

CIA 大鼠 JAK-STAT 信号通路的影响[J]. 免疫学杂志, 2015, 31(12): 1072-1076.

[64] 韩彦琪, 宋紫腾, 姚鹏飞, 等. 痹祺胶囊对类风湿性关节炎关键靶点的调节作用[J]. 中草药, 2023, 54(23): 7648-7661.

[65] 谢静静, 李志岭, 郭盈澳, 等. 张剑勇教授癃痹学术思想及活血化癥法治疗风湿病浅析[J]. 风湿病与关节炎, 2024, 13(9): 36-39.

[66] 韩彦琪, 姚鹏飞, 卜睿臻, 等. 基于代谢组学的痹祺胶囊治疗类风湿性关节炎作用机制研究[J]. 中草药, 2023, 54(23): 7662-7672.

[67] Eberhard A, Rydell E, Forslind K, *et al.* Radiographic damage in early rheumatoid arthritis is associated with increased disability but not with pain—a 5-year follow-up study[J]. *Arthritis Res Ther*, 2023, 25(1): 29.

[68] 谭洪发, 荣晓凤, 徐艳明, 等. 痹祺胶囊对 CIA 大鼠 OPG/RANKL 表达的影响[J]. 免疫学杂志, 2016, 32(10): 878-883.

[69] 宋紫腾, 卜睿臻, 韩彦琪, 等. 基于体外细胞模型的痹祺胶囊药效物质基础研究[J]. 中草药, 2023, 54(23): 7673-7686.

[70] Wang K, Zhang D M, Liu Y, *et al.* Traditional Chinese medicine formula Bi-Qi capsule alleviates rheumatoid arthritis-induced inflammation, synovial hyperplasia, and cartilage destruction in rats[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 43.

[71] Zoroddu S, Lorenzo B D, Paliogiannis P, *et al.* Osteopontin in rheumatic diseases: A systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Chim Acta*, 2025, 570: 120209.

胆红素及其代谢物分析方法研究进展

韦从蓉¹, 曹 帅², 李丽敏², 李佳媛², 周 恒², 胡 青², 毛秀红², 季 申^{1,2*}
(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海市药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 上海 201203)

摘要:胆红素是人体内衰老红细胞经血红素加氧酶催化分解产生的卟啉代谢产物, 主要来源于血红蛋白的降解过程。随体内环境变化, 胆红素以游离型、结合型、蛋白共价结合型等多种形态存在于血液及胆汁中。其不仅是临床上诊断溶血性疾病、肝细胞性黄疸及梗阻性黄疸的重要指标之一, 还是以牛黄类药材为代表的多种动物胆类药材的主要药效成分之一。胆红素类成分结构复杂, 含有多个共轭双键和活性基团, 易受温度、光照、酸碱等因素影响而发生异构化、氧化或降解转化, 因此检测难度较大。HPLC 法及 MS 法具有高灵敏度、高分离效率、强结构解析能力等特点, 已较多地应用于胆红素类成分的定性定量检测中。本文系统总结了国内外相关文献中胆红素及其代谢物的理化性质、稳定性及体内外存在形式等特性, 并深入探讨了使用 HPLC、LC-MS/MS 技术检测胆红素类成分的优缺点, 以期对胆红素类成分的深入研究指明方向。

关键词:胆红素; 游离型; 结合型; 蛋白共价结合型; 动物胆类中药; HPLC; LC-MS/MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)08-2675-09

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2026. 08. 024

胆红素是体内重要代谢产物, 主要分为游离型、结合型、蛋白共价结合型共 3 种形式。游离胆红素亲脂性强, 但稳定性差, 易受光照、高温等因素影响而发生异构化或降解。进入肝脏后, 游离胆红素经酶促反应与葡萄糖醛酸结合, 生成水溶性较强的结合型胆红素。当肝脏功能受损或发生溶血性疾病时, 部分游离胆红素可与白蛋白以共价形式结

合, 常伴随血清中胆红素及其代谢物浓度异常升高。近期研究还揭示, 其代谢前体胆绿素具有独特生物活性。因此, 检测胆红素及其代谢物对相关疾病监测具有重要意义。

此外, 胆红素作为胆类药材的主要活性成分, 在中药领域地位重要。例如, 牛黄系列药材中胆红素含量是质量控制的关键指标。而熊胆、蛇胆等胆

收稿日期: 2025-10-09

基金项目: 国家中医药管理局全国老药工传承工作室建设项目 (国中医药人教函〔2025〕181 号); 上海市科委研发平台专项 (21DZ2290200)

作者简介: 韦从蓉 (2000—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药质量控制与安全性检测。E-mail: 1473949943@qq.com

* 通信作者: 季 申 (1963—), 女, 博士, 主任药师, 研究方向为中药、天然药物质量控制和安全性检测。E-mail: jishen2021@126.com

汁类药材中的胆红素，其存在形式与胆结石类药材有所不同。因此，准确实现胆红素及其代谢物的定性与定量检测，一直是研究的重点与难点。

HPLC 法与 LC-MS/MS 法凭借卓越的分离效率和结构解析能力，可实现胆红素代谢物的精确定量与定性分析。基于此，本文总结了不同类型胆红素的结构与性质特点，综述 HPLC 法与 LC-MS/MS 法在胆红素及其代谢物检测中的应用前景，以期为其进一步研究提供依据。

1 胆红素及其代谢物概述

人体与动物体内的胆红素及其代谢物主要包括游离胆红素、结合胆红素、共价胆红素、胆绿素。

胆红素主要来源于血红蛋白的分解，其中约 70% 来自衰老红细胞释放出的血红素^[1]，在血红素加氧酶作用下先转化为胆绿素，再还原为胆红素。游离胆红素在血液中与白蛋白以非共价方式结合，生成胆红素-白蛋白复合体^[2]。该复合体被转运至肝脏，在尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1（UDP-glucuronosyltransferase 1A1，UGT1A1）催化下，与一分子或两分子葡萄糖醛酸发生酯化反应，分别生成单葡萄糖醛酸结合胆红素和双葡萄糖醛酸结合胆红素。两者水溶性强，有利于后续随胆汁进入肠肝循环，进一步代谢生成胆素原及胆素^[3]，见图 1。

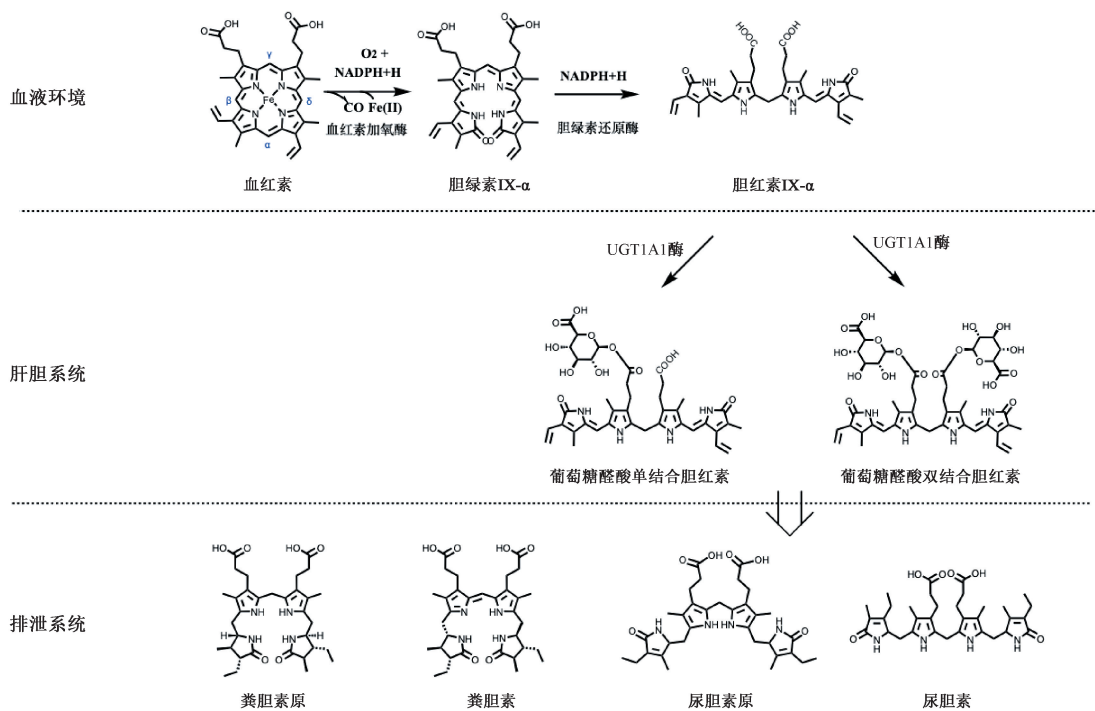


图 1 胆红素类成分的代谢路径

2 游离胆红素

2.1 定义 游离胆红素是指未与化学基团以共价键或离子键结合的胆红素，仅以 4 个吡咯环相连的特殊卟啉结构存在。在人体及动物的生理条件下，游离胆红素由血红素代谢产生。血红素由 4 个吡咯环构成，在体内代谢过程中倾向于在 α 位裂解，生成胆绿素 IX- α ，后者进一步还原为唯一的胆红素

产物——胆红素 IX- α 型^[4]，即人体及动物体内天然存在的游离胆红素以 IX- α 形式存在。然而，在工业化提取分离或人工合成胆红素的条件下，受酸碱试剂影响，甲基和乙烯基在双吡咯环上的取代位置可发生变化，从而在一定条件下形成异构体 III- α 或 XIII- α ^[5]，见图 2。

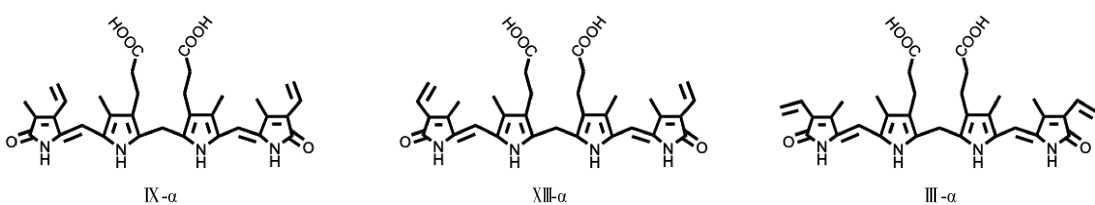


图 2 游离胆红素的 3 种亚型结构式

2.2 特性

2.2.1 分子内氢键 胆红素分子中含有 2 个丙酸基侧链，属于强极性亲水基团，理论上应呈现亲水性。但研究数据表明，胆红素分子内呈现紧凑的“脊瓦”构象^[6]。在该构象中，2 个二吡咯酮单元分别靠近相反的丙酸基团，这种空间接近性促使分子内折叠并形成六分子内氢键，使得亲水基团被包裹于分子内部，因此胆红素最终呈现亲脂性^[7-8]。

在不同溶剂环境中，胆红素形成氢键的能力不同，从而导致其化学结构存在差异^[9]。实验中常用三氯甲烷、二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，

DMSO）配制胆红素对照品。三氯甲烷具有给质子的特性，可使吡咯环中的氮原子与丙酸基团羧基（—COOH）中的羟基（—OH）形成新的氢键，原有的六分子内氢键被破坏后，形成 4 个新的氢键，见图 3。在 DMSO 中，胆红素分子的性质更为活泼，氢键形成方式发生改变。杨展澜等^[10]通过红外光谱推测，胆红素在 DMSO 中的共轭结构发生变化，仅保留一分子内氢键，同时与 DMSO 分子形成一分子间氢键。在 DMSO 中，胆红素更易发生光反应降解，且反应速度较快；在三氯甲烷中次之；相对而言，固体胆红素的化学性质较为稳定。

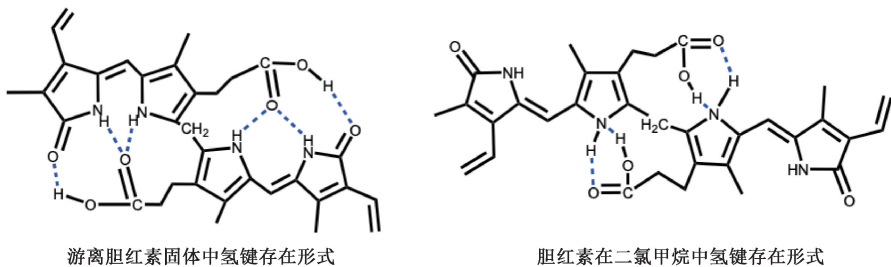


图 3 胆红素分子中氢键可能存在形式

2.2.2 光敏特性 游离胆红素遇光易发生降解或异构化反应，因此在操作过程中需严格避光。光照后，胆红素可在 4，5 位和 15，16 位发生顺式与反式异构化，生成 4 种构型——（4Z，15Z）、（4E，15Z）、（4Z，15E）、（4E，15E）^[11]。其中，仅 4Z，15Z 构型天然存在于生物体内。4Z，15E-胆

红素是最常见的光异构体，因其光照后水溶性增加，更易从体内排泄。4E，15Z-胆红素也是一种光异构体，可进一步转化为光胆红素，见图 4。光胆红素是一种不可逆的光异构体，水溶性较强，因此容易通过尿液和胆汁排出体外^[12]。

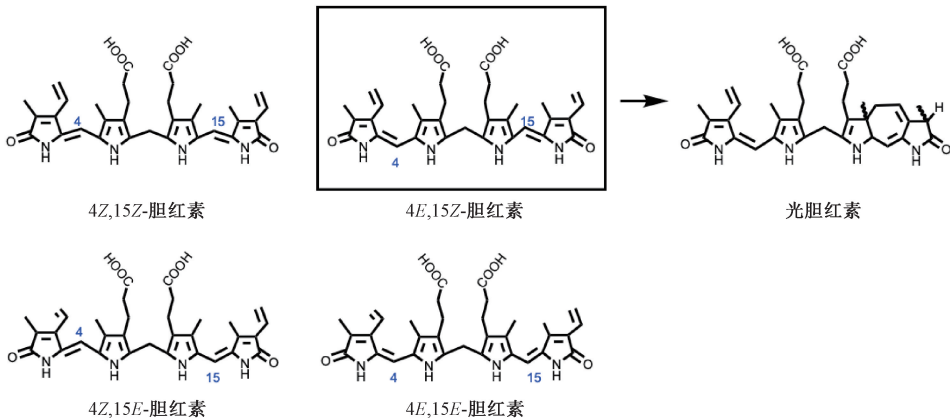


图 4 胆红素的异构体及光胆红素结构式

2.2.3 生理特性与毒性 游离胆红素是血红素代谢过程中的主要产物，其生理活性具有两面性。一方面，高度亲脂性及其分子结构赋予其跨膜能力，使其易在脂质丰富的器官（尤其是中枢神经系统）中积聚，从而表现出神经毒性^[13]；另一方面，低浓度游离胆红素具有强大的抗氧化特性^[14]，可通

过清除活性氧（reactive oxygen species，ROS）发挥细胞保护作用。

当游离胆红素生成过多，或肝脏结合、排泄功能障碍时（如 Crigler-Najjar 综合征中 UGT1A1 酶活性缺失，或 Gilbert 综合征中该酶活性减弱等先天性疾病），游离胆红素无法及时与葡萄糖醛酸结合

并被排泄，导致其在血液中积聚，引发高胆红素血症。在重度病例中，游离胆红素可穿越血脑屏障，沉积于脑组织，造成不可逆的神经损伤，即胆红素脑病^[15]。

尽管游离胆红素的神经毒性广为人知，Gazzin 等^[6]指出，在低至中等浓度范围内，游离胆红素可作为有效的内源性抗氧化剂，对多种氧化应激相关疾病具有潜在保护作用。流行病学研究发现，Gilbert 综合征患者长期处于轻度高胆红素血症状态，其心血管疾病、代谢综合征等发生率低于普通人群^[16-17]。这一现象可能归因于游离胆红素清除 ROS 的能力，进而抑制脂质过氧化反应与炎症信号通路的激活^[18]。

2.3 检测方法

2.3.1 一般游离胆红素 Martelanc 等^[19]首次报道了人类与动物血清样品中游离胆红素的直接定量分析，结果表明，人血清中游离胆红素浓度为 8.5~13.1 nmol/L，而动物血清样本中略高，为 13.6~17.3 nmol/L。Albreht 等^[20]开发了一种用于同时测定血清中游离胆红素、游离胆绿素的 LC-MS 方法。该方法采用 C₁₈反相色谱柱，结合优化的梯度洗脱方式，在分析条件下可实现游离胆红素、游离胆绿素在 0.5~100 nmol/L 范围内的线性检测，检出限和定量限分别为 0.1、0.5 nmol/L。同时对两者进行痕量分析，必须严格控制光照、pH 值及样本处理条件，否则极易产生降解或异构化误差。

2.3.2 异构体 Gordon 等^[21]开发了一种快速定量 HPLC 法，以 5 mmol/L 庚烷磺酸-0.1 mol/L 醋酸铵 (pH4.8) -乙腈为流动相，在 440 nm 波长处检测，成功分离并测定了胆红素Ⅲ-α、Ⅸ-α、ⅩⅢ-α 异构体。Wooldridge 等^[22]研究指出，市售胆红素对照品在分离纯化过程中会产生少量Ⅲ-α、ⅩⅢ-α 异构体；但经酸处理 1 min 后，3 种亚型的比例变为 1：2：1，其中Ⅲ-α、ⅩⅢ-α 异构体的比例升高。该研究还以冰醋酸-氯仿为流动相，在 450 nm 波长处实现对 3 种亚型胆红素的分离。

2.3.3 光衍生物 Tatikolov 等^[23]介绍了胆红素在光疗中转化为光胆红素的过程，指出采用 C₁₈反相色谱柱并以甲醇-水-四丁基氢氧化铵为流动相，可有效提高胆红素异构体的分离度。Jašprová 等^[24]建立了一种高灵敏度、高选择性的 LC-MS/MS 方法，用于光胆红素、游离胆红素的同步定量检测。样品经甲醇-0.1% 抗坏血酸-0.5% 乙酸铵进行蛋白沉淀后，离心去除蛋白，采用 Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱

柱 (3.0 mm×100 mm, 2.7 μm)，以 1 mmol/L 氟化铵-甲醇为流动相进行梯度洗脱，采用三重四极杆质谱在正离子模式下进行多反应监测，获取碎片离子信息。结果显示，光胆红素、游离胆红素的母离子质荷比 m/z 均为 585.3，分子式相同 (C₃₃H₃₆N₄O₆)。在碎片离子方面，游离胆红素的定性碎片为 m/z 271.2，定量碎片为 m/z 299.1；光胆红素的定性碎片为 m/z 285.1，定量碎片同样为 m/z 299.1。在检测灵敏度上，游离胆红素的检测限为 80 pmol/L，光胆红素的检测限为 100 pmol/L；两者的定量限均为 1 μmol/L。

Uchida 等^[25]开发了一种基于荧光检测的简便方法，同时结合 LC-MS/MS 法确认光胆红素与游离胆红素的定量关系。该方法使用 Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm×100 mm, 2.7 μm)，以 0.1% 甲酸-乙腈为流动相，采用三重四极杆质谱在正离子模式下进行多反应监测，精准测定光胆红素，并评估了该方法在临床光疗监测中的应用潜力。Capková 等^[26]的研究揭示了胆红素向更多极性光异构体的转化过程。除光胆红素外，该研究还提及了其他氧化产物，如单吡咯、二吡咯、三吡咯衍生物^[27]。

3 结合胆红素

3.1 定义 结合胆红素是指胆红素与钙盐、钠盐、磷酸盐、葡萄糖醛酸等分子结合形成的复合物^[28-29]。在人体及动物体内，游离胆红素进入肝脏后与葡萄糖醛酸等分子结合，生成水溶性的结合胆红素^[30]，主要以胆红素单葡萄糖醛酸酯和胆红素二葡萄糖醛酸酯的形式存在，以便后续进入肝肠循环并排出体外。而在牛黄等胆结石类药材中，结合胆红素则主要以胆红素钙盐、胆红素葡萄糖醛酸酯及胆红素硫酸盐等形式存在^[31]。

3.2 特性 不同动物体内胆红素结合物的种类与含量存在一定差异。在正常人的胆汁中，与葡萄糖醛酸结合生成的单葡萄糖醛酸结合胆红素和双葡萄糖醛酸结合胆红素约占总胆红素含量的 65%~85%^[32]。在其他动物中，结合物的类型呈现多样性。例如，狗胆汁中除双葡萄糖醛酸结合胆红素、单葡萄糖醛酸结合胆红素外，单葡萄糖醛酸单葡萄糖苷二酯是主要胆红素结合物之一，但在人胆汁中较少见，此外还发现了仅在狗胆汁中微量存在的胆红素二葡萄糖苷；猴胆汁中同样存在单葡萄糖醛酸单葡萄糖苷二酯^[33]。在鼠类（包括鹿鼠、豚鼠、仓鼠、草原土鼠）中，几乎所有用于胆结石形成

的动物模型均以单葡萄糖醛酸结合胆红素的形式排泄其全部胆汁色素；猪胆汁中也以单葡萄糖醛酸结合胆红素为主^[34]。Sommerer 等^[33]通过差速离心从正常狗和大鼠的肝脏中分离肝微粒体，在不同浓度的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸和尿苷二磷酸葡萄糖存在下检测胆红素结合物的形成，以探究生成葡萄糖醛酸类及含葡萄糖类结合物的关键决定因素。结果发现，在狗与大鼠中，胆红素结合物的种类并非由尿苷二磷酸糖苷的可用性决定，而是由微粒体酶系统对不同糖苷核苷酸的偏好所决定的。

此外，在某些病理条件下，结合胆红素的种类和浓度也会受到相应影响。Castillo-Castañeda 等^[35]研究发现，与健康对照组比较，急性加慢性肝衰竭患者的单葡萄糖醛酸结合胆红素和双葡萄糖醛酸结合胆红素水平升高。在代偿性肝硬化患者中，单葡萄糖醛酸结合胆红素水平升高，双葡萄糖醛酸结合胆红素水平虽略有升高，但幅度较小。上述结果表明，单葡萄糖醛酸结合胆红素和双葡萄糖醛酸结合胆红素水平升高程度与肝病严重性相关，尤其在急性加慢性肝衰竭患者中最为明显，提示两者均具有作为评估肝损伤程度生物标志物的潜力。

在接近生理环境的 pH 值条件下（pH7.9），胆红素及其结合物的溶解度存在较大差异。单葡萄糖醛酸结合胆红素的溶解度约为双葡萄糖醛酸结合胆红素的 1/7，是游离胆红素的 44 倍。当 pH 值下降至 4.5 时，单葡萄糖醛酸结合胆红素几乎不溶。祝学光等^[36]发现，当胆道出现局部感染而引起 pH 值下降时，单葡萄糖醛酸结合胆红素更易析出结晶；同时，由于细菌释放葡萄糖醛酸酶，增强了双葡萄糖醛酸结合胆红素水解为单葡萄糖醛酸结合胆红素的趋势，从而导致色素性胆结石的形成。

近年来，针对胆红素及其结合物的检测方法取得了显著进展，尤其是在 LC-MS/MS 技术的应用与发展方面。Castillo-Castañeda 等^[37]首次系统性地检测游离胆红素与结合胆红素，采用 Waters Symmetry C₁₈反相色谱柱，以乙腈-25 mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH3.0）为流动相进行梯度洗脱，检测波长为 450 nm，成功分离并定量分析了血浆中的葡萄糖醛酸结合胆红素等成分，验证了胆红素在血浆中以多种形式共存，且其浓度比例受代谢状态调控，为临床黄疸诊断提供了更完整的分子谱图。

Putluru 等^[38]开发了一种 UPLC-MS/MS 方法用于体外培养体系中胆红素及其结合物的定量分析。在 37 ℃避光条件下孵育胆红素葡萄糖醛酸苷，采

用 BEH C₁₈色谱柱，以 5 mmol/L 醋酸铵缓冲液-乙腈为流动相，分离得到游离胆红素、单葡萄糖醛酸结合胆红素和双葡萄糖醛酸结合胆红素。通过 API4000 四极杆离子阱与高分辨质谱实现分析物的定量，并提出以 UV-VIS/MS 校正因子法间接计算胆红素代谢物的含量，误差较小。

对于牛黄等胆结石类药材中结合胆红素的测定，常采用间接方法。夏晶等^[39]分别测定了牛黄样品中的游离胆红素、部分胆红素（游离胆红素+结合胆红素）以及总胆红素。用总胆红素减去部分胆红素得到共价胆红素，用部分胆红素减去游离胆红素得到结合胆红素。该方法的关键在于使用 EDTA-2Na 螯合剂选择性破坏结合胆红素与蛋白的配位键，而共价胆红素得以保留，从而通过差值计算出各组分含量。由于结合胆红素的分离制备存在困难，缺乏市售对照品，且中药基质复杂，因此在中药领域中鲜有关于结合胆红素含量测定的研究。

4 共价胆红素

4.1 定义 在胆红素代谢研究中，共价胆红素作为一种新的胆色素亚型受到广泛关注。共价胆红素不同于游离胆红素及结合胆红素，是胆红素与血清白蛋白通过酰胺键形成的共价复合物^[40]。具体而言，胆红素的一个丙酸侧链与白蛋白的赖氨酸残基发生共价结合，而另一个丙酸侧链通常保持游离状态。不同于游离胆红素在血液中与白蛋白的非共价结合模式（紧密但可逆），共价胆红素的结合具有不可逆性。

4.2 特性 共价胆红素推测为一种病理产物，目前主要在肝胆疾病或胆汁淤积患者血清中产生，其生成机制可能与肝脏清除胆红素的能力受损有关^[41]。当结合胆红素未能及时从胆道排出时，部分胆红素可能在血液循环中通过共价键与白蛋白结合，形成共价胆红素。这种共价结合形式使其在血清中的半衰期更长，接近白蛋白的 19 d 半衰期^[42]，不同于游离胆红素及其葡萄糖醛酸结合物（通常通过尿液或胆汁较快排出）。

4.3 检测方法 Chan 等^[43]采用 RP-HPLC 结合光谱检测对共价胆红素进行分离与定量分析。使用 RP-10A 反相色谱柱，以 20% 磷酸缓冲液（pH2.0）-80% 异丙醇与磷酸缓冲液混合溶液为流动相进行梯度洗脱，使胆红素异构体在 20 min 内完成分离。其中共价胆红素与白蛋白共洗脱，表现出不同于其他胆红素组分的色谱保留时间；检测波长为 450 nm（胆红素）和 280 nm（蛋白）。Nielsen

等^[44]建立 HPLC 方法,采用 Shodex Asahipak GS-320HQ 柱及含 Brij-35 的磷酸盐-乙腈梯度洗脱系统,检测波长为 470、280 nm,实现共价胆红素与未结合胆红素、单葡萄糖醛酸胆红素、双葡萄糖醛酸胆红素的基线分离,并明确共价胆红素与白蛋白共洗脱。该方法依据峰面积比例计算各组分浓度,无需标准品,显著提高了共价胆红素定量的可靠性。

5 胆绿素

5.1 定义 胆绿素是血红素经血红素加氧酶作用开环生成的线性四吡咯化合物。随后,胆绿素在胆绿素还原酶催化下迅速被还原为黄色的胆红素,是胆红素的代谢前体。在哺乳动物中,胆红素为主要胆色素;而在家禽中,胆绿素是其主要胆色素;此外,在某些昆虫体内也存在胆绿素^[45]。

5.2 特性 传统上,胆绿素被认为是一种无毒、易于代谢的中间体。然而,胆绿素易与铜(及某些金属)形成配合物,其中胆绿素-铜复合物具有潜在的细胞毒性。Dimitrijević 等^[46]联用 XANES、微束 XRF 与 DFT 技术证实,在反应过程中 Cu^{2+} 被还原为 Cu^+ ,且该复合物在胶质瘤细胞 U251 内扰乱铜稳态分布,导致线粒体损伤及 ROS 爆发。

同时,胆绿素-胆红素的氧化还原体系对黄疸形成、氧化应激等的研究具有重要意义^[47-49]。研究发现,通过抑制胆绿素还原酶合成胆红素,可增强寄生虫的毒力及疟疾的致死率^[47]。

5.3 检测方法 Fraňski 等^[50]通过 CID-MS/MS 法研究胆绿素的质谱行为。在负离子模式下,胆绿素与醇类溶剂形成加合物。该加合物在碰撞诱导解离时发生独特的气相脱氢反应,生成 m/z 583 的还原产物,易被误判为胆红素。提示在负离子模式下进行检测时应避免使用醇类流动相,而优先选用乙腈-甲酸铵体系。

6 其他检测方法

6.1 重氮法 最广泛使用的胆红素测定方法是重氮试剂法,其原理是根据胆红素能否直接与重氮试剂反应,将其分为直接胆红素和间接胆红素。结合胆红素与共价胆红素均能与重氮试剂直接反应;而游离胆红素与重氮试剂的反应则必须有加速剂(如甲醇、咖啡因等)的参与。然而,由于重氮反应具有 pH 值依赖性,导致胆红素的检测精度降低。尤其是共价胆红素,在短时间内可能未能与重氮试剂完全反应。因此,在使用 Jendrassik-Grof 法等传统重氮试剂法时,可能会错误地估计胆红素浓度^[51]。张鲍虎等^[52]系统比较了重氮法、钒酸氧化

法等 4 种检测方法,评估其测量成分的差异,结果表明,样本中存在维生素 C 会对重氮法测定胆红素产生较大影响。

6.2 拉曼光谱法 拉曼光谱法基于分子振动产生特征光谱的原理,可以提供生物组织的化学组成与结构相关信息。其优点是非侵入性,对生物样本可直接分析,无需复杂的前处理。与传统的化学试剂法(如重氮试剂法)不同,拉曼光谱法不需要额外试剂,降低了实验的复杂性和成本。其中,表面增强拉曼光谱法因其极高的灵敏度而成为近年来的研究热点,可检测 1 pmol/L 的胆红素浓度。Potapova 等^[53]选择 785 nm 的激光波长,以减少胆汁等多组分水合介质中的复杂基质成分对拉曼光谱法的干扰。Gao 等^[54]发明了一种基于表面增强拉曼光谱法的传感器,用于血清中胆红素的检测,线性范围为 2~100 $\mu\text{mol/L}$ 。Pan 等^[55]开发了一种基于氧化石墨烯-金纳米材料的表面增强拉曼光谱传感器,用于血清中胆红素的无标记检测。

6.3 电化学法 电化学方法具有高灵敏度,并可实现便携式实时监测,通过改进传感器可增强选择性和灵敏度。Elhelw 等^[56]发明了一种基于电化学阻抗谱的胆红素传感器,用于血清中胆红素的测定,检测限为 41 nmol/L。

综上所述,每种胆红素测定方法在实际应用中各有侧重。表面增强拉曼光谱法以无痛、无创、快速、准确的特点,在临床检验中监测人体血液胆红素水平方面展现出巨大潜力;而传统的重氮法、紫外光度法、HPLC 法、LC-MS/MS 法则更适用于实验室的精准定性定量分析。

7 结语

胆红素是生物体内血红素代谢的关键产物,广泛存在于胆汁及动物胆类药材中。其在生理和病理过程中具有重要作用,同时对胆类中药的质量控制也具有重要意义。然而,目前针对胆红素的研究主要集中于医学和生理学领域,在中药学领域,尤其是动物胆类药材中的胆红素检测研究仍较为有限。一方面,游离胆红素具有亲脂性、稳定性差、结构简单,可直接测定;另一方面,结合胆红素缺乏市售对照品且存在异构现象,增加了检测难度;此外,共价胆红素作为胆红素与蛋白质的共价结合形式,其分析更加困难。胆红素分子结构的多样性增加了检测方法的复杂性,且不同异构体的毒性作用与活性存在差异。因此,如何准确定性定量测定胆红素类成分一直是研究的重点与难点,亟需检测

技术的进一步开发。

与紫外分光光度分析法及电化学法相比，LC-MS/MS 法因具有高灵敏度和高特异性，已成为临床上测定血浆胆红素的重要依据之一。例如，光胆红素与游离胆红素结构相似，传统比色法（如 Jendrassik-Grof 法）和光谱法（如 UV-Vis 和荧光法）难以区分两者。而 HPLC-MS/MS 方法通过色谱分离、特征离子分析及二级碎片离子谱图，能够实现高选择性检测。同时，一些新兴检测技术（如表面增强拉曼光谱等）不仅简化了样品处理过程，还提高了灵敏度与检测效率。随着高灵敏、高通量检测技术的不断发展，胆红素及其代谢物的精准测定将在中药质量控制和临床应用中发挥更加重要的作用。

目前，动物胆类药材及中成药中常测定总胆红素的含量，而对结合胆红素、共价胆红素采用间接测定法，尚缺乏系统性的胆红素类成分表征。由于胆红素具有光敏、热敏、酸碱敏感等特点，导致游离胆红素、光胆红素、结合胆红素、共价胆红素的分析存在较大难度。未来，应加强质谱离子源与分析器的改进以及液质联用仪器性能的优化，这既是实现 LC-MS/MS 高通量、高灵敏度检测的关键，也是该技术进一步推广应用的难点所在。研究胆红素及其代谢物，不仅能够为胆类药材的储存与运输提供理论依据，还可深入揭示其活性成分与潜在毒性机制，有助于完善质量控制体系，为提升胆类药材的安全性与其有效性奠定坚实基础。

参考文献：

[1] 曹雨欣,王 喆,赵 立,等.胆红素生理功能及获取途径的研究进展[J].中国现代应用药学,2025,42(9):1575-1582.

[2] Adin C A. Bilirubin as a therapeutic molecule: Challenges and opportunities[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(10): 1536.

[3] Zibera L, Martelanc M, Franko M, et al. Bilirubin is an endogenous antioxidant in human vascular endothelial cells[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 29240.

[4] Nocentini A, Bonardi A, Pratesi S, et al. Pharmaceutical strategies for preventing toxicity and promoting antioxidant and anti-inflammatory actions of bilirubin[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2022, 37(1): 487-501.

[5] Itoh S, Okada H, Koyano K, et al. Fetal and neonatal bilirubin metabolism[J]. *Front Pediatr*, 2023, 10: 1002408.

[6] Gazzin S, Vitek L, Watchko J, et al. A novel perspective on the biology of bilirubin in health and disease[J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(9): 758-768.

[7] Bracken M L, Fernandes M A, Mathura S. Bilirubin and its

crystal forms[J]. *CrystEngComm*, 2024, 26(16): 2136-2142.

[8] Longhi G, Ghidinelli S, Abbate S, et al. Insights into the structures of bilirubin and biliverdin from vibrational and electronic circular dichroism: History and perspectives[J]. *Molecules*, 2023, 28(6): 2564.

[9] Cruz Á B, de Brito L G, Leal P V B, et al. Intramolecular hydrogen bonds interactions in the isomers of the bilirubin molecule: DFT and QTAIM analysis[J]. *J Mol Model*, 2023, 29(10): 318.

[10] 杨展澜,孙 颖,田 文.红外光谱法研究胆红素在溶液中的结构[J].光谱学与光谱分析,2000,20(5):635-637.

[11] Mreihil K, Madsen P, Nakstad B, et al. Early formation of bilirubin isomers during phototherapy for neonatal jaundice: effects of single vs. double fluorescent lamps vs. photodiodes[J]. *Pediatr Res*, 2015, 78(1): 56-62.

[12] Tatikolov A S, Panova I G. Photonics of bilirubin: A biologically important molecule[J]. *Russ J Phys Chem B*, 2024, 18(6): 1473-1477.

[13] 刘珍齐,时海波,殷善开.胆红素对中枢神经系统的作用及其机制的研究进展[J].上海交通大学学报(医学版),2022,42(8):1139-1144.

[14] Lee W H, Kipp Z A, Pauss S N, et al. Heme oxygenase, biliverdin reductase, and bilirubin pathways regulate oxidative stress and insulin resistance: a focus on diabetes and therapeutics[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2025, 139(2): 171-198.

[15] Dhawan A, Lawlor M W, Mazariegos G V, et al. Disease burden of Crigler-Najjar syndrome: Systematic review and future perspectives[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(4): 530-543.

[16] Guerra Ruiz A R, Crespo J, López Martínez R M, et al. Measurement and clinical usefulness of bilirubin in liver disease[J]. *Adv Lab Med*, 2021, 2(3): 352-372.

[17] Wagner K H, Wallner M, Mölzer C, et al. Looking to the horizon: the role of bilirubin in the development and prevention of age-related chronic diseases[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(1): 1-25.

[18] Zhang Y, Luan H N, Song P. Bilirubin metabolism and its application in disease prevention: mechanisms and research advances[J]. *Inflamm Res*, 2025, 74(1): 81.

[19] Martelanc M, Žibera L, Passamonti S, et al. Direct determination of free bilirubin in serum at sub-nanomolar levels[J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 809: 174-182.

[20] Albrecht A, Martelanc M, Žibera L. Simultaneous determination of free biliverdin and free bilirubin in serum: A comprehensive LC-MS approach[J]. *Anal Chim Acta*, 2024, 1287: 342073.

[21] Gordon E R, Goresky C A. A rapid and quantitative high performance liquid chromatographic method for assaying bilirubin and its conjugates in bile[J]. *Can J Biochem*, 1982, 60(11): 1050-1057.

[22] Wooldridge T A, Lightner D A. Separation of the III- α , IX- α , and XIII- α isomers of bilirubin and bilirubin dimethyl ester by

high performance liquid chromatography[J]. *J Liq Chromatogr*, 1978, 1(5): 653-658.

[23] Tatikolov A S, Pronkin P G, Panova I G. Bilirubin: Photophysical and photochemical properties, phototherapy, analytical methods of measurement. A short review[J]. *Biophys Chem*, 2025, 318: 107378.

[24] Jašprová J, Dvořák A, Vecka M, *et al.* A novel accurate LC-MS/MS method for quantitative determination of Z-lumirubin [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4411.

[25] Uchida Y, Takahashi Y, Morimoto Y, *et al.* Noninvasive monitoring of bilirubin photoisomer excretion during phototherapy[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 11798.

[26] Capková M N. Studijní program: Biochemie a patobiochemie[D]. Prague: Charles University, 2023.

[27] Joerk A, Ritter M, Langguth N, *et al.* Propentdyopents as heme degradation intermediates constrict mouse cerebral arterioles and are present in the cerebrospinal fluid of patients with subarachnoid hemorrhage[J]. *Circ Res*, 2019, 124(12): e101-e114.

[28] Ritter M, Seidel R A, Bellstedt P, *et al.* Isolation and identification of intermediates of the oxidative bilirubin degradation[J]. *Org Lett*, 2016, 18(17): 4432-4435.

[29] Ritter M, Neupane S, Seidel R A, *et al.* *In vivo* and *in vitro* identification of Z-BOX C-a new bilirubin oxidation end product[J]. *Org Biomol Chem*, 2018, 16(19): 3553-3555.

[30] Memon N, Weinberger B I, Hegyi T, *et al.* Inherited disorders of bilirubin clearance[J]. *Pediatr Res*, 2016, 79(3): 378-386.

[31] 张能荣. 人造牛黄和天然牛黄中的胆红素[J]. *生化药物杂志*, 1986, 6(2): 77.

[32] 吕红宝, 李 凯, 郭 庆. 猪胆汁中胆红素提取工艺的研究[J]. *辽宁化工*, 2023, 52(4): 506-508; 512.

[33] Sommerer U, Gordon E R, Goresky C A. Microsomal specificity underlying the differing hepatic formation of bilirubin glucuronide and glucose conjugates by rat and dog[J]. *Hepatology*, 1988, 8(1): 116-124.

[34] Spivak W, Carey M C. Reverse-phase h. p. l. c. separation, quantification and preparation of bilirubin and its conjugates from native bile. Quantitative analysis of the intact tetrapyrroles based on h. p. l. c. of their ethyl anthranilate azo derivatives. [J]. *Biochem J*, 1985, 225(3): 787-805.

[35] Castillo-Castañeda S M, Cordova-Gallardo J, Rivera-Espinosa L, *et al.* Bilirubin molecular species play an important role in the pathophysiology of acute-on-chronic liver failure[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(15): 8181.

[36] 祝学光, 涂向群, 韩健德. 关于单结合胆红素水溶性的研究[J]. *中华实验外科杂志*, 1997, 14(5): 35-37; 71.

[37] Castillo-Castañeda S M, Rivera-Espinosa L, Gómez-Garduño J, *et al.* Identification and quantification of the molecular species of bilirubin BDG, BMG and UCB by LC-MS/MS in hyperbilirubinemic human serum[J]. *PLoS One*, 2024, 19(11): e0313044.

[38] Putluru S P, Matta M K, Ahire D, *et al.* A novel liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the estimation of bilirubin glucuronides and its application to *in vitro* enzyme assays[J]. *Drug Metab Lett*, 2017, 10(4): 264-269.

[39] 夏 晶, 曹 帅, 沙祎炜, 等. 天然牛黄和体外培育牛黄中不同胆红素含量及比例的初步探究[J]. *中国药学杂志*, 2017, 52(11): 971-977.

[40] Lee S, Ahn K, Lee T, *et al.* Development of an equation to predict delta bilirubin levels using machine learning[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2025, 564: 119938.

[41] Kumar M, Singh K, Singh K K. Understanding the difference in various fractions of serum bilirubin while estimated by wet chemistry and dry chemistry method and its importance in neonatal jaundice[J]. *Indian J Med Biochem*, 2023, 26(1): 9-14.

[42] Green R M, Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(4): 1367-1384.

[43] Chan K M, Scott M G, Wu T W, *et al.* Inaccurate values for direct bilirubin with some commonly used direct bilirubin procedures[J]. *Clin Chem*, 1985, 31(9): 1560-1563.

[44] Nielsen M H, Mørk M, Madsen P, *et al.* A simplified HPLC-based method for measuring unconjugated bilirubin, bilirubin-monoglucuronide, bilirubin-diglucuronide, and delta-bilirubin in plasma with increased conjugated bilirubin[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2023, 83(1): 64-67.

[45] Abe S, Matsubara Y, Ogawa K, *et al.* Identification of biliverdin as a pigment involved in the seasonal variation of green lacewing body colour and the enzymes involved in its metabolism[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2025, 181: 104330.

[46] Dimitrijević M, Žižić M, Jelača S, *et al.* Interaction studies of biliverdin-Cu complex formation using XANES, XRF, and DFT analyses and its effect on cytotoxicity in glioblastoma cell line (U251) [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2025, 770: 110466.

[47] Figueiredo A, Rastogi S T, Ramos S, *et al.* A metabolite-based resistance mechanism against malaria[J]. *Science*, 2025, 388(6752): eadq6741.

[48] 白文姬, 杨 渊, 霍思颖, 等. 胆绿素治疗作用的研究进展[J]. *昆明医科大学学报*, 2022, 43(6): 147-153.

[49] 池肇春. 血红素加氧酶和胆绿素还原酶反应化学研究进展[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2021, 31(7): 582-585.

[50] Frański R, Kozik T. Unexpected interaction between deprotonated biliverdin and alcohols as studied by ESI-MS[J]. *J Mass Spectrom*, 2017, 52(2): 65-68.

[51] Hulzebos C V, Camara J E, van Berkel M, *et al.* Bilirubin measurements in neonates: uniform neonatal treatment can only be achieved by improved standardization[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2024, 62(10): 1892-1903.

[52] 张鲍虎, 张玲玲, 郑耿镇, 等. 4种检测系统测定血清胆红素的差异性研究[J]. *标记免疫分析与临床*, 2023, 30(3): 517-522.

[53] Potapova E V, Prizemin V N, Sumin D S, *et al.* Assessment of bilirubin concentrations in the bile of patients with obstructive

jaundice by raman spectroscopy[J]. *Opt Spectrosc*, 2024, 132(2): 179-187.

[54] Gao D, Yang X, Teng P, *et al.* On-line SERS detection of bilirubin based on the optofluidic in-fiber integrated GO/Ag NPs for rapid diagnosis[J]. *Talanta*, 2021, 234: 122692.

[55] Pan X, Li L, Lin H, *et al.* A graphene oxide-gold nanostar hybrid based-paper biosensor for label-free SERS detection of serum bilirubin for diagnosis of jaundice[J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 145: 111713.

[56] Elhelw A R, Ibrahim M S S, Rashed A N Z, *et al.* Highly sensitive bilirubin biosensor based on photonic crystal fiber in terahertz region[J]. *Photonics*, 2023, 10(1): 68.

木瓜本草考证

彭 彬¹, 曾子玲², 李 兵², 刘思鸿³, 佟 琳³, 张 磊³, 郑丹平¹, 张 卫^{2*}, 张华敏^{1,2*}

(1. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700; 2. 中国中医科学院中药研究所, 道地药材与品质保障全国重点实验室, 北京 100700; 3. 中国中医科学院中医药信息研究所, 北京 100700)

摘要: 本文对历代本草、方书与医籍文献中木瓜的古代名称变化、基原描述、用药部位、道地产区演变、品质评价、炮制加工方法等关键信息进行梳理, 以期对相关古代方剂的开发和临床应用提供理论依据。经考证, 古代木瓜主要以“木瓜”“木瓜实”为正名记载于本草文献之中; 历代所用木瓜的主流基原植物为蔷薇科植物贴梗海棠(皱皮木瓜) *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai, 用药部位以木瓜果实为主; 木瓜来源在古代有“处处皆有”之说, 其道地产区为湖北、浙江、安徽; 古代记载木瓜的采收时间为秋季或八月, 但现代并未明确规定采收时间, 并将其采收标准规定为干燥近成熟果实; 古代木瓜加工方法以“去瓤”为主, 炮制方式多样, 而近代简化了上述过程, 主张用沸水煮后直接切片晒干。因此, 建议在开发相关古代方剂时, 以湖北、浙江、安徽所产皱皮木瓜的果肉为来源, 按照文献记载去除瓤和核后再炮制入药。

关键词: 木瓜; 名称; 基原; 用药部位; 产区; 炮制加工

中图分类号: R281 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)08-2683-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.08.025

木瓜, 性温, 味酸, 归肝、脾经, 具有舒经活络、和胃化湿的功效, 临床广泛用于治疗湿痹拘挛、转筋疼痛、腰膝关节酸重疼痛、暑湿吐泻、脚气水肿等多种病证^[1]。现代研究表明, 木瓜含有木瓜多酚、多糖、黄酮、三萜及其苷类、有机酸、挥发油等多种活性成分, 具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗肿瘤、修复肝损伤等作用^[2-3]。2020 年版《中国药典》规定木瓜为蔷薇科植物贴梗海棠 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 的干燥近成熟果实^[4]。

木瓜在古代方剂中较为常见, 现公布的古代经典名方中共有 2 首方剂药物组成中含有木瓜, 分别为《古代经典名方目录(第一批)》中的实脾散和《古代经典名方目录(第二批)》中的六和汤。目前有关木瓜的本草考证研究较少, 主要通过对古代本草文献中木瓜的名称与产地、鉴别特征及原植物、功效与应用和炮制方法等内容进行考证^[5-8], 然而仅是对上述相关信息进行简要梳理, 木瓜关键信息的古今演变脉络尚不清晰, 对木瓜的本草考证

收稿日期: 2025-07-03

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC3500900); 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2023E002); 中央级公益性科研院所基
本科研业务费专项资金(ZXKT22054)

作者简介: 彭 彬(1998—), 男, 博士在读, 研究方向为中医药古籍保护与利用、病证诊疗规律研究。E-mail: pengbinshtc111@163.com

* 通信作者: 张 卫(1979—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为本草文献研究。E-mail: wzhang@icmm.ac.cn

张华敏(1974—), 女, 博士, 研究员, 从事中医药古籍保护与利用、经典名方考证及其现代科学内涵解析、中医药防治心血管疾病的基础研究。E-mail: hmzhang@icmm.ac.cn

网络出版日期: 2025-08-19

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/31.1368.r.20250819.1307.004>.