

- (12): 1167.
- [26] Ke B L, Zhao Z Y, Ye X, *et al.* Inactivation of NF- κ B p65 (RelA) in liver improves insulin sensitivity and inhibits cAMP/PKA pathway[J]. *Diabetes*, 2015, 64(10): 3355-3362.
- [27] Fruman D A, Chiu H, Hopkins B D, *et al.* The PI3K Pathway in Human Disease[J]. *Cell*, 2017, 170(4): 605-635.
- [28] Son M J, Rico C W, Nam S H, *et al.* Effect of oryzanol and ferulic acid on the glucose metabolism of mice fed with a high-fat diet[J]. *J Food Sci*, 2011, 76(1): H7-H10.
- [29] Inchovska M, Ogneva V, Martinova Y. Role of FGF1, FGF2 and FGF7 in the development of the pancreas from control and streptozotocin-treated hamsters[J]. *Cell Prolif*, 2006, 39(6): 537-550.
- [30] Li P P, Liu S N, Lu M, *et al.* Hematopoietic-derived galectin-3 causes cellular and systemic insulin resistance[J]. *Cell*, 2016, 167(4): 973-984.
- [31] Pørksen N, Hollingdal M, Juhl C, *et al.* Pulsatile insulin secretion: detection, regulation, and role in diabetes [J]. *Diabetes*, 2002, 51 Suppl 1: S245-S254.
- [32] Satin L S, Butler P C, Ha J, *et al.* Pulsatile insulin secretion, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. *Mol Aspects Med*, 2015, 42: 61-77.
- [33] Jung E H, Ran Kim S, Hwang I K, *et al.* Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL/KsJ-db/db mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(24): 9800-9804.

基于 UPLC-MS 法探究三角咪在大鼠体内的代谢组学

方媛^{1,2}, 彭梅², 杨娟², 李良群², 何磊磊³, 郁华英³, 王道平², 杨小生^{2*}

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550000; 2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳, 550000; 3. 贵州大学明德学院, 贵州 贵阳 550000)

摘要: 目的 对三角咪醇提物在大鼠血清、尿液、粪便中的化学成分进行研究, 阐明其体内药效物质基础。方法 大鼠灌胃给予三角咪醇提物后, 采集不同时间段的血清、尿液、粪便, 将三角咪中吸收入血和代谢的化学成分采用 UPLC-MS 法测定, 再通过正离子碰撞模式扫描, 对大鼠灌胃给予三角咪醇提物前后的血清、尿液、粪便进行比较, 以确定其入血成分和代谢部分。结果 从三角咪醇提物中共检测到 14 种成分, 其中 5 种为吸收入血的成分, 4 种为尿液代谢的成分, 4 种为粪便代谢的成分, 主要为甾体生物碱类。结论 初步确定三角咪的入血成分和代谢成分, 为三角咪的临床应用提供了理论依据。

关键词: 三角咪; 代谢成分; 甾体生物碱; UPLC-MS

中图分类号: R284

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)05-1704-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.057

三角咪是贵州特色民族药材, 为黄杨科三角咪属(板蕨果属)植物多毛板蕨果的干燥根茎或全草^[1], 主要分布于陕西、江西、福建、广东、海南、广西、贵州、云南等地, 具有祛风除湿、活血止痛的功效。研究发现, 三角咪中含有丰富的化学成分, 主要以甾体类生物碱、挥发油居多^[2], 其中生物碱类具有抗溃疡、抗癌活性^[3], 也因其活血化瘀及抗炎抗菌活性极好而在民间得到广泛应用。迄今为止, 关于三角咪的研究主要集中在化学成分分离, 而其体内发挥药效的入血成分及代谢途径, 尚未见文献报道。

课题组前期研究发现, 三角咪醇提物在体外有较强的抗癌活性^[4]。因三角咪中的化学成分较多, 通过动物体内给药, 真正入血的成分可能才是药材的有效物质基础, 同

时又因血液成分多而复杂, 且三角咪中成分多半无紫外吸收, 采用液相色谱 DAD 检测到的成分较少, 采用蒸发光检测的成分也不多且灵敏度较低, 而 UPLC-MS 法检测到的成分较多, 专一性强, 成分明确, 因此本研究采用 UPLC-MS 法, 将三角咪的醇提物经大鼠灌胃后的含药血清和空白血清、含药粪便和空白粪便、含药尿液和空白尿液与三角咪醇提物进行比较, 初步研究三角咪主要入血成分和代谢成分, 以期三角咪的临床应用提供参考。

1 材料

赛默飞 Q Exactive Focus LCMSMS 系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Millipore-0026 超纯水机(美国 Millipore 公司); ME204E 型万分之一精密电子天平(上海盛平电子有限公司); 高速离心机(德国 Eppendorf 公司)。

收稿日期: 2021-10-09

基金项目: 国家基金项目(U1812403); 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2019]2756号, 黔科合企企[2020]4013号)

作者简介: 方媛(1997—), 女, 硕士, 从事药物化学研究。Tel: 18364213909, E-mail: fyy216122@163.com

* **通信作者:** 杨小生, 研究员, 博士生导师, 从事生物质资源与采用研究, Tel: (0851) 83804370, E-mail: gzcnp@sina.cn

三角咪药材采自贵州贵阳,经贵阳中医学院孙庆文副教授鉴定为黄杨科三角咪属板凳果 *Pachysandra axillaris* Franch 的全草。乙腈(色谱纯,批号 8002H-04,德国默克公司);甲醇(色谱纯,批号 MS1992-001,美国天地公司)。

雄性 Wistar 大鼠,体质量(200±20)g,由重庆腾鑫生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2020-0001。

2 方法

2.1 三角咪醇浸膏制备 取三角咪 3 kg,加入 2 倍量 75% 乙醇,完全浸泡 30 min,加热回流提取 2 次,每次 2 h,合并滤液,减压蒸馏至干燥,即得。

2.2 三角咪醇浸膏灌胃液的配制及分组 采用真空泵将三角咪醇浸膏尽可能除去乙醇,称取 10 g,加入 10 倍量生理盐水,制成含生药 12.9 g/kg 的混悬液,经涡旋仪均质分散,即得三角咪醇浸膏灌胃液。将 16 只 Wistar 大鼠随机分为给药组(10 只,三角咪醇浸膏灌胃液)和空白组(6 只,生理盐水),隔天称量大鼠体质量并记录。在代谢笼中适应性饲养 7 d 后,各组大鼠连续灌胃给予相应药物 14 d,剂量 10 mL/kg,早晚各 1 次。

2.3 血清供试品制备 采用眼静脉取血法,对大鼠采血不少于 0.6 mL(采样前 12 h 禁食不禁水),收集血液至 2 mL EP 管中,置于 4 °C 冰箱过夜。4 500 r/min 离心 15 min,取上清液 250 μL 置于 1.5 mL EP 管中,加入 2 倍量乙腈,涡旋混匀 30 s,8 000 r/min 离心 30 min,收集上清液于 1.5 mL EP 管中,标记编号备用,即得。

2.4 尿液供试品制备 于给药前和末次给药后 0.5、1、3.5、5 h(采样前 12 h 禁食不禁水)收集大鼠的尿液不少于 1.5 mL 至 5 mL EP 管中,4 500 r/min 离心 15 min,吸取上清液 500 μL 置于 1.5 mL EP 管中,加入 2 倍量乙腈,涡旋混匀 30 s,8 000 r/min 离心 30 min,收集上清液于 1.5 mL EP 管中,标记编号备用,即得。

2.5 粪便供试品制备 于给药前和末次给药后 0.5、1、3.5、5 h(采样前 12 h 禁食不禁水)收集每只大鼠粪便,且质量不低于 0.8 g,置于 5 mL EP 管中,加入 5 倍量乙腈,浸泡 1 h,超声提取 20 min,滤纸过滤。吸取 500 μL 滤液于 1.5 mL EP 管中,4 500 r/min 离心 10 min,静置 10 min,再 4 500 r/min 离心 10 min,收集上清液于 1.5 mL EP 管中,标记编号备用,即得。

2.6 UPLC-MS 条件

2.6.1 色谱 Hypersil GOLD aQ 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm);流动相乙腈(A)-0.1% 甲醇(B),梯度洗脱(0~2 min, 15% A; 2~18 min, 15%~95% A; 18~25 min, 95% B);体积流量 0.3 mL/min;柱温 40 °C。

2.6.2 质谱 静电场轨道阱高分辨质谱为一级正离子全扫描和二级离子碰撞模式;喷雾电压 3 kV;辅助气压力 10 psi(1 psi=6.895 kPa);鞘气压力 35 psi;离子传输管温度为 320 °C;一级全扫描的分辨率为 7×10^4 ,质量范围 m/z

80~1 200;二级扫描的分辨率为 1.75×10^4 ;碰撞气体氦气;碰撞能量 30 eV。

2.7 入血成分的分析与鉴定 分别吸取“2.3”项下血清供试品溶液 2 μL,在“2.6”项条件下进样测定,对其色谱保留时间和质谱信息进行对比分析,以确定血液中的入血组分。

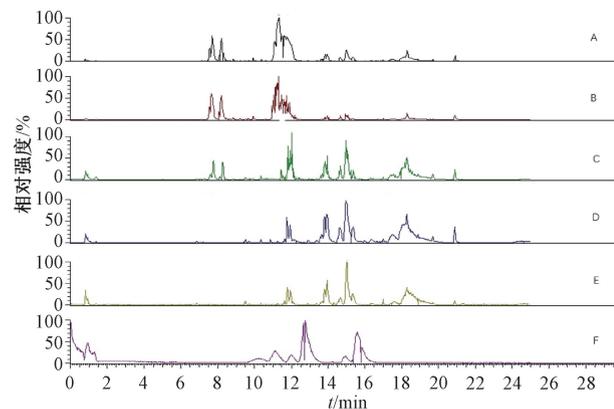
2.8 尿液代谢物的分析与鉴定 分别吸取“2.4”项下尿液供试品溶液 2 μL,在“2.6”项条件下进样测定,对其色谱保留时间和质谱信息进行对比分析,以确定尿液中的代谢组分。

2.9 粪便代谢物的分析与鉴定 分别吸取“2.5”项下粪便供试品溶液 2 μL,在“2.6”项条件下进样测定,对其色谱保留时间和质谱信息进行对比分析,以确定粪便中的代谢组分。

2.10 图谱数据分析的方法 采用一级质谱图中检测到的离子峰(MS^1)计算出对应的精确相对分子质量,采用 xcalibur 软件对各个化合物进行初步鉴定,确定所有结果均在 5×10^{-6} 的质量偏差范围内。选择相关联的分子离子碰撞峰,采用二级质谱(MS^2)的离子扫描得到相应的裂解信息,根据碎片离子的结构式,结合对照品及相关文献[5-18]完成对其成分归属和代谢途径的初步解析。

3 结果

3.1 三角咪血清、尿液及粪便在不同时间下的总离子流图采集 由图 1~3 可知,停止给药后,间隔 5 h 收集的血清、尿液和粪便供试品显示出较高的成分量和响应值。所以,给药后 5 h 是检测血清、尿液、粪便中有效成分的最佳时间。

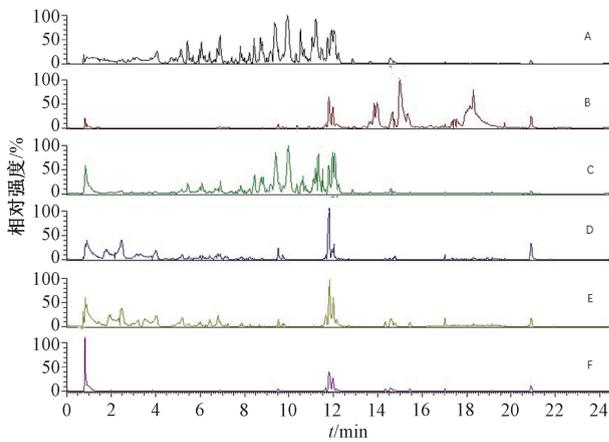


注: A~F 依次为给药后 5、3.5、2、1、0.5、0 h 的含药血清。

图 1 含药血清 UPLC-MS 总离子流图

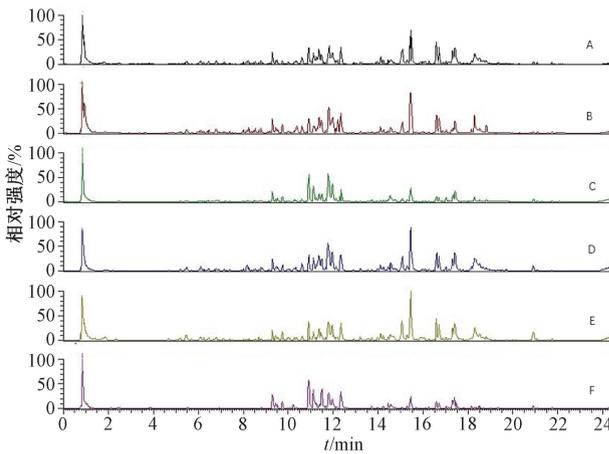
3.2 三角咪醇提取物在含药血清、含药尿液、含药粪便中的原型成分鉴定 三角咪粗提取液、含药血清、含药尿液、含药粪便的 UPLC-MS 总离子流图见图 4。从三角咪的醇提取物中共检测到 14 种成分,其中进入血液的成分有 5 种,尿液代谢的成分有 4 种,粪便代谢的成分有 4 种。

5 种进入血液的成分根据高分辨质谱测定其分子质量,分析得到相应结构式见图 5,所有成分均经对照品比对确认无误,详见表 1。



注：A~F 依次为给药后 5、3.5、2、1、0.5、0 h 的含药尿液。

图 2 含药尿液 UPLC-MS 总离子流图



注：A~F 依次为给药后 5、3.5、2、1、0.5、0 h 的含药粪便。

图 3 含药粪便 UPLC-MS 总离子流图

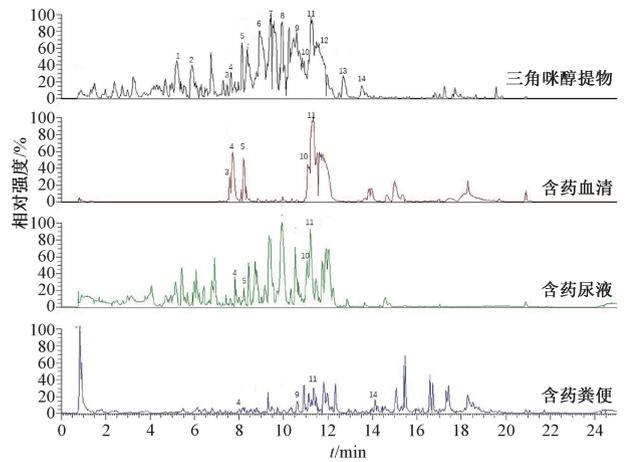


图 4 三角咪醇提取物、含药血清、含药尿液、含药粪便总离子流图

4 种尿液代谢的成分根据高分辨质谱测定其分子质量，分析得到相应结构式见图 6，所有成分均经对照品比对确认无误，详见表 2。

4 种粪便代谢的成分根据高分辨质谱测定其分子质量，分析得到相应结构式见图 7，所有成分均经对照品比对确认无误，详见表 3。

3.3 三角咪醇提取物中入血成分的归属及其质谱裂解分析
血清中的甾体生物碱含量较高，其中部分二级碎片结构见图 8。5 种入血成分是在正离子模式下表现出独特的裂解方式，因为它们的结构中含甾体的环戊烷多氢菲基本母核，故多表现为母核 A 环 C-3 的断裂。而生物碱通常是由含氮原子构成的杂环，以螺旋富贵草碱 A（峰 11）为例，碰撞后得到 m/z 418.31 $[M-C_2H_7N]^+$ 和 m/z 172.11 $[M-C_{19}H_{31}NO]^+$ 的 2 个较强碎片离子。推断可能的裂解途径见图 9，

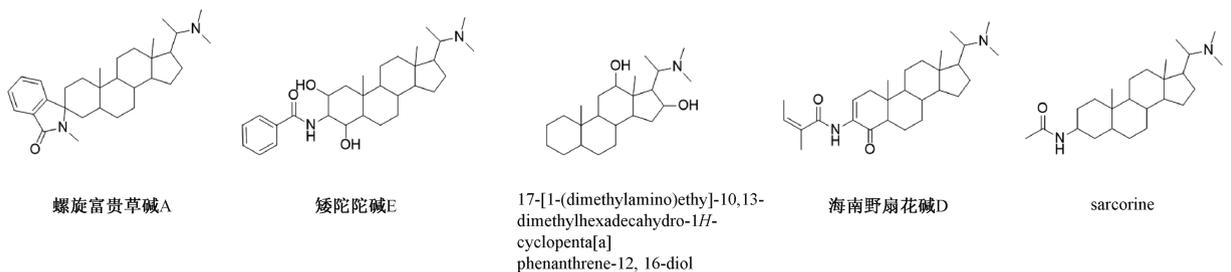


图 5 三角咪醇提取物中入血成分结构

表 1 三角咪醇提取物中入血成分

峰号	t_R /min	化合物	分子式	MS ¹ m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS ² 碎片离子 m/z
3	7.17	17 [1-(dimethylamino)ethyl]-10,13-dimethylhexadecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-12,16-diol	$C_{23}H_{41}NO_2$	364.321 01 $[M+H]^+$	-0.977	110.10 $[M-C_{16}H_{28}O_2]^+$, 154.12 $[M-C_{14}H_{24}O]^+$
4	8.26	矮陀陀碱 E	$C_{30}H_{46}N_2O_3$	483.358 12 $[M+H]^+$	-0.310	105.03 $[M-C_{23}H_{40}N_2O_2]^+$, 420.29 $[M-C_2H_7NO]^+$
5	8.77	sarcorine	$C_{25}H_{44}N_2O$	389.352 64 $[M+H]^+$	-0.798	344.29 $[M-C_2H_5N]^+$, 285.26 $[M-C_4H_{10}N_2O]^+$
10	11.06	海南野扇花碱 D	$C_{28}H_{44}N_2O_2$	441.347 56 $[M+H]^+$	-0.533	314.24 $[M-C_2H_5N]^+$, 314.25 $[M-C_7H_{12}NO]^+$
11	11.65	螺旋富贵草碱 A	$C_{31}H_{46}N_2O$	463.368 29 $[M+H]^+$	0.063	418.31 $[M-C_2H_7N]^+$, 172.11 $[M-C_{19}H_{31}NO]^+$

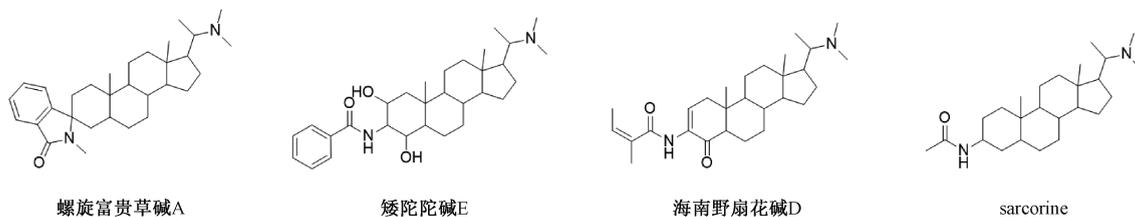


图6 三角咪醇提取物中尿液代谢成分结构

表2 三角咪醇提取物中尿液代谢成分

峰号	t_R /min	化合物	分子式	MS ¹ m/z	误差($\times 10^{-6}$)	MS ² 碎片离子 m/z
4	8.68	sarcorine	C ₂₅ H ₄₄ N ₂ O	441.347 56 [M+H] ⁺	-0.827	344.29 [M-C ₂ H ₅ N] ⁺ , 285.26 [M-C ₄ H ₁₀ N ₂ O] ⁺
5	10.79	矮陀陀碱 E	C ₃₀ H ₄₆ N ₂ O ₃	483.358 12 [M+H] ⁺	-0.434	105.03 [M-C ₂₃ H ₄₀ N ₂ O ₂] ⁺ , 420.29 [M-C ₇ H ₇ NO] ⁺
10	11.21	海南野扇花碱 D	C ₂₈ H ₄₄ N ₂ O ₂	364.321 01 [M+H] ⁺	-0.329	314.24 [M-C ₂ H ₅ N] ⁺ , 314.25 [M-C ₇ H ₁₂ NO] ⁺
11	11.54	螺旋富贵草碱 A	C ₃₁ H ₄₆ N ₂ O	463.368 29 [M+H] ⁺	-0.001	418.31 [M-C ₂ H ₇ N] ⁺ , 172.11 [M-C ₁₉ H ₃₁ NO] ⁺

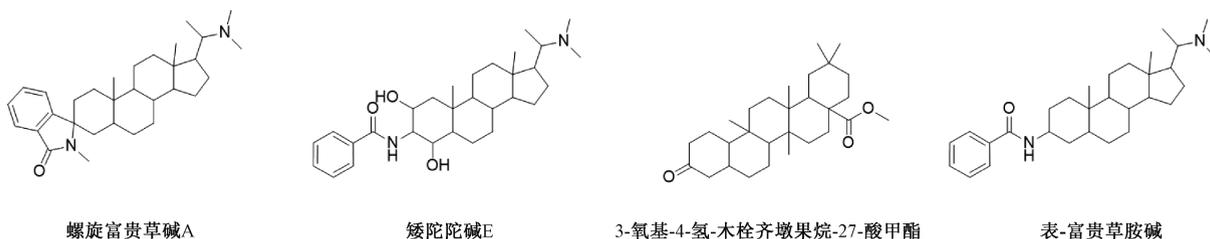


图7 三角咪醇提取物中粪便排泄成分结构

表3 三角咪醇提取物中粪便排泄成分

峰号	t_R /min	化合物	分子式	MS ¹ m/z	误差($\times 10^{-6}$)	MS ² 碎片离子 m/z
4	10.83	矮陀陀碱 E	C ₃₀ H ₄₆ N ₂ O ₃	483.358 12 [M+H] ⁺	-1.448	105.03 [M-C ₂₃ H ₄₀ N ₂ O ₂] ⁺ , 420.29 [M-C ₇ H ₇ NO] ⁺
9	11.77	表-富贵草胺碱	C ₃₀ H ₄₆ N ₂ O	451.362 89 [M+H] ⁺	-0.622	344.32 [M-C ₇ H ₅ O] ⁺ , 371.25 [M-C ₆ H ₆] ⁺
11	12.16	螺旋富贵草碱 A	C ₃₁ H ₄₆ N ₂ O	463.368 29 [M+H] ⁺	-0.994	418.31 [M-C ₂ H ₇ N] ⁺ , 172.11 [M-C ₁₉ H ₃₁ NO] ⁺
14	14.92	3-氧基-4-氢-木栓齐墩果烷-27-酸甲酯	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	455.360 35 [M-H] ⁻	-2.046	454.36035 [M-H] ⁻

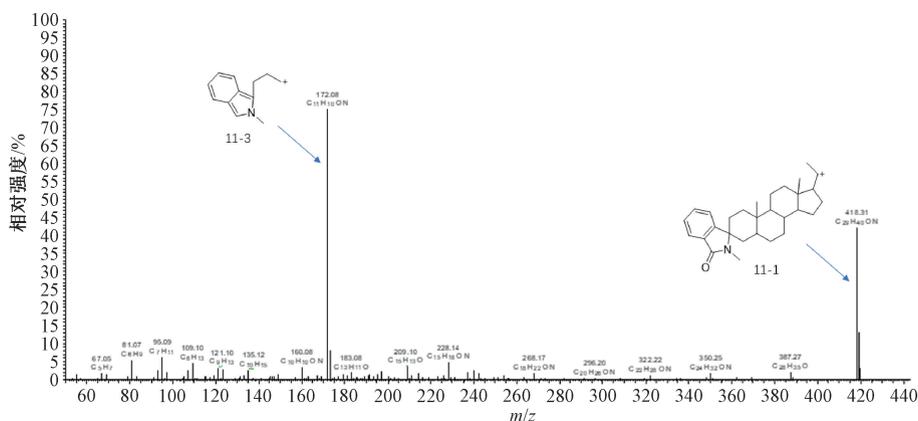


图8 螺旋富贵草碱 A 碎片离子的 MS/MS 谱图

其中一种方式为失去1个二甲胺,得到结构11-1;另一种方式为先失去1个O原子,得到结构11-2,再从母核结构的3位裂解,失去整个母核A环,最终得到结构11-3。

3.4 三角咪醇提取物中尿液代谢产物的成分归属及其质谱裂解分析 尿液中的代谢产物为甾体类化合物,其中部分二级碎片结构见图10。例如矮陀陀碱E(峰5),均在含N键

的部位断裂,从而碰撞形成 m/z 105.03 [M-C₂₃H₄₀N₂O₂]⁺ 和 m/z 420.29 [M-C₇H₇NO]⁺ 的较强碎片离子。其可能的裂解途径见图11,一种方式为从与母核相连的羰基旁边的N原子断开,形成结构5-1;另一种方式为先失去1个二甲胺,先得到结构5-2,再失去一分子H₂O,从而得到结构5-3。

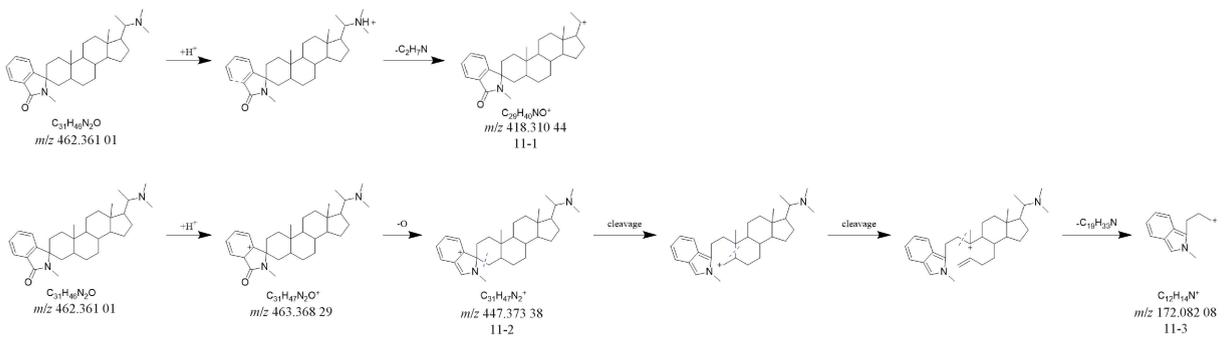


图9 螺旋富贵草碱 A 在正离子模式下的可能裂解途径

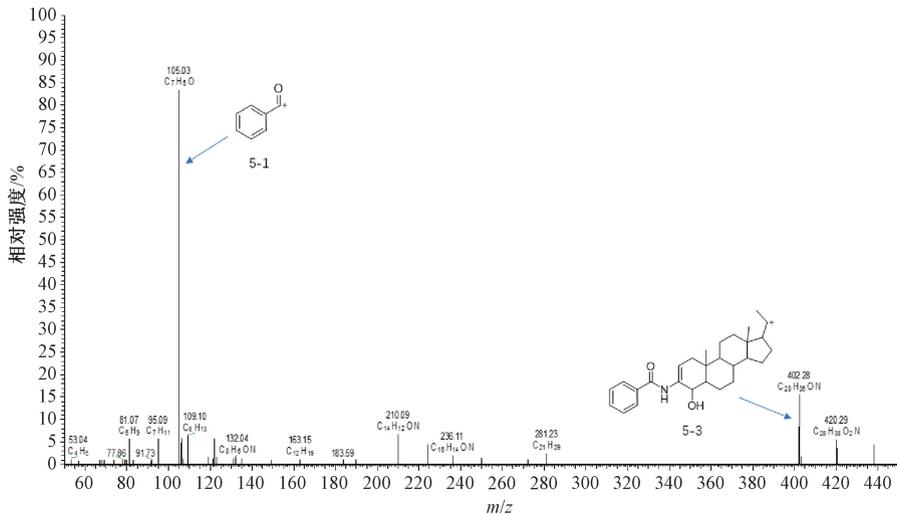


图10 矮陀陀碱 E 碎片离子的 MS/MS 谱图

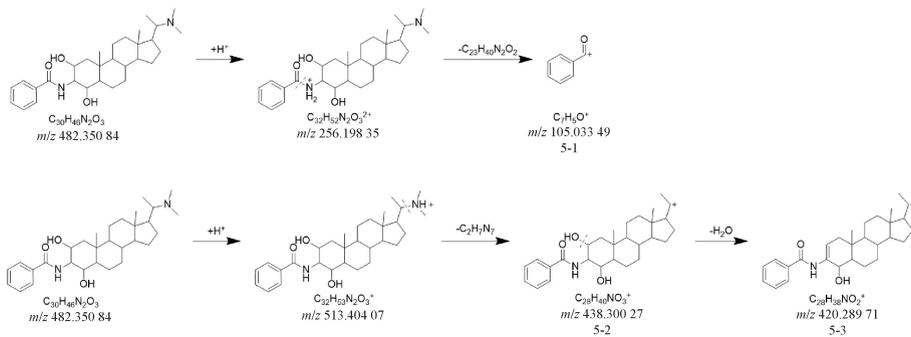


图11 矮陀陀碱 E 在正离子模式下的可能裂解途径

3.5 三角咪醇提物的粪便代谢产物化学成分归属及其质谱裂解分析 粪便中的代谢产物也为甾体类化合物，它们的部分二级碎片结构见图 12。例如表-富贵草胺碱（峰 9），碰撞后形成 m/z 344.29 [M-C₇H₅O]⁺ 和 m/z 371.25 [M-C₆H₆]⁺ 的碎片离子。其可能的裂解途径见图 13，344.29 [M-C₇H₅O]⁺ 和 m/z = 371.25 [M-C₆H₆]⁺ 均可进攻母核左侧连接的 N 原子，使其发生重排断裂，一种方式为重排后，可不保留羰基而使双键完全断裂，形成结构 9-1。另一种方式为重排后仅失去苯环，得到结构 9-2。

4 讨论

本研究从三角咪的醇提物中共检测到 14 种成分，鉴别并确认了 5 种吸收入血的化学成分，分别为 17-[1-(dimethylamino) ethyl]-10, 13-dimethylhexadecahydro-1H-cyclopenta [a] phenanthrene-12, 16-diol、矮陀陀碱 E、sarcosine、海南野扇花碱 D、螺旋富贵草碱 A；4 种尿液代谢的化学成分，分别为 sarcosine、矮陀陀碱 E、海南野扇花碱 D、螺旋富贵草碱 A；4 种粪便代谢的化学成分，分别为矮陀陀碱 E、表-富贵草胺碱、螺旋富贵草碱 A、3-氧基-4-氢-木栓齐墩果烷-27-酸甲酯，主要为甾体生物碱类。

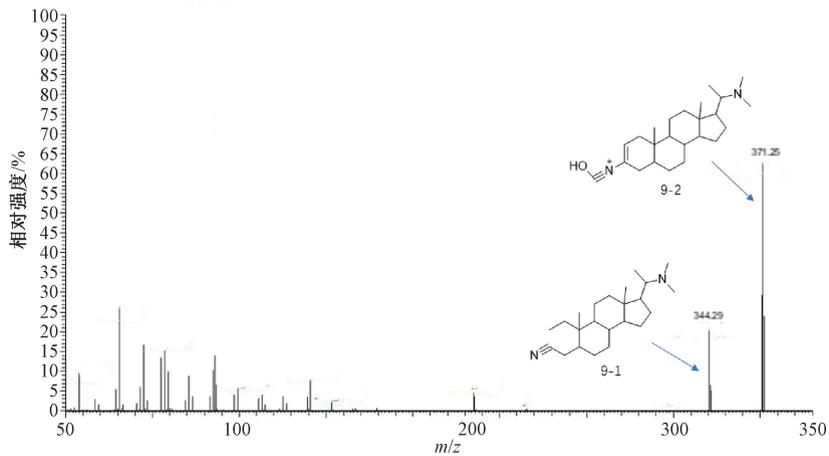


图 12 表-富贵草胺碱碎片离子的 MS/MS 谱图

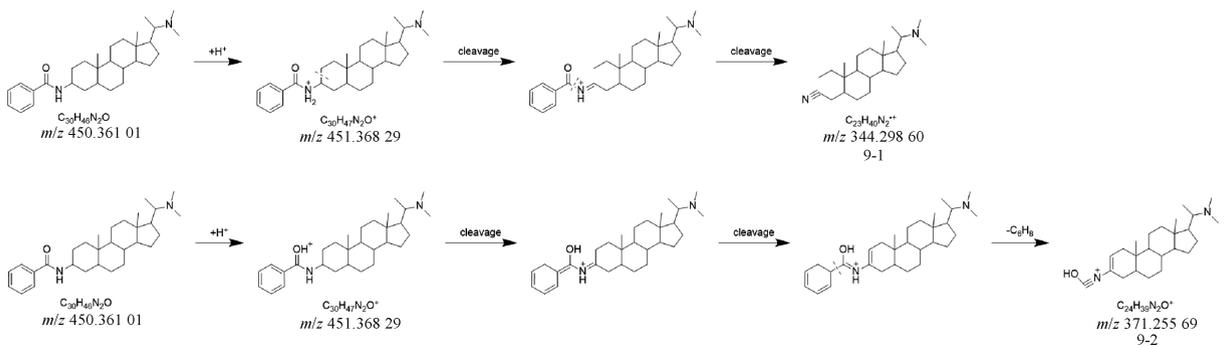


图 13 表-富贵草胺碱在正离子模式下的可能裂解途径

贵州民族药具有地域性强、民族特色鲜明和临床疗效独特等优势，然而其应用面临很多问题，如缺乏药理、药效和毒理等研究，缺乏有效性和安全性的科学依据，使其在民族药发展行列中停滞不前。民族药三角咪在《贵州草药》中记载具有活血、化瘀、止痛等功效。目前，关于三角咪及其科属的化学成分鲜有报道。现代药理研究显示，螺旋富贵草碱 A 具有良好的抗溃疡活性，但未见抗癌活性。本研究是在课题组前期发现三角咪醇提取物具有良好抗癌活性的基础上，采用 UPLC-MS 法和血清代谢药物化学研究鉴定了三角咪醇提取物的移行成分。本研究显示，该类甾体生物碱成分可能是三角咪醇提取物中具有抗癌活性的主要体内药效物质，其发挥抗癌活性作用机制可能与影响血清和代谢产物有关。综上所述，本研究对民族药三角咪中化学成分在大鼠体内代谢组学进行研究，为三角咪的开发与采用提供重要的理论依据，具有较好的实用价值和理论意义。

参考文献:

[1] 汪毅. 中国苗族药物彩色图集[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2002: 15.
[2] 杨艳, 马丹, 李齐激, 等. 民族药三角咪的 SPME-GC-MS 研究[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2017, 30(4): 600-604.
[3] 邱明华, 裴瑞麟, 李忠荣. Pachysandra 型生物碱的化学结

构及活性筛选[J]. 云南植物研究, 1994(3): 296-300.
[4] 龚小见. 柳叶白前和多毛板凳果的化学成分研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2006.
[5] 朱瑶, 窦智燕, 谢晓辉, 等. 金不换总生物碱对胃粘膜的保护、抗炎及镇痛作用[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(3): 326-329; 387.
[6] 陈雪剑, 杨梦玲, 刘蔚, 等. 加味小柴胡汤抗胃溃疡有效物质部位的血清药物化学研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8): 1692-1700.
[7] 吴桐, 王建农, 杜肖. 白英总甾体生物碱有效部位对体内肿瘤抑制及体外免疫调节作用研究[J]. 中草药, 2020, 18(11): 1786-1790.
[8] 张明发, 沈雅琴, 朱自平. 苦刺叶总生物碱的抗溃疡药理作用研究[J]. 抗感染药学, 2020, 17(7): 937-941.
[9] 张蒙珍, 高丽娟, 徐世芳, 等. 藜芦属植物甾体生物碱及其药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5129-5142.
[10] 杨舜伊, 袁纯红, 蒋高华, 等. 乌头属植物生物碱研究新进展[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(23): 5-10.
[11] 王宇卿, 李淑娇, 庄果. 基于 HPLC-Q-TOF/MS 法的鬼针草血清药物化学探究[J]. 中成药, 2020, 42(11): 3074-3078.
[12] 魏飞亭, 程昊, 乔日发, 等. UPLC-Q-TOF/MS 鉴定大鼠灌服积壳提取物后的入血成分及其代谢产物[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(21): 161-172.

- [13] 王月红, 王 磊, 张洪兵, 等. 基于 HPLC-Q/TOF-MS 的六经头痛片血中移行成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(20): 4151-4156.
- [14] 张 婷, 牛 阳, 黄楷迪, 等. 扎里奴思方水提液在大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便中代谢产物鉴定[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5280-5288.
- [15] 程宇欣, 陈两绵, 王智民, 等. UHPLC-QTOF-MS 法分析鉴定吴茱萸水提物在大鼠血浆、尿液和粪便中的原形成分及其代谢产物[J]. 药学学报, 2017, 52(7): 1157-1164.
- [16] Chen H G, Zhou X, Zhao Y, et al. HPLC-DAD-ELSD combined pharmacodynamics and serum medicinal chemistry for quality assessment of Huangqi Granule[J]. *PLoS One*, 2017, 10(4): e0123176.
- [17] He J L, Zhao J W, Ma Z C, et al. Serum pharmacochrometry analysis using UPLC-Q-TOF/MS after oral administration to rats of Shenfu Decoction[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015(2): 973930.
- [18] Wang X Y, Li S J, Wang Y Q, et al. HPLC-DAD-Q-TOF/MS-based screening and analysis of the multiple absorbed bioactive components in rat serum after oral administration of Xiexin Tang[J]. *Curr Pharm Anal*, 2020, 16(6): 712-723.

炙甘草干预脾虚大鼠的血清代谢组学研究

化 敏¹, 耿 雪^{2,3}, 刘月程¹, 孙 娜², 戴衍朋^{1*}, 周 倩^{1*}

(1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 3. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101)

摘要: 目的 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 法探讨炙甘草对脾虚大鼠血清内源性标志物的影响, 寻找给药后差异性潜在生物标志物群。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、炙甘草组 (6.25 g/kg)。通过复合因素建立脾虚大鼠模型, 连续 20 d。第 21 天起, 空白组和模型组大鼠灌胃给予生理盐水, 炙甘草组大鼠灌胃给予炙甘草水提液, 剂量 10 mL/kg, 每天 1 次, 连续 10 d, 观察行为学及病理形态学变化。于末次给药 30 min 后采集大鼠血液样本进行代谢组学分析, 结合多元统计分析寻找潜在生物标志物, 分析相关代谢通路。**结果** 模型组与空白组之间共鉴别出 16 种与脾虚相关的差异代谢物。与空白组比较, 模型组大鼠甘油磷酸胆碱、三氯乙醇葡萄糖苷酸、油酸等 12 种代谢物水平升高 ($P < 0.05$), 棕榈酰肉碱、7 α -羟基胆甾烯-3-酮、磷酸胆碱等 4 种代谢物水平降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 炙甘草组大鼠代谢紊乱得到改善, 对筛选出与脾虚相关的代谢产物水平有所回调, 代谢途径主要涉及醚脂代谢、甘油磷脂代谢、嘌呤代谢等。**结论** 炙甘草可能通过调节醚脂代谢等发挥补益作用。

关键词: 炙甘草; 代谢组学; 脾虚证; UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)05-1710-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.058

历代医家认为脾虚证是指脾气不足, 失其健运所表现的证候, 多因饮食不节, 劳累过度, 久病耗伤脾气所致^[1-3]。现代研究表明, 脾脏与机体免疫功能、生理病理状况等方面密切相关^[4-5], 脾虚容易引起消化不良、冠心病等疾病^[6-8], 所以历代医家多从补脾的角度治疗各类疾病。

炙甘草是豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra*

L. 的干燥根及根茎的蜜炙加工品, 具有补脾和胃、益气复脉的功效。《脾胃论》中记载“炙甘草甘温补脾养胃为臣”, 用于脾胃虚弱而导致的肠鸣泄泻、脏器下垂等疾病的治疗。课题组前期对生、炙甘草的药理活性及免疫等方面进行研究, 证实炙甘草在提高机体免疫力和保护胃肠道方面表现出良好的预防和治疗效果^[9-10]。但目前开展的炙甘草相关研究多集中在心血管疾病方面^[11-12], 炙甘草补益

收稿日期: 2022-09-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81603299); 山东省自然基金重点项目 (ZR2020KH021)

作者简介: 化 敏 (1997—), 女, 硕士, 研究实习员, 从事中药饮片质量评价及炮制规范化研究。Tel: (0531) 82950986, E-mail: huamlkh@163.com

* **通信作者:** 戴衍朋 (1981—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药饮片质量评价及炮制规范化研究。Tel: (0531) 82950718, Email: daiyanpeng1027@163.com

周 倩 (1982—), 女, 博士, 研究员, 从事中药饮片质量评价及炮制规范化研究。Tel: (0531) 82950986, Email: zhouqian0126@126.com