

- 314-327.
- [15] 魏晓丽, 占昌友. 进展导向药物代谢动力学实践教学[J]. 药学教育, 2024, 40(5): 39-42.
- [16] 吴意, 万娜, 刘阳, 等. 中药挥发油稳定性影响因素、变化机制及保护策略[J]. 中草药, 2022, 53(21): 6900-6908.
- [17] 李超, 罗万和, 周凯翔, 等. 包衣技术提高药物药学性能的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(11): 3271-3278.
- [18] Zaid A N. A comprehensive review on pharmaceutical film coating: Past, present, and future[J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14: 4613-4623.
- [19] 黄鑫. 两阶段生物等效性研究的设计效率比较[D]. 桂林: 桂林电子科技大学, 2022.
- [20] Kim S Y, Han S D, Kim M, et al. *Mentha arvensis* essential oil exerts anti-inflammatory in LPS-stimulated inflammatory responses via inhibition of ERK/NF-κB signaling pathway and anti-atopic dermatitis-like effects in 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced BALB/c mice[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(12): 1941.
- [21] 马振友, 李斌, 李元文. 新编中西皮肤药物手册[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2019: 226-227.
- [22] Zouari-Bouassida K, Trigui M, Makni S, et al. Seasonal variation in essential oils composition and the biological and pharmaceutical protective effects of *Mentha longifolia* leaves grown in Tunisia[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 7856517.
- [23] Ye T T, Wu Y, Shang L, et al. Improved lymphatic targeting: effect and mechanism of synthetic borneol on lymph node uptake of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin nanoliposomes following subcutaneous administration[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1461-1471.
- [24] Zou L, Zhang Y, Li W, et al. Comparison of chemical profiles, anti-inflammatory activity, and UPLC-Q-TOF/MS-based metabolomics in endotoxic fever rats between synthetic borneol and natural borneol[J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1446.
- [25] 国家药品监督管理局药品审评中心. 以药动学参数为终点评价指标的化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则[Z]. 2016.

## UPLC-Q-TOF-MS/MS 法鉴定 3 种酚类在小鼠体内的代谢产物

赵蓉, 胡蒙蒙, 洪玉冰, 雷胜男, 赵子康, 车彦云<sup>\*</sup>  
(云南中医药大学, 云南省药食同源饮品工程研究中心, 云南昆明 650500)

**摘要:** 目的 建立 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法鉴定没食子酸、鞣花酸、柯里拉京在小鼠体内的代谢产物。方法 给药组小鼠分别灌胃给予 3 种成分的 0.5% CMC-Na 混悬液 (400 mg/kg), 空白组小鼠灌胃给予 0.5% CMC-Na 混悬液 (400 mg/kg), 采集血浆、尿液、粪便。分析采用 Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸) - 乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 0.27 mL/min; 柱温 30 °C; 电喷雾离子源; 负离子扫描。结果 共鉴定出 27 种没食子酸代谢产物、13 种鞣花酸代谢产物、37 种柯里拉京代谢产物, 这 3 种成分主要发生水解、脱羧等 I 相代谢, 以及甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化等 II 相代谢。结论 该方法稳定可靠, 可为探究其他天然酚类的体内代谢规律提供参考。

**关键词:** 没食子酸; 鞣花酸; 柯里拉京; 代谢产物; UPLC-Q-TOF-MS/MS

**中图分类号:** R969.1      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1001-1528(2026)01-0033-09

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.006

## Identification of *in vivo* metabolites of three phenols in mice by UPLC-Q-TOF-MS/MS

ZHAO Rong, HU Meng-meng, HONG Yu-bing, LEI Sheng-nan, ZHAO Zi-kang, CHE Yan-yun<sup>\*</sup>

收稿日期: 2025-08-19

基金项目: 兴滇英才支持计划项目 (20220273); 云南省基础研究计划项目面上项目 (202401AT070160); 云南省科技厅-云南中医药大学应用基础联合研究专项项目面上项目 (202101AZ070001-212); 云南省科技厅-云南中医药大学应用基础联合研究专项项目重点项目 (2019FF002-012)

作者简介: 赵蓉 (2000—), 女, 硕士, 研究方向为药物化学。E-mail: zhaor123@163.com

\*通信作者: 车彦云 (1985—), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药效物质基础及其作用机制。E-mail: checpu@163.com

(Yunnan Provincial Engineering Research Center for Medicinal-Food Homology of Beverages, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

**ABSTRACT:** AIM To establish a UPLC-Q-TOF-MS/MS method for the identification of *in vivo* metabolites of gallic acid, ellagic acid and corilagin in mice. METHODS The mice in administration groups were given intragastric administration of 0.5% CMC-Na suspensions of 3 constituents (400 mg/kg), respectively, while those in blank group were given intragastric administration of 0.5% CMC-Na suspensions (400 mg/kg), after which plasma, urine and feces were collected. The analysis was performed on a 30 °C thermostatic Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), with the mobile phase comprising of water (containing 0.1% formic acid) -acetonitrile flowing at 0.27 mL/min in a gradient elution manner, and electrospray ionization source was adopted in negative ion scanning. RESULTS Total 27 gallic acid metabolites, 13 ellagic acid metabolites and 37 corilagin metabolites were identified, these 3 constituents mainly occurred phase I metabolites such as hydrolysis, decarboxylation, and phase II metabolites such as methylation, sulfation, glucuronidation. CONCLUSION This stable and reliable method can provide a reference for exploring the *in vivo* metabolic rules of other natural phenols.

**KEY WORDS:** gallic acid; ellagic acid; corilagin; metabolites; UPLC-Q-TOF-MS/MS

天然酚类化合物是一类结构多样的次级代谢产物，具有较大的相对分子质量，结构复杂<sup>[1]</sup>，其中没食子酸和鞣花酸为没食子酸类衍生物，而柯里拉京为逆没食子酸鞣质类化合物，三者广泛存在于五倍子、龙眼、叶下珠、余甘子、诃子、老鹳草等中药中，具有明显的心血管保护、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抑制氧化应激等生物活性<sup>[2-5]</sup>，但该类化合物体内代谢过程复杂，不仅影响了其生物利用度和药理作用，也对深入理解其作用机制带来了困难<sup>[6]</sup>。超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱（UPLC-Q-TOF-MS/MS）分辨率高，能提供精确的相对分子质量和丰富的碎片离子信息，被广泛用于中药化学成分鉴定及其体内代谢研究<sup>[7]</sup>。

由于天然多酚类化合物生物利用率较低，大部分在被器官吸收前就已被代谢，故分析其代谢情况有助于理解它们对不同生理机制作出的反应<sup>[8]</sup>。虽然没食子酸、鞣花酸、柯里拉京代谢过程已被初步推测出，但其体内代谢产物和途径尚未明确。因此，本实验基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法鉴定没食子酸、鞣花酸、柯里拉京在小鼠血浆、尿液、粪便中的代谢产物，从而揭示三者体内代谢过程。

## 1 材料

1.1 仪器 超高效液相色谱仪（型号 Agilent 1290 Infinity II）、四极杆串联飞行时间质谱仪（型号 Agilent 6545）（美国 Agilent 公司）；电子分析天平 [型号 AR224CN，奥豪斯仪器（上海）有限公司]；超声波清洗器（型号 SK5200HP，上海科导超声仪器有限公司）；漩涡振荡器（型号 TYXH-I，

上海汗诺仪器有限公司）；台式高速冷冻离心机（型号 TGL-16MS，上海卢湘仪离心机仪器有限公司）；冷冻浓缩离心干燥器（型号 LNG-T98，太仓市华美生化仪器厂）；超低温冰箱（型号 Forma902，美国 Thermo 公司）。

1.2 试剂 没食子酸（货号 wp23071413）、鞣花酸（货号 wp24010206）、柯里拉京（货号 wp23080706）对照品（纯度≥98%，四川省维克奇生物科技有限公司）。羧甲基纤维素钠（CAS 号 9004-32-4，美国 Sigma-Aldrich 公司）。甲醇、乙腈（质谱级，德国 Merck 公司）；甲酸（质谱级，美国 Fisher Chemical 公司）；水为超纯水（由 Milli-Q 纯化系统制得）。

1.3 动物 SPF 级健康 KM 小鼠，雄性，体质量 20~22 g，由昆明医科大学实验动物中心提供，实验动物生产许可证号 SCXK（滇）K2020-0004。本实验方案及操作过程均经云南中医药大学实验动物伦理委员会批准（伦理批准号 R-062023083）。

## 2 方法

### 2.1 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析条件

2.1.1 色谱 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱（100 mm×2.1 mm, 1.8 μm）；流动相 A [水（含 0.1% 甲酸）]-B（乙腈），梯度洗脱（0~3 min, 3% B；3~8 min, 3%~5% B；8~10 min, 5%~7% B；10~15 min, 7%~15% B；15~20 min, 15%~20% B；20~25 min, 20%~23% B；25~30 min, 23%~3% B；30~33 min, 3% B）；体积流量 0.27 mL/min；柱温 30 °C；进样量 5 μL。

2.1.2 质谱 电喷雾离子源(ESI); 分辨率30 000; 辅助气15 psi(1 psi=0.685 kPa); 鞘气60 psi; 离子源温度常温; 喷雾电压2.50 kV; 离子传输管温度270 °C, 电压-39 V; 质量扫描范围 $m/z$  50~1 200, 其他参数见表1。

表1 各成分质谱参数

Tab. 1 Mass spectrometry parameters for various constituents

| 成分   | 碎裂电压/V | 碰撞能/eV | 离子模式 |
|------|--------|--------|------|
| 没食子酸 | 110    | 10~40  | 负离子  |
| 鞣花酸  | 171    | 5~20   | 负离子  |
| 柯里拉京 | 180    | 10~40  | 负离子  |

## 2.2 溶液制备

2.2.1 给药液 称取没食子酸、鞣花酸、柯里拉京对照品适量, 加入0.5% CMC-Na溶液, 制成质量浓度为0.04 g/mL的溶液, 即得。

2.2.2 对照品溶液 精密称取没食子酸、鞣花酸、柯里拉京对照品各1 mg, 置于10 mL量瓶中, 甲醇定容至刻度, 即得。

2.3 生物样品采集 小鼠随机分为没食子酸组、鞣花酸组、柯里拉京组、空白组, 前3组每组再分为血液组(A组)、尿液组(B组)、粪便组(C组), 每组8只, 其中A组再分为5个小组。实验前小鼠适应实验室环境3 d, 在温度( $23\pm2$ )°C、相对湿度( $50\pm2$ )%、12 h光照/黑暗的标准条件下饲养, 禁食12 h, 自由饮水, A、B、C组按400 mg/kg剂量灌胃给予“2.2.1”项下给药液, 空白组灌胃给予等剂量0.5% CMC-Na混悬液。A组小鼠于给药后30、60、120、240、480 min眼球采血各约0.1 mL, 置于肝素化EP管中, 3 500 r/min离心15 min, 收集血浆; B组、C组小鼠于给药4~8、8~12、12~24 h后收集尿液及粪便; 空白组小鼠给药后收集空白血液、尿液及粪便, 所有样品均置于-80 °C冰箱中保存。

## 2.4 样品预处理

2.4.1 血浆 取不同时间点小鼠血浆各100 μL, 置于EP管中, 充分混合均匀后吸取100 μL, 加入0.5 mL甲醇沉淀蛋白质, 在涡旋仪上混合5 min, 4 °C、14 000 r/min离心10 min, 取上清, 氮气流吹干, 残渣用100 μL 50%甲醇复溶, 在涡旋仪上混合3 min后超声处理。

2.4.2 尿液 取小鼠混合尿液200 μL, 4 °C、14 000 r/min离心10 min, 取上清, 加入0.5 mL甲醇沉淀蛋白质, 在涡旋仪上混合5 min, 4 °C、

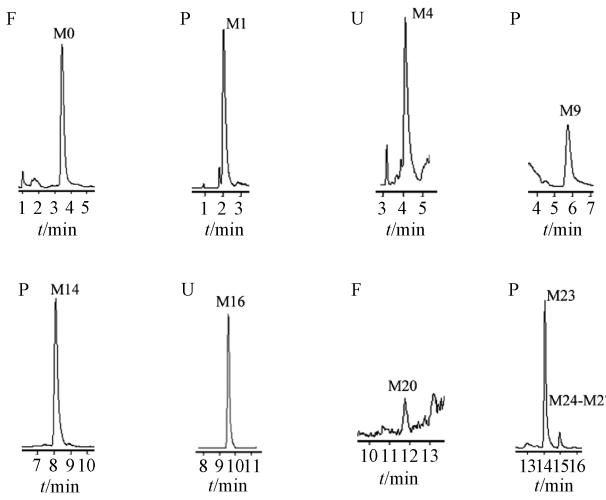
14 000 r/min离心10 min, 取上清, 氮气流吹干, 残渣用100 μL 50%甲醇复溶, 在涡旋仪上混合3 min后超声处理。

2.4.3 粪便 取小鼠混合粪便1 g, 与10 mL甲醇混匀后研磨粉碎, 超声提取60 min, 4 °C、14 000 r/min离心10 min, 取上清, 氮气流吹干, 残渣用200 μL 50%甲醇复溶, 在涡旋仪上混合3 min后超声处理。

2.5 数据分析和处理 通过Agilent MassHunter Qualitative Analysis B. 06.00软件对色谱图原始数据进行处理, 通过匹配功能计算实测值与理论值的误差, 预测分子式。参照对照品质谱裂解模式, 根据保留时间、精确分子量、二级离子碎片, 结合相关文献报道及Mass Bank (<http://www.massbank.jp>)、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)数据库初步推断其结构。

## 3 结果

3.1 没食子酸代谢产物及途径 共鉴定出28种, 包括1种原型成分和27种代谢产物, 从血浆、尿液、粪便中分别鉴定出9、23、4种成分, 见图1~2、表2。由图2可知, 没食子酸主要发生的I相反应有脱羧, II相反应有甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。

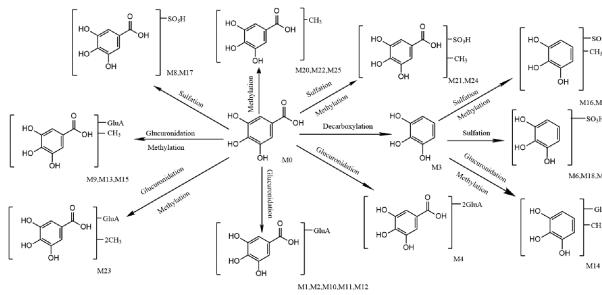


注: P为血浆, U为尿液, F为粪便。

图1 没食子酸代谢产物提取离子流色谱图

Fig. 1 Extracted ion current chromatograms of gallic acid metabolites

M0准分子离子峰 $m/z$  169.014 8 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子 $m/z$  125.025 2 [M-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>质谱裂解行为与对照品一致, 鉴定为原型成分没食子酸。M1准分子离子峰 $m/z$  345.047 7 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质



注: Decarboxylation 为脱羧, Methylation 为甲基化, Sulfation 为硫酸化, Glucuronidation 为葡萄糖醛酸化。

图 2 没食子酸代谢途径

Fig. 2 Metabolic pathways of gallic acid

量比 M0 [M-H]<sup>-</sup> 多 176, 碎片离子  $m/z$  169.013 6 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>, 是葡萄糖醛酸反应的特征中性丢失, 鉴定为 M0 葡萄糖醛酸化代谢产物。M3 准分子离子峰  $m/z$  125.024 0 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  81.035 0 [M-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 是 M0 发生脱羧反应, 通过与文献 [9] 比对鉴定为焦没食子酸。M5、M7 准分子离子峰  $m/z$  301.056 3 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  125.025 0 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>, 通过与文献 [10] 比对分别鉴定为 pyrogallol-1-O-glucuronide、pyrogallol-2-O-glucuronide。M6 准分子离子峰  $m/z$  204.982 1 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M4 [M-H]<sup>-</sup>

表 2 没食子酸代谢产物鉴定结果

Tab. 2 Results for identification of gallic acid metabolites

| 编号  | $t_R$ /min | 代谢产物   | 分子式   | MS <sub>1</sub> $m/z$ | MS <sup>2</sup> $m/z$ | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 来源 |    |    |
|-----|------------|--|---|-----------------------|-----------------------|----------------------------|----|----|----|
|     |            |  |   | [M-H] <sup>-</sup>    |                       |                            | 血浆 | 尿液 | 粪便 |
| M0  | 3.05       | 没食子酸   | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>    | 169.014 8             | 125.025 2             | 0.28                       | +  | +  | +  |
| M1  | 2.00       | M0 葡萄糖醛酸化  | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub> | 345.047 7             | 169.013 6             | -3.96                      | +  | -  | -  |
| M2  | 3.06       | M0 葡萄糖醛酸化  | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub> | 345.047 9             | 169.014 1, 125.027 2  | -4.54                      | -  | +  | -  |
| M3  | 3.40       | 焦没食子酸  | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>    | 125.024 0             | 81.035 0              | 3.34                       | -  | +  | +  |
| M4  | 4.42       | M0 葡萄糖醛酸化+葡萄糖醛酸化   | C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>17</sub> | 521.079 8             | 345.045 6, 169.025 0  | -2.64                      | -  | +  | -  |
| M5  | 4.50       | pyrogallol-1-O-glucuronide or pyrogallol-2-O-glucuronide | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>9</sub>  | 301.056 3             | 125.025 0             | 0.68                       | +  | +  | -  |
| M6  | 5.16       | M3 硫酸化   | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S  | 204.982 1             | 125.024 7             | -4.32                      | -  | +  | -  |
| M7  | 5.33       | pyrogallol-1-O-glucuronide or pyrogallol-2-O-glucuronide | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>9</sub>  | 301.056 3             | 125.024 6             | 0.68                       | +  | -  | -  |
| M8  | 5.80       | M0 硫酸化   | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub> S  | 248.971 5             | 169.014 5             | -1.76                      | -  | +  | -  |
| M9  | 5.98       | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>11</sub> | 359.063 4             | 183.030 1, 169.014 2  | -3.94                      | +  | -  | -  |
| M10 | 6.27       | M0 葡萄糖醛酸化  | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub> | 345.047 9             | 169.014 6, 125.027 1  | -4.54                      | -  | +  | -  |
| M11 | 6.53       | M0 葡萄糖醛酸化  | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub> | 345.047 7             | 169.014 6             | -3.96                      | +  | -  | -  |
| M12 | 6.82       | M0 葡萄糖醛酸化  | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub> | 345.047 9             | 169.014 5, 125.0247   | -4.54                      | -  | +  | -  |
| M13 | 7.56       | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>11</sub> | 359.063 5             | 183.025 2, 169.013 6  | -4.22                      | -  | +  | -  |
| M14 | 8.29       | M3 甲基化+葡萄糖醛酸化  | C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>  | 315.073 3             | 139.040 1, 125.021 9  | -3.63                      | +  | +  | -  |
| M15 | 9.04       | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>11</sub> | 359.063 5             | 183.030 1, 169.013 6  | -4.22                      | -  | +  | -  |
| M16 | 9.78       | M3 甲基化+硫酸化   | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> S  | 218.997 9             | 139.040 2, 125.016 9  | -4.65                      | -  | +  | -  |
| M17 | 10.52      | M0 硫酸化   | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub> S  | 248.971 5             | 169.014 6             | -1.76                      | -  | +  | -  |
| M18 | 11.06      | M3 硫酸化   | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S  | 204.982 1             | 125.024 7             | -4.32                      | -  | +  | -  |
| M19 | 11.17      | M3 甲基化+硫酸化   | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> S  | 218.997 9             | 139.040 1, 125.016 9  | -4.65                      | -  | +  | -  |
| M20 | 11.71      | M0 甲基化   | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>    | 183.030 3             | 169.010 0             | -2.20                      | +  | +  | +  |
| M21 | 12.00      | M0 甲基化+硫酸化   | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub> S  | 262.988 0             | 183.029 9, 169.009 8  | -4.90                      | -  | +  | -  |
| M22 | 13.11      | M0 甲基化   | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>    | 183.029 5             | 169.009 0             | 2.17                       | -  | -  | +  |
| M23 | 14.13      | M0 甲基化+甲基化+葡萄糖醛酸化  | C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> | 373.078 9             | 197.045 8, 183.028 6  | -3.39                      | +  | +  | -  |
| M24 | 15.05      | M0 甲基化+硫酸化   | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub> S  | 262.988 0             | 183.030 3, 125.019 9  | -4.90                      | -  | +  | -  |
| M25 | 15.29      | M0 甲基化   | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>    | 183.030 1             | 169.009 2             | -2.86                      | -  | +  | -  |
| M26 | 15.51      | 3-羟基苯乙酸  | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>    | 151.040 5             | 107.035 8             | -2.86                      | -  | +  | -  |
| M27 | 15.70      | M3 硫酸化   | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S  | 204.982 1             | 125.024 4             | -4.32                      | -  | +  | -  |

注: +表示存在, -表示不存在。

多 79, 碎片离子  $m/z$  125.024 7 [M-H-SO<sub>3</sub>]<sup>-</sup>, 是硫酸结合反应的特征中性丢失, 鉴定为 M3 硫酸化代谢产物。M8 准分子离子峰  $m/z$  248.971 5 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M0 [M-H]<sup>-</sup> 多 79, 碎片离子  $m/z$  169.014 5 [M-H-SO<sub>3</sub>]<sup>-</sup>, 是硫酸结合反应的特征中性丢失, 鉴定为 M0 硫酸化代谢产物。M9 准分子离子峰  $m/z$  359.063 4 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质

量比 M0 [M-H]<sup>-</sup> 多 190, 碎片离子  $m/z$  183.030 1 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>、169.014 2 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 鉴定为 M0 葡萄糖醛酸甲基化代谢产物, 其裂解途径见图 3。M14 准分子离子峰  $m/z$  315.073 3 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M3 [M-H]<sup>-</sup> 多 190, 碎片离子  $m/z$  139.040 1 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>、125.021 9 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 鉴定为 M3 葡萄糖

醛酸甲基化代谢产物。M16 准分子离子峰  $m/z$  218.997 9 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M6 [ $M-H$ ]<sup>-</sup> 多 14, 碎片离子  $m/z$  124.016 9 [ $M-H-CH_2$ ]<sup>-</sup>, 鉴定为 M3 甲基化硫酸化代谢产物。M20 准分子离子峰  $m/z$  183.030 3 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M0 [ $M-H$ ]<sup>-</sup> 多 14, 碎片离子  $m/z$  169.010 0 [ $M-H-CH_2$ ]<sup>-</sup>, 鉴定为 M0 甲基化代谢产物。M26 准分子离子峰  $m/z$  151.040 5 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  107.035 8 [ $M-H-CO_2$ ]<sup>-</sup>, 通过与文献 [11] 比对鉴定为 3-羟基苯乙酸。

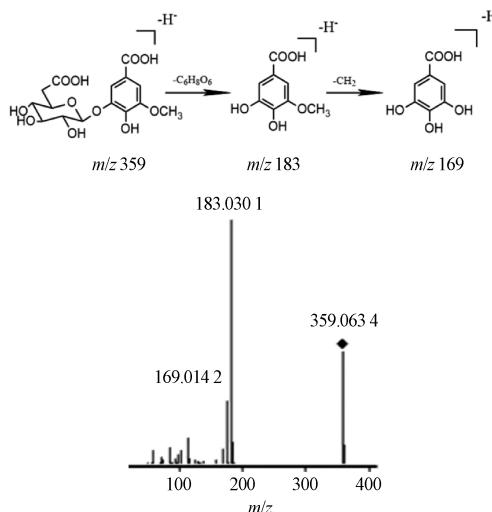
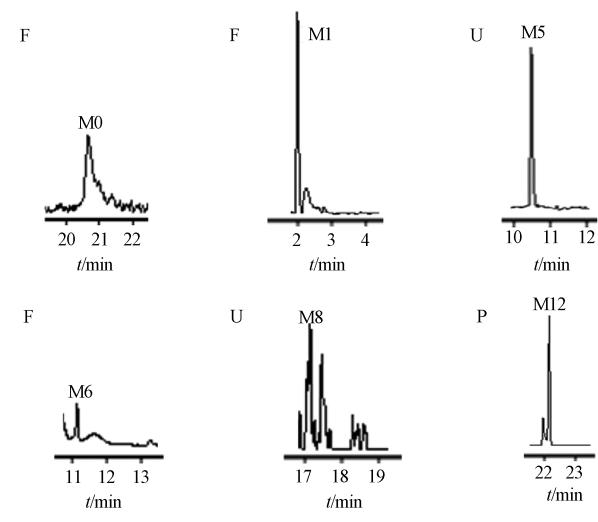


图 3 M9 二级质谱图及裂解途径

Fig. 3 MS/MS spectrum and cleavage pathways for M9

3.2 鞣花酸代谢产物及途径 共鉴定出 14 种, 包括 1 种原型成分和 13 种代谢产物, 分别从血浆、尿液、粪便中鉴定出 3、7、5 种成分, 见图 4~5、表 3。由图 5 可知, 鞣花酸在体内水解为没食子酸, 主要发生的 I 相反应有脱羧, 水解, II 相反应有甲基化, 硫酸化。

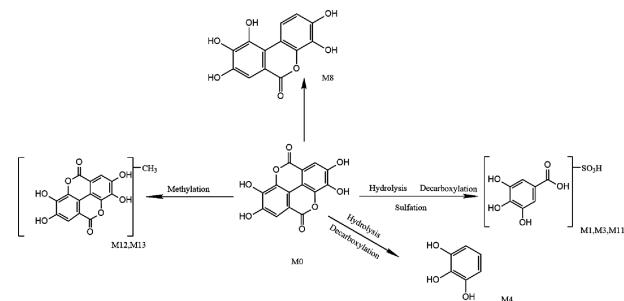
M0 准分子离子峰  $m/z$  300.999 7 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  283.994 5 [ $M-H-H_2O$ ]<sup>-</sup>、 $257.005 4$  [ $M-H-CO_2$ ]<sup>-</sup>、 $229.013 1$  [ $M-H-CO_2-CO$ ]<sup>-</sup>, 裂解行为与对照品一致, 鉴定为原型成分鞣花酸。M1 准分子离子峰  $m/z$  248.971 5 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M0 [ $M-H$ ]<sup>-</sup> 多 79, 碎片离子  $m/z$  169.012 5 [ $M-H-SO_3$ ]<sup>-</sup>, 是硫酸结合反应的特征中性丢失, 鉴定为 M0 在体内水解成没食子酸而产生的硫酸化代谢产物; M3、M11 准分子离子峰分别为  $m/z$  248.971 2 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>、 $248.971 5$  [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 在二级质谱中产生碎片离子  $m/z$  169, 与 M1 均产生相同二级碎片离子, 鉴定两者也均为没食子酸硫酸化代谢产物。M5 准分子离子峰  $m/z$  181.050 7 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>,



注: P 为血浆, U 为尿液, F 为粪便。

图 4 鞣花酸代谢产物提取离子流色谱图

Fig. 4 Extracted ion current chromatograms of ellagic acid metabolites



注: Decarboxylation 为脱羧, Methylation 为甲基化, Sulfation 为硫酸化, Glucuronidation 为葡萄糖醛酸化。

图 5 鞣花酸代谢途径

Fig. 5 Metabolic pathways of ellagic acid

碎片离子  $m/z$  163.039 1 [ $M-H-H_2O$ ]<sup>-</sup>、 $135.044 2$  [ $M-H-H_2O-CO$ ]<sup>-</sup>, 通过与文献 [12] 比对鉴定为 3-hydroxy-3-(3-hydroxyphenyl) propionic acid。M6 准分子离子峰  $m/z$  137.024 5 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  93.035 2 [ $M-H-CO_2$ ]<sup>-</sup>, 通过与文献 [13] 比对鉴定为没食子酸去氧。M7 准分子离子峰  $m/z$  151.040 3 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  107.048 8 [ $M-H-CO_2$ ]<sup>-</sup>, 通过与文献 [12] 比对鉴定为 3-羟基苯乙酸。M8 准分子离子峰  $m/z$  275.019 5 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  203.065 1 [ $M-H-CO_2-CO$ ]<sup>-</sup>, 通过与文献 [11] 比对鉴定为尿石素 M5。M9 准分子离子峰  $m/z$  193.050 5 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  178.062 5 [ $M-H-CH_3$ ]<sup>-</sup>、 $149.059 3$  [ $M-H-CO_2$ ]<sup>-</sup>、 $134.036 2$  [ $M-H-CO_2-CH_3$ ]<sup>-</sup>, 通过与文献 [14] 比对鉴定为阿魏酸。M10 准分子离子峰  $m/z$  195.067 1 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  180.039 5

表3 鞣花酸代谢产物鉴定结果

Tab. 3 Results for identification of ellagic acid metabolites

| 编号  | $t_R$ /min | 代谢产物   | 分子式  | $MS_1 m/z$         | $MS^2 m/z$                      | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 来源 |    |    |
|-----|------------|--|--|--------------------|---------------------------------|----------------------------|----|----|----|
|     |            |  |  | [M-H] <sup>-</sup> |                                 |                            | 血浆 | 尿液 | 粪便 |
| M0  | 20.73      | 鞣花酸  | C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>  | 300.999 7          | 283.994 5, 257.005 4, 229.013 1 | -2.36                      | -  | -  | +  |
| M1  | 2.31       | 没食子酸硫酸化  | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub> S | 248.971 5          | 169.012 5                       | -1.76                      | -  | -  | +  |
| M2  | 5.69       | pyrogallol-1-O-glucuronide or pyrogallol-2-O-glucuronide | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>9</sub> | 301.056 3          | 125.022 5                       | 0.68                       | -  | +  | -  |
| M3  | 7.23       | 没食子酸硫酸化  | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub> S | 248.971 2          | 169.014 1                       | -0.56                      | -  | +  | -  |
| M4  | 10.31      | 焦没食子酸  | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 125.024 7          | 81.033 4                        | -2.26                      | -  | +  | -  |
| M5  | 10.84      | 3-hydroxy-3-(3-hydroxyphenyl) propionic acid             | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>  | 181.050 7          | 163.039 1, 135.044 2            | 0.18                       | -  | +  | -  |
| M6  | 11.20      | 没食子酸去氧   | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 137.024 5          | 93.036 8                        | -0.60                      | -  | -  | +  |
| M7  | 15.16      | 3-羟基苯乙酸  | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | 151.040 3          | 107.048 8                       | -1.54                      | -  | +  | -  |
| M8  | 17.41      | 尿石素 M5   | C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>  | 275.019 5          | 203.065 1                       | 0.82                       | -  | +  | -  |
| M9  | 18.59      | 阿魏酸  | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> | 193.050 5          | 178.026 5, 149.059 3, 134.036 2 | 0.69                       | -  | +  | +  |
| M10 | 18.60      | 香草酸乙酯  | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> | 195.067 1          | 180.039 5, 151.074 5            | -4.19                      | -  | -  | +  |
| M11 | 21.10      | 没食子酸硫酸化  | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub> S | 248.971 5          | 169.014 6                       | -1.76                      | +  | -  | -  |
| M12 | 22.13      | M0 甲基化   | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub>  | 315.015 1          | 300.991 1, 283.995 3, 257.005 1 | -1.46                      | +  | -  | -  |
| M13 | 27.78      | M0 甲基化   | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub>  | 315.015 1          | 300.991 0, 283.995 1, 257.005 0 | -1.46                      | +  | -  | -  |

注: +表示存在, -表示不存在。

[M-H-CH<sub>3</sub>]<sup>-</sup>、151.074 5 [M-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 通过与文献[15]比对鉴定为香草酸乙酯。M12、M13相对分子质量均比M0多14, 前者准分子离子峰m/z 315.015 1 [M-H]<sup>-</sup>, 二级质谱产生碎片离子m/z 300.991 1, 是丢失一分子CH<sub>2</sub>所致; 后者准分子离子峰m/z 315.015 1 [M-H]<sup>-</sup>, 在二级质谱中产生碎片离子m/z 301, 而m/z 283、257是鞣花酸特征片段, 与M12均产生相同二级碎片离子, 推测两者均为M0甲基化代谢产物, 其裂解途径见图6。

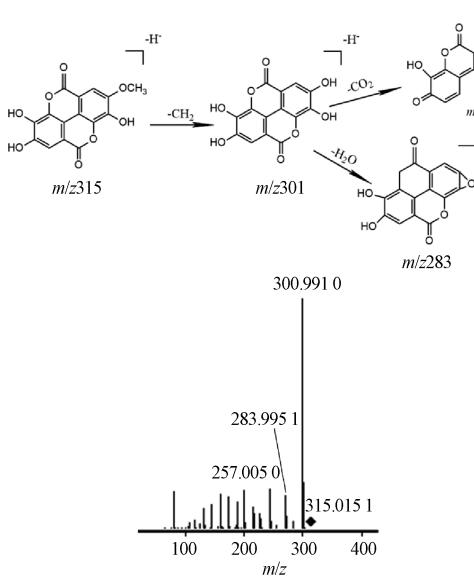
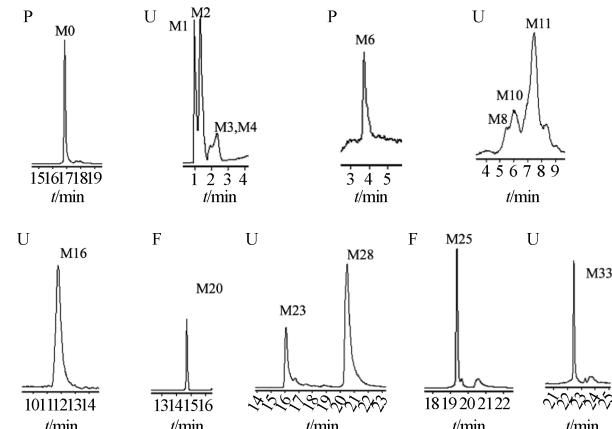


图6 M12二级质谱图及裂解途径

Fig. 6 MS/MS spectrum and cleavage pathways for M12

3.3 柯里拉京代谢产物及途径 共鉴定出38种, 包括1种原型成分和37种代谢产物, 见图7~8、表4, 从血浆、尿液、粪便中分别鉴定出2、24、

17种成分。由图8可知, 柯里拉京在体内水解为没食子酸和鞣花酸, 主要发生的I相反应有脱羧、水解, II相反应有甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化。

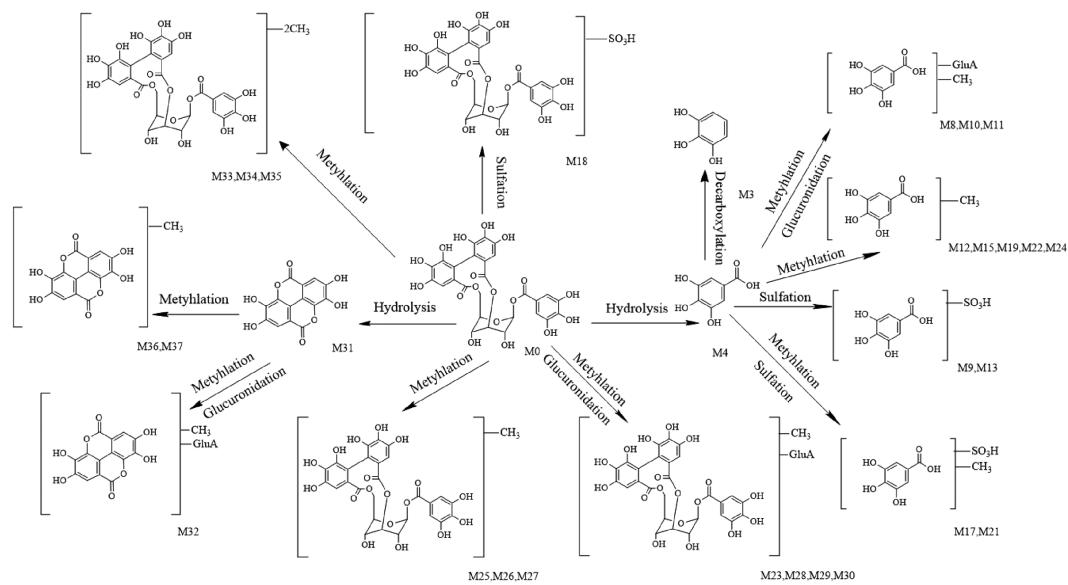


注: P为血浆, U为尿液, F为粪便。

图7 柯里拉京代谢产物提取离子流色谱图

Fig. 7 Extracted ion current chromatograms of corilagin

M0准分子离子峰m/z 633.074 1 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子m/z 463.051 4 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>、300.998 9 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>、275.019 0 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>、169.014 5 [M-H-C<sub>20</sub>O<sub>16</sub>H<sub>13</sub>]<sup>-</sup>, 与对照品一致, 鉴定为原型成分柯里拉京。M4准分子离子峰m/z 169.014 4 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子m/z 125.024 5, 鉴定为没食子酸。M31准分子离子峰m/z 300.999 8 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子m/z 283.995 6、229.013 9、201.019 0, 鉴定为鞣花酸。M1准分子离子峰m/z 195.051 3 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子m/z 84.019 2、75.007 1、70.035 4, 通过与文献[16]



注: Decarboxylation 为脱羧, Methylation 为甲基化, Sulfation 为硫酸化, Glucuronidation 为葡萄糖醛酸化。

图 8 柯里拉京代谢途径

Fig. 8 Metabolic pathways of corilagin

表 4 柯里拉京代谢产物鉴定结果

Tab. 4 Results for identification of corilagin metabolites

| 编号  | $t_R/\text{min}$ | 代谢产物   | 分子式   | $\text{MS}_1 m/z$       | $\text{MS}^2 m/z$                          | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 来源   |
|-----|------------------|--|---|-------------------------|--|----------------------------|------|
|     |                  |  |   | $[\text{M}-\text{H}]^-$ |  |                            |      |
| M0  | 16.62            | 柯里拉京   | $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$         | 633.074 1               | 463.051 4, 300.998 9, 275.019 0, 169.014 5 | 0.22                       | +++  |
| M1  | 1.07             | 葡萄糖酸   | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$               | 195.051 3               | 84.019 2, 75.007 1, 70.035 4               | -1.40                      | -++- |
| M2  | 1.88             | 单没食子酰葡萄糖苷  | $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$         | 331.067 0               | 169.074 3                                  | 0.21                       | -+++ |
| M3  | 2.92             | 焦没食子酸  | $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$                  | 125.024 7               | 81.034 6                                   | -2.26                      | -+++ |
| M4  | 2.97             | 没食子酸   | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$                  | 169.014 4               | 125.024 5                                  | -0.91                      | -+++ |
| M5  | 3.76             | pyrogallol-1-O-glucuronide or pyrogallol-2-O-glucuronide | $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_9$            | 301.056 8               | 125.022 5                                  | -0.98                      | -++- |
| M6  | 3.85             | 肉桂酸  | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$                  | 147.045 3               | 103.055 2                                  | -0.99                      | +-   |
| M7  | 4.87             | pyrogallol-1-O-glucuronide or pyrogallol-2-O-glucuronide | $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_9$            | 301.056 8               | 125.022 4                                  | -0.98                      | -++- |
| M8  | 5.98             | M4 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_{11}$         | 359.062 1               | 183.028 0, 169.008 4                       | -0.32                      | -++- |
| M9  | 6.62             | M4 硫酸化   | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_8\text{S}$          | 248.9715                | 169.013 1                                  | -1.76                      | -++- |
| M10 | 6.81             | M4 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_{11}$         | 359.062 1               | 183.027 9, 169.009 8                       | -0.32                      | -++- |
| M11 | 7.36             | M4 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_{11}$         | 359.062 1               | 183.027 0, 169.007 8                       | -0.32                      | -++- |
| M12 | 7.45             | M4 甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$                  | 183.030 3               | 169.009 8                                  | -2.20                      | -++- |
| M13 | 8.01             | M4 硫酸化   | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_8\text{S}$          | 248.971 5               | 169.012 6                                  | -1.76                      | -++- |
| M14 | 10.79            | 鞣花酸己糖  | $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_{13}$         | 463.052 6               | 300.999 4                                  | -1.70                      | -+-+ |
| M15 | 11.21            | M4 甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$                  | 183.030 3               | 169.008 6                                  | -2.20                      | -++- |
| M16 | 11.34            | phenyl glucuronide                                       | $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_7$            | 269.067 3               | 170.019 5, 129.019 6, 113.024 5            | -2.31                      | -++- |
| M17 | 11.90            | M4 硫酸化+甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_8\text{S}$          | 262.987 1               | 183.029 2, 169.009 4, 125.019 4            | -1.48                      | -++- |
| M18 | 12.54            | M0 硫酸化   | $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{21}\text{S}$ | 713.030 6               | 300.999 3                                  | -0.63                      | -+-+ |
| M19 | 13.28            | M4 甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$                  | 183.030 3               | 169.010 7                                  | -2.20                      | -+-+ |
| M20 | 14.67            | 双没食子酰葡萄糖苷  | $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$         | 483.078 2               | 271.045 5, 169.014 1                       | -0.35                      | -+-+ |
| M21 | 14.72            | M4 硫酸化+甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_8\text{S}$          | 262.987 1               | 183.030 0                                  | -1.48                      | -++- |
| M22 | 15.31            | M4 甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$                  | 183.030 3               | 169.009 5                                  | -2.20                      | -++- |
| M23 | 16.13            | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{24}$         | 823.119 9               | 647.087 9, 463.050 9, 300.998 9            | 1.43                       | -++- |
| M24 | 16.38            | M4 甲基化   | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$                  | 183.030 3               | 169.009 9                                  | -2.20                      | -++- |
| M25 | 19.21            | M0 甲基化   | $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$         | 647.089 6               | 463.051 4, 300.998 9                       | -0.95                      | -+-+ |
| M26 | 19.30            | M0 甲基化   | $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$         | 647.089 1               | 463.050 4, 300.998 6                       | -0.17                      | -++- |
| M27 | 19.56            | M0 甲基化   | $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$         | 647.089 6               | 463.050 5, 300.999 2                       | -0.95                      | -+-+ |
| M28 | 20.23            | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{24}$         | 823.119 9               | 647.088 4, 463.050 9, 300.998 6            | 1.43                       | -++- |
| M29 | 20.32            | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{24}$         | 823.122 0               | 647.088 1, 463.055 3, 300.999 3            | -1.12                      | -+-+ |
| M30 | 20.59            | M0 甲基化+葡萄糖醛酸化  | $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{24}$         | 823.122 0               | 647.088 1, 463.052 0, 300.999 9            | -1.12                      | -+-+ |

续表4

| 编号 $t_R/\text{min}$ | 代谢产物           | 分子式   | $\text{MS}_1 m/z$  | $\text{MS}^2 m/z$                          | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 来源    |
|---------------------|----------------|---|--------------------|--|----------------------------|-------|
|                     |                |   | [M-H] <sup>-</sup> |  |                            |       |
| M31 20.69           | 鞣花酸            | C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>   | 300.999 8          | 283.995 6, 229.013 9, 201.019 0            | -2.69                      | - - + |
| M32 21.33           | M31 甲基化+葡萄糖醛酸化 | C <sub>21</sub> H <sub>10</sub> O <sub>14</sub> | 491.045 6          | 315.014 6, 300.994 5                       | 2.30                       | - + - |
| M33 22.34           | M0 甲基化+甲基化     | C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> O <sub>18</sub> | 661.102 9          | 477.065 5, 315.014 7, 289.034 8            | 2.63                       | - + - |
| M34 22.35           | M0 甲基化+甲基化     | C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> O <sub>18</sub> | 661.105 4          | 477.066 9, 315.014 6, 289.034 0            | -1.15                      | - - + |
| M35 23.18           | M0 甲基化+甲基化     | C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> O <sub>18</sub> | 661.105 4          | 477.066 0, 315.015 4, 289.034 5            | -1.15                      | - - + |
| M36 26.24           | M31 甲基化        | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub>   | 315.014 9          | 300.995 0, 283.990 5, 229.009 4, 201.015 5 | -0.82                      | - - + |
| M37 28.75           | M31 甲基化        | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub>   | 315.014 9          | 300.994 4, 229.009 4                       | -0.82                      | - - + |

注: +表示存在, 表示不存在。

比对鉴定为葡萄糖酸。M2 准分子离子峰  $m/z$  331.067 0 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  169.074 3 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>, 通过与文献 [17] 比对鉴定为单没食子酰葡萄糖苷。M6 准分子离子峰  $m/z$  147.045 3 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  103.055 2 [M-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 通过与文献 [11] 比对鉴定为肉桂酸。M14 准分子离子峰  $m/z$  463.052 6 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  300.999 4 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>, 通过与文献 [18] 比对鉴定为鞣花酸己糖。M16 准分子离子峰  $m/z$  269.067 3 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  170.019 5、129.019 6、113.024 5, 结合 MassBank、PubChem 数据库鉴定为 phenyl glucuronide。M18 准分子离子峰  $m/z$  713.030 6 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M0 [M-H]<sup>-</sup> 多 80, 碎片离子  $m/z$  300.999 3 是柯里拉京特征片段, 推断 M18 六羟基二苯甲酰基中有 1 个羟基与硫酸结合, 鉴定为 M0 硫酸结合反应的代谢产物。M20 准分子离子峰  $m/z$  483.078 2 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  271.045 5、169.014 1, 通过与文献比对 [17] 鉴定为双没食子酰葡萄糖苷。M25 准分子离子峰  $m/z$  647.089 6 [M-H]<sup>-</sup>, 碎片离子  $m/z$  463.051 4 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 推断 M25 没食子酰基中的有 1 个羟基与甲基结合, 而  $m/z$  300.998 9 表明六羟基二苯单酰基未被甲基化, 鉴定为 M0 甲基化代谢产物。M26、M27 准分子离子峰  $m/z$  647.089 1、647.089 6 [M-H]<sup>-</sup>, 在二级质谱分别产生碎片离子  $m/z$  463、300, 与 M25 产生相同的二级离子碎片, 鉴定两者也均为 M0 甲基化代谢产物。M23 准分子离子峰  $m/z$  823.119 9 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M25 [M-H]<sup>-</sup> 多 176, 鉴定为 M25 葡萄糖醛酸结合产物, 碎片离子  $m/z$  647.087 9 [M-H-C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>, 而碎片离子  $m/z$  463、301 与 M25 的一致, 推断 M23 六羟基二苯甲酰基中有 1 个羟基与葡萄糖醛酸结合, 没食子酰基中有 1 个羟基与甲基结合, 鉴定为 M0 葡萄糖醛酸甲基化结合产物。M33 准分子离子峰  $m/z$  661.102 9

[M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量比 M25 [M-H]<sup>-</sup> 多 14, 碎片离子  $m/z$  477.065 5 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 是准分子离子峰同时丢失了一分子没食子酸、CH<sub>2</sub> 而产生, 推测 M33 没食子酰基中有 1 个羟基与甲基结合, 产生碎片离子  $m/z$  315.014 7, 比柯里拉京特征片段  $m/z$  300.994 7 [M-H]<sup>-</sup> 多 14, 而  $m/z$  289.034 8 比后者特征片段  $m/z$  275.019 0 [M-H]<sup>-</sup> 也多 14, 推测 M33 六羟基二苯甲酰基中的羟基被甲基化, 鉴定为 M0 二甲基化代谢产物, 其裂解途径见图 9。M34、M35 准分子离子峰  $m/z$  661.105 4 [M-H]<sup>-</sup>, 二级质谱产生碎片离子  $m/z$  477、315, 与 M33 均产生相同二级碎片离子, 推测三者为同分异构体; M33 母核中 2 个甲基分别结合在没食子酰基、六羟基二苯甲酰基不同位点, 结合质谱裂解过程, 推测 M34、M35 为 M0 二甲基化代谢产物。

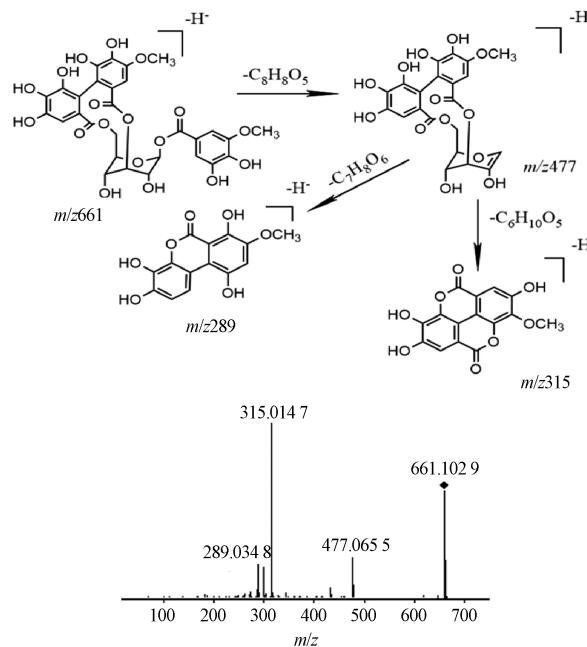


图 9 M33 二级质谱图及裂解途径

Fig. 9 MS/MS spectrum and cleavage pathways for M33

#### 4 讨论与结论

本实验鉴定出 27 种没食子酸代谢产物、13 种

鞣花酸代谢产物、37种柯里拉京代谢物，根据质谱裂解规律，推测三者羟基分别是甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化的主要代谢位点。通过分析柯里拉京M23、M25、M33等可知，其结构中的甲基优先与没食子酰基上的羟基结合，当与2个甲基结合时其中一个与没食子酰基上的羟基结合，另一个与六羟基二苯甲酰基上的羟基结合，而葡萄糖醛酸、硫酸优先与后者结合。但上述代谢物的准确结合位点还需进一步研究，可通过半制备液相、核磁共振(NMR)数据及对照品来明确<sup>[19]</sup>。

另外，没食子酸、鞣花酸、柯里拉京代谢产物主要通过I相代谢发生水解、脱羧反应，II相代谢发生甲基化、硫酸化、葡萄糖醛酸化反应，与文献[20]报道相符；没食子酸在小鼠血浆、尿液、粪便中均检测到，而鞣花酸仅在小鼠粪便中检测到，可能是通过肠道中的微生物群来代谢为尿石素类化合物，即以代谢物形式发挥药效。同时，柯里拉京在体内易水解为没食子酸与鞣花酸，而没食子酸、鞣花酸及其代谢物有抗氧化、抗癌、抗菌、抗炎活性<sup>[21]</sup>，推测前者抗氧化、抗炎活性可能来源于其代谢物，具体药效物质需深入研究。

综上所述，本实验建立UPLC-Q-TOF-MS/MS法对没食子酸、鞣花酸、柯里拉京在小鼠体内的代谢产物进行鉴定，并推测其代谢途径，为三者药动学、作用机制研究提供理论基础，同时也为其他酚类成分的临床应用和相关药物开发提供科学依据。

#### 参考文献：

- [1] 华晓雨,陶爽,孙盛楠,等.植物次生代谢产物-酚类化合物的研究进展[J].生物技术通报,2017,33(12):22-29.
- [2] 邓欣,孟达,吴静宜,等.柯里拉京调节巨噬细胞胆固醇代谢的作用及其机制[J].中国药理学通报,2023,39(9):1696-1704.
- [3] 陈敏纯,张婧一,张雨晨,等.鞣花酸对缺血性脑卒中大鼠的保护作用[J].中成药,2021,43(9):2331-2335.
- [4] 张旭,陈朝银,董珺琳,等.没食子酸对谷氨酰胺诱导的肥胖小鼠的降脂作用[J].中成药,2017,39(6):1115-1119.
- [5] 孟达,张雅琼,秦定梅,等.余甘子的酚类成分及药理活性研究进展[J].中成药,2022,44(10):3269-3274.
- [6] Olivares-Vicente M, Barrajon-Catalan E, Herranz-Lopez M, et al. Plant-derived polyphenols in human health: Biological activity, metabolites and putative molecular targets[J]. *Curr Drug Metab*, 2018, 19(4): 351-369.
- [7] 方媛,彭梅,杨娟,等.基于UPLC-MS法探究三角唑在大鼠体内的代谢组学[J].中成药,2023,45(5):1704-1710.
- [8] Mayta-Apaza A C, Pottgen E, De Bodt J, et al. Impact of tart cherries polyphenols on the human gut microbiota and phenolic metabolites *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 59: 160-172.
- [9] 裴玉琼,徐坠成,王艳天,等.基于UHPLC-Q-TOF/MS的地榆化学成分分析及大鼠体内代谢研究[J].南京中医药大学学报,2021,37(6):897-907.
- [10] Feliciano R P, Boeres A, Massacessi L, et al. Identification and quantification of novel cranberry-derived plasma and urinary (poly) phenols[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 599: 31-41.
- [11] Pinto D, López-Yerena A, Almeida A, et al. Metabolomic insights into phenolics-rich chestnut shells extract as a nutraceutical ingredient-A comprehensive evaluation of its impacts on oxidative stress biomarkers by an *in-vivo* study[J]. *Food Res Int*, 2023, 170: 112963.
- [12] Ali A, Bashmil Y M, Cottrell J J, et al. LC-MS/MS-QTOF screening and identification of phenolic compounds from Australian grown herbs and their antioxidant potential[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(11): 1770.
- [13] 任慧,郭盛,张祎盈,等.补肺活血胶囊大鼠体内代谢产物鉴定及代谢途径分析[J].中草药,2023,54(4):1051-1063.
- [14] 金莹,熊乐文,蒲高斌,等.基于液质联用技术比较郁香忍冬花蕾与金银花化学成分[J].中成药,2024,46(3):850-859.
- [15] Schwarz M, Weber F, Durán-Guerrero E, et al. HPLC-DAD-MS and antioxidant profile of fractions from Amontillado Sherry wine obtained using high-speed counter-current chromatography[J]. *Foods*, 2021, 10(1): 131.
- [16] 高文雅,赵海誉,高双荣,等.液质联用技术鉴定至宝三鞭丸化学成分[J].中成药,2024,46(1):161-169.
- [17] 武俊颖,张武岗,郎一帆,等.基于UPLC-Q-TOF-MS/MS的芒果核化学成分分析[J].天然产物研究与开发,2023,35(6):949-965.
- [18] Aita S E, Capriotti A L, Cavaliere C, et al. Andean blueberry of the genus *Disterigma*: A high-resolution mass spectrometric approach for the comprehensive characterization of phenolic compounds[J]. *Separations*, 2021, 8(5): 58.
- [19] 郭倩池,王康宇,张龄月,等.基于UHPLC-Q-Orbitrap/MS鉴定当归四逆颗粒化学成分[J].质谱学报,2024,45(3):432-446.
- [20] Wu M J, Wu X L, Zhang D Q, et al. Metabolic profiling of quercetin in rats using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. *Biomed Chromatogr*, 2017, 31(12).
- [21] He Y Z, Peng L, Xiong H, et al. The profiles of durian (*Durio zibethinus* Murr.) shell phenolics and their antioxidant effects on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated HepG2 cells as well as the metabolites and organ distribution in rats[J]. *Food Res Int*, 2023, 163: 112122.