

·药代动力学·

基于 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 和 UHPLC-QQQ-MS/MS 的栀子水提物代谢轮廓分析和药代动力学研究

何江¹, 史雯馨¹, 王诗琪¹, 龚普阳³, 洪怡^{1,2*}, 郭瑜婕^{1,2*}

(1. 湖北中医药大学 药学院 药物制剂中心, 湖北 武汉 430065;

2. 湖北时珍实验室, 湖北 武汉 430065;

3. 西南民族大学 药学院, 四川 成都 610041)

[摘要] 栀子是我国最常用的药食同源资源之一,具有抗炎和解热等功效,然而,有关栀子在体内的化学特征、代谢转化和药代动力学行为的研究尚不全面。该研究采用质量亏损过滤(mass defect filtering, MDF)技术,结合 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 对栀子水提物的体外化学成分和大鼠体内代谢轮廓进行分析,全面表征了 114 个化学成分和 181 个体内外源性相关物质,包括 18 个原型成分和 163 个外源性代谢产物(21 个 I 相代谢物和 142 个 II 相代谢物)。同时,建立 UHPLC-QQQ-MS/MS 定量方法对其中 7 种活性成分的体内动态过程进行分析,获得了栀子水提物体内主要活性成分京尼平苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、羟异栀子苷、京尼平、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷和西红花酸的药代动力学参数。该研究基于 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 结合 MDF 技术和 UHPLC-QQQ-MS/MS 对栀子水提物的潜在药效物质基础及其体内生物转化轮廓进行了全面系统的研究,为进一步进行药理机制研究提供了重要依据。

[关键词] 栀子水提物; 代谢轮廓; 药代动力学; UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS; UHPLC-QQQ-MS/MS

Metabolic profiling and pharmacokinetic studies of Gardeniae Fructus aqueous extracts by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS and UHPLC-QQQ-MS/MS

HE Jiang¹, SHI Wen-xin¹, WANG Shi-qi¹, GONG Pu-yang³, HONG Yi^{1,2*}, GUO Yu-jie^{1,2*}

(1. Center for Pharmaceutical Formulations, College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine,

Wuhan 430065, China; 2. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China;

3. School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Gardeniae Fructus (GF) is one of the most commonly used medicinal and edible resources in China, renowned for its anti-inflammatory and antipyretic effects. However, studies of the chemical characteristics, metabolic transformation and pharmacokinetic behavior of GF *in vivo* remain incomplete. This study utilized mass defect filtering (MDF) combined with UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS to analyze the *in vitro* chemical constituents of GF aqueous extracts and its metabolites *in vivo* in rats, comprehensively characterizing 114 chemical constituents and 181 endogenous substances, including 18 prototype constituents and 163 metabolites (21 phase I and 142 phase II metabolites). Additionally, a quantitative method using UHPLC-QQQ-MS/MS was developed to analyze the *in vivo* dynamics of seven bioactive compounds, and the pharmacokinetic parameters of the main active components in the GF aqueous extracts, namely geniposidic acid, deacetyl asperulosidic acid methyl ester, gardenoside, genipin,

[收稿日期] 2025-04-23

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(82204750)

[通信作者] *郭瑜婕, 博士, 副教授, 主要从事中药药效物质基础研究, E-mail: guoyujie2018@126.com; *洪怡, 博士, 副教授, 主要从事中药药效物质基础研究和药物新制剂、新剂型及新技术研究, E-mail: 46447564@qq.com

[作者简介] 何江, 硕士研究生, E-mail: 3171335247@qq.com

genipin 1- β -D-gentiobioside, geniposide, and crocetin, were obtained. This study conducted a comprehensive and systematic investigation into the potential material basis and the *in vivo* biotransformation profile of GF aqueous extracts based on UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS coupled with MDF technology and UHPLC-QQQ-MS/MS, providing crucial evidence for further elucidating its pharmacological mechanisms.

[**Key words**] Gardeniae Fructus aqueous extracts; metabolic profiling; pharmacokinetics; UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS; UHPLC-QQQ-MS/MS

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20251010.204

梔子为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实,是一种经典的药食同源中药,在临床实践中得到了广泛应用^[1-2]。现代研究表明,梔子中主要活性成分京尼平苷和西红花苷均对佐剂性关节炎具有显著疗效^[3]。课题组前期研究表明,佐剂性关节炎大鼠灌胃给药梔子提取物,可显著改善其病理特征,同时可通过调控 TNF- α 、IL-6、PGE2、IL-1 β 等炎症指标发挥抗炎作用^[4]。虽然梔子的药理作用已得到高度认可,但其体内移行成分、代谢产物及其作用机制仍不十分清楚,制约了其进一步临床应用和发展。同时,生物样本中外源性痕量物质检测的主要难点在于内源性干扰。质量亏损过滤(mass defect filtering, MDF)技术通过利用目标化合物的精确质量范围和质量亏损范围,能有效区分目标信号与背景噪声,显著提高鉴定准确性^[5]。

中药体内活性成分的药代动力学研究是整体阐明其药效作用的重要手段。但目前对梔子活性成分的研究多集中于京尼平苷^[6],其他成分的体内代谢过程仍不清楚,限制了对其药效机制的深入探究。中药化学成分复杂,同类化合物具有共同母核并可相互转化,且易与内源性物质结合,增加药代动力学研究难度。同时,体内代谢反应导致成分浓度动态变化,传统方法难以准确检测^[7]。目前 UHPLC-QQQ-MS/MS 凭借其快速分离能力、超高灵敏度和高选择性(MRM 模式),已成为中药药代动力学研究的首选技术^[8-9]。

因此,本研究利用 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 全面表征梔子水提物的化学成分,并结合 MDF 技术分析血浆中的梔子水提物原型成分及其代谢产物。同时建立 UHPLC-QQQ-MS/MS 方法进行多组分药代动力学研究,通过整合代谢轮廓与药代动力学数据,系统揭示梔子水提物的体内动态过程。

1 材料

1.1 动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠 12 只,体质量 180~200 g,

购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号 SYXK(鄂)2023-0067。实验动物操作均遵从湖北中医药大学实验动物伦理委员会审查并批准(审查号 HUCMS 06443382)。实验期间,维持动物房温度在 $(22\pm 2)^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $65\%\pm 5\%$,室内光昼夜交替,提供充足的饮食和饮水,在实验开始前,使其适应环境,适应性喂养 1 周。

1.2 药材

梔子(批号 210101)购自南京上元堂大药房,经湖北中医药大学杜鸿志副教授鉴定为茜草科植物梔子 *G. jasminoides* 的干燥成熟果实。

1.3 药物与试剂

对照品京尼平苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、羟异梔子苷、京尼平、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、西红花酸、芍药苷(成都德思特生物技术有限公司,批号分别为 DSTDJ004001、DST230801-069、DST210715-126、DST200317-041、DST211114-092、DST200713-032、DST221207-041、DSTDS007002,纯度均 $\geq 98\%$);甲酸(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 A2304430);甲醇、乙腈、二甲基亚砜(色谱纯,上海泰坦科技股份有限公司,批号分别为 P2699990、P2645296、P2200400)。

1.4 仪器

Xevo G2-XS Waters QTOF 飞行时间质谱仪(美国 Waters 公司);LCMS-8045 高效液相色谱-质谱仪(日本岛津公司);XPR2/A 电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];TGL-16M 高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);UPC-III-20T 超纯水仪(优普超纯科技有限公司);XH-B 多功能漩涡混合器(江苏天翎仪器有限公司);YM0205 超声波清洗器(深圳市方奥微电子有限公司);ND400 可视氮吹仪(杭州瑞诚仪器有限公司)。

2 方法

2.1 梔子水提物的制备

称取梔子 200.18 g,切成小块,用水浸泡 30 min

后,用水煎煮 1.5 h(1 600 mL,1:8),过滤,收集滤液,残渣用水煎煮 1.5 h(1 600 mL),过滤,合并滤液并浓缩至 0.2 g·mL⁻¹(约生药量 1 g·kg⁻¹), -20 ℃ 下保存备用。取上述浓缩液适量,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,作栀子水提物供试品溶液,保存在 4 ℃,待测。基于课题组前期建立的 HPLC 方法,测得栀子水提物中分析物的含量,其中京尼平苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、羟异栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、西红花酸的质量分数分别为 4.499、0.742、9.314、14.85、51.74、0.141 mg·g⁻¹。

2.2 栀子水提物给药后血浆的化学轮廓分析

2.2.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相 A 为 0.1%甲酸水,B 为乙腈;进样量 2 μL;柱温 30 ℃;流速 0.2 mL·min⁻¹;梯度洗脱程序见表 1。

表 1 代谢轮廓分析梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program for metabolic profiling

t/min	A/%	B/%
0	95	5
2	95	5
12	65	35
47	5	95
52	5	95
55	95	5
59	95	5

2.2.2 质谱条件 实验采用 HESI 离子源,正、负离子模式采集数据(m/z 50~1 500),MS^E 模式同步获取一、二级质谱信息。参数设置:离子源温度 100 ℃,脱溶剂温度 500 ℃,脱溶剂气(N₂)流量 500 L·h⁻¹,毛细管电压 2.5 kV,气帘气 50 L·h⁻¹;碰撞能量一级(10±10) eV、二级(35±10) eV。实验全程采用脑啡肽调谐液进行质量校正。

2.2.3 动物给药与采集血浆样品 实验前禁食 12 h,自由饮水。连续 7 d,每日灌胃给予栀子水提物,给药前及末次给药后 10、30、60、120、240 min 经眼眶静脉丛采血,置于涂有肝素的 EP 管中,4 ℃,5 000 r·min⁻¹ 离心 20 min 后分装上清液, -80 ℃ 保存。

2.2.4 血浆样品的制备 样本前处理流程:冰上复溶 1 h 后,取 100 μL 血清加入 300 μL 0.1%甲酸-甲醇溶液,涡旋 2 min 蛋白沉淀,4 ℃,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清液氮吹浓缩后,甲醇复溶,经涡

旋 30 s、超声 2 min 处理,再次 4 ℃,12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液进行 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 分析。

2.2.5 质谱数据分析 采用 UNIFI 1.8 软件(美国 Waters 公司)进行质谱数据处理和注释,具体参数设置:质量范围 m/z 50~1 500,保留时间 0.5~50.0 min,质量精度容差±5×10⁻⁶。通过 Mass FragmentTM 软件自动解析化学结构,并利用化合物筛选工作流程实现原型成分和代谢产物的自动表征^[10]。

2.3 栀子水提物药代动力学研究

2.3.1 溶液配制 对照品溶液:精密称取各对照品(京尼平苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、羟异栀子苷、京尼平、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷),甲醇溶解并定容至 0.1 mg·mL⁻¹;西红花酸先用 DMSO 溶解后,甲醇稀释至 0.2 mg·mL⁻¹。混合各储备液,甲醇稀释制备系列标准工作溶液。芍药苷(IS)储备液(0.1 mg·mL⁻¹)经甲醇稀释,配制成含 100 ng·mL⁻¹ IS 的 0.1%甲酸甲醇溶液,作为蛋白沉淀剂。所有溶液 4 ℃ 保存,备用。

标准样品:95 μL 空白血浆中加入 5 μL 含 7 种成分的混标工作溶液,使各成分质量浓度:京尼平苷酸 10~2 500 ng·mL⁻¹,去乙酰车叶草苷酸甲酯 5~500 ng·mL⁻¹,羟异栀子苷 5~500 ng·mL⁻¹,京尼平 5~500 ng·mL⁻¹,京尼平龙胆双糖苷 5~500 ng·mL⁻¹,京尼平苷 5~2 250 ng·mL⁻¹,西红花酸 20~2 000 ng·mL⁻¹。以 2 倍或 2.5 倍为间隔设置至少 6 个浓度点(含最低和最高浓度),加入 IS 并经前处理后制备系列标准样品。

质控(QC)样品:95 μL 空白血浆中加入 5 μL 含有 7 种成分的混标工作溶液,使各成分浓度为京尼平苷酸 20、200、2 000 ng·mL⁻¹,去乙酰车叶草苷酸甲酯 10、100、400 ng·mL⁻¹,羟异栀子苷 10、100、400 ng·mL⁻¹,京尼平 10、100、400 ng·mL⁻¹,京尼平龙胆双糖苷 10、100、400 ng·mL⁻¹,京尼平苷 10、100、1 800 ng·mL⁻¹,西红花酸 40、400、1 600 ng·mL⁻¹。加入 IS 并进行样品前处理后得到低、中、高浓度的 QC 样品。

2.3.2 给药与采集血浆样品 基于文献报道^[4]及课题组前期药效学研究结果显示,栀子水提物各剂量组(1、0.5、0.25 g·kg⁻¹)均能显著改善其病理特征,同时可通过调控 TNF-α、IL-6、PGE2、IL-17A、IL-1β 等炎症指标发挥抗炎作用,其中高剂量组(1 g

·kg⁻¹)的效果与阳性药相当甚至更优。为此,本研究选择 1 g·kg⁻¹剂量开展栀子水提物的代谢轮廓及药代动力学研究。

取 6 只健康雄性 SD 大鼠,给药前禁食 12 h,自由饮水,单次口服栀子水提物(剂量为 1 g·kg⁻¹),于给药后 0.083、0.167、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12、24 h 经眼底静脉丛取血约 0.5 mL,置于涂有肝素的 EP 管中,4 ℃,12 000 r·min⁻¹离心 20 min,取上清液,-80 ℃保存,备用。

2.3.3 血浆样品的制备 血浆样本采用蛋白沉淀法处理:取 100 μL 血浆,加入 400 μL 含内标(100 ng·mL⁻¹)的 0.1%甲酸甲醇溶液,涡旋 2 min,4 ℃,12 000 r·min⁻¹离心 10 min。取 400 μL 上清液氮吹至干,残渣用 100 μL 0.1%甲酸甲醇复溶(涡旋 30 s,超声 2 min),再加 100 μL 0.1%甲酸水溶液混匀,4 ℃,12 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清液进行 UHPLC-QQQ-MS/MS 分析。

2.3.4 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相 A 为 0.1%甲

酸水,B 为含 0.1%甲酸的甲醇;梯度洗脱程序见表 2;进样量 5 μL;柱温 30 ℃;流速 0.3 mL·min⁻¹。

表 2 药代动力学定量分析梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution program for pharmacokinetic quantitation

t/min	A/%	B/%
0	95	5
2	95	5
8	65	35
14	5	95
19	5	95
19.1	95	5
25	95	5

2.3.5 质谱条件 采用 HESI 离子源,MRM 模式,正、负离子模式切换检测;雾化气(N₂)3.0 L·min⁻¹,干燥气 10.0 L·min⁻¹;去溶剂化温度 250 ℃,离子源加热块温度 400 ℃;碰撞气(Ar)230 kPa。各成分的 MRM 离子对及优化参数见表 3。

表 3 用于定量的 MRM 模式参数

Table 3 Parameters of MRM mode for quantification

化合物	t _R /min	离子模式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	Q1/V	CE/V	Q3/V
京尼平苷酸	6.70	[M-H] ⁻	373.33	123.20	16	20	12
				211.05	17	14	10
京尼平苷	9.50	[M+HCOO] ⁻	433.37	225.05	11	13	15
				101.05	19	27	19
京尼平龙胆双糖苷	8.75	[M+HCOO] ⁻	595.51	225.00	28	22	15
				123.00	28	32	13
羟异栀子苷	7.15	[M+HCOO] ⁻	449.37	241.05	12	15	16
				127.30	11	31	23
京尼平	10.30	[M-H] ⁻	225.22	101.00	11	10	18
				123.10	11	7	13
去乙酰车叶草苷酸甲酯	6.75	[M+HCOO] ⁻	449.37	241.15	12	16	17
				101.10	11	30	10
西红花酸	15.00	[M+H] ⁺	329.41	311.05	-24	-9	-22
				293.15	-25	-11	-14
芍药苷	9.85	[M+HCOO] ⁻	525.46	449.05	26	14	22
				121.00	26	27	22

2.3.6 方法学考察 特异性:分析 6 批空白血浆、加标血浆(含 7 种目标成分及 IS)和给药 1 h 含药血浆的色谱图,评价特异性。

标准曲线的建立和定量下限:空白血浆添加 6 个浓度梯度的混合对照品,按 2.3.3 项方法处理后进样。以目标物与 IS 峰面积比对加标浓度进行加权(1/x²)线

性回归,建立标准曲线。LLOQ 为 S/N≥10 时的最低准确定量浓度,线性相关系数要求 r≥0.99。

准确度与精密度:在空白血浆中加入混合对照品及内标,配制低、中、高浓度 QC 样品(平行制备 6 份),连续 3 d 测定。采用随行标准曲线计算 RE(85%~115%)和 RSD(≤15%),验证方法的准确度

与精密度。

提取回收率与基质效应:对比空白血浆处理前后添加质控样品的色谱峰面积,计算目标化合物的提取回收率。同时,空白血浆基质配制的标准溶液与纯溶剂配制的标准溶液比较,考察基质效应。

稳定性:为考察目标成分在血浆中的稳定性,分别制备高、低浓度 QC 样品(平行制备 6 份),评估其在以下条件下的稳定性:室温 2 h、-80 °C 保存 15 d、3 次冻融循环、5 °C 自动进样器放置 44 h。

2.3.7 统计学数据处理 采用经验证的 UHPLC-QQQ-MS/MS 测定大鼠血浆中 7 种化合物的浓度,通过 DAS 2.0 软件(非房室模型)计算血药浓度达峰时间($T_{\max}$)、最大血药浓度($C_{\max}$)、消除半衰期($t_{1/2}$)、药时曲线下面积(AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$)等药代动力学参数。采用 GraphPad Prism 9.5 进行统计学分析,组间比较使用 T 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 栀子水提物化学成分分析

通过正、负离子模式的全扫描质谱图结合 MassLynx 4.1 数据处理,参照对照品、文献及数据库信息,对栀子水提物的化学成分进行鉴定,见图 1A。以化合物 **6** 为例,其在负离子模式下的前体离子为 m/z 405.138 2。MS/MS 谱图显示主要碎片离子 m/z 225.062 8、149.060 9,分别对应 $[M-C_6H_{10}O_5-H_2O]^-$ 和 $[M-H-C_6H_8O_6-CO_2-2H_2O]^-$ 的裂解过程。通过对其元素组成和同位素丰度的分析,推测分子式为 $C_{17}H_{24}O_{11}$,故最终确定化合物 **6** 为山栀苷甲酯,见图 1B。化合物 **8** 的前体离子为 m/z 391.124 0,较化合物 **6** 少 1 个 $-CH_2$ 基团。其特征碎片离子 m/z 229.033 9、211.060 8 证实其为山栀苷,见图 1C。采用相同方法鉴定化合物 **14**,其在负离子模式下产生的主要碎片离子包括 m/z 373.112 0 $[M-H]^-$ 、211.060 8 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 、193.050 3 $[M-H-C_6H_8O_6-H_2O]^-$ 、167.070 1 $[M-H-CO_2-C_6H_{10}O_5]^-$ 、149.060 9 $[M-CO_2-C_6H_8O_6]^-$ 、123.043 8 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_3H_4O_3]^-$,根据这些特征碎片离子及其裂解途径,最终确定化合物 **14** 为栀子酮苷,见图 1D。化合物 **15**、**18**、**21** 在质谱中均产生相同前体离子(m/z 405.138 2)及相似碎片离子(m/z 403.12、241.07),通过分析其不同的色谱保留行为,可有效区分这些化学极性和结构各异的化合物。初步共鉴

定了 114 个化合物,见表 4,其中环烯醚萜苷类 33 个,西红花苷类 13 个,单环单萜类 16 个,有机酸类 39 个,黄酮类 7 个和 6 个其他物质。

3.2 大鼠体内栀子水提物原型成分鉴定

基于已鉴定的栀子水提物化学成分,本研究进一步采用 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术分析其在大鼠血浆中的入血原型成分。通过对比分析,在给药大鼠血浆与栀子水提物色谱图中共定位 18 个特征峰(空白血浆中未检出),确认其为入血原型成分,按结构类型可分为 12 个环烯醚萜苷类、2 个西红花苷类、1 个单环单萜类和 3 个有机酸类,见表 5。

3.3 代谢产物的 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 分析

在含药血浆中出现但空白血浆及栀子水提物中均未检出的色谱峰,可能为外源性代谢物。这类物质的鉴定对阐明中药物质基础具有重要意义。本研究通过 UNIFI™ 软件分析,在栀子水提物灌胃大鼠血浆中鉴定出 163 个外源代谢物,包括 21 个 I 相代谢物和 142 个 II 相代谢物。代谢物结构类型分布:环烯醚萜类 58 个、西红花苷类 40 个、有机酸类 25 个、单萜类 16 个及黄酮类 24 个。外源代谢物的详细信息见中国知网本文增强出版附加材料。它主要经过还原、氧化、水解、羟基化等 I 相代谢途径和甲基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸化、谷胱甘肽结合等 II 相代谢途径,见图 2(以京尼平苷和京尼平龙胆双糖苷为例)。

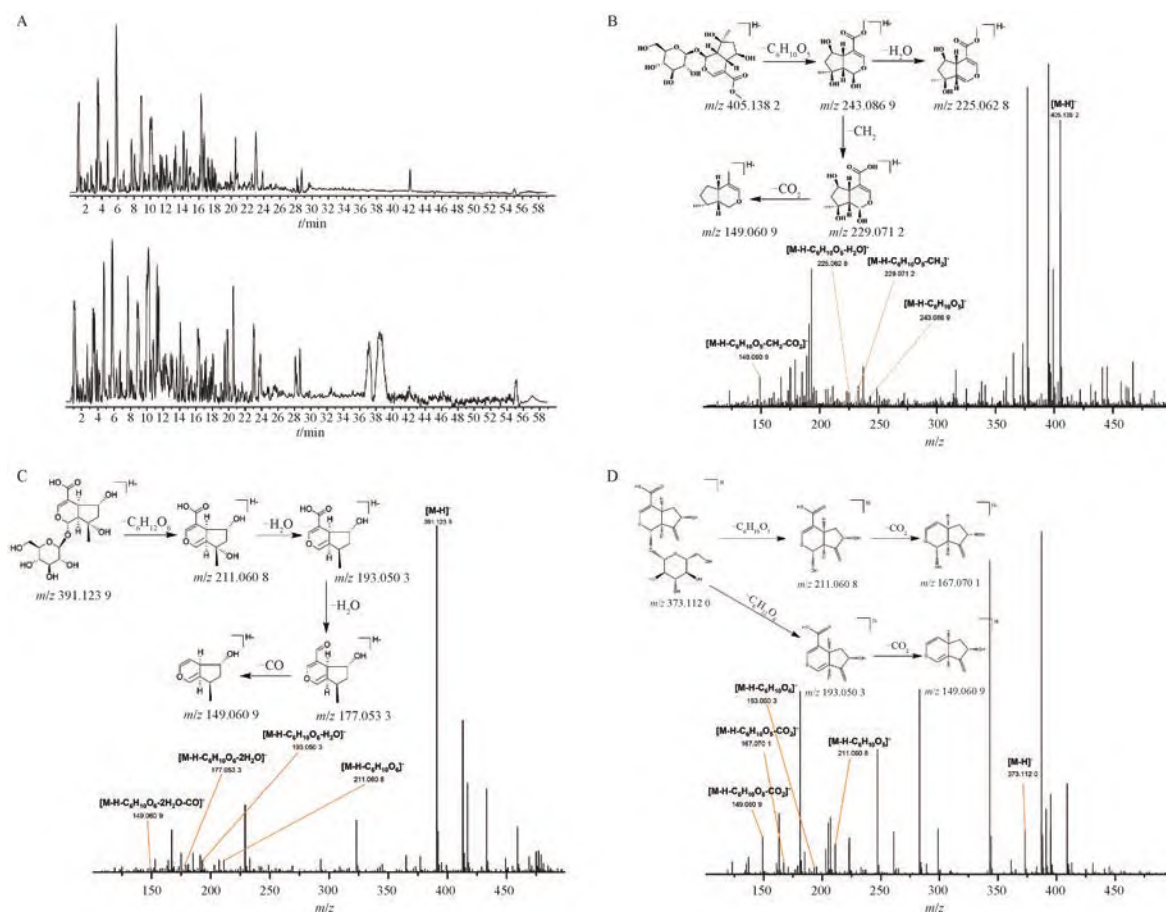
3.4 药代动力学方法学考察

3.4.1 特异性 结果表明,见图 3,血浆中内源性物质不干扰京尼平苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、羟异栀子苷、京尼平、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、西红花酸和内标芍药苷的测定,说明该方法特异性良好。

3.4.2 标准曲线和 LLOQ 7 种潜在活性成分的标准曲线在测定范围内呈现良好的线性特征,其相关系数(r)均超过 0.995。LLOQ、线性范围等分析方法学参数均满足生物样品测定要求,见表 6。

3.4.3 精密度与准确度 所有分析物的日内、日间精密度和准确度结果见表 7。3 个质控水平的 RSD 和 RE 均小于 15%,表明所建立的方法具有良好的精密度和准确度。

3.4.4 基质效应与提取回收率 各浓度 QC 样品的平均提取回收率为 91.80%~119.6%,符合可接受标准,见表 7。同时,分析物的基质效应均在允许范围内,表明血浆内源性物质对离子化效率无显著影响。



A. 总离子流色谱图: 上图为负离子模式, 下图为正离子模式; B~D. 代表性成分的二级质谱图及裂解途径, 其中 B 为山梔苷甲酯, C 为山梔苷, D 为梔子酮苷。

图 1 梔子水提物的化学成分分析

Fig. 1 Chemical composition analysis of Gardeniae Fructus aqueous extracts

表 4 基于 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 的梔子水提物化学成分分析

Table 4 Chemical composition analysis of Gardeniae Fructus aqueous extracts by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS

No.	t_R /min	鉴定结果	分子式	离子模式	误差 / $\times 10^{-6}$	MS/MS (m/z)
1	1.86	3-O-(3-hydroxy-3-methyl)glutaroylquinic acid	$C_{13}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.9	191.055 3, 173.043 0, 161.045 6
2	1.86	quinic acid	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	-1.6	155.034 9, 146.046 2
3	2.02	galioside	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	2.7	241.034 8, 223.061 2, 205.032 6, 139.001 1
4	2.07	4-O-(3-hydroxy-3-methyl)glutaroylquinic acid	$C_{13}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.9	191.055 3, 173.046 3, 161.045 6
5	2.26	5-O-(3-hydroxy-3-methyl)glutaroylquinic acid	$C_{13}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.9	191.055 3, 173.046 3, 161.045 6
6	2.69	shanzhiside methyl ester	$C_{17}H_{26}O_{11}$	$[M-H]^-$	-3.7	241.071 2, 223.060 1, 139.038 5, 101.023 5
7 ¹⁾	2.73	geniposidic acid	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	-4.0	211.060 8, 193.050 3, 167.070 1, 149.060 9
8	2.91	shanzhiside	$C_{16}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	-0.3	229.033 9, 211.060 8, 185.040 5, 167.033 1
9	3.16	jasmnoside F	$C_{16}H_{26}O_9$	$[M-H+HCOO]^-$	2.2	361.149 2, 181.086 9, 137.095 6
10	3.26	ixoroside	$C_{16}H_{24}O_9$	$[M-H+HCOO]^-$	-3.7	359.027 6, 197.082 9, 179.053 5, 125.023 3
11	3.31	loganic acid	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M+H]^+$	-5.3	162.092 5
12	3.31	protocatechuic acid	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	4.6	109.023 3
13	3.62	asperuloside	$C_{18}H_{22}O_{11}$	$[M+H]^+$	-9.4	253.068 5, 175.041 0, 119.049 4, 147.044 6
14	3.88	gardoside	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	-4.0	211.060 8, 193.050 3, 167.070 1, 149.060 9
15 ¹⁾	4.74	deacetyl asperulosidic acid methyl ester	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H+HCOO]^-$	-0.2	403.125 1, 241.072 9, 223.061 2, 193.050 3

续表4

No.	t_R /min	鉴定结果	分子式	离子模式	误差 / $\times 10^{-6}$	MS/MS (m/z)
16	5.48	5- <i>O</i> -caffeoylquinic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	-7.4	191.055 3, 179.034 3, 173.046 3, 135.043 7
17	5.64	deacetyl asperulosidic acid	$C_{16}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	-6.9	345.119 0, 227.054 8, 209.045 7, 183.065 3
18 ¹⁾	5.74	scandoside methyl ester	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H+HCOO]^-$	-0.2	403.121 0, 241.069 7, 223.058 1, 193.050 3
19	5.80	jasminoside C	$C_{16}H_{24}O_7$	$[M+H]^+$	-2.7	167.106 4, 149.096 3
20	5.83	picrocrocin acid	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M-H]^-$	-4.9	165.090 9, 119.033 7, 181.053 9
21 ¹⁾	6.73	gardenoside	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H+HCOO]^-$	-0.2	403.125 1, 241.072 9, 223.061 2, 205.050 2
22	6.92	jasminodiol	$C_{10}H_{16}O_3$	$[M+H]^+$	-3.2	167.106 4, 149.098 8
23	6.95	jasminoside G	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M+H]^+$	-2.3	185.030 9, 167.106 4
24	6.98	jasminoside B	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M-H+HCOO]^-$	0	345.153 2, 179.034 3, 165.056 7, 151.072 7
25	7.69	jasminoside D	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M+H]^+$	-2.3	167.106 4
26	7.69	zataroside B	$C_{16}H_{24}O_7$	$[M-H]^-$	1.2	134.039 0, 149.060 9, 165.090 9
27 ¹⁾	8.07	3- <i>O</i> -caffeoylquinic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	3.7	191.055 3, 179.034 3, 173.046 3, 135.043 7
28	8.62	3- <i>O</i> -feruloylquinic acid	$C_{17}H_{20}O_9$	$[M-H]^-$	3.8	193.050 3, 173.043 6
29	8.74	4- <i>O</i> -caffeoylquinic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	-7.4	191.055 3, 179.034 3, 173.046 3, 135.043 7
30	8.74	mussaenosidic acid	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	-2.7	213.076 7, 195.064 2, 169.085 1, 151.075 3
31	8.74	cryptochlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	3.7	191.055 3, 179.034 3, 173.046 3, 135.043 7
32 ¹⁾	8.84	genipin 1- β -gentiobioside	$C_{23}H_{34}O_{15}$	$[M-H+HCOO]^-$	2.0	549.178 6, 225.075 1, 207.063 7, 123.043 8
33 ¹⁾	8.93	caffeic acid	$C_9H_8O_4$	$[M-H]^-$	-0.6	135.043 7, 117.195 5, 107.599 7
34	9.78	jasminoside I	$C_{22}H_{36}O_{12}$	$[M+H]^+$	-6.1	331.174 3, 169.122 7, 123.117 9
35	9.78	jasminol E	$C_{10}H_{16}O_2$	$[M+H]^+$	-1.2	151.111 8
36	9.83	genipin 1- <i>O</i> - α -D-xylopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside	$C_{22}H_{32}O_{14}$	$[M-H]^-$	-1.2	225.078 1, 207.066 7, 123.041 5, 101.025 0
37	9.93	7-ketologanin	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	-0.5	225.075 1, 165.054 1
38 ¹⁾	9.98	geniposide	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M-H+HCOO]^-$	0.7	387.128 9, 225.075 1, 207.066 7, 147.045 2
39	10.17	jasminoside A	$C_{16}H_{26}O_7$	$[M+H]^+$	-4.2	169.122 7, 151.111 8
40	10.17	jasminoside P	$C_{22}H_{36}O_{12}$	$[M+H]^+$	3.0	331.081 2, 169.122 7, 123.117 9
41	10.21	jasminoside Q	$C_{22}H_{36}O_{12}$	$[M+H]^+$	-6.1	331.077 5, 169.122 7, 123.117 9
42 ¹⁾	10.24	loganin	$C_{17}H_{26}O_{10}$	$[M+H]^+$	-4.3	229.058 4, 211.031 8, 193.048 4
43	10.45	3- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl quinic acid	$C_{16}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	4.2	191.055 3, 173.043 6, 163.039 8
44	10.45	2- <i>O</i> - <i>trans</i> -caffeoyl gardoside	$C_{25}H_{28}O_{13}$	$[M-H]^-$	2.4	325.092 4, 193.050 3, 179.034 3, 163.039 8
45	10.52	7-deoxygardoside	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M-H+HCOO]^-$	0.7	387.204 1, 225.075 1, 207.066 7, 105.032 3
46	10.55	jasminoside J	$C_{16}H_{24}O_7$	$[M+H]^+$	-2.7	167.069 4, 149.096 3
47	10.61	4- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl quinic acid	$C_{16}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	4.2	191.055 3, 173.043 6, 163.039 8
48	10.67	4- <i>O</i> -sinapoyl quinic acid	$C_{18}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.5	223.061 2, 173.043 6
49	11.17	5- <i>O</i> -sinapoyl quinic acid	$C_{18}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.5	223.061 2, 191.055 3, 173.043 6
50	11.23	picrocrocin	$C_{16}H_{26}O_7$	$[M+H]^+$	-4.2	169.122 7, 151.111 8
51	11.23	jasminoside O	$C_{21}H_{34}O_{11}$	$[M+H]^+$	0.2	331.174 3, 169.122 7, 123.117 9
52 ¹⁾	11.29	quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$	0.7	151.002 3, 227.033 2, 243.029 1, 255.030 0
53	11.33	isorutin	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	0.5	300.026 8, 271.015 7, 255.020 2, 151.002 3
54	11.43	3- <i>O</i> -sinapoyl quinic acid	$C_{18}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.5	223.061 2, 191.055 3
55	11.45	jasminoside E	$C_{16}H_{26}O_7$	$[M+H]^+$	-4.2	169.122 7, 151.111 8
56	11.69	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroyl geniposidic acid	$C_{25}H_{28}O_{12}$	$[M-H]^-$	-5.4	475.161 4, 355.100 1, 307.137 6, 211.060 8
57	11.72	3- <i>O</i> -sinapoyl-4- <i>O</i> -caffeoyl quinic acid	$C_{27}H_{28}O_{13}$	$[M-H]^-$	-4.6	397.112 1, 379.160 5, 353.088 6, 335.077 7
58	11.85	jasminoside K	$C_{16}H_{26}O_7$	$[M+H]^+$	-4.2	169.122 7, 151.041 4
59	11.91	5- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl quinic acid	$C_{16}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	0	191.055 3, 173.043 6, 163.039 8
60	12.04	rehmapirogenin	$C_{10}H_{16}O_3$	$[M-H]^-$	-4.4	165.092 4, 151.076 5, 139.112 1
61	12.93	2'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroyl loganic acid	$C_{25}H_{30}O_{12}$	$[M-H]^-$	-1.7	477.176 7, 357.117 2, 307.083 8, 213.076 7
62	12.93	4- <i>O</i> -sinapoyl-5- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyl quinic acid	$C_{27}H_{28}O_{12}$	$[M-H]^-$	-2.8	379.088 7, 337.089 9, 319.065 4, 223.061 2
63 ¹⁾	12.93	rutin	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	4.4	591.144 3, 573.116 2, 563.154 3, 537.104 7
64	13.12	quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	-3.9	151.004 8, 227.034 5, 243.036 3, 255.030 0
65	13.19	6"- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroyl genipin gentiobioside	$C_{32}H_{40}O_{17}$	$[M-H]^-$	-3.6	469.132 3, 307.080 2, 225.075 1, 207.063 7
66	13.59	isoquercetin (quercetin3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside)	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	2.2	300.026 8, 271.025 8, 255.030 0, 151.002 3

续表4

No.	t_R /min	鉴定结果	分子式	离子模式	误差 / $\times 10^{-6}$	MS/MS (m/z)
67	14.29	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> -caffeoyl deacetyl asperulosidic acid methyl ester	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₄	[M-H] ⁻	4.4	325.092 4, 223.058 1, 205.050 2, 179.034 3
68	14.43	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> -caffeoyl genipin gentiobioside	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₈	[M-H] ⁻	0	485.127 1, 225.078 1, 179.034 3, 123.043 8
69	14.43	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoyl gardsoside	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	0.7	367.104 3, 211.060 8, 223.061 2, 205.050 2
70	14.48	kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	3.2	285.041 2, 284.032 6, 255.030 0
71	14.59	2'- <i>O</i> - <i>trans</i> -feruloyl gardsoside	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	-2.4	505.175 4, 355.103 9, 337.093 7, 211.080 0
72	14.71	3,5-di- <i>O</i> -caffeoyl quinic acid	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	0.8	353.088 6, 335.077 7, 191.052 5, 179.034 3
73	14.74	2'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroyl gardsoside	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	3.5	475.161 4, 355.107 8, 307.083 8, 211.060 8
74	14.86	kaempferol-3- <i>O</i> -[2- <i>O</i> -(β -D-glucosyl)- α -L-rhamnoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	3.2	285.041 2, 284.036 0, 255.023 5
75	15.07	4,5-di- <i>O</i> -caffeoyl quinic acid	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	0.8	353.084 7, 335.077 7, 191.055 3, 179.034 3
76	15.45	jasminoside R	C ₂₂ H ₃₄ O ₁₂	[M-H+HCOO] ⁻	1.3	489.199 4, 323.098 0, 165.090 9, 121.102 5
77	15.64	10- <i>O</i> -acetylgeniposide	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₁	[M-H+HCOO] ⁻	-3.6	429.210 2, 265.071 6, 249.148 5, 191.109 1
78	16.07	3,4-di- <i>O</i> -caffeoyl quinic acid	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	0.8	353.088 6, 335.077 7, 191.055 3, 179.034 3
79	16.35	3- <i>O</i> -sinapoyl-5- <i>O</i> -caffeoyl quinic acid	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	-4.6	397.112 1, 335.077 7, 223.058 1, 173.043 6
80	16.41	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoyl genipin 1- β -gentiobioside	C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	[M-H] ⁻	-5.8	529.152 0, 385.108 6, 225.075 1, 223.058 1
81 ¹⁾	16.55	crocin I	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	[M-H] ⁻	-2.2	651.259 9, 327.155 9, 283.167 0, 239.178 5
82	16.57	crocin III	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	-8.3	327.155 9, 283.167 0, 239.162 8
83	16.66	3,5-di- <i>O</i> -caffeoyl-4- <i>O</i> -(3-hydroxy-3-methyl) glutaroyl quinic acid	C ₃₁ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	-3.2	497.125 6, 353.084 7, 335.077 7, 191.055 3
84	16.69	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -feruloyl genipin 1-gentiobioside	C ₃₃ H ₄₂ O ₁₈	[M-H] ⁻	0.4	531.160 5, 499.141 2, 355.077 7, 225.075 1
85	17.07	3- <i>O</i> -caffeoyl-4- <i>O</i> -sinapoyl quinic acid	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	4.1	397.112 1, 223.061 2, 205.050 2, 179.034 3
86	17.12	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoyl jasminoside B	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	4.4	385.112 9, 223.061 2, 205.050 2
87	17.31	crocin-mono-(β -D-glucosyl)-ester	C ₂₆ H ₃₄ O ₉	[M+H] ⁺	0	329.103 5, 311.151 6
88	17.60	4- <i>O</i> -sinapoyl-5- <i>O</i> -caffeoyl quinic acid	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	4.1	397.112 1, 367.104 3, 335.074 0, 223.061 2
89	17.78	jasminoside T	C ₂₁ H ₃₄ O ₁₁	[M-H+HCOO] ⁻	-1.2	461.204 6, 167.107 2, 125.023 3
90	17.90	10- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoyl geniposide	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	0.7	367.104 3, 225.075 1, 223.061 2, 207.063 7
91	18.00	3,4-di- <i>O</i> -caffeoylquinic methylester/4,5-di- <i>O</i> -caffeoylquinic methyl ester	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	-2.8	367.104 3, 205.050 2, 179.034 3, 173.043 6
92 ¹⁾	18.05	crocin II	C ₃₈ H ₅₄ O ₁₉	[M-H+HCOO] ⁻	4.9	813.318 5, 651.265 1, 489.213 0, 327.159 6
93	18.12	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroyl geniposide	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	4.3	307.080 2, 225.075 1, 207.063 7, 190.029 2
94	19.40	4- <i>O</i> -sinapoyl-5- <i>O</i> -feruloyl quinic acid	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	-0.9	397.112 1, 379.917 3, 349.140 3, 223.061 2
95	19.71	3- <i>O</i> -feruloyl-4- <i>O</i> -sinapoyl quinic acid	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	7.9	397.112 1, 379.104 7, 367.104 3, 349.094 3
96	19.80	3- <i>O</i> -sinapoyl-5- <i>O</i> -feruloyl quinic acid	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	-0.9	397.116 1, 349.186 2, 223.061 2, 173.043 6
97	20.54	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -cinnamoyl genipin 1- β -gentiobioside	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₆	[M-H+HCOO] ⁻	0.4	679.224 7, 531.170 0, 225.075 1, 147.045 2
98	22.55	neocrocin C	C ₄₈ H ₆₀ O ₂₂	[M-H] ⁻	2.0	825.322 7, 651.265 1, 501.211 2, 327.159 6
99	23.05	crocin-diglucoside ester	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₄	[M-H+HCOO] ⁻	-1.9	651.265 0, 489.213 0, 327.159 6, 283.170 5
100 ¹⁾	23.09	crocin	C ₂₀ H ₂₄ O ₄	[M-H] ⁻	0	239.178 5, 265.158 3, 169.103 8
101	25.69	myrianthric acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	[M-H] ⁻	-2.4	485.325 6, 455.317 4, 263.161 4
102	26.16	chikusetsusaponin	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	[M-H] ⁻	2.8	631.388 5, 613.380 9
103	27.67	neocrocin B	C ₄₈ H ₆₀ O ₂₂	[M-H] ⁻	2.0	825.322 7, 651.265 1, 501.211 2, 327.167 0
104	27.77	neocrocin E	C ₄₈ H ₆₀ O ₂₂	[M-H] ⁻	2.0	825.316 8, 651.270 4, 501.211 2, 327.159 6
105	28.05	clethric acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	[M-H] ⁻	-2.4	485.330 0, 473.279 5
106	28.64	neocrocin D	C ₄₈ H ₆₀ O ₂₂	[M-H] ⁻	2.0	825.322 7, 651.265 1, 501.215 8, 327.159 6
107	28.71	13- <i>cis</i> -crocin-8- <i>O</i> - β -D-gentiobioside	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	-0.3	327.159 6, 283.170 5, 239.178 5
108	29.35	13'- <i>cis</i> -crocin-8- <i>O</i> - β -D-gentiobioside	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	-0.3	327.163 3, 283.167 0, 239.178 5
109	32.95	gardenolic acid B	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	[M-H] ⁻	-2.3	467.315 5, 441.894 1, 439.117 6
110	35.65	coronalolic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	[M-H] ⁻	0	451.837 2, 425.907 5, 423.329 3, 407.896 1
111	36.31	hederagenin	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	[M-H] ⁻	1.5	453.331 4, 427.019 7, 425.037 4
112	37.52	gardenolic acid A	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	[M-H] ⁻	0	425.185 2, 423.030 2
113	39.97	ursolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	[M-H] ⁻	-0.2	437.193 1, 411.228 1, 409.262 1
114	40.03	oleanolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	[M-H] ⁻	-0.2	437.008 9, 411.024 6, 409.108 8

注: ¹⁾ 与对照品比对(表 5 同)。

表 5 栀子水提取物入血原型成分的 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 分析

Table 5 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS analysis of the prototype components from *Gardenia Fructus* aqueous extracts in rat plasma

No.	t_R /min	鉴定结果	分子式	离子模式	误差 / $\times 10^{-6}$	MS/MS
P1	1.45	gardsoside	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	5.6	211.060 8, 193.045 9, 167.069 2, 149.068 6
P2	1.71	quinic acid	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	4.2	155.030 4, 146.046 1
P3 ¹⁾	4.09	geniposidic acid	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	-4.8	211.057 8, 193.045 9, 167.069 2, 149.061 1
P4 ¹⁾	4.86	deacetyl asperulosidic acid methyl ester	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H+HCOO]^-$	-5.3	241.069 1, 193.057 3, 165.050 4, 139.031 8
P5	5.18	deacetyl asperulosidic acid	$C_{16}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	-4.4	227.056 1, 209.045 4, 183.062 9
P6 ¹⁾	5.83	gardenoside	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H+HCOO]^-$	4.5	403.123 3, 241.072 3, 223.062 1, 205.049 6
P7	5.83	picrocrocinic acid	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M-H]^-$	9.6	165.092 5, 119.036 0, 181.054 1
P8	7.10	jasminoside B	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M-H+HCOO]^-$	-7.4	345.158 2, 179.031 6, 151.073 1
P9 ¹⁾	7.81	genipin 1-gentiobioside	$C_{23}H_{34}O_{15}$	$[M-H+HCOO]^-$	3.7	225.073 1, 207.066 3, 123.044 1, 101.013 3
P10 ¹⁾	8.59	geniposide	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M-H+HCOO]^-$	2.3	387.125 7, 225.076 2, 227.090 0, 207.066 3
P11	8.54	mussaenosidic acid	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	-3.2	213.079 8, 169.087 0, 151.073 1
P12	10.10	genipin 1-gentiobioside-isomer	$C_{23}H_{34}O_{15}$	$[M-H+HCOO]^-$	0	225.073 1, 207.060 4
P13	11.69	6''-O-trans-p-coumaroyl genipin gentio- bioside or isomer	$C_{32}H_{40}O_{17}$	$[M-H]^-$	2.2	469.131 6, 225.073 1, 207.063 3, 163.033 3
P14	11.91	6''-O-trans-p-coumaroyl genipin gentio- bioside or isomer	$C_{32}H_{40}O_{17}$	$[M-H]^-$	2.2	469.131 6, 307.078 2, 225.070 0, 207.069 2
P15	13.24	3,5-di-O-caffeoyl quinic acid	$C_{25}H_{24}O_{12}$	$[M-H]^-$	-1.9	353.098 2, 335.074 3, 191.053 6, 179.034 3
P16	17.62	6''-O-trans-sinapoyl genipin gentiobioside	$C_{34}H_{44}O_{19}$	$[M-H]^-$	-0.9	225.070 0, 223.052 9, 123.048 6
P17	17.74	all-trans-crocetin di- β -D-glucosyl eater	$C_{32}H_{44}O_{14}$	$[M-H]^-$	0	327.155 5, 323.090 0, 283.170 0, 239.174 6
P18 ¹⁾	25.19	crocetin	$C_{20}H_{24}O_4$	$[M+H]^+$	1.0	115.054 7, 126.044 9, 127.049 3, 139.053 6

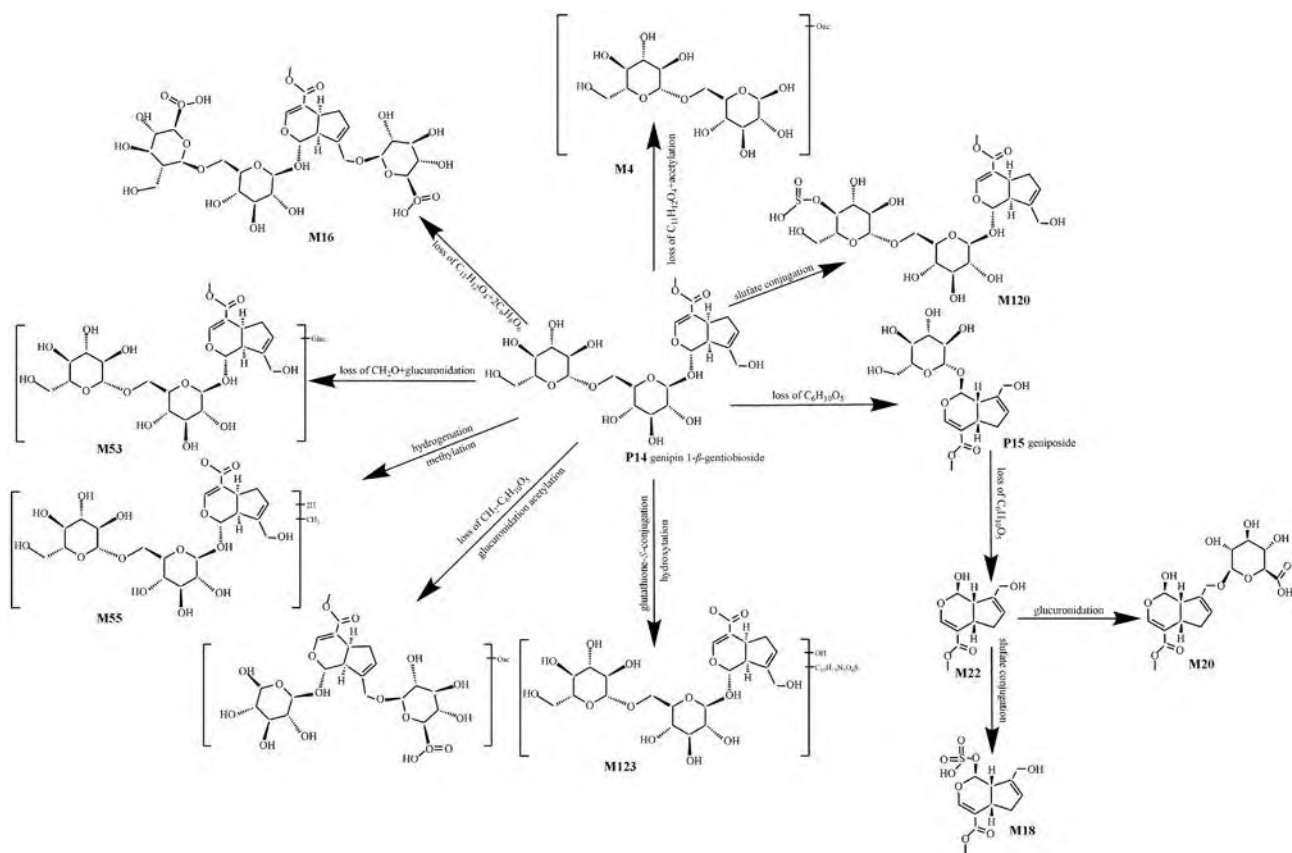
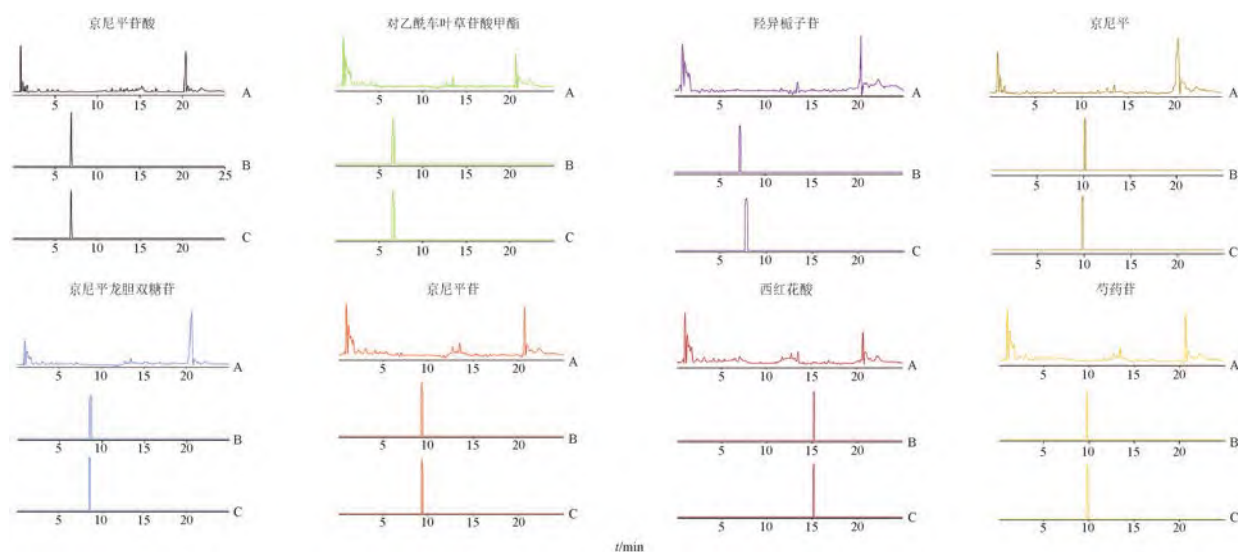


图 2 口服栀子水提取物后大鼠体内京尼平苷和京尼平龙胆双糖苷可能的代谢途径

Fig. 2 Potential metabolic pathways of geniposide and genipin 1-β-D-gentiobioside in rats following oral administration of *Gardenia Fructus* aqueous extracts



A. 空白血浆; B. 空白血浆加分析物和内标; C. 给药后血浆。

图 3 京尼平苷酸、对乙酰车叶草苷酸甲酯、羟异梔子苷、京尼平、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、西红花酸和芍药苷 (IS) 的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of geniposidic acid, deacetyl asperulosidic acid methyl ester, gardenoside, genipin, genipin 1-β-D-gentiobioside, geniposide, crocetin, and paeoniflorin (IS)

表 6 7 种分析物在大鼠血浆中的标准曲线及定量下限 ($n=6$)

Table 6 Standard curves and LLOQ for the seven analytes in rat plasma ($n=6$)

化合物	回归方程	r	线性范围/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	LLOQ/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
京尼平苷酸	$Y=0.000\ 676\ 469X-0.001\ 050\ 59$	0.997 5	10~2 500	10
对乙酰车叶草苷酸甲酯	$Y=0.002\ 426\ 00X-0.002\ 169\ 26$	0.995 8	5~500	5
羟异梔子苷	$Y=0.004\ 056\ 96X-0.001\ 330\ 42$	0.995 6	5~500	5
京尼平	$Y=0.002\ 510\ 92X-0.001\ 805\ 13$	0.995 8	5~500	5
京尼平龙胆双糖苷	$Y=0.001\ 893\ 52X-0.001\ 042\ 54$	0.998 9	5~500	5
京尼平苷	$Y=0.001\ 992\ 69X-0.000\ 761\ 383$	0.998 3	5~2 250	5
西红花酸	$Y=0.001\ 563\ 37X-0.010\ 326\ 3$	0.996 5	20~2 000	20

3.4.5 稳定性 低浓度和高浓度 QC 样品的稳定性数据见表 8, 结果显示, 所有分析物在室温放置 2 h、15 d 长期冻存、冻融循环 3 次和进样器放置 44 h 的 RE 均在 $\pm 15\%$ 以内, 符合体内药物分析原则的要求。验证结果表明, 所开发的方法灵敏、准确, 可用于今后的研究。

3.5 药代动力学参数分析

大鼠口服梔子水提取物后 7 种活性成分的平均血药浓度时间曲线见图 4, 拟合的主要药代动力学参数有 $T_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$, 见表 9。口服梔子水提取物后, 6 种环烯醚萜类成分均在 0.556 ~ 1.833 h 内迅速达到最大浓度, 西红花酸的 $T_{\max}$ 为 (5.667 ± 3.629) h, 环烯醚萜类化合物比西红花酸表现出更快的吸收; 根据各成分 $t_{1/2}$ 大小显示代谢速

率快慢为西红花酸 > 去乙酰车叶草苷酸甲酯 > 京尼平龙胆双糖苷 > 羟异梔子苷 > 京尼平苷酸 > 京尼平 > 京尼平苷; 其中西红花酸药-时曲线呈现较明显的双峰现象。京尼平苷酸在梔子水提取物中含量较低 (较羟异梔子苷、京尼平龙胆双糖苷和京尼平苷), 但其 $AUC_{0-24\text{h}}$ [$(3\ 426.323 \pm 1\ 849.517) \text{ ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$] 却明显高于后三者 [羟异梔子苷 $(88.387 \pm 18.017) \text{ ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$; 京尼平龙胆双糖苷 $(89.38 \pm 22.588) \text{ ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$; 京尼平苷 $(2\ 701.019 \pm 751.202) \text{ ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$], 表现出更高的体内暴露水平。

4 讨论

作为《温病条辨》中宣痹汤治疗痹症的核心组方药材, 梔子虽已展现显著的药理活性, 但其体内吸收和代谢仍亟待阐明^[11]。而系统解析中药的化学

表 7 大鼠血浆样品中 7 种分析物测定的准确度、精密度、回收率及基质效应

Table 7 Accuracy, precision, recovery, and matrix effect for the determination of seven analytes in rat plasma samples

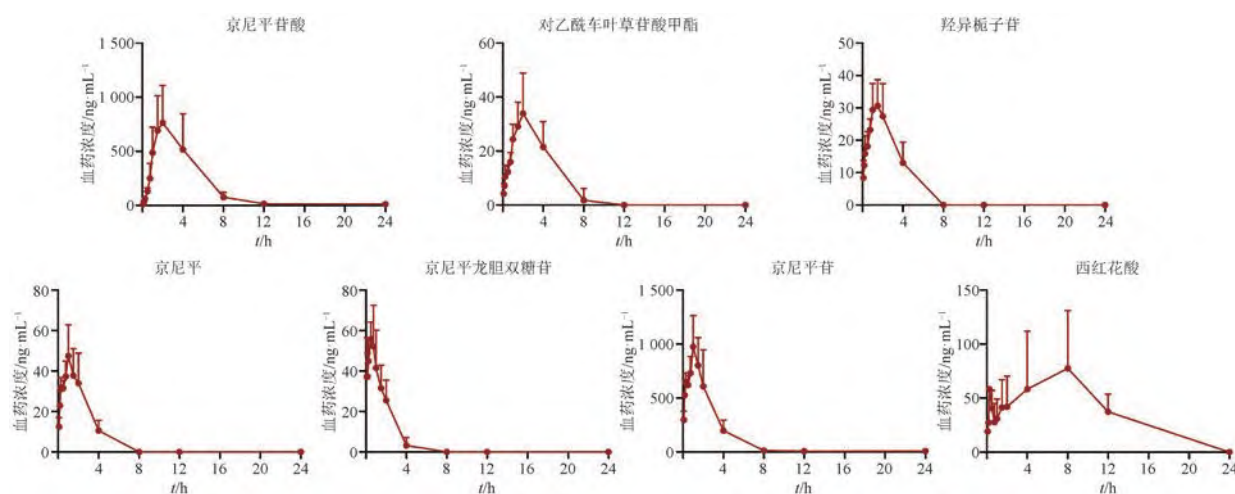
分析物	质量浓度 /ng·mL ⁻¹	日内 (<i>n</i> =6)		日间 (3 d) (<i>n</i> =18)		回收率		基质效应	
		准确度	精密度	准确度	精密度	均值	RSD	均值	RSD
		RE/%	RSD/%	RE/%	RSD/%	/%	/%	/%	/%
京尼平苷酸	20	8.9	5.5	9.2	5.5	115.4	5.5	92.30	4.1
	200	14	2.8	13	3.1	108.0	2.8	94.40	2.7
	2 000	-12	2.2	-12	2.9	93.00	2.2	107.2	2.3
对乙酰车叶草苷酸甲酯	10	13	3.9	14	2.8	119.6	4.0	100.9	1.0
	100	12	3.0	12	5.7	106.7	3.1	94.80	4.9
	400	11	5.2	14	4.2	94.70	5.3	102.0	1.0
羟异梔子苷	10	9.7	3.3	8.2	3.3	114.7	3.3	103.5	4.9
	100	2.0	3.9	5.2	6.2	106.3	4.0	103.9	5.6
	400	2.4	6.0	9.2	6.1	103.5	6.1	118.1	2.3
京尼平	10	11	4.7	12	4.2	116.9	4.8	103.8	1.5
	100	12	3.6	12	3.9	95.70	3.7	108.9	2.1
	400	14	2.6	13	4.2	97.90	2.6	98.50	1.5
京尼平龙胆双糖苷	10	1.4	5.9	-0.10	4.8	111.8	5.9	92.00	3.9
	100	-0.90	2.8	3.0	3.6	91.80	2.8	97.20	2.8
	400	4.2	4.6	5.1	4.5	93.50	4.7	96.10	2.7
京尼平苷	10	11	1.4	11	3.8	117.0	1.5	109.5	2.6
	100	12	5.1	12	5.0	99.50	5.1	107.1	2.6
	1 800	-15	1.9	-9.8	12	96.40	2.0	98.60	3.8
西红花酸	40	-4.2	9.2	-4.3	7.6	92.80	9.2	90.00	5.5
	400	13	3.9	9.9	6.2	104.5	4.0	105.1	5.4
	1 600	-7.6	7.3	-0.40	13	108.4	7.4	95.60	0.60

表 8 7 种分析物在大鼠血浆中的稳定性 (*n*=6)Table 8 Stability for the seven analytes in rat plasma (*n*=6)

分析物	质量浓度 /ng·mL ⁻¹	RE/%			
		短期稳定性 (25 ℃)	长期稳定性 (-80 ℃)	反复冻融循环 3 次	自动进样器 (5 ℃)
京尼平苷酸	20	-7.3	-3.6	-5.1	1.7
	2 000	1.4	-15	1.6	1.2
对乙酰车叶草苷酸甲酯	10	-11	-9.8	-11	-9.2
	400	1.0	0.8	-1.2	0.4
羟异梔子苷	10	-13	2.9	2.1	1.8
	400	-3.4	-5.3	-5.8	-11
京尼平	10	-9.6	-14	-14	-10
	400	12	1.0	13	1.5
京尼平龙胆双糖苷	10	3.5	-14	-13	0.4
	400	-6.4	-8.5	-11	-11
京尼平苷	10	-5.2	-3.6	-5.3	-6.5
	1 800	0.2	2.1	-1.1	-3.5
西红花酸	40	-7.9	-4.5	-2.8	-5.6
	1 600	4.8	6.1	8.4	13

物质基础及其体内动态变化规律,是深入探究其药理作用机制的必要前提之一^[12]。本研究采用优化的 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 对梔子水提物的成分进行了表征,并研究了正常大鼠口服梔子水提物后血浆中的代谢轮廓,创新性地建立了基于诊断离子、中性丢失碎片和 MDF 的多维筛选策略,显著提升了

梔子水提物成分分析的效率和准确性。结果表明,梔子水提物中共鉴定出 114 个化学成分,为进一步体内化合物的比对奠定了基础。中药成分复杂多样,其药理作用主要依赖于吸收入血的活性物质^[13]。口服给药后,部分成分可直接以原型吸收入血或排出体外,而其他成分则需经胃肠道及肠道菌

图 4 大鼠血浆中 7 种分析物的平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 4 Mean plasma concentration-time curves of seven analytes in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)表 9 灌胃后大鼠体内成分的药代动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 9 Pharmacokinetic parameters of the constituents in rats after OA ($\bar{x} \pm s, n=6$)

分析物	$AUC_{0-24} / \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$AUC_{0-\infty} / \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$C_{\text{max}} / \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$T_{\text{max}} / \text{h}$	$t_{1/2} / \text{h}$	$CL / \text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	MRT_{0-24} / h
京尼平苷酸	3 426.323±1 849.517	3 647.605±1 545.059	765.891±346.016	1.833±0.258	2.098±1.141	0.327±0.161	3.218±0.729
对乙酰车叶草苷酸甲酯	124.668±67.65	236.563±105.594	35.838±13.064	1.583±0.492	3.628±2.897	5.266±3.11	2.429±0.677
羟异梔子苷	88.387±18.017	169.619±103.31	35.024±5.992	1.5±0.447	2.189±1.59	7.787±3.917	1.805±0.219
京尼平	115.059±31.679	162.603±64.684	49.994±12.961	1.00±0.57	2.011±0.884	7.109±3.113	1.597±0.138
京尼平龙胆双糖苷	89.38±22.588	176.178±139.672	69.389±4.1	0.556±0.262	2.432±3.155	7.5±2.931	1.056±0.229
京尼平苷	2 701.019±751.202	2 710.799±760.509	1 022.88±236.853	1.208±0.6	1.071±0.058	1.208±0.6	2.177±0.338
西红花酸	735.766±451.393	1 772.46±1 187.809	82.626±50.55	5.667±3.629	13.941±7.799	0.811±0.506	6.917±1.645

群代谢转化后吸收,进而发挥治疗效应。具体而言,梔子水提取物中 18 个成分以原型形式吸收入血,根据结构特征可划分为环烯醚萜苷类、西红花苷类、单环单萜类、有机酸类和黄酮类。相关代谢产物 163 个(包含 21 个 I 相代谢物和 142 个 II 相代谢物)。通过对梔子水提取物体内外物质组的对比分析,发现其生物转化过程主要经历 I 相水解、脱氢、氧化、羟基化反应,II 相甲基化、乙酰化、硫酸化、葡萄糖醛酸结合及谷胱甘肽结合反应。以京尼平苷为例诠释其主要的代谢途径:京尼平苷经水解失去葡萄糖基(162)生成代谢物 **M22**(京尼平),主要碎片离子为 m/z 190.929 0、123.044 1、101.023 6。该产物可进一步发生 II 相代谢,形成硫酸酯结合物 **M18**(m/z 305.032 4,含特征碎片 m/z 225.076 2、79.957 4)和葡萄糖醛酸结合物 **M20**(m/z 401.106 9,含特征碎片 m/z 225.076 2、175.023 5)。本研究首次全面揭示了梔子水提取物的体内成分谱,为其药效物质基础研究提供了重要依据。

近年来,中药药代动力学研究日益受到关注,该领域研究为揭示中药在生物体内的吸收和代谢过程提供了重要手段。然而,目前针对梔子水提取物的药动学研究大多仅考察单一组分,这种研究方式无法完整阐释中药多组分协同作用的物质基础,导致其临床应用指导意义受到限制。基于梔子水提取物在大鼠血浆中的吸收成分表征,结合文献报道,梔子水提取物中的潜在活性成分通过多途径发挥抗炎作用:京尼平苷酸通过抑制 p38 和 p65 磷酸化减少脂多糖诱导的 NO 及促炎因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)释放^[14-15];京尼平龙胆双糖苷可抑制下游 NLRP3 炎症相关蛋白^[16];对乙酰车叶草苷酸甲酯则表现出抗病毒、抗炎双重活性^[17];同时,羟异梔子苷和西红花酸通过阻断 NF- κ B 信号通路产生抗关节炎效应^[18-19],而京尼平和京尼平苷则通过降低 IL-8 和 IFN- γ 水平抑制细胞炎症反应^[20]。因此被选定用于定量药代动力学分析,以进一步阐明梔子水提取物在大鼠体内的吸收过程。建立了优化和验证的 UHPLC-QQQ-

MS/MS,对这 7 种主要活性成分进行了药代动力学研究,6 种环烯醚萜苷类成分均可快速吸收入血,在 1.833 h 内血药浓度达到高峰,且药物在体内半衰期较短,消除速率快。而京尼平虽未在栀子水提物中检出,却在给药后血浆中出现,推测其来源于京尼平苷和京尼平龙胆双糖苷经肠道菌群的水解转化^[21]。与此形成对比的是,西红花苷 I 和 II 虽在栀子水提物中可检测,但在血浆中未能检出,可能因其在胃肠道中迅速转化为西红花酸所致^[22]。与上述 6 种环烯醚萜苷类成分不同,西红花酸表现为更长的达峰时间和半衰期,这一现象与既往研究报道相符^[23]。且西红花酸药-时曲线呈现双峰,这种双峰现象在中药的药动学研究中较为普遍。中药活性成分在体内的吸收代谢受多种因素影响,包括组分间相互作用、肝肠循环效应、肠道不同区段的差异性吸收以及血浆蛋白结合竞争等复杂机制^[7],具体原因仍需深入研究。

综上所述,本研究提出了 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 结合 MDF 技术和 UHPLC-QQQ-MS/MS 的整体分析方法,成功实现了栀子水提物全面的代谢轮廓及其体内代谢过程的系统研究。该研究策略可推广应用于其他中药研究,既能高效表征中药复杂体系的物质基础,又能整体分析多组分在体内的动态变化规律,为阐明中药作用物质基础、揭示其体内代谢规律提供了可靠的技术支撑,对推动中医药现代化研究具有重要意义。

[参考文献]

- [1] TIAN J, QIN S, HAN J, et al. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and toxicology of Fructus Gardeniae (Zhi-zi) [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 289: 114984.
- [2] CHEN L, LI M, YANG Z, et al. Gardenia jasminoides Ellis: ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological and industrial applications of an important traditional Chinese medicine [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 257: 112829.
- [3] HU Y, LIU X, XIA Q, et al. Comparative anti-arthritis investigation of iridoid glycosides and crocetin derivatives from Gardenia jasminoides Ellis in Freund's complete adjuvant-induced arthritis in rats [J]. Phytomedicine, 2019, 53: 223.
- [4] 童颖,许杨鼎,何江,等. 基于代谢组学和肠道菌群探讨栀子改善类风湿关节炎的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(13): 3602.
- [5] ZHOU W, SHAN J, MENG M. A two-step ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight mass spectrometry with mass defect filtering method for rapid identification of analogues from known components of different chemical structure types in Fructus Gardeniae-Fructus Forsythiae herb pair extract and in rat's blood [J]. J Chromatogr A, 2018, 1563: 99.
- [6] WANG L, CHEN S, LIU S, et al. A comprehensive review of ethnopharmacology, chemical constituents, pharmacological effects, pharmacokinetics, toxicology, and quality control of gardeniae fructus [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 320: 117397.
- [7] DU Y, WANG J, JIANG L, et al. Screening the components in multi-biological samples and the comparative pharmacokinetic study in healthy and depression model rats of Suan-Zao-Ren Decoction combined with a network pharmacology [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 3): 117360.
- [8] GUERRA VALERO Y C, DOROFEEFF T, ROBERTS J A, et al. Development and validation of a UHPLC-MS/MS method to measure cefotaxime and metabolite desacetylcefotaxime in blood plasma: a pilot study suitable for capillary microsampling in critically ill children [J]. Anal Bioanal Chem, 2021, 413(17): 4483.
- [9] KONG L, LIU F, HUO L, et al. A novel LC-MS/MS approach to the pharmacokinetic study of free and bound aflibercept simultaneously [J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412(4): 1003.
- [10] FENG G, SUN Y, LIU S, et al. Stepwise targeted matching strategy from *in vitro* to *in vivo* based on ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry technology to quickly identify and screen pharmacodynamic constituents [J]. Talanta, 2019, 194: 619.
- [11] WEI M, SU J, MA Q, et al. Erteng Tongbi Decoction ameliorates collagen-induced arthritis in mice via modulating T cell differentiation and cytokines balance [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 286: 114928.
- [12] LI Q, REN M, LIU Y, et al. Comprehensive characterization of Epimedium-Rhizoma Drynariae herb pair in rat plasma, urine, and feces metabolic profiles by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS combined with diagnostic extraction strategy and multicomponent pharmacokinetic study by UHPLC-MS/MS [J]. Anal Bioanal Chem, 2024, 416(14): 3415.
- [13] TANG Y P, XU D Q, YUE S J, et al. Modern research thoughts and methods on bio-active components of TCM formulae [J]. Chin J Nat Med, 2022, 20(7): 481.
- [14] ZHANG L, WANG C X, WU J, et al. Metabolic profiling of mice plasma, bile, urine and feces after oral administration of two licorice flavonones [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 257: 112892.
- [15] 马浩然,詹健婷,罗鑫,等. 基于 HPLC-MS/MS 的高良姜活性部位中 7 种特征成分在幽门螺杆菌胃炎大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(7): 1949.
- [16] LI F, SONG L, CHEN J, et al. Effect of genipin-1-β-D-gentiobioside on diabetic nephropathy in mice by activating AMP-activated protein kinase/silencing information regulator-related

- enzyme 1/nuclear factor- κ B pathway [J]. J Pharm Pharmacol, 2021, 73(9): 1201.
- [17] 陈宇峰. 鸡屎藤(*Paederia scandens*) 活性物质和镇痛药理活性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [18] XIA T, ZHAO R, HE S, et al. Gardenoside ameliorates inflammation and inhibits ECM degradation in IL-1 β -treated rat chondrocytes via suppressing NF- κ B signaling pathways [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2023, 640: 164.
- [19] LI Y, KAKKAR R, WANG J. *In vivo* and *in vitro* approach to anti-arthritis and anti-inflammatory effect of crocetin by alteration of nuclear factor-E2-related factor 2/heme oxygenase (HO)-1 and NF- κ B expression [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 1341.
- [20] CHANG C H, WU J B, YANG J S, et al. The suppressive effects of geniposide and genipin on *Helicobacter pylori* infections *in vitro* and *in vivo* [J]. J Food Sci, 2017, 82(12): 3021.
- [21] UENO K, TAKEDA Y, IWASAKI Y, et al. Simultaneous estimation of geniposide and genipin in mouse plasma using high-performance liquid chromatography [J]. Anal Sci, 2001, 17(10): 1237.
- [22] ZHANG Y, FEI F, ZHEN L, et al. Sensitive analysis and simultaneous assessment of pharmacokinetic properties of crocin and crocetin after oral administration in rats [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1044-1045: 1.
- [23] YANG X, LI J, YANG X, et al. Comparative pharmacokinetics of geniposidic acid, genipin-1- β -gentiobioside, geniposide, genipin, and crocetin in rats after oral administration of crude Gardeniae Fructus and its three processed products using LC-MS/MS [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020: 1642761.

[责任编辑 张宁宁]