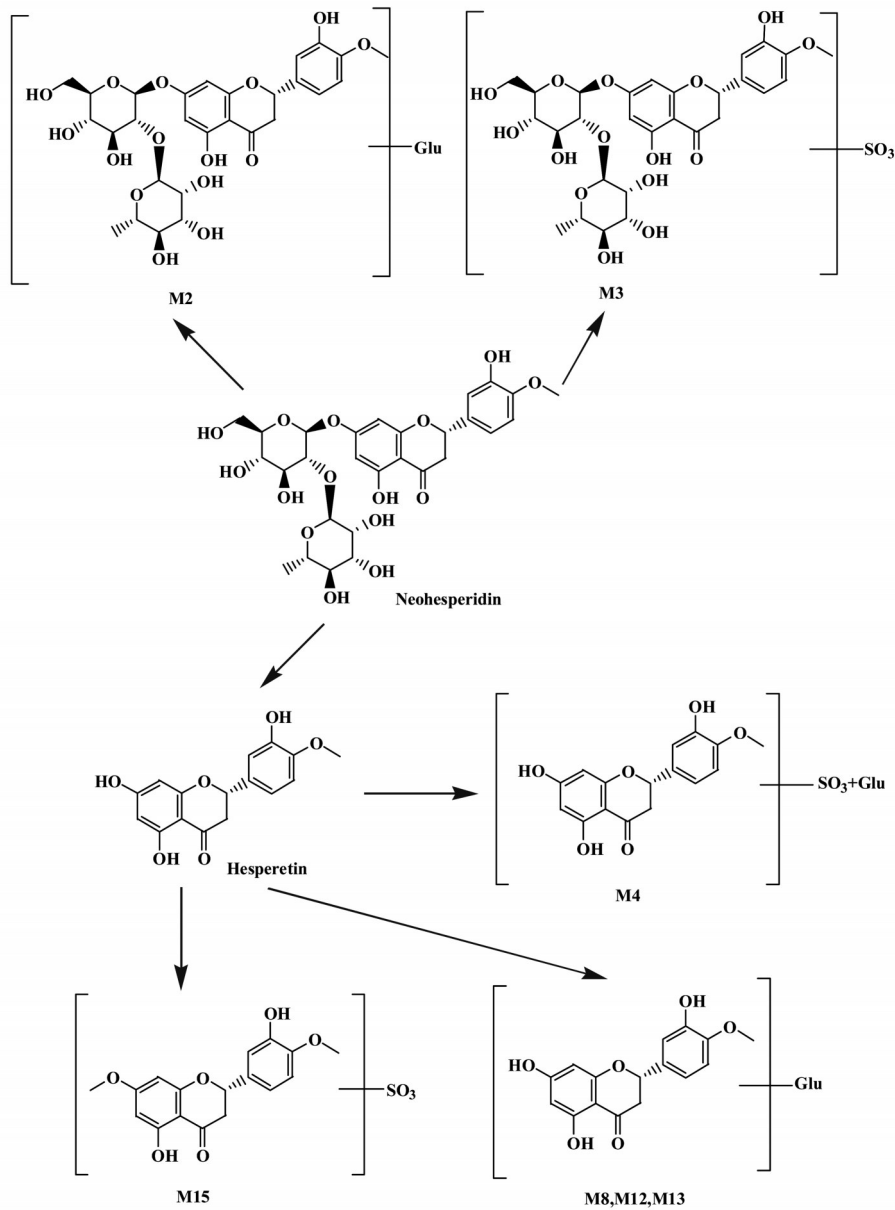


图5 新橙皮苷在大鼠体内可能的代谢途径

Fig. 5 Possible metabolic pathways of neohesperidin in rats

化学成分表作为谱库,筛选各时间点的入血成分,发现在给药后 60 min 时鉴定出的化学成分数目最多。同时,比较了甲醇沉淀法、乙腈沉淀法处理血浆的效果,结果发现乙腈沉淀法处理血浆后杂质峰较少、基线低且平稳、峰形好,且检测到的血中移行成分数目多,故选择乙腈沉淀法处理血浆。进一步考察了乙腈的体积分数,最终发现复溶选用 50% 乙腈在检测样品时测得的成分较多。

在前期基础上,本研究对枳壳甲醇提取物给药后的入血成分和部分代谢产物进行了快速鉴别,发现了一些葡萄糖醛酸化、硫酸化或者葡萄糖醛酸化和硫酸化的代谢产物,并对其代谢途径进行了推测。由

表 1,2 可知,枳壳口服给药后在大鼠体内的入血成分多为黄酮类。有研究指出,黄酮类化合物因含有酚羟基,在体内易与葡萄糖醛酸结合形成葡萄糖醛酸苷,代谢产物水溶性增加,易于排出体外,故枳壳中葡萄糖醛酸化代谢物广泛存在^[28]。其中芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷这 4 个二氢黄酮类化合物,口服给药后在生物体内肠道菌群的作用下很快代谢成苷元,苷元再进一步与葡萄糖醛酸和硫酸盐等内源性物质发生结合反应而生成葡萄糖醛酸、硫酸盐结合物^[29]。也有研究表明,有些黄酮苷在肠道菌群作用下不一定全部水解为苷元,会出现黄酮苷与其苷元共存的现象,但由于黄酮苷元在体内的

吸收速度大于黄酮苷^[30-31],使得苷元被吸收进入体内的比率增加,故而易被检测到^[32-34]。综上分析,本研究推测血中移行成分柚皮素和橙皮素可能为原型入血成分,也可能是柚皮苷和新橙皮苷水解脱掉糖苷的代谢产物,也有可能这两种方式共存,这尚需进一步研究确认。此外,推测其他入血成分(生物碱、多甲氧基黄酮和香豆素类化合物)则主要以原型形式在生物体内发挥功效。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:246.
- [2] 祝婧,袁恩,牟俊雍,等. 基于UPLC-Q/TOF-MS分析江西特色炮制工艺对枳壳化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20201069.
- [3] WU M, ZHANG H W, ZHOU C, et al. Identification of the chemical constituents in aqueous extract of Zhi-Qiao and evaluation of its antidepressant effect [J]. *Molecules*, 2015, 20(4): 6925-6940.
- [4] PARHIZ H, ROOHBAKHSH A, SOLTANI F, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(3): 323-331.
- [5] PARK K I, PARK H S, KIM M K, et al. Flavonoids identified from Korean *Citrus aurantium* L. inhibit non-small cell lung cancer growth *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Funct Foods*, 2014, 7: 287-297.
- [6] RENUGADEVI J, PRABU S M. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2010, 62(2): 171-181.
- [7] KOBAYASHI S, KATO T, AZUMA T, et al. Anti-allergenic activity of polymethoxyflavones from *Kaempferia parviflora* [J]. *J Funct Foods*, 2015, 13: 100-107.
- [8] 郑莹,王帅,孟宪生,等. 中药枳壳挥发油成分气相色谱-质谱联用分析和促进胃肠动力药效研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(3): 516-518.
- [9] 舒尊鹏,胡书法,翟亚东,等. 中药枳壳化学成分及药理作用研究[J]. 科技创新与应用, 2012, 2(17): 8-9.
- [10] FANG T Z, WANG Y G, MA Y, et al. A rapid LC/MS/MS quantitation assay for naringin and its two metabolites in rats plasma [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2006, 40(2): 454-459.
- [11] 樊慧蓉,李全胜,张爱杰,等. 柚皮素在大鼠体内的代谢途径研究[J]. 中草药, 2017, 48(10): 2093-2099.
- [12] ZHOU D Y, XING R, XU Q, et al. Polymethoxylated flavones metabolites in rat plasma after the consumption of Fructus Aurantii extract: analysis by liquid chromatography/electrospray ion trap mass spectrometry [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2008, 46(3): 543-549.
- [13] 张银凤,高雪松,王安娜,等. 柴胡疏肝散入血成分的初步研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(29): 3193-3196, 3206.
- [14] 马超一,高文远,高颖,等. 枳壳化学成分和代谢成分的UPLC-PAD-Q-TOF/MS分析[J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 110-115.
- [15] ZHANG J Z, GAO W Y, LIU Z, et al. Systematic analysis of main constituents in rat biological samples after oral administration of the methanol extract of Fructus Aurantii by HPLC-ESI-MS/MS [J]. *Iran J Pharm Res*, 2014, 13(2): 493-503.
- [16] 王喜军,张伯礼. 基于药物代谢组学的方剂配伍规律及配伍科学价值揭示[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(10): 1346-1348.
- [17] SUN H, WU F F, ZHANG A H, et al. Profiling and identification of the absorbed constituents and metabolites of schisandra lignans by ultra-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(11): 1511-1519.
- [18] YUAN J B, CHEN Y, LIANG J, et al. Component analysis and target cell-based neuroactivity screening of *Panax ginseng* by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1038: 1-11.
- [19] ZHOU J L, QI L W, LI P. Herbal medicine analysis by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(44): 7582-7594.
- [20] 何佳珂,于洋,陈西敬,等. 黄酮类化合物的药物代谢研究进展[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(21): 2789-2792.
- [21] GRAF B A, AMEHO C, DOLNIKOWSKI G G, et al. Rat gastrointestinal tissues metabolize quercetin [J]. *J Nutr*, 2006, 136(1): 39-44.
- [22] VAN DER WOUDE H, BOERSMA M G, VERVOORT J, et al. Identification of 14 quercetin phase II mono- and mixed conjugates and their formation by rat and human phase II *in vitro* model systems [J]. *Chem Res Toxicol*, 2004, 17(11): 1520-

- 1530.
- [23] GRADOLATTO A, CANIVENC-LAVIER M C, BASLY J P, et al. Metabolism of apigenin by rat liver phase I and phase II enzymes and by isolated perfused rat liver[J]. *Drug Metab Dispos*, 2004, 32(1): 58-65.
- [24] 汪娜, AHMAD H, 贾永明, 等. UHPLC-MS法鉴定大鼠灌服开心散后血中远志糖酯类化合物及其代谢产物[J]. *药学报*, 2017, 52(10): 1592-1598.
- [25] REEJU M, CHIRANJIVI T, 汪娜, 等. 开心散乙醇提取物中远志皂苷的入血成分及体内代谢产物分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(19): 118-123.
- [26] 李哲, 宋瑞, 许风国, 等. 大鼠灌服枳实提取液后体内黄酮类代谢产物的LC-MS/MS分析[J]. *中国药科大学学报*, 2010, 41(6): 539-547.
- [27] 孙明谦. 中药复杂成分样品的电喷雾质谱分析方法研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [28] 谢彤, 梁艳, 郝海平, 等. 葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)诱导羧酸药物代谢启动的研究进展[J]. *药学报*, 2009, 44(11): 1193-1199.
- [29] 陈彦, 王晋艳, 贾晓斌, 等. 枳实中主要二氢黄酮类成分肠道吸收代谢及与药物相互作用的研究进展[J]. *中草药*, 2010, 41(9): 1564-1566.
- [30] CREP V, MORAND C, BESSON C, et al. Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(3): 618-621.
- [31] XUE C F, GUO J M, QIAN D W, et al. Absorption of flavonoids from *Abelmoschus manihot* extract by *in situ* intestinal perfusion [J]. *Acta Pharm Sin*, 2011, 46(4): 454-459.
- [32] 陆林玲, 束艳, 钱大玮, 等. 大鼠灌胃四逆散提取物后血浆、尿液、粪便、胆汁中主要代谢产物的鉴定[J]. *药学报*, 2011, 46(11): 1374-1379.
- [33] 周大勇, 徐青, 薛兴亚, 等. 高效液相色谱-电喷雾质谱法测定枳壳中黄酮苷类化合物[J]. *分析化学*, 2006, 34(z1): 31-35.
- [34] 王建伟, 李岱龙, 孙君社. 银杏叶提取物中黄酮苷酶法转化苷元的研究[J]. *食品工业科技*, 2008(4): 177-179.

[责任编辑 刘德文]