DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.02.029

基于 UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS 和分子网络技术研究补肾活血方在大鼠体内的吸收原型和代谢产物

王宇,匡微,黄宇霞,谢孟君,张梅
(成都中医药大学药学院西南特色中药资源国家重点实验室,四川 成都 611137)

摘要:目的 补肾活血方由地黄、丹参、人参及葛根组成,目前已证实对糖尿病性视网膜病变有良好的临床疗效。该研究旨在分析此方在大鼠体内的吸收原型和代谢产物,以及这些成分在大鼠体内的分布差异。方法 SD大鼠灌胃补肾活血方后,收集不同时间点的大鼠血浆、肝、心、脾、肺、肾、肠、胃、眼、尿液及粪便,采用超高效液相色谱－四极杆－静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS)采集数据,通过数据库匹配及比对相关文献中的相对分子质量、离子碎片等信息鉴定成分,并结合分子网络技术补充代谢产物。结果 在大鼠体内共鉴定到75个吸收原型及123个代谢成分,包括苯乙醇苷类、丹参酮类、人参皂苷类、异黄酮类、环烯醚萜类、丹酚酸类等,主要集中于肝和肾中。苯乙醇苷类成分来源于地黄,其生物利用率低,易经过生物转化形成甲基化、葡萄糖醛酸化等代谢物,更多分布于肾中;丹参酮类及异黄酮类原型成分分别来源于丹参和葛根,在大鼠血浆和各组织中易被检测到,其代谢途径以羟基化、甲基化及葡萄糖醛酸化为主,产物易分布于血浆及肝肾组织中。人参皂苷类化合物在大鼠体内易被胃肠道水解为原人参二醇及原人参三醇,经脱氢、脱氧等Ⅰ相代谢后,产物更多分布于脾。结论 该研究初步阐明了补肾活血方原型成分及代谢产物的吸收、分布情况,为阐释补肾活血方及地黄、丹参、人参及葛根治疗糖尿病性视网膜病变的药效物质基础提供了科学依据。

关键词:补肾活血方;吸收原型;代谢产物;组织分布;分子网络技术;超高效液相色谱－四极杆－静电场轨道阱高分辨质谱

中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)02-0127-12

Profiling Absorbed Prototypes and Metabolites of Bushen Huoxue Prescription(补肾活血方): A Comprehensive UHPLC－Q－Exactive－MS/MS Study with Molecular Network Analysis

WANG Yu, KUANG Wei, HUANG Yuxia, XIE Mengjun, ZHANG Mei
(State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, Sichuan, China)

Abstract: *Objective* Bushen Huoxue Prescription(补肾活血方, BHP), a traditional Chinese medicine formula, is used for the treatment of diabetic retinopathy(DR). It is composed of four herbal ingredients. However, the absorbed prototypes and metabolites of BHP have not been extensively studied. *Methods* The plasma, liver, heart, spleen, lung, kidney, intestine, stomach, eye, urine and feces of SD rats at different time points were collected after intragastric administration of BHP. The absorbed prototypes and metabolites of BHP in rats were characterized using the UHPLC－Q－Exactive－MS/MS strategy. The metabolic networks in rats after oral administration of BHP were constructed by molecular network. *Results* Seventy－five absorbed prototypes and 123 metabolites were identified in rats belonging to different groups in BHP, including iridoids, phenylethanol glycosides, tanshinones, ginsenosides, isoflavonoids and other types of compounds. Phenylethanoid glycosides were derived from Dihuang(Rehmanniae Radix), which had low bioavailability and were easy to be biotransformed into metabolites such as methylation and glucuronidation, and were more distributed in the kidney. The prototype components of tanshinones and isoflavones were derived from Danshen(Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma) and Gegen(Puerariae Lobatae Radix) respectively, which were easily detected in rat plasma and tissues. The metabolic pathways were mainly hydroxylation, methylation and glucuronidation, and the products were easily distributed in plasma and liver and kidney tissues. Ginsenosides were easily hydrolyzed into protopanaxadiol and protopanaxatriol in the gastrointestinal tract of rats. After phase I metabolism such as dehydrogenation and deoxidation, the products

基金项目:国家自然科学基金项目(82174273,81774202,82305323)

作者简介:王宇(1999－),女,四川成都人,硕士,研究方向:中药质量控制与评价。

通讯作者:张梅(1963－),女,四川成都人,博士研究生导师,博士,研究方向:中药质量控制与评价。E-mail:zhangmei63@cdutcm.edu.cn。
谢孟君(1995－),四川巴中人,实验师,硕士,研究方向:中药质量控制与评价。E-mail:xiemengjun@cdutcm.edu.cn。

were more distributed in the spleen. *Conclusion* These findings could reveal the mechanism of action of BHP in DR treatment and provide a method for the discovery of metabolites and metabolic pathways.

Keywords: Bushen Huoxue Prescription(补肾活血方); absorbed prototypes; metabolites; tissue distribution; molecular network; UHPLC - Q - Exactive Orbitrap MS

中药复方活性成分分析,需考虑成分只有达到一定血药浓度后才可能发挥疗效[1-2],且发挥生物活性可能是其代谢物[3-4]。此外,吸收入血的成分会随血液循环分布到各组织中发挥药效作用。因此,深入探究体内吸收和代谢成分,以及成分的组织分布特点至关重要。中药化学成分复杂多样,其体内鉴定常被内源性物质干扰,且多级的生物转化过程使得代谢物表征充满挑战。超高效液相色谱 - 四极杆 - 静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC - Q - Exactive Orbitrap MS)技术凭借精确的二级质谱信息和高通量筛选能力,在体内外鉴定中发挥着显著优势。而 mzcloud、mzVault 及全球天然化合物社交分子网络(global natural products social molecular networking, GNPS)等数据库为解析海量质谱数据提供了强大支持。GNPS 是一种可视化谱图的数据库,基于 MS/MS 质谱碎片的相似性将结构相似的化合物聚集成簇,极大地促进了复杂代谢成分的深度分析[5-6]。

补肾活血方(专利号:200910308470.3)以糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的"肾虚血瘀"为基本病机,结合中医药配伍机制及临床疗效进行药味加减后,由地黄、丹参、人参及葛根组成。地黄甘润质寒,能够生津养阴,清热凉血,归心、肝、肾经;丹参味苦微寒,具有补虚兼有活血化瘀的功效,归心、肝经;人参性甘,既善补气,又能生津,归脾、肺、心经。葛根甘凉,有清热生津之功,归脾、胃经。四药合用达到治疗肝肾虚损和目窍失养的作用。多项临床及现代药理研究表明,补肾活血方具有良好的防治 DR 的作用[7-9]。目前,已从补肾活血方中鉴定出了 160 余种化合物[10],包括环烯醚萜类、苯丙素类、丹参酮类、丹酚酸类、人参皂苷类和异黄酮类等。然而对补肾活血方成分在体内的吸收、分布和代谢研究相对较少,仍然难以明确其药效物质基础。因此,本研究利用 UHPLC - Q - Exactive Orbitrap MS 结合分子网络技术,对灌胃补肾活血方后的大鼠体内(血浆、组织、尿液和粪便)的原型成分及代谢成分进行鉴定,并对这些成分在大鼠肝、肾、脾、眼等组织的分布情况进行了研究,以阐释补肾活血方及地黄、丹参、人参及葛根治疗糖尿病性视网膜病变的药效物质基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UltiMate™ 3000 超高效液相色谱仪和 Vanquish 型高分辨质谱仪(赛默飞世尔科技公司)、RG - 160AT 高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)、超纯水净化系统(安维迪生命科学(浙江)有限公司)、涡旋仪(美国 Scientific Industries 公司)、KQ3200E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、EZ - 2 PLUS 真空离心浓缩仪(英国 Genevac 公司)。

1.2 材料

四味药材均购自成都荷花池中药材市场(四川成都),经成都中医药大学裴瑾教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根、唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根、五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥细支根或须根、豆科植物野葛 *Pueraria lobate* (Wilid.) Ohwi. 的干燥根。

毛蕊花糖苷(批号:MUST - 21122712)、二氢丹参酮 I(批号:MUST - 21102911)、原儿茶酸(批号:MUST - 22041413)、益母草苷(批号:MUST - 21121010)、人参皂苷 Re(批号:MUST - 21111816)购自成都曼思特生物科技有限公司。松果菊苷(批号:DSTDS003801)、隐丹参酮(批号:DSTDY001101)、人参皂苷 Rd(批号:DSTDR001502)、人参皂苷 Rb1(批号:DSTDR001502)、葛根素(批号:DSTDG000201)、大豆苷(批号:DSTDD001901)、人参皂苷 Rg2(批号:DSTDR001001)购自成都德思特生物技术有限公司。鸟苷(批号:CHB180118)、原儿茶醛(批号:CHB180928)购自成都克洛玛生物科技有限公司。无水柠檬酸(批号:AF21071151)、肉苁蓉苷 A(批号:AF20110801)购自成都埃法生物科技有限公司。大豆苷元(批号:PS0278 - 0020)购自成都普思生物科技股份有限公司。甲醇和乙腈均为色谱级(美国赛默飞世尔科技公司)。甲酸为质谱级(Rhawn 公司)。其他试剂均为分析级。

雄性 SD 大鼠(200 ~ 220 g)21 只(华阜康生物科技有限公司)饲养于成都中医药大学动物房,实验动物许可证号为[SYXK(Jing) - 2019 - 0008]。饲养温度为 20 ~ 26 ℃,湿度为 55% ±15%,光照/黑暗周期各 12 h,所有老鼠都可以自由获取食物和水。动物研究方案获得成都中医药大学动物伦理委员会批准(审查号:2023033)。

2 实验方法

2.1 补肾活血方水煎液制备

将地黄剪碎;其他 3 味药粉碎,粉末过 3 号筛。取人参、葛根、生地黄和丹参按照 1∶2∶2∶2 的比例称取,加水煎煮 2 次,每次 1 h,第 1 次加 8 倍水,第 2 次加 6 倍水,合并 2 次滤液,摇匀,转移到蒸发皿,水浴锅加热蒸发至 1 g/mL。

2.2 动物实验与取材

SD 大鼠适应环境并喂食 7 d,随后被随机分成 7 组(n = 3)。A ~ B 组为空白组,C ~ G 组为给药组。给药组给予 11.67 g/kg 剂量补肾活血方,空白组以相同剂量蒸馏水。连续灌胃 3 d,末次给药前禁食 12 h。

末次灌胃后,将 A 组和 G 组大鼠放至代谢笼中以获取 24 h 内的尿液和粪便。B ~ F 组分别在 0、0.25、0.5、1、2 h 进行腹主动脉取血,之后迅速获取大鼠眼、肝、心、脾、肺、肾、肠和胃。大鼠血液置于肝素钠管中,以转速 3500 r/min、温度 4 ℃ 离心 10 min 后取上层血浆。大鼠组织样品以生理盐水润洗后黏干。所有生物样品于 - 80 ℃保存,备用。

2.3 样品制备

均匀混合所有时间点的样品进行后续操作:向 200 μL 血浆中加入 4 倍甲醇,涡旋混匀后于 4 ℃,12 000 r/min 离心 10 min(后续离心参数同此)。上清液于自动浓缩仪中旋转浓缩至干,加 200 μL 甲醇后超声、涡旋复溶,再次离心取上清液即得血浆供试品。向 0.2 g 组织样品中加入 800 μL 甲醇,匀浆,

后续操作同血浆样品。尿液样品操作步骤同血浆。粪便样品风干后碾碎混合均匀,取其中 1 g 加入 10 mL 甲醇,超声溶解后离心,上清液浓缩至干,加 200 μL 甲醇复溶,涡旋 5 min,离心后上清液为粪便样品。均匀取各个样品 10 μL 混合,制成 QC 样。

2.4 色谱、质谱条件

UHPLC – Q – Exactive Orbitrap MS 分析在 Vanquish UHPLC 和 Q – Exactive Orbitrap MS system (Thermo Scientific, Massachusetts, USA)上进行,该系统配备加热电喷雾离子源(ESI)。采用 ZORBAX SB – C_{18} 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm),柱温为 35°C,保护柱(ZORBAX SB – C_{18}, 2.1 mm × 50mm, 1.8 μm)(Agilent Technologies, Mississauga, ON, Canada)。流动相为(A) 0.1% 甲酸 – 水溶液和(B) 0.1% 甲酸 – 甲醇,流速为 0.3 mL/min (0 ~ 5min, 5% ~ 15% B; 5 ~ 10 min, 15% B; 10 ~ 15 min, 15% ~ 45% B; 15 ~ 20 min, 45% B; 20 ~ 25 min, 45% ~ 100% B; 25 ~ 30 min, 100% B,进样量为 5 μL。采用电喷雾离子源正、负离子分别扫描模式进行检测。喷雾电压 3.5 kV (+) /2.5 kV(–),离子传输管和辅助气加热温度分别为 300 ℃和 350 ℃,鞘气和辅助气流速分别为 40 arb 和 15 arb。扫描模式为一级质谱全扫描结合自动触发二级质谱扫描模式(Full MS /dd – MS2),一级分辨率 35 000,二级分辨率 17 500,扫描范围 m/z 100 ~ 1500,碰撞能量梯度为 20、40、60 eV。

2.5 数据分析与处理

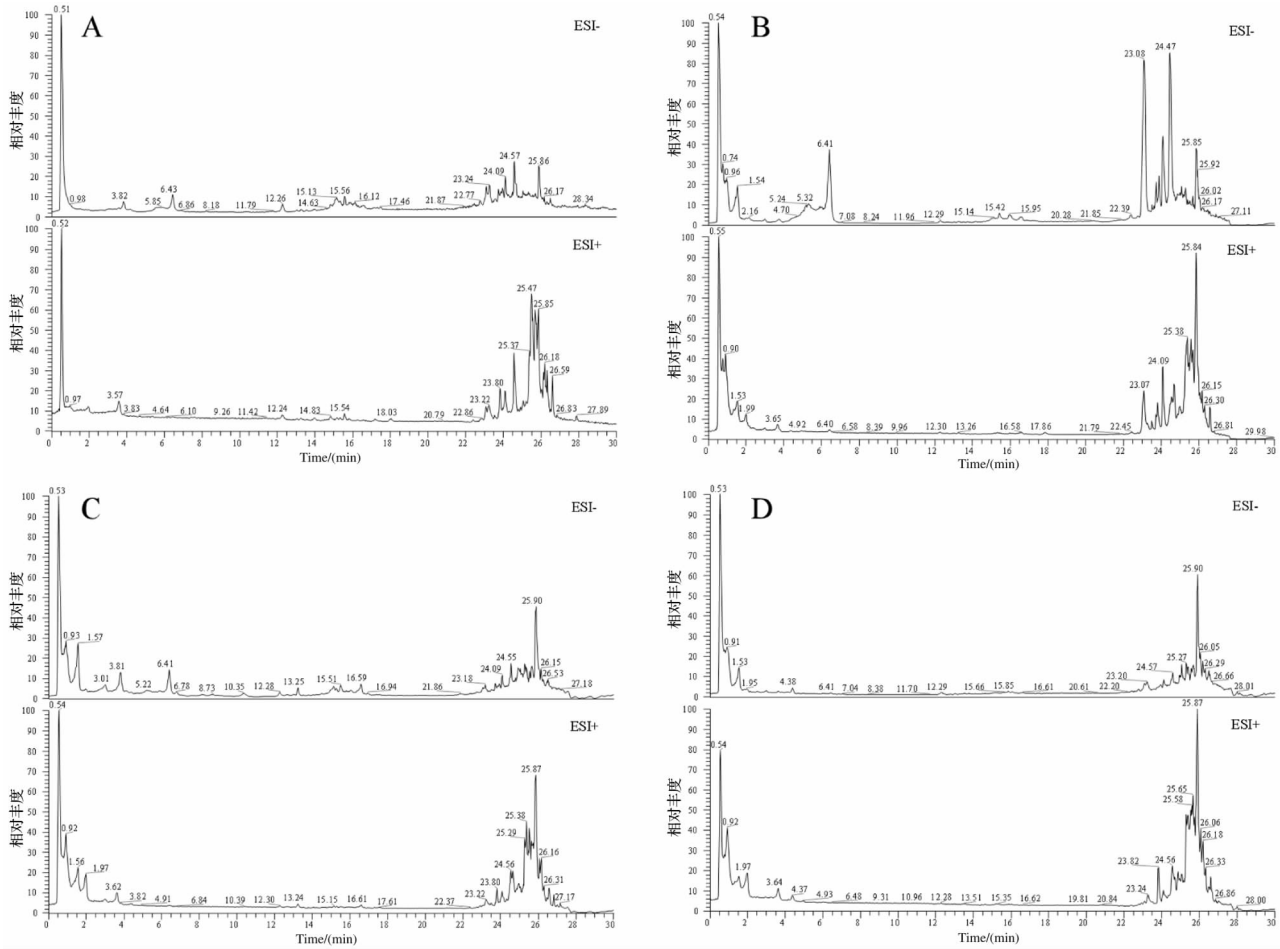
利用 Xcalibur 4.6 软件采集质谱数据,Compund Discovery 3.0 软件对质谱信息进行提取和数据处理。未知化合物通过天然产物未知化合物鉴定模板进行分子式拟合,同时结合数据库(mzVault 和 mzCloud)进行匹配(match score > 80, error < 5.0 ppm)。并利用 Xcalibur 质谱解析软件对原型成分进行鉴别,通过标准品,文献中描述的主要诊断产物离子和中性损失片段进行对比,确认化合物检测的准确性。

使用 MSConvert 软件将原始数据(.raw)转换为 mzXML 格式,上传至 GNPS,参数设置如下:母离子和子离子质量偏差小于 0.02 Da,匹配峰大于 6,余弦得分大于 0.70, topK 设置为 10,形成补肾活血方体内成分分子网络。下载可视化集群网络图,随后运用 Cytoscape 3.9.1 进行可视化分析。根据同类化合物簇节点之间的相似性,以鉴定的原型成分为母体化合物,对比质谱信息、标准品、文献、数据库对可能的代谢产物进行预测。

3 结果

3.1 补肾活血方在大鼠体内吸收成分的鉴定

基于 UHPLC – Q – Exactive Orbitrap MS 技术分析了给药后不同时间点混合大鼠血浆和组织样品,按照 2.5 数据分析与处理策略,通过对比补肾活血方化学成分库、标准品图谱及相关文献中的相对保留时间、一级图谱、精确分子质量、二级碎片



注:A. 血浆;B. 肝;C. 肾;D. 脾。

图 1 灌胃补肾活血方的大鼠血浆、肝、肾、脾组织的 UHPLC – Q – Exactive Orbitrap MS/MS 总离子流图

等信息，鉴定出了 75 个体内吸收成分，在血浆、肝、心、脾、肺、肾、眼、小肠、胃分别检出了 26、36、26、27、21、41、3、64、45 个成分，详细信息见表 1，部分样品的总离子流图见图 1。

3.1.1 苯乙醇苷类 通过与标准品及参考文献的比较，鉴定出 4 个苯乙醇苷类物质。这类化合物主要来源于补肾活血方君药地黄，主要结构由苯乙醇、咖啡酸和糖组成。通过比对标准品毛蕊花糖苷的色谱保留时间和质谱特征，确认保留时间为 14.97 min 的色谱峰为毛蕊花糖苷，二级质谱见插页 XXIX 图 2A。根据精确质量推测其裂解途径为准分子离子峰 m/z 623.199 16（$[C_{29}H_{36}O_{15}-H]^-$），碰撞中酰苷键断裂，中性丢失咖啡酰基产生特征碎片离子 m/z 461.17（$[C_{20}H_{30}O_{12}-H]^-$）。脱去的咖啡酰基继续脱水产生特征碎片离子 m/z 161.02（$[C_9H_6O_3-H]^-$），碎片与文献[11]描述一致。最终，峰 1、20、66 也被鉴定为此类物质。

3.1.2 丹参酮类 补肾活血方中含有君药丹参，其主要由脂溶性的丹参酮类成分居多。结合标准品和参考文献，在大鼠体内共鉴定出 13 个丹参酮类化合物。这类化合物在正离子模式下响应较好，主要裂解特征为脱羟基和丢失水分子。以化合物 34 为例，通过对比标准品保留时间和裂解碎片，确认保留时间 24.01 min 的色谱峰为二氢丹参酮Ⅰ，二级质谱见插页 XXIX 图 2B。根据精确质量推测其裂解途径为准分子离子峰 m/z（$[C_{15}H_{14}O_3+H]^+$），特征碎片离子 261.09（$[C_{15}H_{14}O_3+H-H_2O]^+$），233.10$[C_{15}H_{14}O_3+H+H_2O-CO]^+$，205.10$[C_{15}H_{14}O_3+H-H_2O-2CO]^+$。碎片与文献[12]描述一致，峰 29、31、35、37、41～48 被鉴定为丹参酮类化合物。

3.1.3 人参皂苷类 人参皂苷是人参的主要有效成分之一，可根据苷元结构分为原人参三醇型（protopanaxatriol，PPT）、原人参二醇型（protopanaxadiol，PPD）和齐墩果酸型人参皂苷。PPT 与 PPD 皂苷负离子模式下，大多形成甲酸加合离子，二级裂解时通常优先丢失糖配基，并获得苷元离子信息，其中原人参三醇型皂苷苷元离子为 m/z 475.38，原人参二醇型皂苷苷元离子为 m/z 459.38。中性丢失 162.05 Da，146.06 Da 和 132.04 Da 分别对应葡萄糖、鼠李糖和木糖/阿拉伯糖。以化合物 68 为例，结合标准品保留时间和裂解碎片，确认保留时间为 21.40 min 的色谱峰为人参皂苷 Re，二级质谱见插页 XXIX 图 2C。根据精确质量推测其裂解途径为准分子离子峰 m/z 945.543 95$[C_{48}H_{82}O_{18}-H]^-$ 依次丢失一个鼠李糖得到 m/z 799.49、一个葡萄糖得到 m/z 637.43、一个葡萄糖得到三醇型特征离子 m/z 475.38。碎片与文献[13]描述一致。类似地，还鉴定出了 2 个人参二醇型（峰 67、72）和 3 个人参三醇型皂苷（峰 69、70、71）。

3.1.4 异黄酮类 葛根是补肾活血方的佐使药，其主要成分由异黄酮构成，从大鼠体内共鉴定出 14 个异黄酮类化合物。结构母核是以 C6－C3－C6 为骨架的 2－苯基色原酮，自然界中主要以游离黄酮苷元、与糖结合的黄酮苷两种形式存在。在正负扫描模式的一级质谱图中，异黄酮苷元均给出准分子离子峰$[M+H]^+$、$[M-H]^-$，几乎无碎片离子，有利于推断其分子质量。而且易丢失中性碎片 CO（28 Da）、CO_2（44 Da）、H_2O（18 Da）、CH_3（15 Da）等离子。以化合物 63 为例，结合标准品保留时间和裂解碎片，确认保留时间为 12.19 min 的色谱峰为葛根素，二级质谱见插页 XXIX 图 2D。根据精确质量推测其裂解途径为准分子离子峰 m/z（$[C_{21}H_{20}O_9+H]^+$），准分子离子丢失一系列 H_2O 形成碎片离子 m/z 399.11，m/z 381.10，发生糖降解及丢失 1 分子 H_2O 后形成的碎片离子 m/z 297.08$[M+H-H_2O-C_4H_6O_3]^+$。碎片与文献[14]描述一致。同样，化合物 49、50、52～61、65 被鉴定为异黄酮类化合物。

表 1 补肾活血方在血浆及组织中的吸收原型成分

编号	t/(min)	模式	实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (ppm)	MS/MS(m/z)	化学式	化合物名称	来源	组织分布
1	5.23	$[M-H]^-$	461.166 9	461.166 4	0.912 1	315.11,135.05,85.03	$C_{20}H_{29}O_{12}$	Forsythoside E	RR	i
2	4.30	$[M-H]^-$	373.115 2	373.114 0	3.091 0	211.06,193.05,167.07,149.06,123.04	$C_{16}H_{21}O_{10}$	Geniposidic acid	RR	i
3	6.06	$[M-H]^-$	375.129 9	375.129 7	0.648 4	151.08,125.06,59.01	$C_{16}H_{23}O_{10}$	Mussaenosidic acid	RR	e,h,i
4	1.40	$[M+H]^+$	268.104 2	268.104 0	0.697 9	/	$C_{10}H_{14}N_5O_4$	Adenosine	RR/SMRR/GRR/PLR	d～j
5	0.51	$[M+H]^+$	175.119 0	175.119 0	0.378 6	116.07,70.07,60.06	$C_6H_{15}N_4O_2$	DL－Arginine	RR/GRR	e,f,h,i
6	5.45	$[M-H]^-$	175.060 7	175.061 2	−3.014 9	131.07,157.05,115.04,85.04	$C_7H_{11}O_{15}$	2－Isopropylmalic acid	SMRR/GRR/PLR	d,h
7	18.39	$[M-H]^-$	269.045 8	269.045 5	0.967 2	241.05,225.06	$C_{15}H_9O_5$	Apigenin	PLR	d～f,h～j
8	10.82	$[M-H]^-$	129.018 9	129.019 3	−3.659 1	/	$C_5H_5O_4$	Mesaconic acid	PLR	d～f,h～j
9	0.89	$[M+H]^+$	123.055 5	123.055 3	1.928 6	96.04,80.05,53.04	$C_6H_7N_2O$	Nicotinamide	GRR/PLR	a,d～j
10	4.39,3.86	$[M-H]^-$	137.023 8	137.024 4	4.812 4	109.03,93.03	$C_7H_5O_3$	4－Hydroxybenzoic acid	RR	a,d～j
11	18.69	$[M-H]^-$	341.102 4	341.103 1	−1.800 0	326.08,282.09	$C_{19}H_{17}O_6$	6－Demethoxytangeretin	RR	h～j
12	15.53	$[M-H]^-$	193.050 3	193.050 6	−1.756 5	178.03,149.06,134.04	$C_{10}H_9O_4$	ferulic acid	RR/SMRR/PLR	h
13	14.33	$[M-H]^-$	493.171 5	493.171 5	−0.114 8	313.09	$C_{24}H_{29}O_{11}$	6－O－p－Vanillyl Ajugaol	RR	i
14	5.39	$[M-H]^-$	375.128 2	375.129 7	−3.826 0	213.08,169.09,151.08	$C_{16}H_{23}O_{10}$	8－Epiloganic acid	RR	h,i
15	14.97	$[M-H]^-$	623.199 2	623.198 1	1.627 5	461.17,315.11,179.03,161.03,135.04	$C_{29}H_{35}O_{15}$	＊Acteoside	RR	I,j
16	0.90	$[M+H]^+$	165.055 0	165.054 6	2.253 8	147.04,119.05	$C_9H_9O_3$	P－Coumaric Acid	SMRR/PLR	a,d～k
17	0.91	$[M-H]^-$	191.019 4	191.019 7	−1.657 5	173.01,111.01,129.0287.01	$C_6H_7O_7$	＊Citric Acid	RR	a,f,i,j
18	18.50	$[M-H]^-$	299.056 1	299.056 1	−0.067 0	255.03	$C_{16}H_{11}O_6$	Diosmetin	RR	I,j
19	9.17	$[M-H]^-$	130.086 8	130.087 3	5.243 0	88.04	$C_6H_{12}NO_2$	DL－Leucine	RR	f,i,j
20	13.82	$[M-H]^-$	785.252 0	785.251 0	1.333 9	623.22,161.02	$C_{35}H_{45}O_{20}$	＊Echinacoside	RR	i
21	0.54	$[M-H]^-$	179.055 8	179.056 1	−1.816 2	89.02,71.02,59.02	$C_6H_{11}O_6$	glucose	RR	d,h,i
22	1.55	$[M-H]^-$	282.084 5	282.084 4	0.503 2	150.04,133.01,180.02	$C_{10}H_{12}O_5N_5$	＊Guanosine	RR	d～j

续表 1 补肾活血方在血浆及组织中的吸收原型成分

编号	t/(min)	模式	实测值(m/z)	理论值(m/z)	误差(ppm)	MS/MS(m/z)	化学式	化合物名称	来源	组织分布
23	17.91	[M-HCOO]⁻	201.113 0	201.113 2	-1.198 2	183.11,139.11	$C_{10}H_{17}O_4$	Jioglutin D	RR	a,j
24	16.42	[M-H]⁻	429.198 1	429.197 7	0.721 1	249.06	$C_{21}H_{33}O_9$	Jiocarotenoside A1	RR	i
25	4.16	[M+HCOO]⁻	393.140 4	393.140 2	-0.449 3	347.13,167.07	$C_{16}H_{25}O_{11}$	*Leonuride	RR	h,j
26	0.77	[M-H]⁻	133.013 7	133.014 2	-4.320 4	115.00,71.01	$C_4H_5O_5$	malic acid	RR	d~k
27	12.38	[M-H]⁻	183.102 3	183.102 7	-1.869 0	139.07,137.10,123.08	$C_{10}H_{15}O_3$	Rehmapicrogenin	RR	a,d~j
28	6.57,8.37	[M-H]⁻	593.151 1	593.152 0	1.322 2	473.11,413.09,353.07	$C_{27}H_{29}O_{15}$	Vicenin Ⅱ	RR	i,j
29	24.01	[M+H]⁺	279.101 7	279.101 6	0.516 8	261.09,251.07,233.08,223.08,205.10	$C_{18}H_{15}O_3$	1,2-Dihydrotanshinquinone	SMRR	a
30	2.52	[M+H]⁺	127.039 2	127.039 0	1.924 4	109.03,81.03	$C_6H_7O_3$	5-Hydroxymethylfurfural	SMRR	a,d~k
31	24.71	[M+H]⁺	297.148 7	297.148 5	0.745 9	279.14,269.15,253.16,251.14,238.14	$C_{19}H_{21}O_3$	*Cryptotanshinone	SMRR	d,e,g~j
32	4.29	[M-H]⁻	153.018 8	153.019 3	-3.484 0	109.03,108.02	$C_7H_5O_4$	*Protocatechuic acid	SMRR	g,i,j
33	2.62	[M-H]⁻	197.045 0	197.045 5	-2.861 1	179.03,135.04,123.04,73.00	$C_9H_9O_5$	Danshensu	SMRR	d,h~j
34	24.01	[M+H]⁺	279.101 9	279.101 6	1.172 8	261.09,251.07,233.08,223.08,205.10	$C_{18}H_{15}O_3$	*Dihydrotanshinone I	SMRR	a,d~f,h~j
35	23.67	[M-H]⁻	313.145 4	313.144 5	2.725 0	269.16,241.16,226.10,213.09	$C_{19}H_{21}O_4$	Neocryptotanshinone	SMRR	a,d~g
36	12.72	[M-H]⁻	137.023 9	137.024 4	-3.921 5	109.03,93.03	$C_7H_5O_3$	*Protocatechualdehyde	SMRR	a,d~j
37	23.57	[M+H]⁺	311.128 1	311.127 8	0.855 6	279.10,269.08,265.09,223.08	$C_{19}H_{19}O_4$	Przewaquinone A	SMRR	a,h,I,j
38	15.88	[M-H]⁻	359.076 4	359.077 2	-2.466 5	197.05,179.03,161.02	$C_{18}H_{15}O_8$	Rosmarinic acid	SMRR	d,i
39	16.32	[M-H]⁻	493.112 4	493.112 9	-1.006 8	313.07,295.06,203.03	$C_{26}H_{21}O_{10}$	Salvianolic acid A	SMRR	i
40	17.25	[M-H]⁻	313.071 4	313.071 8	-1.021 3	283.03	$C_{17}H_{13}O_6$	Salvianolic acid F	SMRR	d,h,i
41	18.65	[M+H]⁺	313.106 7	313.107 1	-1.054 4	295.10,267.10,253.09	$C_{18}H_{17}O_5$	Tanshindiol A/B/C	SMRR	a,d,f,h~j
42	16.15	[M+H]⁺	313.106 4	313.107 1	-1.931 6	295.10,267.10,253.09	$C_{18}H_{17}O_5$	Tanshindiol A/B/C	SMRR	a,d,f,h~j
43	16.54	[M+H]⁺	313.107 0	313.107 1	-0.177 2	295.10,267.10,253.09	$C_{18}H_{17}O_5$	Tanshindiol A/B/C	SMRR	a,d,f,h~j
44	25.17	[M+H]⁺	295.133 2	295.132 9	1.146 9	280.11,277.12,266.09,249.13,206.11	$C_{19}H_{19}O_3$	Tanshinone IIA	SMRR	a,d,e,g~j
45	24.05	[M+H]⁺	311.128 1	311.127 8	0.855 6	265.09,251.07	$C_{19}H_{19}O_4$	Tanshinone IIB	SMRR	d,e,g,h,j
46	24.50	[M-H]⁻	313.145 4	313.144 5	2.822 4	295.14,283.13,267.14,255.14,239.11	$C_{19}H_{21}O_4$	Tanshinone V	SMRR	a,d~g
47	23.91	[M-H]⁻	295.096 4	295.097 6	-3.885 9	277.09,265.09,249.09,238.06,209.06	$C_{18}H_{15}O_4$	Tanshinone Ⅵ	SMRR	a,d,e,g,h
48	23.53	[M+H]⁺	341.138 6	341.138 4	0.763 9	281.12,263.11,235.11	$C_{20}H_{21}O_5$	Trijuganone C	SMRR	d
49	14.04	[M+HCOO]-	491.185 0	491.186 4	-2.849 5	445.11,283.06	$C_{32}H_{27}O_5$	3'-Methoxydaidzin	PLR	i
50	17.01	[M+H]⁺	285.075 7	285.075 7	-0.018 8	270.05,253.05	$C_{16}H_{13}O_5$	3′-Methoxydaidzein	PLR	a,h~j
51	1.03	[M-H]⁻	191.055 8	191.056 1	-1.462 5	173.01,111.01,85.03	$C_7H_{11}O_6$	Quinic Acid	PLR	h
52	13.05	[M+H]⁺	447.128 6	447.128 6	1.017 7	429.12,411.11,393.10,381.10,327.09,297.08,267.07	$C_{22}H_{23}O_{10}$	3′-Methoxy Puerarin	PLR	a,d~j
53	15.22	[M-H]⁻	429.120 0	429.119 1	2.144 4	309.08,281.08,266.06	$C_{22}H_{21}O_9$	4'-Methoxypuerarin	PLR	a,i,j
54	16.84	[M-H]⁻	283.061 4	283.061 2	0.830 8	268.04	$C_{16}H_{11}O_5$	Biochanin A	PLR	a,d~j
55	16.45	[M+H]⁻	253.051 0	253.050 6	1.433 7	225.06,224.05,208.05,197.06	$C_{15}H_9O_4$	Daidzein isomer	PLR	a,d~j
56	16.66	[M+H]⁻	253.051 0	253.050 6	1.373 4	225.06,224.05,208.05,197.06	$C_{15}H_9O_4$	*Daidzein	PLR	a,d,h~j
57	13.48	[M+H]⁺	417.116 5	417.118 0	-3.578 2	297.07,255.07	$C_{21}H_{21}O_9$	*Daidzin	PLR	a,d~f,h~j
58	21.96	[M-H]⁻	267.066 5	267.066 5	0.807 6	252.04,223.04	$C_{16}H_{11}O_4$	Formononetin	PLR	a,d~j
59	15.46	[M+H]⁺	271.060 2	271.060 1	0.523 0	253.05,243.07,215.07,197.06,153.02	$C_{15}H_{11}O_5$	Genistein	PLR	i,j
60	18.08	[M+H]⁺	271.060 3	271.060 1	0.860 8	253.05,243.07,215.07,197.06,153.02	$C_{15}H_{11}O_5$	Genistein isomer	PLR	d,e,h
61	14.34	[M+H]⁺	433.113 0	433.112 9	0.262 9	271.06,243.07,215.07,153.07	$C_{21}H_{21}O_{10}$	Genistin	PLR	i,j
62	4.52	[M+H]⁺	247.114 5	247.144 1	1.603 8	188.07,146.06,144.08	$C_{14}H_{19}N_2O_2$	Lenticin	PLR	d
63	12.19	[M+H]⁺	417.118 6	417.118 0	1.323 8	399.11,381.10,351.09,321.08,297.08,267.07	$C_{21}H_{21}O_9$	*Puerarin	PLR	a,d~j
64	14.20	[M-H]⁻	605.189 1	605.187 6	2.592 8	297.08,253.09	$C_{29}H_{33}O_{14}$	Pueroside A	PLR	i
65	14.06	[M+H]⁺	463.124 1	463.123 5	1.354 1	445.11,343.08,313.07	$C_{22}H_{22}O_{11}$	Tectoridin	PLR	i,j
66	14.49	[M-H]⁻	799.268 2	799.266 6	1.966 4	623.21,175.04	$C_{36}H_{47}O_{20}$	*Cistanoside A	RR/GRR	i
67	24.55	[M-H]⁻	945.544 0	945.542 8	1.235 0	783.49,621.44,459.38	$C_{48}H_{81}O_{18}$	*Ginsenoside Rd	GRR	j
68	21.40	[M-H]⁻	945.544 3	945.542 8	1.493 2	799.45,783.49,637.44,475.38	$C_{48}H_{81}O_{18}$	*Ginsenoside Re	GRR	i,j
69	23.16	[M+HCOO]⁻	845.497 7	845.490 4	8.600 0	799.49,637.43,475.38	$C_{43}H_{73}O_{16}$	*Ginsenoside Rf	GRR	i,j
70	21.64	[M+HCOO]⁻	845.490 5	845.490 4	0.082 0	799.49,637.43,475.38	$C_{43}H_{73}O_{16}$	Ginsenoside Rg1	GRR	i,j
71	23.47	[M-H]⁻	783.491 1	783.488 9	2.770 1	637.42,475.38	$C_{42}H_{71}O_{13}$	*Ginsenoside Rg2	GRR	i,j
72	25.17	[M-H]⁻	783.491 2	783.488 9	2.925 9	621.43,459.39	$C_{42}H_{71}O_{13}$	Ginsenoside Rg3	GRR	i,j
73	23.94	[M-H]⁻	955.492 4	955.490 8	1.704 5	793.44,613.37,569.39,453.34	$C_{48}H_{75}O_{19}$	Ginsenoside Ro	GRR	i
74	19.55	[M-H]⁻	931.528 8	931.527 2	1.739 1	799.49,637.44,475.38	$C_{47}H_{79}O_{18}$	Notoginsenoside R1	GRR	i
75	16.49	[M-H]⁻	523.182 4	523.182 1	0.522 8	193.05,175.04	$C_{25}H_{31}O_{12}$	6-O-E-Feruloylajugol	RR	i

注:*代表经标准品比对确认;a. 血浆,d~j 代表肝、心、脾、肺、肾、肠、胃;RR. 地黄;SMRR. 丹参;GRR. 人参;PLR. 葛根。

3.2 补肾活血方在大鼠体内代谢成分的鉴定

了解补肾活血方原型成分进入体内后的代谢产物对于阐明补肾活血方的有效物质基础和作用机制至关重要。在分子网络的分类结果指导下，结合相关文献报道的代谢规律，进一步通过 Compound Discover 3.2 对质谱数据进行分析，最终从大鼠血浆、各组织、尿液和粪便中鉴定出异黄酮类代谢产物，人参皂苷类代谢产物，丹参酮类代谢产物、苯乙醇苷类代谢产物，共 123 个。在血浆、肝、心、脾、肺、肾、眼、小肠、胃、尿液和粪便中分别检出了 25、23、13、11、12、33、1、49、46、71、87 个化合物，具体鉴定结果见表 2。

3.2.1 分子网络推导代谢物：以异黄酮类和人参皂苷类代谢物为例 在负离子模式下，异黄酮类代谢物聚成一簇，见插页 XX 图 3A。节点 253.051 1 保留时间为 16.57，经 Xcalibur 拟合其元素组成为 $C_{15}H_{10}O_4$。与标准品大豆苷元保留时间一致。MS/MS 图谱显示 253.05（$C_{15}H_{10}O_4$），225.06（$C_{14}H_9O_3$），224.05（$C_{14}H_8O_3$），209.06（$C_{14}H_9O_2$）与标准品及文献报道一致，因此被鉴定为大豆苷元。将此节点作为核心节点推导其代谢物，以节点 M96（281.046 0），M94（333.007 9），M91（349.002 6）为例。节点 M96 的保留时间为 21.47，相对分子质量比大豆苷元多 28 Da，经 Xcalibur 拟合其元素组成 $C_{16}H_{10}O_5$，MS/MS 图谱显示 281.05（$C_{16}H_9O_5$），253.05（$C_{15}H_{10}O_4$），225.06（$C_{14}H_9O_3$），与大豆苷元碎片一致，因此推断节点 M96 为大豆苷元的羧化产物。节点 M94 的保留时间为 15.43，相对分子质量比大豆苷元多 80 Da，经 Xcalibur 拟合其元素组成 $C_{16}H_{10}O_7S$。MS/MS 图谱显示 333.01（$C_{15}H_9O_7S$），253.05（$C_{15}H_{10}O_4$），225.06（$C_{14}H_9O_3$），与大豆苷元一致。因此，推断节点 M94 为大豆苷元的磺酸化产物。节点 M91 保留时间为 16.35，相对分子质量比大豆苷多 96，经 Xcalibur 拟合其元素组成 $C_{15}H_{10}O_8S$。MS/MS 图谱显示 349.00（$C_{15}H_9O_8S$），269.05（$C_{15}H_9O_5$），225.06（$C_{14}H_9O_3$），推测为大豆苷元的磺酸化和羟基化产物。

在正离子模式下，人参皂苷类的代谢物聚成一簇，见插页 XXX 图 3B。节点 461.399 2 的保留时间为 25.40，经 Xcalibur 拟合其元素组成为 $C_{30}H_{52}O_3$。MS/MS 图谱显示 461.40（$C_{30}H_{53}O_3$），443.39（$C_{30}H_{51}O_2$），425.38（$C_{30}H_{49}O$）和 407.37（$C_{30}H_{47}$）二级碎片，与文献[15]一致，因此被确认为 PPD。将此节点作为核心节点推导其代谢物，以节点 M103（443.388 5），M104（441.373 5），M109（425.377 8）为例。节点 M103 的保留时间为 24.11，比 PPD 少 18 Da，经 Xcalibur 拟合其元素组成为 $C_{30}H_{51}O_2$。它和 PPD 拥有相同 MS/MS 碎片 425.28 和 407.37。因此，推测其为 PPD 的水解产物。节点 M104 的保留时间为 21.46，经 Xcalibur 拟合其元素组成为 $C_{30}H_{49}O_2$。准分子离子峰及二级碎片均比节点 A 少 2 Da，因此，推测节点 B 为 PPD 水解及脱双氢代谢产物。节点 M109 的保留时间为 24.55，比 PPD 少 36Da，经 Xcalibur 拟合其元素组成为 $C_{30}H_{49}O$，与 PPD 拥有相同碎片 407.37。因此被推断为 PPD 的双水解代谢产物。

3.2.2 补肾活血方体内代谢规律分析 苯乙醇苷类原型成分集中在胃肠道，而在血浆和组织中未被检出。据文献报道，毛蕊花糖苷口服利用度极低（仅为 0.12%），在体内容易被水解[11]。由此推测，这类物质首先在胃肠道发生生物转化，生成羟基酪醇[16]和咖啡酸[17]发挥生物活性。此后，羟基酪醇继续代谢生成甲基化、葡萄糖醛酸化和磺酸化产物。咖啡酸在体内多发生氢化、去羟基化和磺酸化反应。苯乙醇苷类代谢物主要分布在肾中，暗示其更多通过尿液排泄。

丹参酮类是丹参中一类脂溶性活性成分。在血浆和各个组织中均能检测到原型成分，说明丹参酮口服后可直接被吸收，发挥生物活性作用[12]。在大鼠的体内、尿液和粪便检测到多个丹参酮的代谢物，并明确了这些代谢物的代谢途径，主要为甲基化/去甲基化、羟基化、羧化、葡萄糖醛酸化等，集中分布在血浆和肝中，说明其成分更多通过粪便排泄。

人参皂苷在大鼠体内主要以活性代谢物 PPD 和 PPT 形式存在，然后发生进一步代谢。在大鼠体内检测到多个 PPD 和 PPT 的代谢物，主要途径为Ⅰ相代谢，包括单氧合、脱氢和脱氧。在大鼠粪便中也发现了 PPD 的葡萄糖醛酸化产物，据文献报道[15]，当 PPD 的Ⅰ相代谢饱和、药物开始在体内积累时，可能进行Ⅱ相代谢。人参皂苷类代谢物主要分布在脾、肺、肝和肾中，说明其更多通过粪便排泄。

补肾活血方含有丰富的异黄酮类成分，包括葛根素、大豆苷和大豆苷元。此类成分分布在大鼠血浆及各个组织中很容易发生葡糖糖醛酸化反应，生成Ⅱ相代谢产物。此外，在体内还观察到了氢化、羟基化、甲基化和磺酸化等代谢途径。经过代谢，异黄酮类成分都最终转化成雌马酚[18]，在血浆、肝、肾、肺及胃肠道均被检测到。雌马酚可能是补肾活血方潜在的活性成分。这类化合物主要分布在血浆和肝肾中，说明异黄酮类成分更多通过尿液排泄。

表 2 补肾活血方在血浆、组织、尿液及粪便中的代谢物

编号	t/(min)	模式	实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (ppm)	MS/MS(m/z)	化学式	化合物名称	来源	组织分布
M1	2.81	$[M-H]^-$	153.055 1	153.055 7	-4.037 6	123.04	$C_8H_9O_3$	Hydroxytyrosol	RR	c
M2	2.42	$[M-H]^-$	179.034 6	179.035 0	-2.350 7	135.04	$C_9H_7O_4$	Caffeic acid	RR	c,d,i,j
M3	6.55	$[M-H]^-$	355.067 6	355.067 1	1.569 0	179.03,175.02,135.04,113.02	$C_{15}H_{15}O_{10}$	Glucuronidated caffeic acid	RR	b,h
M4	6.62	$[M-H]^-$	258.991 6	258.991 8	-0.611 3	179.03,135.04	$C_9H_7O_7S$	Sulfonated caffeic acid	RR	a,b,i,j
M5	8.15	$[M-H]^-$	273.007 4	273.007 5	-0.336 4	193.05	$C_{10}H_9O_7S$	Sulfonated caffeic acid + CH_3	RR	a,b,e,f,h
M6	4.66	$[M-H]^-$	181.050 2	181.050 6	-2.125 8	137.06,135.04	$C_9H_9O_4$	Dihydroxycaffeic acid	RR	b,i,j
M7	10.40	$[M-H]^-$	165.055 2	165.055 7	-3.281 9	121.06,119.05	$C_9H_9O_3$	3-hydroxyphenylpropionic acid	RR	a~f,h~j
M8	6.45	$[M-H]^-$	245.012 7	245.012 5	0.666 7	165.05,121.06	$C_9H_9O_6S$	Sulfonated 3-hydroxyphenylpropionic	RR	a~k
M9	3.99	$[M-H]^-$	163.039 5	163.040 1	-3.730 3	119.05	$C_9H_7O_3$	Dehydroxy caffeic acid	RR	b,c,h
M10	7.03	$[M-H]^-$	193.050 3	193.050 6	-1.756 5	178.03,134.04	$C_{10}H_9O_4$	Methyl caffeic acid	RR	b,c,h
M11	2.95	$[M-H]^-$	149.060 1	149.060 8	-4.686 0	121.03,101.02	$C_9H_9O_2$	3-phenylpropionic acid	RR	c
M12	3.37	$[M-H]^-$	329.087 4	329.087 8	-1.224 5	175.02,153.05,123.05,113.02	$C_{14}H_{17}O_9$	Glucuronidated hydroxytyrosol	RR	b
M13	16.81	$[M-H]^-$	651.230 0	651.229 4	0.824 4	475.18,193.05	$C_{31}H_{39}O_{15}$	Dimethyl acteoside	RR	c,i

续表 2 补肾活血方在血浆、组织、尿液及粪便中的代谢物

编号	t/(min)	模式	实测值(m/z)	理论值(m/z)	误差(ppm)	MS/MS(m/z)	化学式	化合物名称	来源	组织分布
M14	15.77	[M-H]⁻	637.214 5	637.213 8	1.169 3	461.17,193.05,161.02,135.04	$C_{30}H_{37}O_{15}$	Methyl acteoside	RR	c
M15	1.50,3.30	[M-H]⁻	233.012 6	233.012 5	0.111 6	153.06,123.04	$C_8H_9O_6S$	Sulfonated hydroxytyrosol	RR	a~d,g,h
M16	4.89	[M-H]⁻	343.103 5	343.103 5	-0.002 3	167.07,113.02	$C_{15}H_{19}O_9$	Glucuronidated hydroxytyrosol + CH3	RR	b,i,j
M17	5.40	[M-H]⁻	247.028 2	247.028 2	0.065 6	167.07,113.02	$C_9H_{11}O_6S$	Sulfonated hydroxytyrosol + CH3	RR	b
M18	7.19	[M-H]⁻	341.086 9	341.087 8	-2.791 9	175.02,165.05,113.02	$C_{15}H_{17}O_9$	Glucuronidated homovanillin	RR	a,b,h~j
M19	3.96	[M-H]⁻	181.050 3	181.050 6	-2.041 5	137.06	$C_9H_9O_4$	Homovanillic acid	RR	b~f,h~j
M20	3.20	[M-H]⁻	357.083 3	357.082 7	1.575 4	/	$C_{15}H_{17}O_{10}$	Glucuronidated homovanillic acid	RR	b,h
M21	3.14,5.34	[M-H]⁻	261.007 8	261.007 5	1.402 0	181.05,137.06	$C_9H_9O_7S$	Sulfonated homovanillic acid	RR	b,c,h,I,j
M22	8.29	[M+H]⁺	345.096 6	345.098 0	-4.022 0	327.09,309.20,281.12	$C_{18}H_{17}O_7$	Demethyl and trihydroxyl tanshinone IIB	SMRR	c
M23	20.81	[M+H]⁺	301.143 3	301.143 4	-0.415 4	283.13	$C_{18}H_{21}O_4$	Demethy and dihydroxyl miltirone	SMRR	b,c
M24	20.18	[M+H]⁺	313.071 0	313.070 7	1.214 8	269.15,253.05	$C_{17}H_{13}O_6$	Demethy and dihydroxyl tanshinol B	SMRR	c
M25	21.75	[M+H]⁺	313.143 9	313.143 4	1.452 2	269.15,154.13	$C_{19}H_{21}O_4$	Hydroxyl cryptotanshinone	SMRR	a~d,h~j
M26	16.20	[M+H]⁺	355.117 2	355.117 6	-1.289 1	337.11,309.11,313.11,295.10	$C_{20}H_{19}O_6$	Hydroxyl methyltanshinonate	SMRR	b,d
M27	13.35	[M+H]⁺	489.140 0	489.139 1	1.667 5	327.09,313.11,295.06	$C_{24}H_{25}O_{11}$	Glucuronidated tanshindiol A/B/C	SMRR	c
M28	24.16	[M+H]⁺	339.122 3	339.122 7	-1.137 4	321.11,279.10,251.11	$C_{20}H_{19}O_5$	Methyl tanshinonate	SMRR	c
M29	14.50	[M+H]⁺	343.081 3	343.082 3	-3.083 1	325.07,297.08,279.07	$C_{18}H_{15}O_7$	Demethy and carboxyiated tanshindiol A/B/C	SMRR	c,i,j
M30	23.70	[M+H]⁺	297.148 4	297.148 5	-0.383 8	253.16,238.14,225.16,211.11,209.10	$C_{19}H_{21}O_3$	Hydroxyl dehydromiltirone	SMRR	a,b,d,e,g
M31	23.30	[M+H]⁺	297.148 8	297.148 5	0.848 6	279.14,251.14,237.09	$C_{19}H_{21}O_3$	Dihydro tanshinone IIA	SMRR	c,d
M32	14.78	[M+H]⁺	309.076 0	309.075 7	0.772 6	291.06,265.09,235.08,207.08,179.09	$C_{18}H_{13}O_5$	Dihydroxyl tanshinone I	SMRR	c
M33	22.88	[M+H]⁺	309.112 2	309.112 1	0.349 8	265.12,247.11,223.08,195.08	$C_{19}H_{17}O_4$	Hydroxyl and dehydro tanshinone IIA	SMRR	c,i
M34	23.49	[M+H]⁺	309.112 3	309.112 1	0.646 0	265.12,247.11,223.08,195.08	$C_{19}H_{17}O_4$	Hydroxyl and methyl dihydrotanshinone I	SMRR	a,b,d~j
M35	21.86	[M+H]⁺	295.060 5	295.060 1	1.411 3	267.07,239.07	$C_{17}H_{11}O_5$	Demethyl and dihydroxyl tanshinone I	SMRR	c
M36	22.90	[M+H]⁺	295.096 6	295.096 5	0.554 8	251.11,223.08,195.12,169.06	$C_{18}H_{15}O_4$	Hydrated tanshinone I	SMRR	b
M37	13.82	[M+H]⁺	329.101 6	329.103 1	-4.369 4	311.09,283.10,265.09	$C_{18}H_{17}O_6$	Demethyl and dihydroxyl tanshinone IIB	SMRR	c,i,j
M38	19.55	[M+H]⁺	299.129 2	299.127 8	4.766 7	281.08,253.07	$C_{18}H_{19}O_4$	Demethyl and hydroxyl cryptotanshinone	SMRR	b
M39	18.71	[M-H]⁻	311.092 6	311.091 4	3.826 1	267.10,223.07	$C_{18}H_{15}O_5$	Hydroxyl tanshinol B	SMRR	a,c,h,i,j
M40	21.79	[M-H]⁻	325.072 4	325.071 8	2.020 5	297.07,295.06,268.04,267.07	$C_{18}H_{13}O_6$	Demethyl and carboxyiated tanshinol B	SMRR	b
M41	18.92	[M+H]⁺	343.118 3	343.117 6	2.134 5	325.11	$C_{19}H_{19}O_6$	Dihydroxyl tanshinone IIB	SMRR	b,c
M42	23.06	[M+H]⁺	372.180 7	372.180 5	0.390 1	354.17,311.13,283.13,326.18	$C_{21}H_{25}O_5N$	Neocryptotanshinone glycine conjugate	SMRR	b,c
M43	22.55	[M-H]⁻	471.127 9	471.128 6	-1.366 1	295.10	$C_{24}H_{23}O_{10}$	Glucuronidated tanshinol B	SMRR	b
M44	22.30	[M+H]⁺	331.155 0	331.154 0	2.923 0	313.14,295.13	$C_{19}H_{23}O_5$	Hydroxyl and methyl salvianonol	SMRR	b,d
M45	16.14	[M+H]⁺	487.124 6	487.124 6	0.226 1	311.09	$C_{24}H_{23}O_{11}$	Hydroxyl and glucuronidated tanshinol B	SMRR	b
M46	22.57	[M+H]⁺	293.081 0	293.080 8	0.644 1	275.07,263.07,249.09,235.08	$C_{18}H_{13}O_4$	Hydroxyl tanshinone I	SMRR	a~c
M47	23.26	[M+H]⁺	285.148 6	285.148 5	0.349 2	229.09,225.09,181.10	$C_{18}H_{21}O_3$	Demethyl and hydroxyl miltirone	SMRR	b,d,i
M48	23.34	[M+H]⁺	473.181 1	473.180 6	0.955 1	297.15,269.15,241.12,213.09,199.08	$C_{25}H_{29}O_9$	Glucuronidated cryptotanshinone	SMRR	c,i,j
M49	16.13	[M+H]⁺	267.101 3	267.101 6	-0.945 3	249.11,221.12	$C_{17}H_{15}O_3$	Decarbonylated hydrated tanshitone I	SMRR	b
M50	23.23	[M+H]⁺	287.164 4	287.164 2	0.897 1	269.15,251.14,241.12,213.09	$C_{18}H_{23}O_3$	Decarbonylated neocryptotanshinone	SMRR	a,g
M51	24.44	[M+H]⁺	315.159 6	315.159 1	1.557 1	297.15,279.14,268.11,254.09,251.14	$C_{19}H_{23}O_4$	Hydrated cryptotanshinone	SMRR	a~e,h,i
M52	24.55	[M+H]⁺	277.086 1	277.085 9	0.721 1	249.09,221.10	$C_{18}H_{13}O_3$	Dehydrated tanshinol B	SMRR	c
M53	16.25	[M+H]⁺	473.144 5	473.145 3	-1.731 9	297.08,279.07	$C_{24}H_{25}O_{10}$	Hydroxyl and glucuronidated danshenxinkun B	SMRR	c
M54	15.64	[M+H]⁺	327.086 9	327.087 4	-1.614 0	309.08,281.08,265.09,291.07	$C_{18}H_{15}O_6$	Hydroxyl and dehydro tanshindiol A/B/C	SMRR	c,i,j
M55	20.92	[M+H]⁺	327.123 7	327.123 8	-0.147 3	309.08,299.13,281.11,263.11,235.08	$C_{19}H_{19}O_5$	Hydroxyl tanshinone IIB	SMRR	b
M56	22.83	[M+H]⁺	345.133 5	345.134 4	-2.631 6	327.12,309.11,281.11	$C_{19}H_{21}O_6$	Hydrated and hydroxyl tanshinone IIB	SMRR	b
M57	20.63	[M+H]⁺	301.143 2	301.143 4	-0.618 1	283.13	$C_{18}H_{21}O_4$	Demethyl neocryptotanshinone	SMRR	b,c
M58	7.91	[M+H]⁺	593.149 8	593.150 1	-0.430 2	417.12,399.11,297.08	$C_{27}H_{29}O_{15}$	Glucuronidated puerarin	PLR	b
M59	19.45	[M-H]⁻	287.093 0	287.092 5	0.901 2	272.07,152.01,124.02	$C_{16}H_{15}O_5$	Methyl and tetrahydro genistein	PLR	b,i
M60	14.47	[M+H]⁺	447.090 6	447.092 2	-3.468 1	271.06,243.07,215.07,153.02	$C_{21}H_{19}O_{10}$	Glucuronidated genistein	PLR	a,b,d,h
M61	7.97	[M+H]⁺	433.113 3	433.112 9	0.756 2	415.10,397.05,379.08,367.08,295.07	$C_{21}H_{21}O_{10}$	Hydroxyl puerarin	PLR	a~c,i,j
M62	16.92,15.46,22.97	[M-H]⁻	283.061 5	283.061 2	1.154 2	268.04,267.03,240.04	$C_{16}H_{11}O_5$	Methyl genistein	PLR	a~j
M63	8.48	[M+H]⁺	595.165 6	595.165 7	-0.163 2	433.11,271.06	$C_{27}H_{31}O_{15}$	Glucuronidated genistin	PLR	c,i
M64	14.75	[M+H]⁺	315.086 7	315.086 3	1.224 4	297.08,283,06,167.09	$C_{17}H_{15}O_6$	Dimethy and hydroxyl genistein	PLR	c
M65	16.63	[M+H]⁺	301.070 9	301.070 7	0.655 1	286.05,269.04,241.05	$C_{16}H_{13}O_6$	Hydroxyl and methy genistein	PLR	b,c
M66	21.44,21.62	[M+H]⁺	299.091 5	299.091 4	0.408 5	284.07,243.10,239.07	$C_{17}H_{15}O_5$	dihydroxyl genistein	PLR	b,c,i
M67	13.94	[M-H]⁻	337.037 5	335.038 7	-3.680 9	257.08,215.11,135.04,81.07	$C_{15}H_{13}O_7S$	Sulfonated equol + hydroxyl	PLR	b
M68	15.16	[M-H]⁻	417.119 8	417.119 1	1.694 0	241.09,175.03,113.02	$C_{21}H_{21}O_9$	Glucuronidated equol	PLR	a,b,d,e,h~j
M69	15.45	[M-H]⁻	417.119 9	417.119 1	1.986 6	257.08,241.09,175.03,113.02	$C_{21}H_{21}O_9$	Glucuronidated equol	PLR	b,h,j

续表 2 补肾活血方在血浆、组织、尿液及粪便中的代谢物

编号	t/(min)	模式	实测值(m/z)	理论值(m/z)	误差(ppm)	MS/MS(m/z)	化学式	化合物名称	来源	组织分布
M70	16.04	[M-H]⁻	417.119 8	417.119 1	1.694 0	399.11,241.09,175.03,113.02	$C_{21}H_{21}O_9$	Glucuronidated equol	PLR	b
M71	8.43	[M+H]⁺	497.075 0	497.074 8	0.257 6	479.07,461.05,417.12	$C_{21}H_{21}O_{12}S$	Sulfonated puerarin	PLR	c,h
M72	6.98	[M+H]⁺	579.171 3	579.170 8	0.852 5	417.12,297.08,267.07	$C_{27}H_{31}O_{14}$	Puerarin glycosylation	PLR	b,c,i,j
M73	8.87	[M+H]⁺	579.170 9	579.170 8	0.114 8	417.12,255.07	$C_{27}H_{31}O_{14}$	Daidzin glycosylation	PLR	c
M74	12.77	[M+H]⁺	431.097 7	431.097 3	0.959 4	255.07,227.07,199.08	$C_{21}H_{19}O_{10}$	Glucuronidated daidzein	PLR	a~d,h
M75	13.15	[M+H]⁺	431.098 0	431.097 3	1.596 5	255.07,227.07,199.08	$C_{21}H_{19}O_{10}$	Glucuronidated daidzein	PLR	a~j
M76	8.30	[M+H]⁺	433.113 7	433.112 9	1.742 6	257.08	$C_{21}H_{21}O_{10}$	Glucuronidated and dihydro daidzein	PLR	a,b,i,j
M77	15.04	[M-H]⁻	337.039 6	337.038 7	2.476 3	257.08,215.00,135.04	$C_{15}H_{13}O_7S$	Sulfonated and hydroxyl equol	PLR	c
M78	15.77	[M+H]⁺	257.081 1	257.080 8	0.971 7	163.04,137.02,123.04	$C_{15}H_{13}O_4$	Dihydro daidzein	PLR	b,c,h~j
M79	16.64	[M-H]⁻	271.060 6	271.061 2	1.430 5	165.02	$C_{15}H_{11}O_5$	Dihydro and hydroxyl daidzein	PLR	b,c,i
M80	18.59	[M-H]⁻	257.082 2	257.081 9	0.860 2	151.04,147.04,109.03	$C_{15}H_{13}O_4$	Tetrahydro isodaidzein	PLR	b,c,h~j
M81	18.89	[M-H]⁻	257.082 2	257.081 9	0.978 9	239.07,163.04,147.04,109.03	$C_{15}H_{13}O_4$	Tetrahydro daidzein	PLR	b~d,h~j
M82	21.90	[M+H]⁺	269.081 0	269.080 8	0.474 7	254.06,237.06,213.09	$C_{16}H_{13}O_4$	Methyl daidzein	PLR	b~f,h~j
M83	15.13	[M+H]⁺	243.101 8	243.101 6	0.844 4	133.07,123.04,107.05	$C_{15}H_{15}O_3$	Equol	PLR	a,b,d,g,h~j
M84	17.28	[M+H]⁺	243.101 8	243.101 6	0.969 9	133.07,123.04,107.05	$C_{15}H_{15}O_3$	Isomer of equol	PLR	a~e,h,i
M85	14.41	[M-H]⁻	351.018 6	351.018 0	1.635 1	271.06,269.05	$C_{15}H_{13}O_6S$	Sulfonated genistein	PLR	i,j
M86	15.86	[M-H]⁻	321.044 0	321.043 8	0.637 8	241.09,121.032 01.00,135.04	$C_{15}H_{13}O_6S$	Sulfonated equol	PLR	c,d
M87	16.35	[M-H]⁻	321.043 4	321.043 8	-1.453 4	241.09,121.032 01.00,135.04	$C_{15}H_{13}O_6S$	Sulfonated equol	PLR	g
M88	15.72	[M-H]⁻	337.039 4	337.038 8	1.933 0	257.08,135.04,137.02,121.03	$C_{15}H_{13}O_7S$	Sulfonated and tetrahydro daidzein	PLR	b,d
M89	16.00	[M-H]⁻	337.038 7	337.038 8	-0.149 5	257.08,135.04,137.02,121.03	$C_{15}H_{13}O_7S$	Sulfonated and tetrahydro daidzein	PLR	b,c,g
M90	15.19	[M-H]⁻	337.039 0	337.038 8	0.846 5	257.08,135.04,137.02,121.03	$C_{15}H_{13}O_7S$	Sulfonated and tetrahydro daidzein	PLR	a~c,h
M91	16.35	[M-H]⁻	349.002 7	349.002 4	0.929 4	269.05,225.06,197.06	$C_{15}H_9O_8S$	Sulfonated and hydroxyl daidzein	PLR	c
M92	14.38	[M-H]⁻	335.024 0	335.023 1	2.657 1	255.07,253.05,135.01	$C_{15}H_{11}O_7S$	Sulfonated and dihydro daidzein	PLR	c
M93	14.64	[M-H]⁻	335.024 0	335.023 1	2.930 4	255.07,253.05,135.01	$C_{15}H_{11}O_7S$	Sulfonated and dihydro daidzein	PLR	b,d,h~j
M94	11.40	[M-H]⁻	333.008 2	333.007 5	2.198 6	253.05,225.06,197.06,135.01	$C_{15}H_9O_7S$	Sulfonated daidzein	PLR	a~d,h~j
M95	15.43	[M-H]⁻	333.007 8	333.007 5	1.099 9	253.05,225.06,197.06,135.01	$C_{15}H_9O_7S$	Sulfonated daidzein	PLR	a~d,h~j
M96	21.47	[M-H]⁻	281.045 9	281.045 6	1.251 6	253.05,225.06,197.06,135.01	$C_{16}H_9O_5$	daidzein + CO	PLR	b,c,I,j
M97	25.40	[M+H]⁺	461.402 4	461.398 9	7.548 3	443.39,425.38,407.37	$C_{30}H_{53}O_3$	PPD	GRR	c
M98	24.55	[M+H]⁺	477.392 7	477.393 8	-2.444 3	459.38,441.37,423.36	$C_{30}H_{53}O_4$	PPT	GRR	c
M99	23.67,25.37	[M+H]⁺	493.388 2	493.388 8	-1.026 7	475.38,457.37	$C_{30}H_{53}O_5$	Hydroxyl PPT	GRR	c
M100	24.15	[M+H]⁺	487.343 9	487.341 8	4.312 3	469.33,457.37,441.33	$C_{30}H_{47}O_5$	PPD+2O-6H	GRR	c,i,j
M101	24.20	[M+H]⁺	473.364 3	473.362 5	3.765 3	455.35,425.34	$C_{30}H_{49}O_4$	PPD+O-4H	GRR	c,i,j
M102	24.18	[M+H]⁺	455.353 3	455.352 0	2.854 2	437.34.425.34	$C_{30}H_{47}O_3$	PPD-6H	GRR	b,c,d,f,i.j
M103	24.11	[M+H]⁺	443.391 4	443.388 4	6.903 9	425.38,407.37	$C_{30}H_{51}O_2$	PPD-O-2H	GRR	c,j
M104	21.46	[M+H]⁺	441.372 9	441.372 7	0.492 9	423.36,287.23	$C_{30}H_{49}O_2$	PPD-O-4H	GRR	b,c,I,j
M105	23.53	[M+H]⁺	441.373 1	441.372 7	0.907 7	423.36,287.24	$C_{30}H_{49}O_2$	PPD-O-4H	GRR	b,c,I,j
M106	25.42	[M+H]⁺	441.372 5	441.372 7	-0.406 0	423.36,287.24	$C_{30}H_{49}O_2$	PPD-O-4H	GRR	b,c,I,j
M107	24.20	[M+H]⁺	437.341 8	437.341 4	0.891 1	419.33,361.29,283.21	$C_{30}H_{45}O_2$	M106-4H	GRR	b,c,I,j
M108	24.55	[M+H]⁺	425.379 4	425.377 8	3.837 5	407.37	$C_{30}H_{49}O$	PPD-2O-4H	GRR	c,h,j
M109	25.59	[M+H]⁺	425.378 1	425.377 8	0.609 1	407.37	$C_{30}H_{49}O$	PPD-2O-4H	GRR	c,j
M110	26.17	[M+H]⁺	425.378 3	425.377 8	1.254 8	407.37	$C_{30}H_{49}O$	PPD-2O-4H	GRR	c,j
M111	21.61	[M+H]⁺	423.362 4	423.362 1	0.527 0	405.35	$C_{30}H_{47}O$	M110-2H	GRR	b,c
M112	25.40	[M+H]⁺	423.362 4	423.362 1	0.527 0	405.35	$C_{30}H_{47}O$	M110-2H	GRR	b,c
M113	18.57	[M+H]⁺	639.447 1	639.446 7	0.625 5	621.44,603.42,441.37,423.36,405.35	$C_{36}H_{63}O_9$	Glucuronidated and dihydro PPD	GRR	c
M114	21.51	[M+H]⁺	603.424 2	603.425 5	-2.214 4	441.37,423.36,405.35	$C_{36}H_{59}O_7$	M113-4H-2O	GRR	c,I,j
M115	18.71	[M-H]-	653.427 6	653.427 0	0.811 2	/	$C_{36}H_{61}O_{10}$	(OH+PPT)-Glc	GRR	c
M116	19.06	[M-H]⁻	612.394 3	612.393 9	0.555 3	525.36,473.36,391.29	$C_{33}H_{58}O_7NS$	PPT cysteine Conjugation	GRR	c
M117	20.85	[M-H]⁻	610.378 6	610.378 3	0.498 2	523.35,471.35,389.27	$C_{33}H_{56}O_7NS$	Dihydro M100	GRR	c
M118	23.03	[M-H]⁻	505.354 1	505.353 5	1.192 2	461.36,391.29,373.28,347.26	$C_{30}H_{49}O_6$	PPT Dioxygenation with dehydrogenation	GRR	c
M119	18.67	[M-H]⁻	507.369 2	507.369 1	0.235 8	391.29	$C_{30}H_{51}O_6$	Dihydro M102	GRR	c
M120	18.50	[M-H]⁻	523.365 8	523.364 0	3.356 3	505.35,487.34,407.28	$C_{30}H_{51}O_7$	PPT Trioxygenation	GRR	c
M121	25.81	[M+H]⁺	429.373 8	429.372 7	2.496 7	411.36,183.12	$C_{29}H_{49}O_2$	PPD-CH2-O-2H	GRR	c~j
M122	26.72	[M+H]⁺	445.368 4	445.367 6	1.697 1	283.03	$C_{29}H_{49}O_3$	PPD-2H-CH2	GRR	c,f,g,I,j
M123	25.08	[M-H]⁻	931.529 5	931.527 2	1.608 1	885.52,621.44,459.38	$C_{47}H_{79}O_{18}$	PPD+Glc+Glc+Xyl	GRR	c

注:a:血浆;b:尿液;c:粪便;d:肝;e:心;f:脾;g:肺;h:肾;i:小肠;j:胃;k:眼;RR. 地黄;SMRR. 丹参;GRR. 人参;PLR. 葛根。

4 讨论

根据补肾活血方化学成分库、标准品信息及相关文献报道的相对保留时间、一级质谱及裂解规律，鉴定出了补肾活血方的 75 个体内吸收成分，包括 4 个苯乙醇苷类、13 个丹参酮类、6 个人参皂苷类及 14 个异黄酮类等。苯乙醇苷类化合物来源于地黄，这类成分具有抗氧化、抗炎及保肝作用[11,19]，可通过抑制糖基化终末产物干预下视网膜 Müller 细胞中低氧诱导因子 -1α 的表达[20]以达到防治 DR 的目的。丹参酮类化合物来源于丹参，可抑制炎症反应，调控血管内皮生长因子表达从而抑制视网膜新生血管生成，改善微循环，保护视网膜[21-23]。人参皂苷类成分具有降低糖基化终末产物干预下视网膜 Müller 细胞膜的通透性，增强其细胞活力的作用[24-25]；此外，还可以保护胰岛细胞，改善胰岛素抵抗，具有降血糖、抗炎及抗氧化等作用[26]，在糖尿病及其并发症的治疗中受到广泛关注。异黄酮类成分来源于葛根，能够抑制糖基化终末产物及视网膜血管内皮生长因子的表达以防治 DR[27]。由此推断，补肾活血方主要通过调节血糖水平及微循环、通过炎症反应、氧化应激等通路发挥防治 DR 的作用。

组织分布实验表明，除胃肠道以外，补肾活血方原型及代谢成分更多集中在肝肾组织中，分别检出了 62 和 74 个成分，其中，以丹参酮类、异黄酮类及异黄酮代谢物成分居多。地黄原型成分在各组织难以检测到，然而在肾中检测到大量经代谢后的苯乙醇苷类成分，推测地黄主要通过胃肠道生物转化后的成分发挥药理活性。中医观点[28-29]认为 DR 的核心病机在于血瘀，其发病机理主要在于肝肾亏虚，气阴两虚所导致的目络不得濡养。“肝开窍于目，目得血而能视”，因此 DR 病变脏腑在肝。由此推测，补肾活血方活性成分经胃肠道吸收入血后很快分布于肝肾组织中发挥药效作用。此外，糖代谢的主要器官在于肝，肝功能障碍常发生在许多患糖尿病人群中。因此预示着补肾活血方入肝肾成分可能是发挥药效的活性成分，值得进一步探讨其药效价值。值得注意的是，在血浆和大多数组织中未发现人参皂苷类原型成分，而在脾中检测到了一些人参皂苷类的代谢物。据文献报道[15]，人参皂苷类成分进入胃肠道后，被胃酸和肠道细菌去糖基化，以 PPD 和 PPT 及其代谢物形式存在。中医“肝脾相关”理论认为“土得木而达”，DR 则是“肾虚及肝”“肝病及脾”的传变过程。因此，推测人参皂苷及其代谢物主要从益肾固本，疏肝健脾的角度防治 DR。此外，葛根中异黄酮类成分经过体内生物转化后会转变成具有生物活性的最终代谢产物 - 雌马酚[14]。由此可见，中药复方进入体内经过吸收，分布，代谢，排泄一系列过程后，成分发生了很大改变，发挥药效的成分可能是原型成分，也可能是代谢成分。

综上所述，本研究基于 UHPLC - Q - Exactive Orbitrap MS 和分子网络技术探讨了补肾活血方在大鼠体内的吸收原型及代谢产物，并明确了这些成分在组织中的分布差异，初步阐释了补肾活血方及地黄、丹参、人参及葛根治疗糖尿病性视网膜病变的物质基础。研究方法快速简便，可为其他复方制剂的物质基础研究提供参考。

参考文献

[1] JIN Y Y, CHENG S Y, LIU R B, et al. Comprehensive characterization of the chemical composition of Lurong Dabu Decoction and its absorbed prototypes and metabolites in rat plasma using UHPLC - Q Exactive Orbitrap - HRMS[J]. Food Res Int, 2022, 161: 111852.

[2] CHEN L L, CHEN C H, ZHANG X X, et al. Identification of constituents in Gui - Zhi - Jia - Ge - Gen - Tang by LC - IT - MS combined with LC - Q - TOF - MS and elucidation of their metabolic networks in rat plasma after oral administration[J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(11): 803 - 821.

[3] ZHAO Y, CHEN Y, LI R J, et al. An ultra - performance liquid chromatography - quadrupole time - of - flight tandem mass spectrometry method based on a four - step analysis strategy to investigate metabolites of Qi - Yu - San - Long Decoction in rat plasma[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2023, 37(1): e9419.

[4] HU W, WANG M, GU Y, et al. Global characterization of chemical compounds in Shidan Granule and their metabolites in rat plasma using ultra - high - performance liquid chromatography coupled with quadrupole - time of flight mass spectrometry[J]. J Sep Sci, 2022, 45(24): 4331 - 4347.

[5] ZHENG G D, YANG X J, LIU M S, et al. Supercritical CO_2 fluid extraction for the identification of compounds from *Citrus reticulata Semen* by ultra - high - performance liquid chromatography combined with Q - exactive orbitrap tandem mass spectrometry[J]. ACS Omega, 2020, 5(5): 2180 - 2186.

[6] ZHANG X, DONG P P, SONG J, et al. Identification and mechanism prediction of mulberroside A metabolites *in vivo* and *in vitro* of rats using an integrated strategy of UHPLC - Q - Exactive Plus Orbitrap MS and network pharmacology[J]. Front Chem, 2022, 10: 981173.

[7] WANG J, WEI F Y, WANG Y, et al. Exploring the quality markers and mechanism of Bushen Huoxue Prescription in prevention and treatment of diabetic retinopathy based on Chinmedomics strategy[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 306: 116131.

[8] YU Y T, ZHU Z Y, XIE M J, et al. Investigation on the Q - markers of Bushen Huoxue Prescriptions for DR treatment based on chemometric methods and spectrum - effect relationship[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 285: 114800.

[9] XIE M J, DENG L P, YU Y T, et al. The effects of Bushen Yiqi Huoxue prescription and its disassembled prescriptions on a diabetic retinopathy model in Sprague Dawley rats[J]. Biomedecine Pharmacother, 2021, 133: 110920.

[10] KUANG W, WANG Y, HUANG Y X, et al. Rapid identification of the compounds of Bushen Huoxue Prescription based on offline two - dimensional liquid chromatography with high - resolution mass spectrometry and molecular network technology[J]. J Sep Sci, 2024, 47(2): e2300624.

[11] LI Y, ZHOU G S, PENG Y, et al. Screening and identification of three typical phenylethanoid glycosides metabolites from Cistanches Herba by human intestinal bacteria using UPLC/Q - TOF - MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 118: 167 - 176.

[12] PANG H H, JIANG M F, WANG Q H, et al. Metabolic profile of Danshen in rats by HPLC - LTQ - Orbitrap mass spectrometry[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2018, 19(3): 227 - 244.

[13] YANG L, XU S J, LIU C J, et al. *In vivo* metabolism study of ginsenoside Re in rat using high - performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 395(5): 1441 - 1451.

[14] ZHANG J P, GUO Q X, WEI M J, et al. Metabolite identification and pharmacokinetic profiling of isoflavones from black soybean in rats using ultrahigh - performance liquid chromatography with linear - ion - trap - orbitrap and triple - quadrupole tandem mass spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(49): 12941 - 12952.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.02.030

植物药材重金属残留药典标准研究

徐美玲,孙婉萍,曲扬,王建华,孙文怡,谢明
(辽宁中医药大学药学院,辽宁 大连 116600)

摘要:目的 分析探讨《中华人民共和国药典》中涉及到植物药材重金属残留限量规定,了解《中华人民共和国药典》现有的重金属限量规定,进而为之后植物药材重金属残留规定修订工作提供参考依据,促进植物药材药用价值的发展提供相应对策。方法 采用文献研究法、统计分析法和描述性研究法,搜索文献资料进行统计分析。结果 《中华人民共和国药典》自2000年起就开始了重金属的检测,2005版《中华人民共和国药典》对植物药材中的重金属含量进行了明确的规定,随着年份的增长,可以在保持原有的重金属含量的基础上添加其他的植物药物,《中华人民共和国药典》规定的重金属限值与《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》的规定基本相符,其数值较其他国家和地区的规定更为严格。结论 我国药典植物药材重金属残留限量标准的制定在逐步改良完善,植物药材重金属残留药典标准分析研究是对植物药材中重金属的残留量,稳定性,以及其作为监测和国家基本医疗保健标准参考指标时应该具有的准确度、客观性等特点进行详细说明。

关键词:植物药材;重金属残留;药典;限量标准
中图分类号:R282.71 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)02-0136-05

Study on Pharmacopoeia Standard of Residues of Heavy Metals In Plant Medicinal Materials

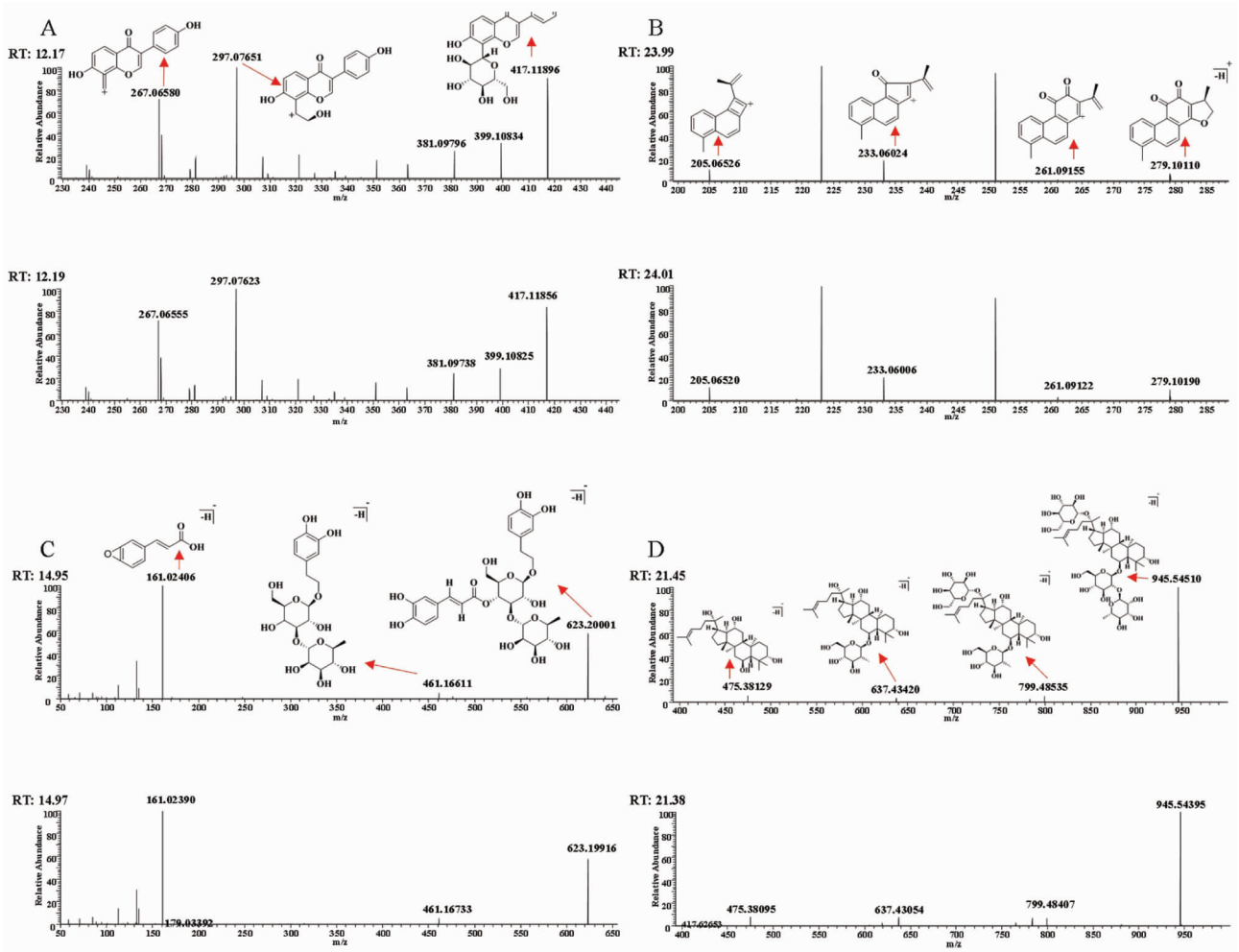
XU Meiling, SUN Wanping, QU Yangon, WANG Jianhua, SUN Wenyi, XIE Ming
(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, Liaoning, China)

基金项目:国家中医药管理局中药质量保障项目(2022-05)
作者简介:徐美玲(1983-),女,辽宁大连人,讲师,硕士,研究方向:药事管理。
通讯作者:谢明(1962-),男,辽宁沈阳人,教授,博士,研究方向:药事管理。Email:dldxml@163.com。

[15] LING J, YU Y J, LONG J K, et al. Tentative identification of 20(*S*)-protopanaxadiol metabolites in human plasma and urine using ultra-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Ginseng Res, 2019, 43(4): 539-549.
[16] HU T, HE X W, JIANG J G, et al. Hydroxytyrosol and its potential therapeutic effects[J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(7): 1449-1455.
[17] CHAO C Y, MONG M C, CHAN K C, et al. Anti-glycative and anti-inflammatory effects of caffeic acid and ellagic acid in kidney of diabetic mice[J]. Mol Nutr Food Res, 2010, 54(3): 388-395.
[18] SHANG Z P, XIN Q Q, ZHAO W J, et al. Rapid profiling and identification of puerarin metabolites in rat urine and plasma after oral administration by UHPLC-LTQ-Orbitrap mass spectrometer[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1068-1069: 180-192.
[19] SU D, LI W, XU Q M, et al. New metabolites of acteoside identified by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight MS(E) in rat plasma, urine, and feces[J]. Fitoterapia, 2016, 112: 45-55.
[20] LIU S, WANG X, PAN Y, et al. Study on the spectrum-effect relationship of rehmannia regulating HIF-1α expression under AGEs intervention based on retinal Müller cells[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2020, 42(1): 217-221.
[21] AI X P, YU P L, HOU Y, et al. A review of traditional Chinese medicine on treatment of diabetic retinopathy and involved mechanisms[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 132: 110852.
[22] LI Y, XU M, CHEN H, et al. Spectrum-effect relationship of Salvia miltiorrhiza extract on HIF-1c of retinal Miller cells in AGEs or hypoxia conditions[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(11): 2231-2236.
[23] 杜蕊, 邢敏艳. 凉血化瘀方佐治糖尿病视网膜病变血热瘀阻证临床疗效及相关机制探讨[J]. 天津中医药, 2023, 40(11): 1388-1393.
[24] 姚红娥, 张梅, 徐秒, 等. 人参皂苷对糖基化终末产物条件下视网膜Müller细胞活力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 157-161.
[25] 姚红娥, 张梅, 徐秒, 等. 人参皂苷提取物对大鼠视网膜Müller细胞的影响[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(5): 1025-1028.
[26] 孙美,李继文,马金颖,等 稀有人参皂苷的生物转化及其降血糖活性研究进展[J]. 吉林农业大学学报,2023,45(6):674-684.
[27] 邓立萍, 谢孟君, 祝子喻, 等. 葛根总黄酮提取物对糖尿病大鼠视网膜病变的影响分析[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(2): 54-59.
[28] 李高彪, 周云云, 李雨薇, 等. 雷晓琴运用化瘀通络法辨治糖尿病视网膜病变经验[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(12): 2498-2500.
[29] 孙静文, 孙铭良, 袁静云, 等. 糖尿病视网膜病变与糖尿病肾病发病相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(1): 350-352.

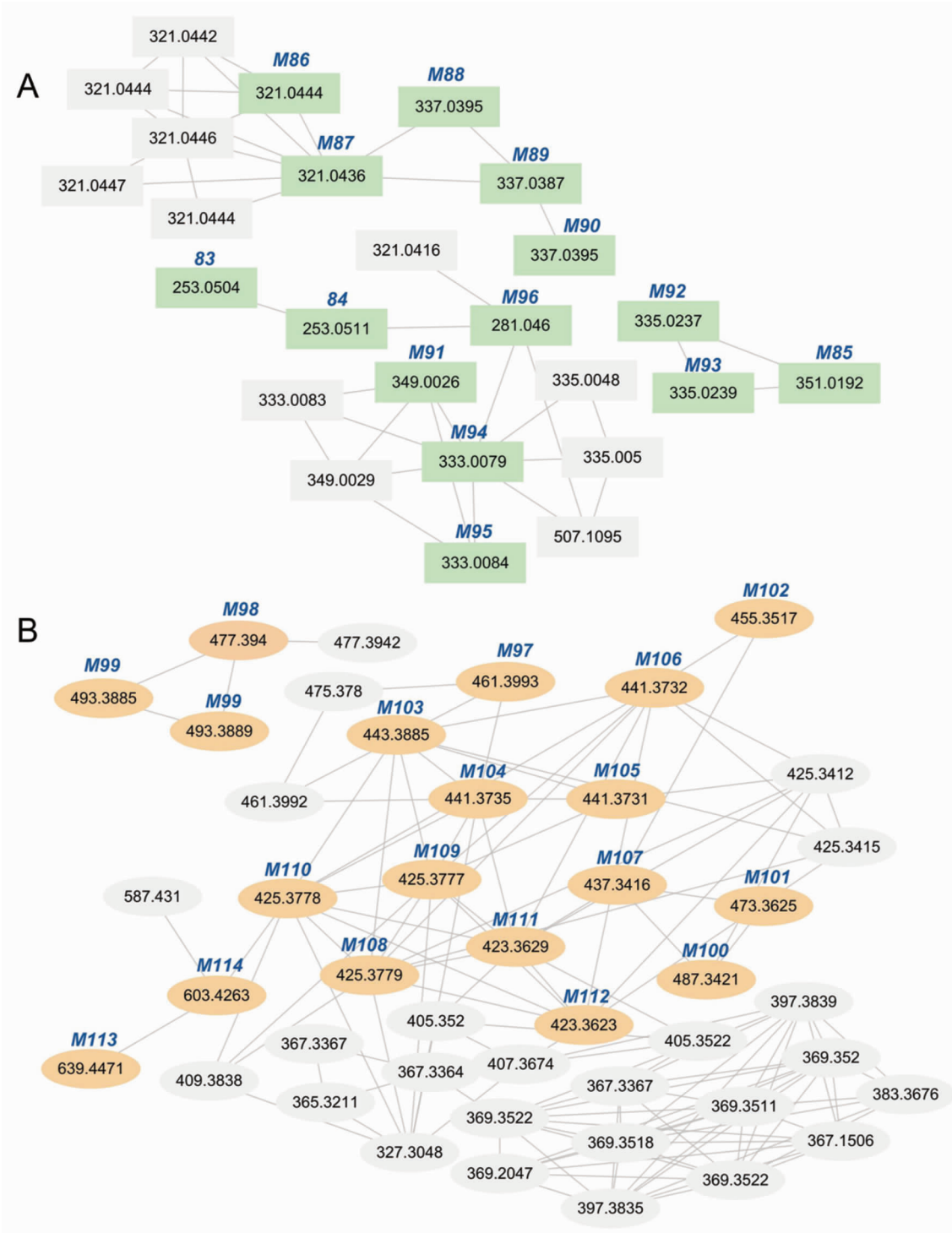
基于 UHPLC－Q－Exactive Orbitrap MS 和分子网络技术研究补肾活血方在大鼠体内的吸收原型和代谢产物

（正文见 127－136 页）



注：A. 葛根素；B. 二氢丹参酮 I；C. 毛蕊花糖苷；D. 人参皂苷 Re；上图均为标准品，下图为样品；RT：保留时间。

图 2　基于标准品鉴定的补肾活血方部分成分的二级图谱及裂解途径



注：A. 异黄酮类代谢物；B. 人参皂苷类代谢物；灰色代表未知化合物。

图 3 补肾活血方的局部分子网络图