枸杞子在大鼠体内的代谢产物及代谢途径分析

宗 政[#]，胡 扬[#]，徐蓓蕾，辛国松，陈鹰翔，李文兰[*]
（哈尔滨商业大学药学院，黑龙江哈尔滨 150076）

摘要：运用超高效液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱（UPLC-Q-TOF-MS/MS）研究枸杞子提取物在大鼠血清、尿液、粪便、胆汁中的原型成分及代谢产物，并明确其代谢过程。采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）；以乙腈为流动相 A，0.1％甲酸水溶液为流动相 B，梯度洗脱。柱温为 30 ℃，流速为 0.3 mL/min，进样量为 3 μL。结果显示，从各生物样品中共鉴定出 46 个化学成分，其中包括 17 个原型成分和 29 个代谢产物，其代谢途径包括Ⅰ相代谢反应（羟基化、去羟基化、去甲基化、水解、还原）和Ⅱ相代谢反应（甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化、磺酸化）。该研究初步阐明了枸杞子在体内的代谢过程，为后续阐明其药效物质基础和开发利用奠定了基础。

关键词：枸杞子；UPLC-Q-TOF-MS/MS；代谢产物；代谢途径
中图分类号：R917；R285.5 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2024)12-1659-17
引用：宗 政，胡 扬，徐蓓蕾，等．枸杞子在大鼠体内的代谢产物及代谢途径分析［J］．中国医药工业杂志，2024, 55(12)：1659-1675．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.12.009

Analysis on Metabolites and Metabolic Pathways of *Lycii Fructus* in Rats

ZONG Zheng[#], HU Yang[#], XU Beilei, XIN Guosong, CHEN Yingxiang, LI Wenlan[*]
(*College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076*)

ABSTRACT: The ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) method was established to study the prototypical components and metabolites of *Lycii Fructus* extract in serum, urine, faeces, and bile of rats and to clarify their metabolic processes. The Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} column (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) was used, and the analysis was carried out in the gradient elution mode with acetonitrile as mobile phase A, and 0.1% formic acid as mobile phase B. The column temperature was 30 ℃, the flow rate was 0.3 mL/min, and the injection volume was 3 μL. The results showed that a total of 46 chemical components were identified from various biological samples, including 17 prototypical components and 29 metabolites. Its metabolic pathways included phase Ⅰ metabolic reactions (hydroxylation, dehydroxylation, demethylation, hydrolysis, and reduction) and phase Ⅱ metabolic reactions (methylation, glucuronidation, sulfation, and sulfonation). This study preliminarily elucidated the metabolic process of *Lycii Fructus in vivo*, and laid a foundation for the subsequent elucidation of its pharmacological material basis and development.

Key Words: *Lycii Fructus*; UPLC-Q-TOF-MS/MS; metabolic product; metabolic pathway

枸杞子（*Lycii Fructus*）为茄科枸杞属植物宁夏枸杞（*Lycium barbarum* L.）的干燥成熟果实，主要分布于我国西北、西南、华中、华南和华东各省，其中以宁夏枸杞最佳。枸杞子为生活中常用的药食同源中药材，药食兼优，是固本扶正、强身健体的滋补佳品，在我国有近 4 000 年的食用和药用历史。枸杞子首载于《神农本草经》，具有滋补肝肾，益精

[#] 对文章贡献等同。
收稿日期：2024-06-07
基金项目：黑龙江省重点研发计划项目（2022ZX02C08）、黑龙江省双一流学科协同创新成果项目（LJGXCG2023-023）
作者简介：宗 政（1996—），男，硕士研究生，专业方向：中药药效物质基础及质量标准。
胡 扬（1986—），女，硕士，高级工程师，从事中药药效物质基础研究。
通信作者：李文兰（1967—），女，博士，教授，博士生导师，从事中药药效物质基础及质量标准研究。
E-mail：lwldzd@163.com

明目的功效；在免疫力提升、缓解视疲劳、抗氧化等方面也具有良好的应用价值[1—2]。现代研究[3—5]表明，枸杞子含有多糖类、黄酮类、酚酸类、生物碱类等成分，同时具有增强免疫力、抗衰老、抗肿瘤、抗疲劳、降糖调脂、神经保护等药理作用。

已有文献[6]报道了大鼠灌胃给予枸杞子后的入血成分。通过检测药物的入血成分能在一定程度上揭示其代谢过程和物质基础，但如果要完整地阐明体内的代谢过程和物质基础，还需结合胆汁、尿液和粪便中的检出成分加以分析。目前，关于枸杞子在大鼠体内的完整代谢过程尚未见文献报道。

本课题组前期对枸杞子的化学成分进行了定性分析[7]。基于此，本研究采用超高效液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱（ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry，UPLC-Q-TOF-MS/MS）法检测大鼠灌胃给予枸杞子提取物后，血清、尿液、粪便和胆汁中的化学成分，明确原型成分和代谢产物并分析其体内代谢特征，旨在为后续进一步阐明枸杞子药材资源的物质基础和开发利用提供理论依据。

1　仪器与试药

SYNAPT G2-Si 型质谱仪和 ACQUITY UPLC I-Class 型色谱仪（美国 Waters 公司）；LE204E/02 型电子分析天平（瑞士梅特勒 - 托利多仪器有限公司）。

异槲皮苷（批号 20112404）、东莨菪素（批号 21071605）和东莨菪碱（批号 21030414）均购自成都格利普生物科技有限公司；3- 羟基肉桂酸（批号 L19J8Z40260）、东莨菪苷（批号 J09A11T120042）、甜菜碱（批号 DJ0615YA13）、绿原酸（批号 Y24J7K16726）、芦丁（批号 D13HB202516）均购自上海源叶生物科技有限公司；槲皮素（批号 Y29A10Y779806）、山柰酚（批号 A01HJ190000）、阿魏酸（批号 20181106）均购自上海金穗生物科技有限公司；以上对照品含量均≥ 98%。甲醇（色谱级）、95% 乙醇（分析纯）购自天津天力化学试剂有限公司；质谱检测用的乙腈、甲醇、甲酸为质谱级，水为屈臣氏蒸馏水。

枸杞子购于哈尔滨普方药业饮片有限公司（批号 201201，产地：宁夏），经哈尔滨商业大学中药教研室徐蓓蕾副教授鉴定为茄科植物宁夏枸杞（*Lycium barbarum* L.）的干燥成熟果实。

雌性 Wistar 大鼠［体质量（220±5）g］，购自长春市亿斯试验动物技术有限责任公司，试验动物生产许可证号 SCXK（吉）-2020-0002。单次试验所用的大鼠均为同一批次，自由进食和饮水，适应性饲养 1 周，动物室室温为（22±1）℃，相对湿度为 45%～ 60%。所有试验操作均符合哈尔滨商业大学动物伦理委员会要求，本试验经过本单位试验动物伦理委员会批准（审查号 HSDYXY-2022031）。

2　方法与结果

2.1　溶液配制

供试品溶液：枸杞子粉碎后，加入 95% 乙醇（料液比 1 ∶ 8）浸泡 12 h，加热回流提取 3 次，每次 3 h；过滤所得的药渣干燥后再用 10 倍量的水煎煮 2 次，每次 1 h；合并醇提液和水提液，浓缩至浸膏，于 20 ℃保存。取浸膏适量，置 10 mL 量瓶中，以甲醇溶解、定容，经 0.22 μm 滤膜过滤得到供试品溶液。

对照品溶液：分别取异槲皮苷、东莨菪素、3- 羟基肉桂酸、东莨菪苷、甜菜碱、芦丁、槲皮素、山柰酚、阿魏酸、绿原酸、东莨菪碱适量，以甲醇溶解并定容于 10 mL 量瓶中，经 0.22 μm 滤膜过滤得到对照品溶液。

2.2　动物试验方案

将雌性大鼠随机分为空白组、给药组，每组 6 只。在前期试验的基础上，确定枸杞子给药剂量为 2.1 $g\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$（以生药计）。取“**2.1**”项下所得的浸膏适量，加入蒸馏水配制成 0.168 g/mL（以浸膏计）的灌胃溶液。给药组按 10 mL/kg 灌胃给予枸杞子灌胃溶液，空白组给予等体积蒸馏水，每日 1 次，连续 7 d 给药，其间正常饮食、饮水。

2.3　生物样品的采集及预处理

血清样品：大鼠于末次给药前禁食 12 h，自由饮水，末次给药后 1 h 从腹主动脉取血，离心（6 067.2×*g*）15 min，取上清液 0.2 mL，加入 4 倍体积的甲醇，涡旋混匀 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干，剩余物中加入 2 倍体积的甲醇，涡旋混匀 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干。剩余物用甲醇 0.2 mL 复溶，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。取空白组大鼠，同法制备空

白血清供试品溶液，于 4 ℃保存。

尿液样品：大鼠于末次给药前禁食 12 h，自由饮水，末次给药后置代谢笼中，收集 0 ～ 12 h 的尿液，所得尿液离心（6 067.2×*g*）15 min，取上清液 2 mL，加入 4 倍体积的甲醇，涡旋混匀 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干，剩余物中加入 2 倍体积的甲醇，涡旋混匀 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干。剩余物用甲醇 0.4 mL 复溶，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。取空白组大鼠，同法制备空白尿液供试品溶液，于 4 ℃保存。

粪便样品：大鼠于末次给药前禁食 12 h，自由饮水，末次给药后置代谢笼中，收集 0 ～ 12 h 的粪便，将粪便样品用研钵捣碎、研磨，称取 0.5 g，加入 4 倍体积的甲醇超声提取 30 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干。剩余物中加入 2 倍体积的甲醇，涡旋混匀 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干。剩余物用甲醇 0.4 mL 复溶，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。取空白组大鼠，同法制备空白粪便供试品溶液，于 4 ℃保存。

胆汁样品：大鼠于末次给药前禁食 12 h，自由饮水，末次给药后麻醉，进行胆管插管手术，引流胆汁，收集 0 ～ 12 h 的胆汁。取胆汁 0.4 mL，加入 4 倍体积的甲醇涡旋混合 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干。剩余物中加入 2 倍体积的甲醇，涡旋混匀 2 min，离心（24 268.8×*g*）10 min，取上清液，氮气吹干。剩余物用质谱级甲醇 0.4 mL 复溶，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。取空白组大鼠，同法制备空白胆汁供试品溶液，于 4 ℃保存。

2.4 检测条件

色谱条件：色谱柱 Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）；流动相 A 为乙腈，B 为 0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱（0—3 min，A 2%—11%；3—5 min，A 11%—14%；5—6 min，A 14%—17%；6—8 min，A 17%—20%；8—12 min，A 20%—32 %；12—20 min，A 32 % —44 %；20—26 min，A 44%—62%；26—31 min，A 62%—100%）；柱温 30 ℃；流速 0.3 mL/min；进样量 3 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子源（ESI）；离子源温度 100 ℃；去溶剂气温度 400 ℃；去溶剂气流速 800 L/h；锥孔气流速 50 L/h。选择正负离子扫描方式，扫描范围 *m*/*z* 50 ～ *m*/*z* 1 200；碰撞能 20 ～ 45 mV，正负离子扫描模式下采用 MS/MS 模式采集样品的二级质谱数据。

2.5 数据处理

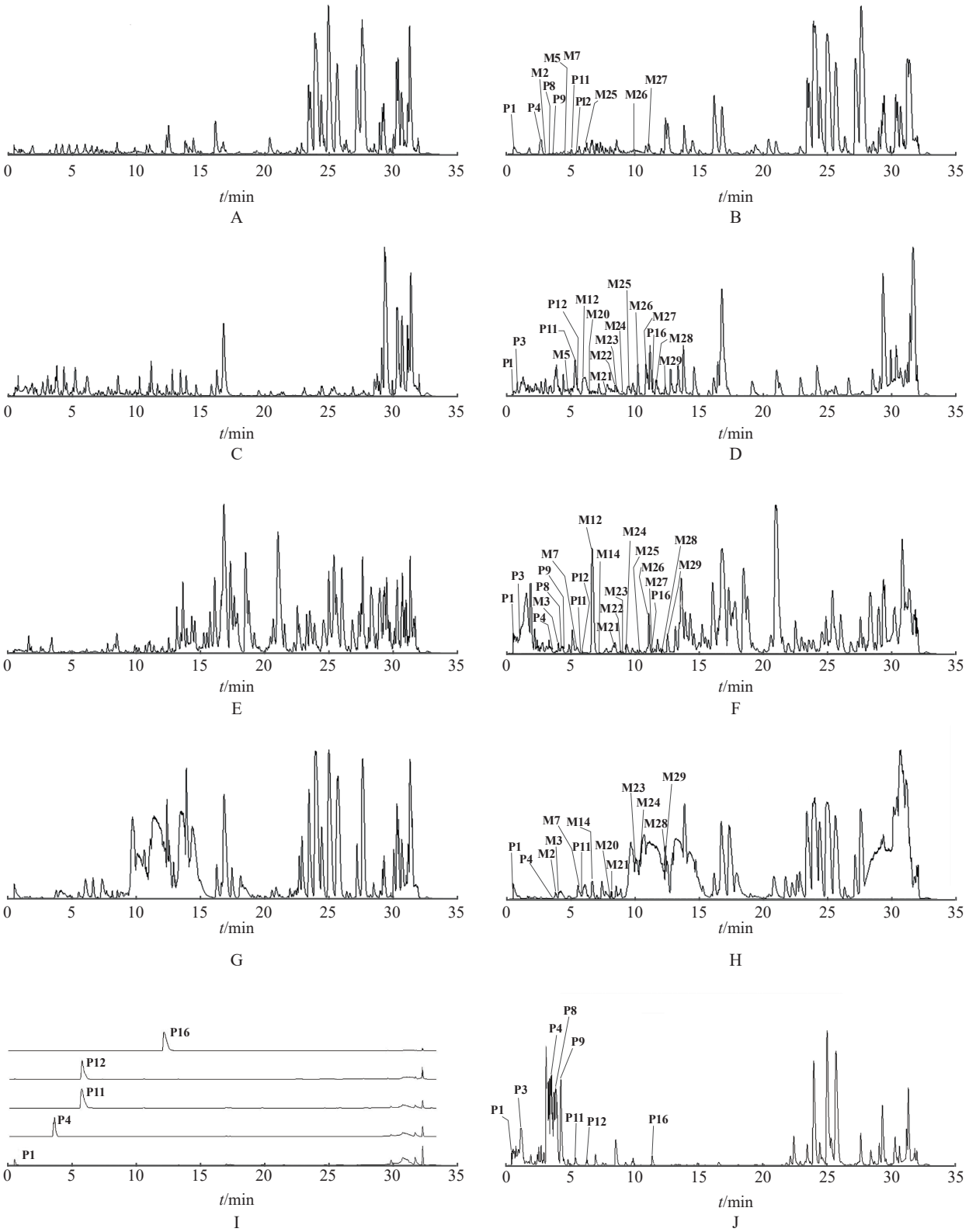
采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法以及质量亏损过滤技术，扣除空白生物样品检测结果后，采用 Waters Masslynx 4.1 软件进行数据分析，根据相对分子质量、分子式、碎片离子、同类化合物的质谱裂解规律及相关文献资料和标准品信息，结合 UNIFI 软件（版本 1.9.3.071）对化合物进行指认。

2.6 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析大鼠血清、胆汁、尿液、粪便样品

取“**2.1**”项下的供试品、对照品溶液和“**2.3**”项下给药后血清、尿液、粪便、胆汁样品，按“**2.4**”项下色谱和质谱条件进样测定，结果分别如图 1、2 所示。通过自建库及 UNIFI 软件（版本 1.9.3.071）比较给药后大鼠血清、胆汁、尿液、粪便样品和空白样品的色谱图，扣除生物样品中的内源性成分进行分析，结果表明样品中含有原型成分及代谢产物 46 个，包括 13 个黄酮类、15 个酚酸类、7 个香豆素类、11 个生物碱成分。其中原型成分 17 个，代谢产物 29 个，既是原型成分又是代谢产物的成分有 5 个。具体相关信息如表 1 所示。

2.6.1 黄酮类成分代谢产物的鉴定及代谢途径分析

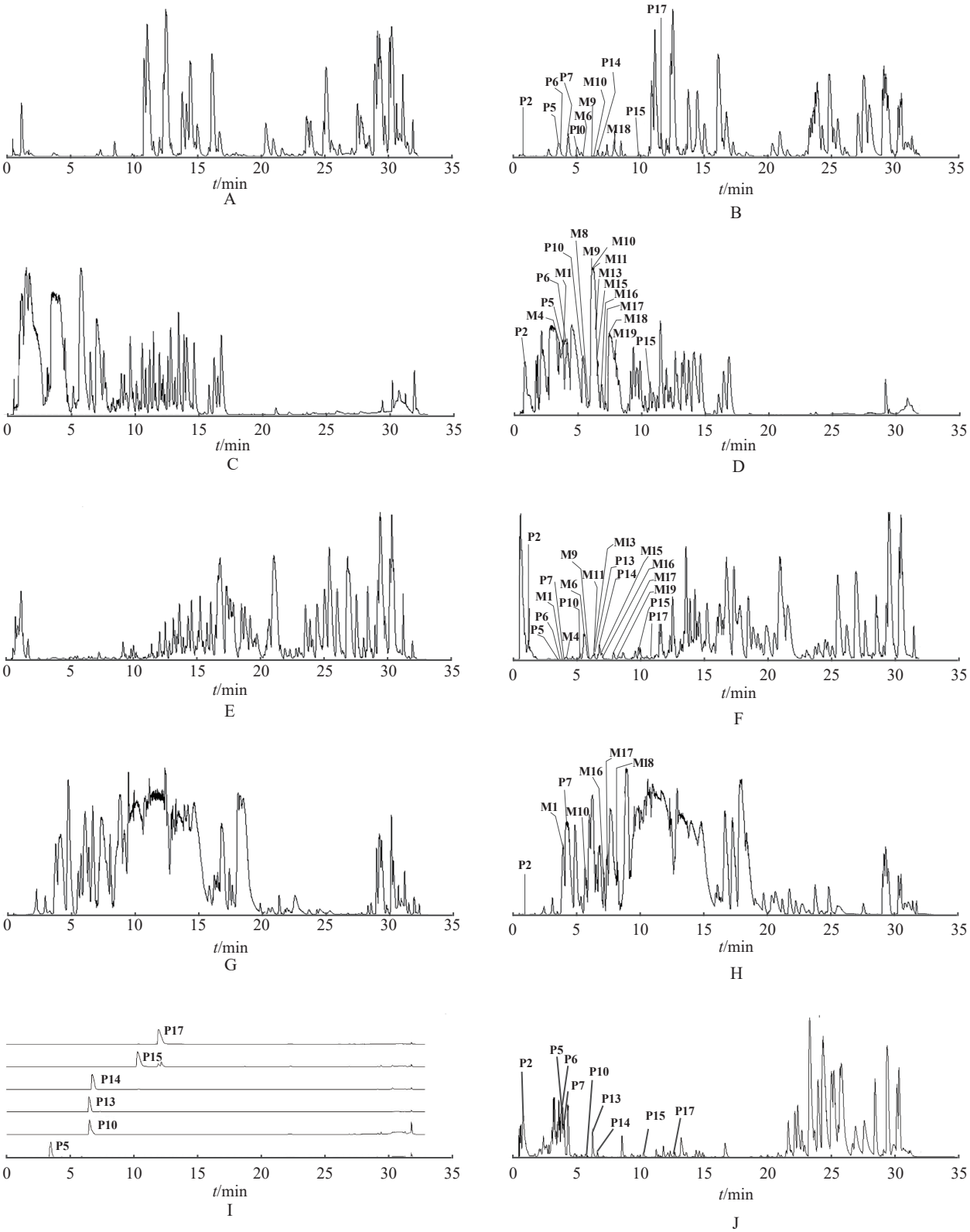
黄酮类化合物吸收进入机体后，很少以原型存在，经常在体内以葡萄糖醛酸化、硫酸酯化以及甲基结合产物的形式存在，或被代谢为苷元、水解为酚酸类物质后被吸收。黄酮苷元易发生逆狄尔斯 - 阿尔德反应（retro Diels-Alder reaction，RDA）产生 CH_3、CO、H_2O 等特征碎片离子，苷类化合物易发生糖苷键的断裂而易丢失葡萄糖基（Glu）、端基脱氧六碳糖基等[8]，此外苷类化合物还易发生糖 - 糖键的断裂。因此，可根据特定的离子碎片推测代谢途径。



A—空白血清；B—给药后血清；C—空白尿液样品；D—给药后尿液样品；E—空白粪便样品；F—给药后粪便样品；G—空白胆汁样品；H—给药后胆汁样品；I—对照品溶液；J—供试品溶液。

图 1　正离子模式下各样品基峰色谱图

Fig.1　Base Peak Chromatograms of the Samples in Positive Ion Mode



A—空白血清；B—给药后血清；C—空白尿液样品；D—给药后尿液样品；E—空白粪便样品；F—给药后粪便样品；G—空白胆汁样品；H—给药后胆汁样品；I—对照品溶液；J—供试品溶液。

图 2 负离子模式下各样品基峰色谱

Fig.2 Base Peak Chromatograms of the Samples in Negative Ion Mode

表 1　枸杞子体内化学成分表征

Tab.1　Characterization of Chemical Constituents *in vivo* of *Lycii Fructus*

编号	保留时间 /min	名称	分子离子	分子式	理论 *m/z* 值	实测 *m/z* 值	误差 /×10^{-6}	碎片离子 *m/z* 值	血清	胆汁	尿液	粪便
P1	0.55	甜菜碱 #	$[M+H]^+$	$C_5H_{11}NO_2$	118.086 8	118.087 3	4.23	59.071 2	+	+	+	+
P2	0.73	枸杞酸	$[M-H]^-$	$C_{12}H_{18}O_{11}$	337.077 1	337.076 8	-0.89	277.058 9	+	+	+	+
P3	1.28	托品酸	$[M+H]^+$	$C_9H_{10}O_3$	167.070 8	167.071 2	2.39	123.052 1	—	—	+	+
P4	3.50	东莨菪苷 #	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{18}O_9$	355.102 9	355.101 2	-4.79	193.050 2，178.033 6，137.230 5，133.044 0	+	+	—	+
P5	3.72	绿原酸 #	$[M-H]^-$	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 3	353.086 2	-3.12	191.052 9，179.033 5，173.043 8，135.043 0	+	—	+	+
P6	3.82	咖啡酸	$[M-H]^-$	$C_9H_8O_4$	179.034 4	179.033 5	-5.03	163.038 4，135.043 0，119.051 9	+	—	+	+
M1	3.85	甲基绿原酸	$[M-H]^-$	$C_{17}H_{20}O_9$	367.102 9	367.101 2	-4.63	205.063 5，193.054 6	—	+	+	+
P7	3.91	奎尼酸	$[M-H]^-$	$C_7H_{12}O_6$	191.055 6	191.056 1	2.62	176.025 1，111.055 8	+	+	—	+
M2	3.97	二氢东莨菪素葡萄糖醛酸化产物	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{18}O_{10}$	371.097 8	371.096 1	-4.58	180.032 6	+	+	—	—
M3	4.10	二氢东莨菪苷	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{20}O_9$	357.118 6	357.117 9	-1.96	195.065 3，139.110 5，135. 037 3	—	+	—	+
M4	4.15	咖啡酸乙酰化产物	$[M-H]^-$	$C_{11}H_{10}O_5$	221.045 0	221.044 1	-4.07	163.065 4，119.051 9	—	—	+	+
P8	4.19	N^1,N^{10}- 二氢咖啡酰亚精胺	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{35}N_3O_6$	474.260 4	474.261 2	1.69	312.190 5，222.115 6	+	—	—	+
P9	4.51	N^1- 咖啡酰 -N^3- 二氢咖啡酰亚精胺	$[M+H]^+$	$C_{25}H_{33}N_3O_6$	472.244 8	472.249 0	8.89	310.210 1，293.183 2，163.039 7	+	—	—	+
M5	5.01	东莨菪素葡萄糖醛酸化产物	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{16}O_{10}$	369.082 2	369.081 6	-1.63	178.031 6，133.043 9	+	—	+	—
P10	5.09	3- 羟基肉桂酸 #	$[M-H]^-$	$C_9H_8O_3$	163.039 5	163.038 4	-6.75	119.048 8，107.048 8	+	—	+	+
M6	5.42	绿原酸葡萄糖糖基化产物	$[M-H]^-$	$C_{22}H_{28}O_{14}$	515.140 1	515.140 5	0.78	179.053 6、135.043 0	+	—	—	+
M7	5.62	东莨菪素磺酸化产物	$[M+H]^+$	$C_{10}H_8O_7S$	273.006 9	273.007 4	1.83	178.031 7，　133.042 9	+	+	—	+
P11	5.73	东莨菪素 #	$[M+H]^+$	$C_{10}H_8O_4$	193.050 7	193.052 5	9.32	178.033 6，137.230 5，133.044 0	+	+	+	+
M8	5.74	甲基绿原酸葡萄糖糖基化产物	$[M-H]^-$	$C_{23}H_{30}O_{14}$	529.155 7	529.156 6	1.70	205.063 5，193.054 6	—	—	+	+
P12	5.93	阿魏酸 #	$[M+H]^+$	$C_{10}H_{10}O_4$	195.065 7	195.066 5	4.10	180.042 7，151.072 0，136.047 6	+	—	+	+
M9	6.04	甲基芦丁	$[M-H]^-$	$C_{28}H_{32}O_{16}$	623.420 7	623.420 7	0	315.052 2，257.042 9	+	—	+	+
M10	6.11	香草酸	$[M-H]^-$	$C_8H_8O_4$	167.034 4	167.034 9	2.99	136.047 6	+	+	+	—
M11	6.23	二氢咖啡酸甲基化产物	$[M-H]^-$	$C_{10}H_{12}O_4$	195.065 7	195.065 2	-2.56	135.062 2	—	—	+	+
M12	6.47	甲基异槲皮苷	$[M+H]^+$	$C_{22}H_{22}O_{12}$	477.066 9	477.065 6	-2.72	315.052 2，273.028 1，257.042 9	—	—	+	+
M13	6.47	二氢咖啡酸	$[M-H]^-$	$C_9H_{10}O_4$	181.050 1	181.050 3	1.10	165.029 4，121.061 4	—	—	+	+
P13	6.54	芦丁 #	$[M-H]^-$	$C_{27}H_{30}O_{16}$	609.145 6	609.145 6	0	463.084 5，301.037 0，257.042 9	+	—	—	+
M14	6.55	二氢东莨菪素	$[M+H]^+$	$C_{10}H_{10}O_4$	195.065 7	195.065 2	-2.56	180.032 6，135.043 9	—	+	—	+
P14	6.63	异槲皮苷 #	$[M-H]^-$	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.087 7	463.084 5	-6.91	301.037 0，271.028 1，257.042 9	—	—	—	+
M15	7.07	二氢芦丁	$[M-H]^-$	$C_{27}H_{32}O_{16}$	611.161 2	611.161 4	0.33	303.211 2，257.042 9	—	—	+	+
M16	7.13	二氢咖啡酸葡萄糖醛酸化产物	$[M-H]^-$	$C_{15}H_{18}O_{10}$	357.082 2	357.083 0	2.24	165.029 4	—	+	+	+

（续表 1）

编号	保留时间 /min	名称	分子离子	分子式	理论 *m/z* 值	实测 *m/z* 值	误差 /×10^{-6}	碎片离子 *m/z* 值	血清	胆汁	尿液	粪便
M17	7.59	二氢咖啡酸的甲基化和葡萄糖醛酸化产物	$[M-H]^-$	$C_{16}H_{20}O_{10}$	371.097 8	371.098 8	2.69	135.062 2	—	+	+	+
M18	7.95	槲皮素葡萄糖醛酸化产物	$[M-H]^-$	$C_{21}H_{18}O_{13}$	477.066 9	477.065 5	-2.93	301.030 7，151.004 4	+	+	+	—
M19	8.04	异槲皮苷去羟基化产物	$[M-H]^-$	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.092 7	447.089 3	-7.60	271.028 1，257.042 9	—	—	+	+
M20	8.16	槲皮素硫酸酯化产物	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{10}O_{10}S$	383.007 3	383.005 7	-4.18	303.210 7，153.080 4	—	+	+	—
M21	8.69	槲皮素的羟基化和甲基化产物	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{12}O_8$	333.061 0	333.061 9	2.7	273.170 9，153.090 4	—	+	+	+
M22	9.26	东莨菪醇	$[M+H]^+$	$C_8H_{13}NO_2$	156.102 5	156.102 5	0	156.102 5	—	—	+	+
M23	9.77	东莨菪碱去甲基化产物	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{19}NO_4$	290.139 2	290.140 1	3.10	260.201 5，142.232 3	—	+	+	+
M24	9.80	槲皮素羟基化产物	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{10}O_8$	319.045 4	319.046 2	2.51	273.170 9，257.042 9	—	+	+	+
P15	10.29	槲皮素 #	$[M-H]^-$	$C_{15}H_{10}O_7$	301.034 8	301.037 1	7.64	257.042 9，151.004 2	+	—	+	+
M25	10.29	东莨菪碱脱水产物	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{19}NO_3$	286.144 3	286.144 8	1.75	274.201 2，156.231 3	+	—	+	+
M26	10.96	东莨菪醇去甲基化产物	$[M+H]^+$	$C_7H_{11}NO_2$	142.086 8	142.086 5	-2.11	142.086 5	+	—	+	+
M27	11.35	东莨菪碱的脱水和去甲基化产物	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{17}NO_3$	272.128 7	272.128 3	-1.47	156.231 0	+	—	+	+
P16	11.45	东莨菪碱 #	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{21}NO_4$	304.154 9	304.155 2	0.99	286.083 6，274.201 2，156.231 0	—	—	+	+
P17	11.91	山柰酚 #	$[M-H]^-$	$C_{15}H_{10}O_6$	285.039 9	285.039 9	0	257.042 9，151.004 2	+	—	—	+
M28	12.05	东莨菪碱羟基化产物	$[M+H]^+$	$C_{17}H_{21}NO_5$	320.149 8	320.150 4	1.87	290.140 1，172.232 3	—	+	+	+
M29	12.45	二氢槲皮素	$[M+H]^+$	$C_{15}H_{12}O_7$	305.066 1	305.066 3	-0.66	153.046 5	—	+	+	+

注：# 表示经过对照品验证；编号中的起始字母为 P，表示原型成分，起始字母为 M，表示代谢产物；“+”为检测到；“—”为未检测到。

化合物 **P13**(t_R=6.54 min) 给出分子离子峰 *m/z* 609.145 6[M－H]⁻，推断其分子式为 $C_{27}H_{30}O_{16}$；碎片离子 *m/z* 463.084 5[M－H－Rha]⁻ 是分子离子丢失 1 个鼠李糖基产生的；碎片离子 *m/z* 301.037 0[M－H－$C_{12}H_{21}O_9$]⁻ 是分子离子丢失 1 个芸香糖基产生的；碎片离子 *m/z* 257.042 9[M－H－$C_{12}H_{21}O_9$－RDA]⁻ 是分子离子丢失 1 个芸香糖基后，进一步发生 RDA 裂解产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与芦丁一致，故将化合物 P13 鉴定为芦丁，其裂解过程如图 3A 所示。化合物 **P14**(t_R=6.63 min) 给出分子离子峰 *m/z* 463.084 5[M－H]⁻，推断其分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$；碎片离子 *m/z* 301.037 0[M－H－Glc]⁻ 是分子离子丢失 1 个葡萄糖基产生的；碎片离子 *m/z* 271.028 1、*m/z* 257.042 9[M－H－Glc－RDA]⁻ 是分子离子丢失 1 个葡萄糖基后发生 RDA 裂解产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与异槲皮苷一致，故将化合物 **P14** 鉴定为异槲皮苷。化合物 **P15**(t_R=10.29 min) 给出分子离子峰 *m/z* 301.037 1[M－H]⁻，推断其分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$；碎片离子 *m/z* 257.042 9、*m/z* 151.004 2[M－H－RDA]⁻ 是分子离子发生 RDA 裂解产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与槲皮素一致，故将化合物 **P15** 鉴定为槲皮素。同时异槲皮苷和槲皮素在机体内可能来源于芦丁水解生成，因此异槲皮苷和槲皮素也可能为代谢产物。化合物 **P17**(t_R=11.91 min) 给出分子离子峰 *m/z* 285.039 9[M－H]⁻，推断其分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$，其碎片离子 *m/z* 257.042 9、*m/z* 151.004 2 是分子离子发生 RDA 裂解产生的，推测化合物 **P17** 为山柰酚。化合物 **M15**(t_R=7.07 min) 给出分子离子峰 *m/z* 611.161 4[M－H]⁻，与化合物 **P13**（芦丁）质量数相差 2，碎片离子 *m/z* 303.211 2[M－H－$C_{12}H_{21}O_9$]⁻ 是分子离子丢失 1 个芸香糖基产生的，与化合物芦丁碎片离子相差 2，碎片离子 *m/z* 257.042 9[M－H－$C_{12}H_{21}O_9$－RDA]⁻ 是分子离子丢失 1 个芸香糖基后发生 RDA 裂解产生的；推测其为二氢芦丁[9—10]。化合物 **M9**(t_R=6.04 min) 给出分子离子峰 *m/z* 623.420 7[M－H]⁻，与化合物 **P13**

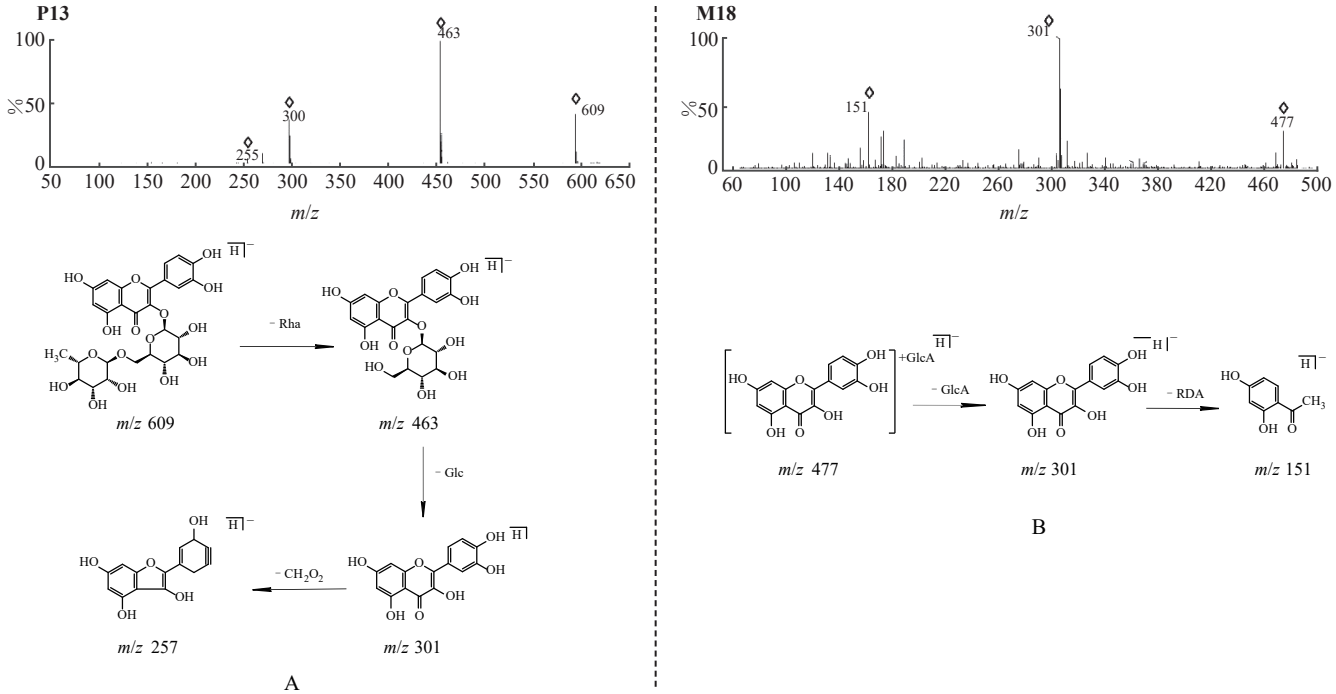


图 3　芦丁（A）、槲皮素葡萄糖醛酸化产物（B）的二级质谱图和推断的裂解途径

Fig.3　MS^2 Spectra and Inferred Fragmentation Pathways for Rutin (A) and Glucuronidation Product of Quercetin (B)

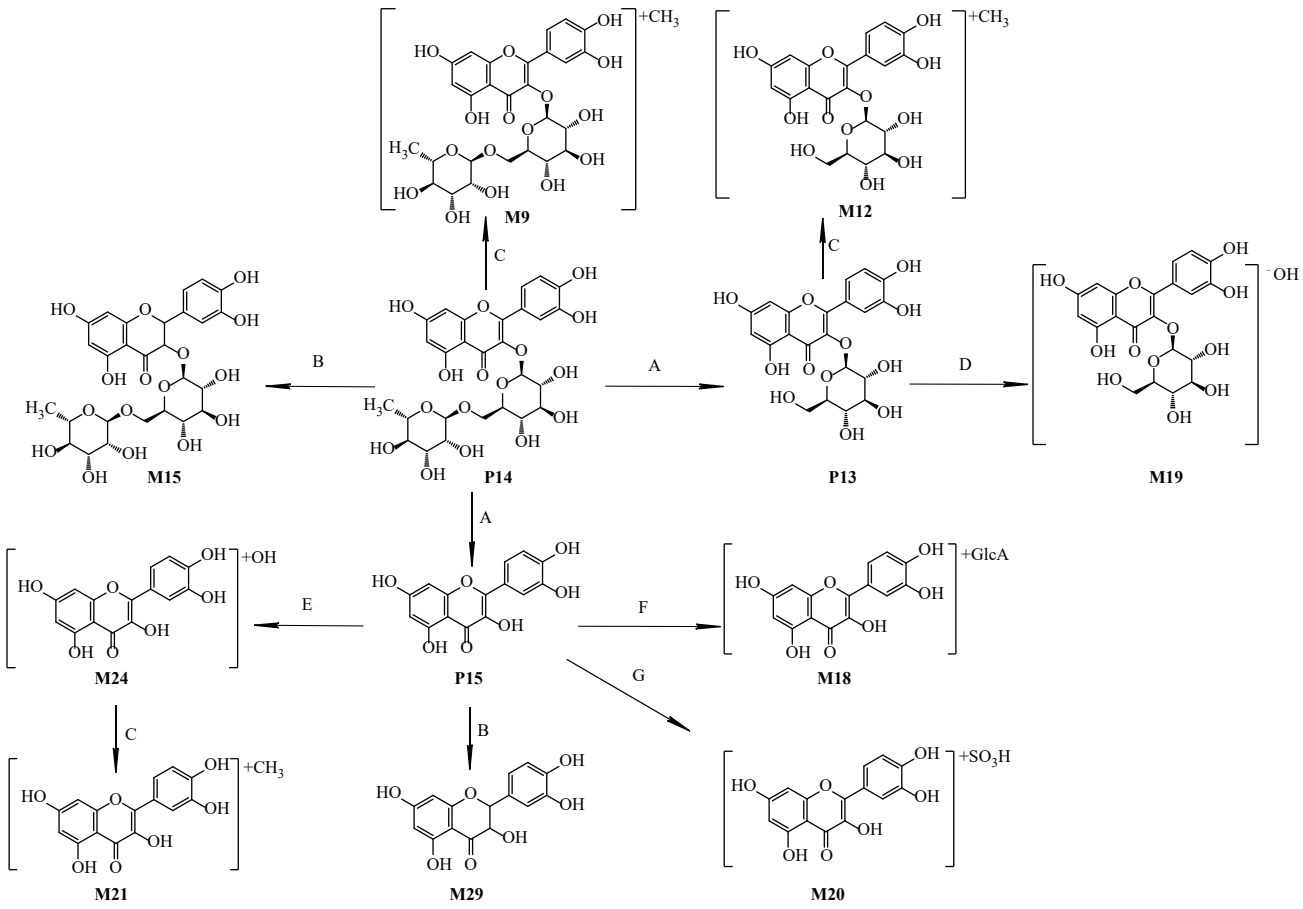
（芦丁）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 315.052 2 [M－H－$C_{12}H_{21}O_9$]⁻ 是分子离子丢失 1 个芸香糖基产生的，碎片离子 *m/z* 257.042 9[M－H－$C_{12}H_{21}O_9$－RDA]⁻ 是分子离子丢失 1 个芸香糖基后发生 RDA 裂解产生的；推测其为甲基芦丁[9—10]。化合物 **M12**（t_R=6.47 min）给出分子离子峰 *m/z* 477.065 6 [M+H]⁺，与化合物 **P14**（异槲皮苷）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 315.052 2[M+H－Glc]⁺ 是分子离子丢失 1 个葡萄糖基产生的，与化合物 **P14**（异槲皮苷）碎片离子相差 14，碎片离子 *m/z* 273.028 1、*m/z* 257.042 9[M+H－Glc－RDA]⁺ 是分子离子丢失 1 个葡萄糖基后发生 RDA 裂解产生的；推测其为甲基异槲皮苷[11—12]。化合物 **M19**（t_R=8.04 min）给出分子离子峰 *m/z* 447.089 3[M－H]⁻，与化合物 **P14**（异槲皮苷）质量数相差 16，碎片离子 *m/z* 271.028 1、*m/z* 257.042 9[M－H－Glc－RDA]⁻ 是分子离子丢失 1 个葡萄糖基后发生 RDA 裂解产生的；推测其为异槲皮苷去羟基化产物[10—11]。化合物 **M29**（t_R=12.45 min）给出分子离子峰 *m/z* 305.066 3[M+H]⁺，与化合物 **P15**（槲皮素）质量数相差 2，碎片离子 *m/z* 153.046 5 [M+H－RDA]⁺ 是分子离子发生 RDA 裂解产生的；推测其为二氢槲皮素[11—12]。化合物 **M24**（t_R=9.80 min）给出分子离子峰 *m/z* 319.046 2[M+H]⁺，与化合物 **P15**（槲皮素）质量数相差 16，碎片离子 *m/z* 273.170 9、*m/z* 257.042 9[M+H－RDA]⁺ 是分子离子发生 RDA 裂解产生的；推测其为槲皮素的羟基化产物[11—12]。化合物 **M21**（t_R=8.69 min）给出分子离子峰 *m/z* 333.061 9[M+H]⁺，与化合物 **M24**（槲皮素羟基化产物）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 273.170 9、*m/z* 153.090 4[M+H－RDA]⁺ 是分子离子发生 RDA 裂解产生的；推测其为槲皮素羟基化和甲基化产物[11—12]。化合物 **M18**（t_R=7.95 min）给出分子离子峰 *m/z* 477.065 5[M－H]⁻，与化合物 **P15**（槲皮素）质量数相差 176，碎片离子 *m/z* 301.030 7 [M－H－GlcA]⁻、*m/z* 151.004 4[M－H－GlcA－RDA]⁻ 是分子离子发生 RDA 裂解产生的；推测其为槲皮素葡萄糖醛酸化产物[11—12]，其裂解过程如图 3B 所示。化合物 **M20**（t_R=8.16 min）给出分子离子峰 *m/z* 383.005 7[M+H]⁺，与化合物 **P15**（槲皮素）质量数相差 80，碎片离子 *m/z* 303.210 7、*m/z* 153.080 4[M+H－RDA]⁺ 是分子离子发生 RDA 裂解产生的；推测其为槲皮素硫酸酯化产物[11—12]。

综上所述，枸杞子中黄酮类主要成分在大鼠体内的代谢途径如图 4 所示。

2.6.2 酚酸类成分代谢产物鉴定及代谢途径分析

咖啡酸、阿魏酸等单酚酸类物质可经胃肠道直接吸收，而多酚酸较难吸收入体内，常在胃肠道被菌、酶代谢为单酚酸后吸收入血。该类化合物在体内代谢主要发生甲基化、葡萄糖醛酸化等反应；发生裂解时易脱去咖啡酰基（*m/z* 162）、奎尼酸（*m/z* 174）、阿魏酰基（*m/z* 176）等基团，同时易丢失中性基团 CO、CO_2、H_2O 等产生碎片离子[8]。

化合物 **P5**（t_R=3.72 min）给出分子离子峰 *m/z* 353.086 2[M－H]⁻，推断其分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$；碎片离子 *m/z* 191.052 9[M－H－$C_9H_6O_3$]⁻ 是分子离子丢失 1 个 $C_9H_6O_3$ 基团产生的；碎片离子 *m/z* 179.033 5[M－H－$C_7H_{10}O_5$]⁻ 是分子离子丢失 1 个 $C_7H_{10}O_5$ 基团产生的；碎片离子 *m/z* 173.043 8[M－H－$C_9H_6O_3$－H_2O]⁻ 是分子离子丢失 1 个 $C_9H_6O_3$ 基团再丢失 1 个 H_2O 产生的；碎片离子 *m/z* 135.043 0 [M－H－$C_7H_{10}O_5$－CO_2]⁻ 是分子离子丢失 1 个 $C_7H_{10}O_5$ 基团再丢失 1 个 CO_2 基团产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与绿原酸一致，故将化合物 **P5** 鉴定为绿原酸，其裂解过程如图 5A 所示。化合物 **P6**（t_R=3.82 min）给出分子离子峰 *m/z* 179.033 5[M－H]⁻，与化合物 **P5**（绿原酸）质量数相差 174（奎尼酸），碎片离子 *m/z* 163.038 4[M－H－O]⁻ 是分子离子丢失 1 个 O 产生的；碎片离子 *m/z* 135.043 0[M－H－CO_2]⁻ 是分子离子丢失 1 个 CO_2 产生的；碎片离子 *m/z* 119.051 9 [M－H－O－CO_2]⁻ 是分子离子丢失 1 个 O 再丢失 1 个 CO_2 产生的；推测其为 **P5**（绿原酸）水解产物咖啡酸[12—14]。化合物 **P7**（t_R=3.91 min）给出分子离子峰 *m/z* 191.056 1[M－H]⁻，与化合物 **P5**（绿原酸）质量数相差 162，碎片离子 *m/z* 176.025 1[M－H－CH_3]⁻ 是分子离子丢失 1 个 CH_3 产生的；碎片离子



A—水解；B—还原加氢；C—甲基化；D—去羟基化；E—羟基化；F—葡萄糖醛酸化；G—硫酸酯化。

图 4　黄酮类化合物体内代谢途径

Fig.4　Metabolic Pathways of Flavonoids *in vivo*

m/z 111.055 8[M－H－2H_2O－CO_2]⁻ 是分子离子丢失 2 个 H_2O 再丢失 1 个 CO_2 产生的；推测其为 **P5**（绿原酸）的水解产物奎尼酸[12—14]。化合物 **P2**（t_R=0.73 min）给出分子离子峰 *m/z* 337.076 8[M－H]⁻，推断分子式为 $C_{12}H_{18}O_{11}$，碎片离子 *m/z* 277.058 9[M－H－O－CO_2]⁻ 是分子离子丢失 1 个 O 再丢失 CO_2 基团产生的，推测化合物 **P2** 为枸杞酸[15]。化合物 **P10**（t_R=5.09 min）给出分子离子峰 *m/z* 163.038 4[M－H]⁻，推断其分子式为 $C_9H_8O_3$，其碎片离子 *m/z*119.048 8[M－H－CO_2]⁻ 是分子离子丢失 1 个 CO_2 基团产生的；碎片离子 *m/z* 107.048 8[M+H－CO－CO]⁻ 是分子离子丢失 2 个 CO 基团产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与 3- 羟基肉桂酸一致，故将化合物 **P10** 鉴定为 3- 羟基肉桂酸。化合物 **M6**（t_R=5.42 min）给出分子离子峰 *m/z* 515.140 5[M－H]⁻，与化合物 **P5**（绿原酸）质量数相差 162，碎片离子 *m/z* 179.053 6、*m/z* 135.043 0 与 **P5**（绿原酸）碎片离子一致；推测其为绿原酸葡萄糖糖基化产物[13—14]，其裂解过程如图 5B 所示。化合物 **M1**（t_R=3.85 min）给出分子离子峰 *m/z* 367.101 2[M－H]⁻，与化合物 **P5**（绿原酸）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 205.063 5、*m/z* 193.054 6 与绿原酸碎片离子相差 14；推测其为甲基绿原酸[13—14]。化合物 **M4**（t_R=4.15 min）给出分子离子峰 *m/z*221.044 1[M－H]⁻，与化合物 **P6**（咖啡酸）质量数相差 42，碎片离子 *m/z* 163.065 4、*m/z* 119.051 9 与 **P6** 碎片离子一致；推测其为咖啡酸乙酰化产物[13—14]。化合物 **M8**（t_R=5.74 min）给出分子离子峰 *m/z* 529.156 6[M－H]⁻，与化合物 **M1**（甲基绿原酸）质量数相差 162，碎片离子 *m/z* 205.063 5、*m/z* 193.054 6 与

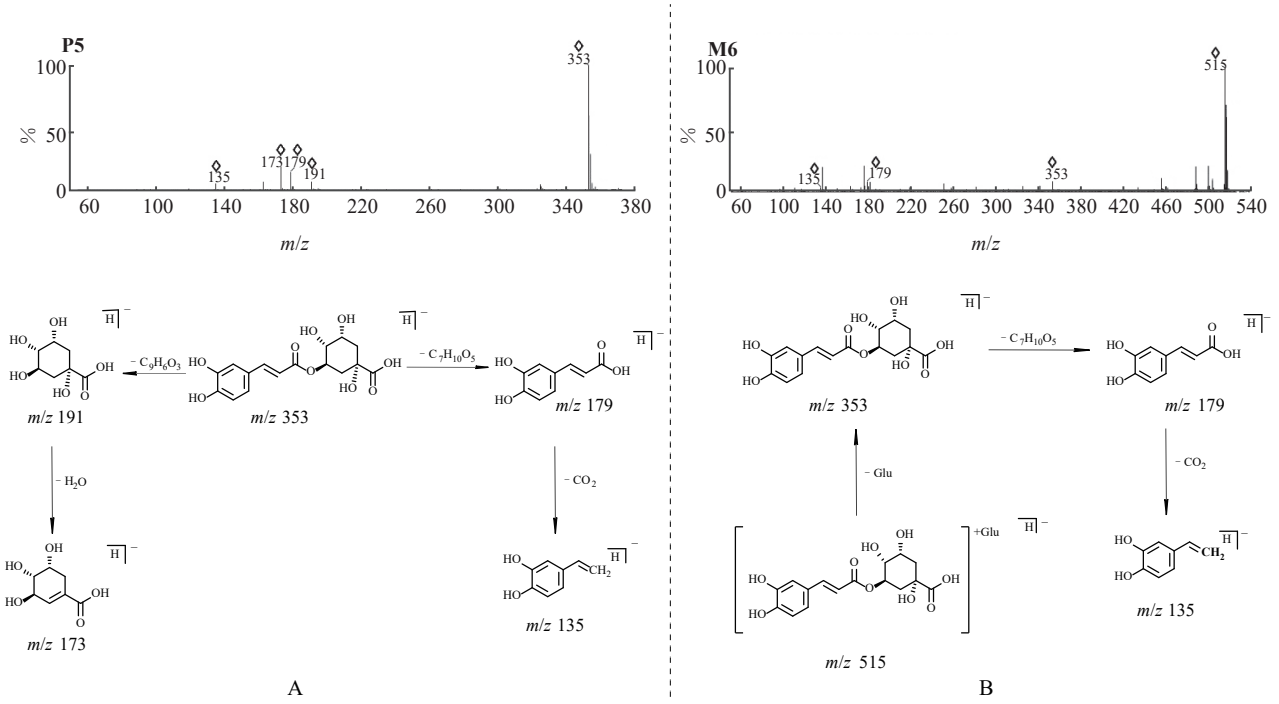


图 5 绿原酸（A）、绿原酸葡萄糖糖基化产物（B）的二级质谱图和推断的裂解途径

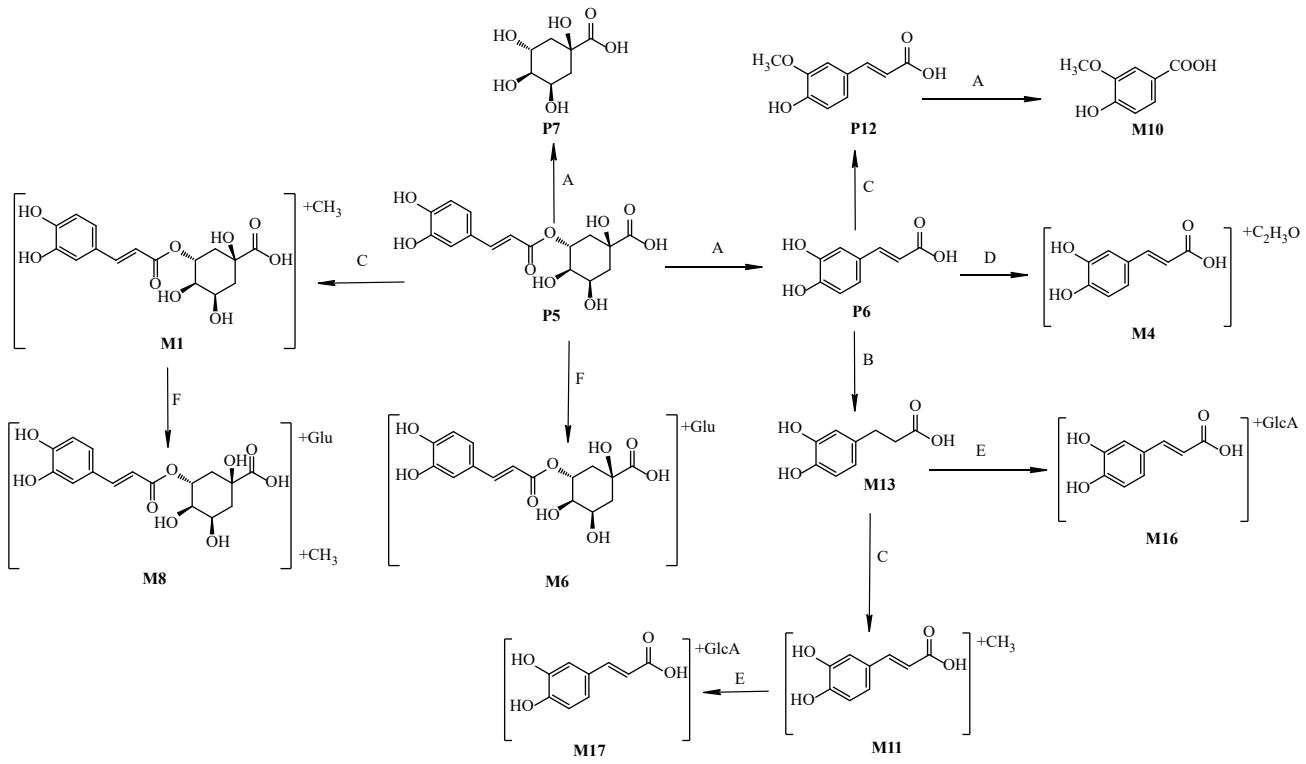
Fig.5 MS^2 Spectra and Inferred Fragmentation Pathways for Chlorogenic Acid (A) and Its Glucose Glycosylation Product (B)

M1 碎片离子一致；推测其为甲基绿原酸葡萄糖糖基化产物[13—14]。化合物 **M13**（t_R=6.47 min）给出分子离子峰 *m/z* 181.050 3[M－H]⁻，与化合物 **P6**（咖啡酸）质量数相差 2，碎片离子 *m/z* 165.029 4、*m/z* 121.061 4 与 **P6** 碎片也相差 2；推测其为二氢咖啡酸[13—14]。化合物 **P12**（t_R=5.93 min）给出分子离子峰 *m/z* 195.066 5[M+H]⁺，推断其分子式为 $C_{10}H_{10}O_4$，其碎片离子 *m/z* 180.042 7[M+H－CH_3]⁺ 是分子离子丢失 1 个 CH_3 基团产生的；碎片离子 *m/z* 151.072 0[M+H－CO_2]⁺ 是分子离子丢失 1 个 CO_2 基团产生的；碎片离子 *m/z* 136.047 6[M+H－CO_2－CH_3]⁺ 是分子离子丢失 1 个 CO_2 基团，再进一步丢失 1 个 CH_3 基团产生的。故将化合物 **P12** 鉴定为阿魏酸，其与化合物 **P6**（咖啡酸）质量数相差 14，且碎片裂解方式类似，故推测其可能为 咖啡酸甲基化产物[12—14]。化合物 **M16**（t_R=7.13 min）给出分子离子峰 *m/z* 357.083 0[M－H]⁻，与化合物 **M13**（二氢咖啡酸）质量数相差 176，碎片离子 *m/z* 165.029 4 与 **M13** 碎片一致；推测其为二氢咖啡酸葡萄糖醛酸化产物[13—14]。化合物 **M11**（t_R=6.23 min）给出分子离子峰 *m/z* 195.065 2[M－H]⁻，与化合物 **M13**（二氢咖啡酸）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 135.062 2 与 **M13** 碎片相差 14；推测其为二氢咖啡酸甲基化产物[13—14]。化合物 **M10**（t_R=6.11 min）的分子离子峰为 *m/z* 167.034 9[M－H]⁻，与化合物 **P12**（阿魏酸）质量数相差 26，碎片离子 *m/z* 136.047 6 与 **P12** 碎片一致；推测其为阿魏酸水解产物香草酸[13—14]。化合物 **M17**（t_R=7.59 min）给出分子离子峰 *m/z* 371.098 8[M－H]⁻，与化合物 **M11**（二氢咖啡酸甲基化产物）质量数相差 176，碎片离子 *m/z* 135.062 2 与 **M11** 碎片一致；推测其为二氢咖啡酸的甲基化产物和葡萄糖醛酸化产物[13—14]。

综上所述，枸杞子酚酸类主要成分在大鼠体内的代谢途径如图 6 所示。

2.6.3 香豆素类成分代谢产物鉴定及代谢途径分析

香豆素类化合物大多经过体内代谢排出体外，在体内主要通过小肠吸收，经细胞色素 P450 催化反应。香豆素类化合物的主要代谢器官为肝和肾，主



A—水解；B—还原加氢；C—甲基化；D—乙酰化；E—葡萄糖醛酸化；F—葡萄糖糖基化。

图 6　酚酸类化合物体内代谢途径

Fig.6　Metabolic Pathways of Phenolic Acids *in vivo*

要代谢途径为羟基化、脱氢、去甲基化、水解及结合代谢。香豆素类化合物通常会丢失 H_2O、CO 和 CO_2 等基团。此外，由于该类化合物具有酚羟基、羧基等含氧官能团，可与糖环上的羟基脱水缩合形成苷类化合物，因此，常见糖残基的中性丢失，例如葡萄糖残基和木糖残基等[16—17]。

化合物 **P4**（t_R=3.50 min）给出分子离子峰 *m/z* 355.101 2[M+H]$^+$，推断其分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$。其碎片离子 *m/z* 193.050 2[M+H－$C_6H_{10}O_5$]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团产生的；碎片离子 *m/z* 178.033 6[M+H－$C_6H_{10}O_5$－CH_3]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 CH_3 基团产生的；碎片离子 *m/z* 137.230 5[M+H－$C_6H_{10}O_5$－CO－CO]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 CO 基团，再丢失 1 个 CO 基团产生的；碎片离子 *m/z* 133.044 0[M+H－$C_6H_{10}O_5$－CO－CH_3OH]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 CO 基团，再丢失 1 个 CH_3OH 基团产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与东莨菪苷一致，故将化合物 **P4** 鉴定为东莨菪苷，其裂解过程如图 7A 所示。化合物 **P11**（t_R=5.73 min）给出分子离子峰 *m/z* 193.052 5[M+H]$^+$，推断其分子式为 $C_{10}H_8O_4$，其碎片离子 *m/z* 178.033 6[M+H－CH_3]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 CH_3 基团产生的；碎片离子 *m/z* 137.230 5[M+H－CO－CO]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 CO 基团，再进一步丢失 1 个 CO 基团产生的；碎片离子 *m/z* 133.044 0[M+H－CO－CH_3OH]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 CO 基团，再进一步丢失 1 个 CH_3OH 基团产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与东莨菪素一致，故将化合物 **P11** 鉴定为东莨菪素。化合物 **M3**（t_R=4.10 min）给出分子离子峰 *m/z* 357.117 9[M+H]$^+$，与化合物 **P4**（东莨菪苷）质量数相差 2，碎片离子 *m/z* 195.065 3、139.110 5、135. 037 3 与 **P4** 碎片相差 2；推测其为二氢东莨菪苷[18—20]。化合物 **M14**（t_R=6.55 min）给出分子离子峰 *m/z* 195.065 2[M+H]$^+$，与化合物 **P11**

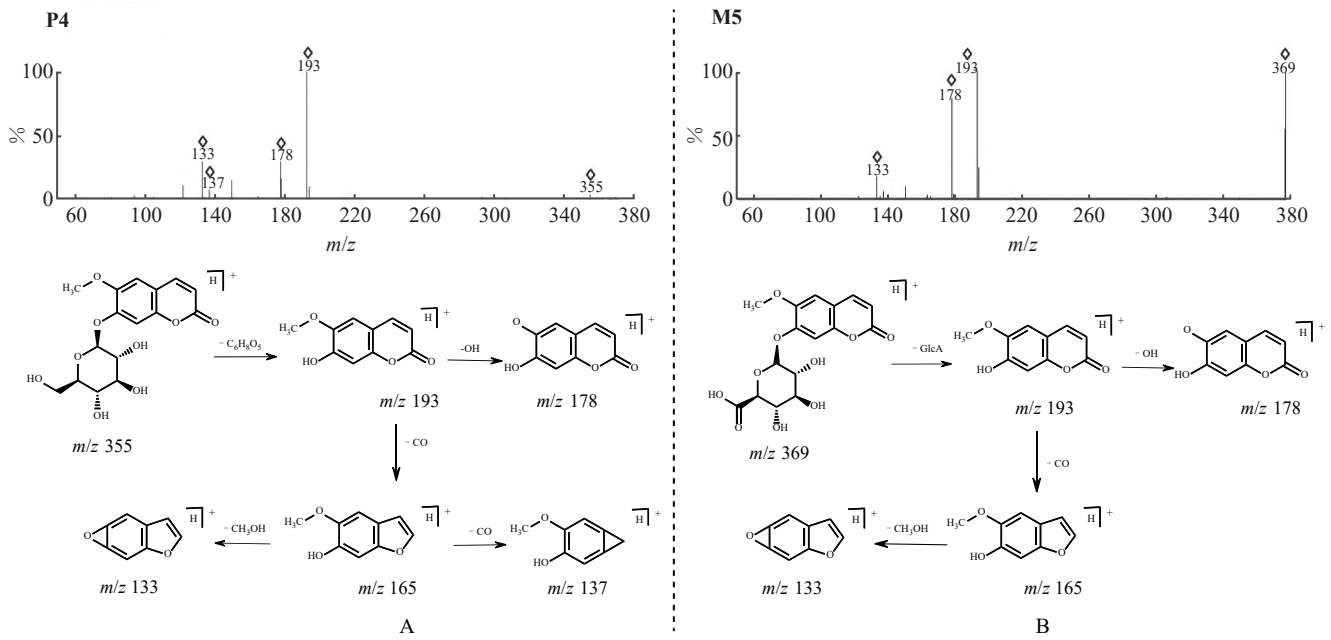


图 7 东莨菪苷（A）、东莨菪素葡萄糖醛酸化产物（B）的二级质谱图和推断的裂解途径

Fig.7 MS^2 Spectra and Inferred Fragmentation Pathways for Scopolin (A) and Its Glucuronidation Product (B)

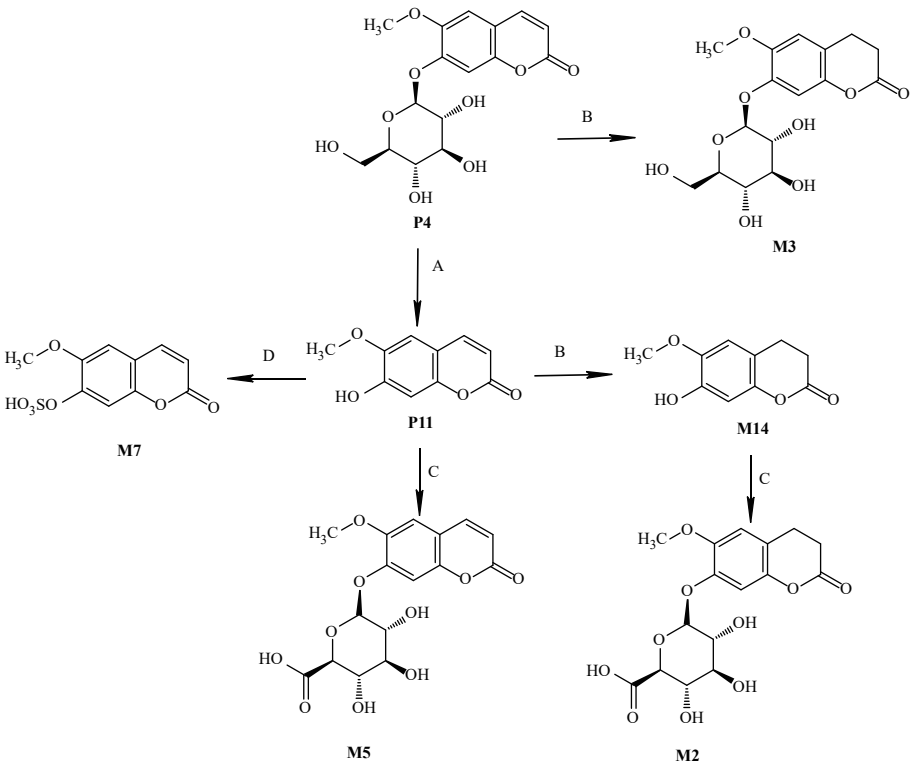
（东莨菪素）质量数相差 2，碎片离子 *m/z* 180.032 6、*m/z* 135.043 9 与 **P11** 碎片相差 2；推测其为二氢东莨菪素[18—20]。化合物 **M5**（t_R=5.01 min）给出分子离子峰 *m/z* 369.081 6[M+H]$^+$，与化合物 **P11**（东莨菪素）质量数相差 176，碎片离子 *m/z* 178.031 6、*m/z* 133.043 9 与 **P11** 碎片一致；推测其为东莨菪素葡萄糖醛酸化产物[17—19]，其裂解过程如图 7B 所示。化合物 **M7**（t_R=5.62 min）给出分子离子峰 *m/z* 273.007 4[M+H]$^+$，与化合物 **P11**（东莨菪素）质量数相差 80，碎片离子 *m/z* 178.031 7、*m/z* 133.042 9 与 **P11** 碎片一致；推测其为东莨菪素磺酸化产物[18—20]。化合物 **M2**（t_R=3.97 min）给出分子离子峰 *m/z* 371.096 1[M+H]$^+$，与化合物 **M14**（二氢东莨菪素）质量数相差 176，碎片离子 *m/z* 180.032 6 与 **M14** 碎片一致；推测其为二氢东莨菪素葡萄糖醛酸化产物[18—20]。

综上所述，枸杞子香豆素类主要成分在大鼠体内的代谢途径如图 8 所示。

2.6.4 生物碱类成分代谢产物鉴定及代谢途径分析

生物碱类化合物在体内吸收较快；其结构中存在羟基、甲氧基等取代基团，因此经酰胺键断裂会进一步丢失 CO、H_2O、CH_3 等基团。亚精胺型酚酰胺也是较常见的类型之一，其以亚精胺为结构骨架，含有 2 个氨基和 1 个亚氨基。此类结构易发生 NH_3、C_4H_9N、CO 等中性丢失[21]。

化合物 **P1**（t_R=0.55 min）给出分子离子峰 *m/z* 118.087 3[M+H]$^+$，推断其分子式为 $C_5H_{11}NO_2$；其碎片离子 *m/z* 59.071 2[M+H－H_2O－C_2HO]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 H_2O，进一步丢失 1 个 C_2HO 基团产生的。通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与甜菜碱一致，故将化合物 **P1** 鉴定为甜菜碱。化合物 **P8**（t_R=4.19 min）给出分子离子峰 *m/z* 474.261 2[M+H]$^+$，推断其分子式为 $C_{25}H_{35}N_3O_6$，其碎片离子 *m/z* 312.190 5[M+H－$C_9H_6O_3$]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_9H_6O_3$ 基团产生的；碎片离子 *m/z* 222.115 6[M+H－$C_{13}H_{20}N_2O_3$]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_{13}H_{20}N_2O_3$ 基团产生的；故将化合物 **P8** 鉴定为 N^1,N^{10}-二氢咖啡酰亚精胺[8]。化合物 **P9**（t_R=4.51 min）给出分子离子峰 *m/z* 472.249 0[M+H]$^+$，推断其分子式为 $C_{25}H_{33}N_3O_6$，其碎片离子 *m/z* 310.210 1[M+H－$C_9H_6O_3$]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_9H_6O_3$ 基团产生的；碎片离子 *m/z* 293.183 2[M+H－$C_9H_6O_3$－NH_3]$^+$ 是分



A—水解；B—还原加氢；C—葡萄糖醛酸化；D—磺酸化。

图 8　香豆素类化合物体内代谢途径

Fig.8　Metabolic Pathways of Coumarins *in vivo*

子离子丢失 1 个 $C_9H_6O_3$，进一步丢失 NH_3 基团产生的；碎片离子 *m/z* 163.039 7[M+H－$C_{16}H_{27}N_3O_3$]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_{16}H_{27}N_3O_3$ 基团产生的；故将化合物 **P9** 鉴定为 N^1- 咖啡酰 -N^3- 二氢咖啡酰亚精胺[20]。化合物 **P16**（t_R=11.45 min）给出分子离子峰 *m/z* 304.155 2[M+H]$^+$，推断其分子式为 $C_{17}H_{21}NO_4$，其碎片离子 *m/z* 286.083 6[M+H－CO－CO]$^+$ 是分子离子丢失 2 个 CO 基团产生的；碎片离子 *m/z* 274.201 2[M+H－CH_2O]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 HCHO 基团产生；碎片离子 *m/z* 156.231 0[M+H－$C_9H_8O_2$]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_9H_8O_2$ 基团产生；通过与对照品对比，该化合物的保留时间、二级质谱碎片与东莨菪碱一致，故将化合物 **P16** 鉴定为东莨菪碱，其裂解过程如图 9A 所示。化合物 **M25**（t_R=10.29 min）给出分子离子峰 *m/z* 286.144 8[M+H]$^+$，与化合物 **P16**（东莨菪碱）质量数相差 18，碎片离子 *m/z* 274.201 2、*m/z* 156.231 3 与 **P16** 碎片一致；推测其为东莨菪碱脱水产物[22—24]。化合物 **M28**（t_R=12.05 min）给出分子离子峰 *m/z* 320.150 4[M+H]$^+$，与化合物 **P16**（东莨菪碱）质量数相差 16，碎片离子 *m/z* 290.140 1、*m/z* 172.232 3 与 **P16** 碎片相差 16；推测其为东莨菪碱羟基化产物[21—23]，其裂解过程如图 9B 所示。化合物 **M23**（t_R=9.77 min）给出分子离子峰 *m/z* 290.140 1[M+H]$^+$，与化合物 **P16**（东莨菪碱）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 260.201 5、*m/z* 142.232 3 与 **P16** 碎片相差 14；推测其为东莨菪碱去甲基化产物[22—24]。化合物 **M22**（t_R=9.26 min）给出分子离子峰 *m/z* 156.102 5[M+H]$^+$，与化合物 **P16**（东莨菪碱）质量数相差 148，碎片离子 *m/z* 156.102 5 与 **P16** 碎片一致；推测其为东莨菪碱水解产物东莨菪醇[22—24]。化合物 **M26**（t_R=10.96 min）给出分子离子峰 *m/z* 142.086 5[M+H]$^+$，与化合物 **M22**（东莨菪醇）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 142.086 5 与 **M22** 碎片相差 14；推测其为东莨菪醇去甲基化产物[22—24]。

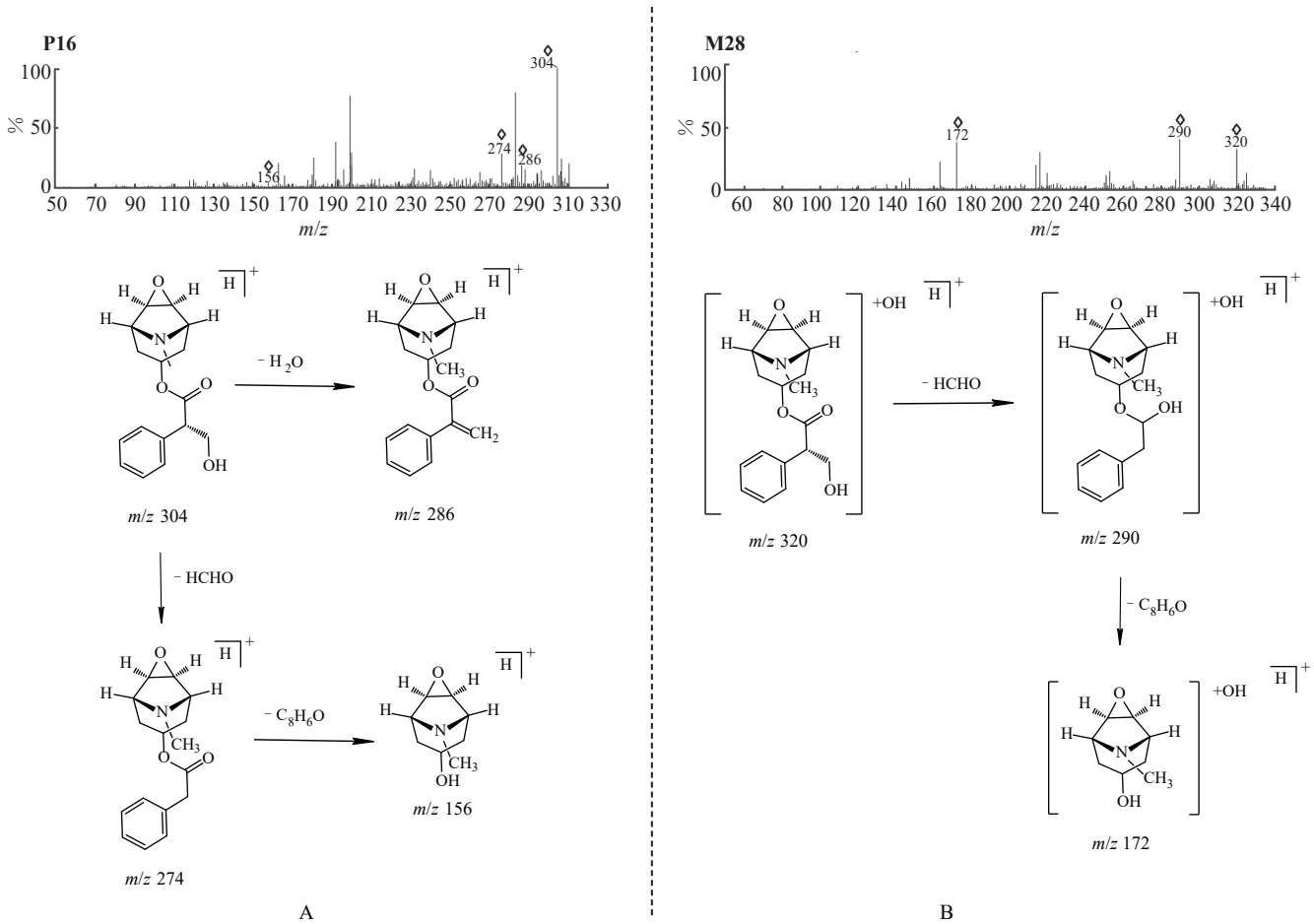


图 9 东莨菪碱（A）、东莨菪碱羟基化产物（B）的二级质谱图和推断的裂解途径

Fig.9 MS^2 Spectra and Inferred Fragmentation Pathways for Scopolamine (A) and Its Hydroxylation Product (B)

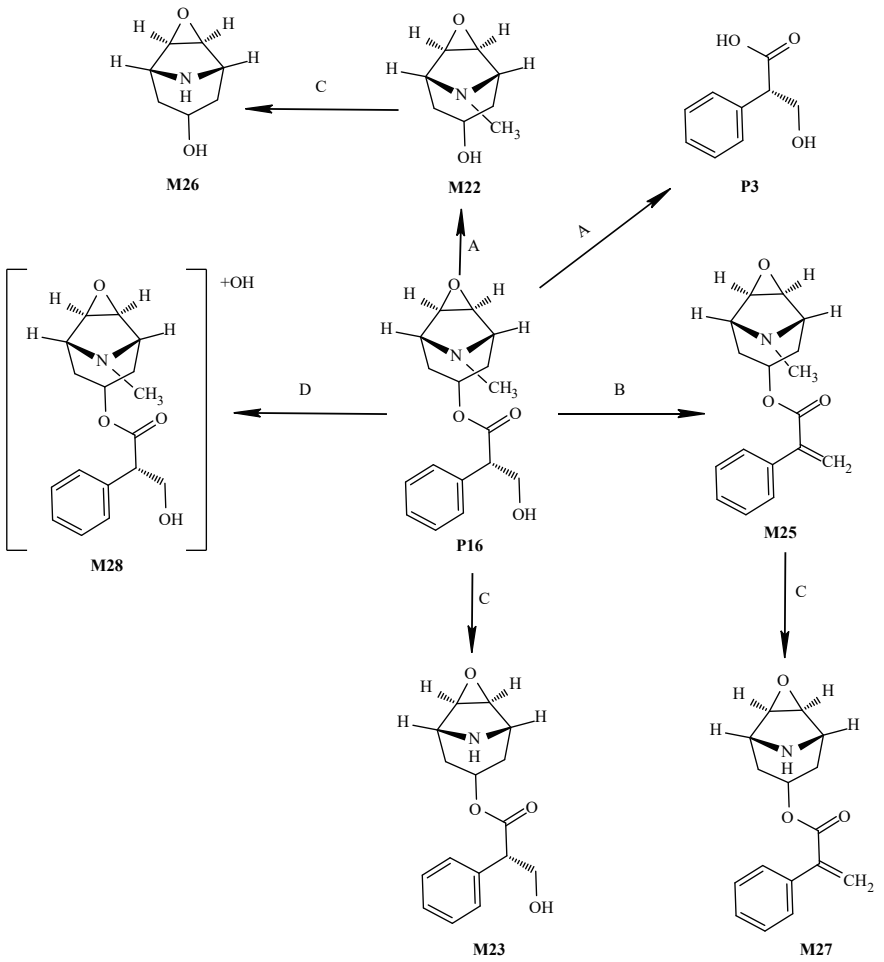
化合物 **M27**（t_R=11.35 min）给出分子离子峰 *m/z* 272.128 3[M+H]$^+$，与化合物 **M25**（东莨菪碱脱水产物）质量数相差 14，碎片离子 *m/z* 156.231 0 与 **M25** 碎片离子一样；推测其为东莨菪碱的脱水和去甲基化产物[22—24]。化合物 **P3**（t_R=1.28 min）给出分子离子峰 *m/z* 167.071 2[M+H]$^+$，与化合物 **P16**（东莨菪碱）质量数相差 137，碎片离子 *m/z* 123.052 1 [M+H－CO_2]$^+$ 是分子离子丢失 1 个 CO_2 基团产生；推测其为东莨菪碱水解产物托品酸[22—24]。

综上所述，枸杞子生物碱类主要成分在大鼠体内代谢途径如图 10 所示。

3 讨论

枸杞子在体内主要发生Ⅰ相反应和Ⅱ相反应 2 类生物转化，Ⅰ相反应中药物主要发生氧化、还原、水解等反应；Ⅱ相反应中药物主要与一些大分子内源性物质如葡萄糖醛酸、硫酸等相结合，从而增加药物的水溶性[25—28]。

前期研究表明，枸杞子水提物及醇提物均有较好的拟雌激素活性，为了更好地为后期研究奠定基础，本研究采用合并水提物及醇提物作为灌胃溶液。为排除首过效应的干扰，全面解析枸杞子成分的体内过程，本研究选择采取连续 7 d 给药的方案。结果表明，枸杞子中的黄酮类成分在体内主要发生Ⅰ相反应（水解、还原加氢、去羟基化）和Ⅱ相反应（羟基化、甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化），尿液为其主要排泄途径。酚酸类成分在体内发生Ⅰ相反应（水解、还原加氢）和Ⅱ相反应（甲基化、乙酰化、葡萄糖醛酸化），尿液与粪便为其主要排泄途径。香豆素类成分在体内发生Ⅰ相反应（水解、还原加氢）和Ⅱ相反应（甲基化、葡萄糖醛酸



A—水解；B—脱水；C—去甲基化；D—羟基化。

图 10　生物碱类化合物体内代谢途径

Fig.10　Metabolic Pathways of Alkaloids *in vivo*

化、磺酸化），其在血清、尿液、粪便、胆汁中均有出现，胆汁为主要排泄途径。生物碱类成分在体内发生Ⅰ相反应（水解、脱水、羟基化、去甲基化），并未检测到Ⅱ相代谢产物，尿液与粪便为其主要排泄途径。大部分成分在体内通常以原型或以Ⅰ相代谢物的形式转化为极性更大的Ⅱ相代谢产物，从而利于其在体内的转运。发生Ⅰ相反应后的一部分代谢物会再发生与葡萄糖醛酸等结合的Ⅱ相反应，进一步增大代谢物的极性，推测这可能是发生Ⅱ相反应的代谢产物大部分经由粪便和胆汁排出的原因。此外，胆汁和粪便是三者代谢的主要途径，提示除了在肝脏中代谢以外，在肠道中与微生物相关的共代谢也是不可忽视的，后续还需深入研究[29—31]。

综上所述，本试验从各生物样品中共鉴定出 17 个原型成分及 29 个代谢产物，其代谢途径包括Ⅰ相反应（羟基化、去羟基化、去甲基化、水解、还原）和Ⅱ相反应（甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化、磺酸化），进一步明确了枸杞子的体内代谢过程，为枸杞子后续研究提供了理论基础与试验依据，对阐明枸杞子药效物质基础和后续开发利用具有重要意义。

参考文献：

[1]　段　昊，刘改改，松　伟，等．枸杞子在我国保健食品中的应用［J］．食品工业科技，2024, **45**(6)：12-23.

[2]　王　宇，任雪阳，李留洋，等．基于数据挖掘和复杂网络的枸杞子提取物保健食品组方规律及质量控制分析［J］．食品与发酵工业，2023, **49**(22)：199-207.

[3]　NIU Y H, LIAO J L, ZHOU H T, *et al*. Flavonoids from *Lycium barbarum* leaves exhibit anti-aging effects through the

redox-modulation [J]. *Molecules*, 2022, **27**(15): 4952.

[4] MA R H, ZHANG X X, THAKUR K, *et al*. Research progress of *Lycium barbarum* L. as functional food: phytochemical composition and health benefits [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2022, **47**: 123-135.

[5] 童丽梅, 姜胤秀, 郭 盛, 等. 枸杞子药食产品研究现状及开发策略分析 [J]. 南京中医药大学学报, 2023, **39**(9): 943-953.

[6] 潘福璐, 韩 星, 冀艳华, 等. 基于多成分药物代谢的枸杞子质控成分遴选研究 [J]. 世界中医药, 2020, **15**(13): 1865-1871.

[7] 宗 政, 胡 扬, 徐蓓蕾, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 和网络药理学探讨菟丝子 - 枸杞子药对治疗早发性卵巢功能不全的成分及机制 [J/OL]. 中成药, 1-13[2024-07-05]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20240226.1619.002.html.

[8] 黄楷迪, 朱西杰, 牛 阳, 等. 复方蜥蜴散大鼠血浆、尿液、胆汁、粪便中代谢产物的鉴定 [J]. 中草药, 2022, **53**(3): 678-686.

[9] 伍明江, 吴晓磊, 张德芹, 等. UPLC-Q-TOF/MS 鉴定芦丁在大鼠体内的代谢产物 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, **23**(17): 91-97.

[10] 周鹏飞, 王建壮, 庞小雄, 等. 离体培养人肠道菌群对芦丁代谢的研究 [J]. 广东药学院学报, 2011, **27**(6): 582-586.

[11] 伍明江, 吴晓磊, 张德芹, 等. UPLC-Q-TOF/MS 鉴定大鼠口服桑叶黄酮后的体内物质 [J]. 中草药, 2017, **48**(14): 2832-2838.

[12] 唐明敏, 田恒康, 杨文宁, 等. 桑叶水提物及其含药血清化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, **22**(9): 25-29.

[13] 樊 荣, 羿国娟, 鲁兰等. 绿原酸及其 13 种体内主要代谢物的体外抗菌作用研究 [J]. 中草药, 2020, **51**(24): 6239-6245.

[14] 谢 岑, 钟大放, 陈笑艳. 鉴定大鼠注射绿原酸后体内的代谢产物 [J]. 药学学报, 2011, **46**(1): 88-95.

[15] 李 娜, 任 杰, 王丽卫, 等. 发酵枸杞酒沉淀物成分鉴定及稳定性提升研究 [J]. 食品工业科技, 2023, **44**(2): 41-50.

[16] 邓 放, 刘 欣, 郑振兴, 等. 5,7- 二甲氧基香豆素和 6,7- 二甲氧基香豆素在大鼠体内的代谢产物鉴定与代谢途径分析 [J]. 中草药, 2023, **54**(17): 5629-5639.

[17] SUN C H, WANG Y Z, SUN S Y. Fragmentaton pathwas of protonated coumarin by ES-QE-Orbitrap-MS/Ms coupled with DF T calculations [J]. *J Mass Spectrom*, 2020, **55**(5): e4496.

[18] 贾金茹, 彭 博, 李 婷, 等. 直接注射 - 多级质谱全扫描法快速分析枸杞子化学成分组 [J]. 质谱学报, 2022, **43**(3): 300-311.

[19] JING Z, QUAN W, YING M Z, *et al*. Simultaneous determination of three coumarins in rat plasma by HPLC-MS/MS for pharmacokinetic studies following oral administration of *Chimonanthi radix* extract [J]. *J Chromatogr Sci*, 2020, **1**: 201-209.

[20] 张 晶, 温 泉, 徐 旭, 等. 基于 UHPLC-QTOF-MS/MS 技术的铁筷子中 3 个香豆素在大鼠体内代谢研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, **43**(21): 4330-4338.

[21] 董晓茹. 龙葵素及莨菪烷类生物碱的中毒、检测及评价研究 [D]. 苏州: 苏州大学硕士学位论文, 2013.

[22] 陈怀侠, 杜 鹏, 韩凤梅, 等. 东莨菪碱及其大鼠肝匀浆代谢物的液相色谱 - 质谱法分析 [J]. 中草药, 2009, **40**(5): 719-721.

[23] 陈怀侠, 杜 鹏, 韩凤梅, 等. 东莨菪碱及其大鼠体内代谢物的电喷雾串联质谱研究 [J]. 质谱学报, 2007, (1): 40-45.

[24] 陈怀侠, 杜 鹏, 韩凤梅, 等. 液相色谱 - 串联质谱法鉴定大鼠血浆中的东莨菪碱及其代谢物 [J]. 分析化学, 2006, (6): 851-854.

[25] 赵佳琛, 金 艳, 闫亚美, 等. 经典名方中枸杞及地骨皮的本草考证 [J]. 中国现代中药, 2020, **22**(8): 1269-1286.

[26] 张祎盈, 吴励萍, 冯一帆, 等. 益气葆元方提取液在大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便中代谢产物鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2022, **47**(16): 4469-4479.

[27] 黄楷迪, 朱西杰, 牛 阳, 等. 复方蜥蜴散大鼠血浆、尿液、胆汁、粪便中代谢产物的鉴定 [J]. 中草药, 2022, **53**(3): 678-686.

[28] 吴 方, 刘 西, 梁永红, 等. 基于 MDF 的岩黄连水提物在大鼠血浆、尿液、胆汁及粪便中的代谢产物研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, **32**(1): 28-35.

[29] 赵秋龙, 卞晓坤, 钱大玮, 等. 桂枝茯苓胶囊在原发性痛经模型大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便中的代谢产物研究 [J]. 药物分析杂志, 2021, **41**(1): 51-63.

[30] 康立欣, 许振鹏, 刘 艳, 等. 关黄柏水提物在大鼠血清、尿液和粪便中原型成分及其代谢产物的 UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS 鉴定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, **27**(11): 139-146.

[31] 李慧芳, 袁天杰, 江 曙. 基于肠道微生物的口服药物生物利用度研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(9): 1262-1269.