

基于 UPLC-Q-TOF-MS 对野马追内酯 F 在大鼠体内代谢产物的分析

秦伟瀚, 刘翔, 王云红, 宋小仙, 阳勇, 李卿*

重庆市中药研究院, 重庆 400065

摘要: 采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱系统分析野马追内酯 F 的质谱裂解规律及其在大鼠体内的代谢转化过程。采用 Phenomenex Luna-C₁₈ (2 mm × 100 mm, 3 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱, 流速 0.2 mL/min, 柱温 30 °C, 进样体积 2 μL; 动态背景扣除触发信息关联采集进行 MS/MS 数据采集; 结合 PeakView、MetabolitePilot 软件进行代谢产物分析鉴定。野马追内酯 F 经过水解、氧化、还原、甲基化等 I 相代谢及葡萄糖醛酸化、硫酸酯化、谷胱甘肽结合等 II 相反应, 形成系列相关代谢产物共 55 种。该方法高效灵敏, 明确了野马追内酯 F 在大鼠体内的代谢转化规律, 为中药野马追药效物质基础、新药研发及临床应用等提供科学参考。

关键词: 野马追内酯 F; 代谢产物; 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱; 大鼠

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)12-2137-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.12.018

Analysis of metabolites of eupalinolide F in rats based on UPLC-Q-TOF-MS

QIN Wei-han, LIU Xiang, WANG Yun-hong, SONG Xiao-Xian, YANG Yong, LI Qing*

Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

Abstract: Ultra-high performance liquid chromatography-four-stage rod-time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-TOF-MS) was used to analyze the mass spectrometric decomposition and metabolic transformation of eupalinolide F in rats. Phenomenex Luna-C₁₈ (2 mm × 100 mm, 3 μm) column was used. The mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution, gradient elution, flow rate was 0.2 mL/min, column temperature was 30 °C, injection volume was 2 μL. The dynamic background subtraction trigger information correlation acquisition was used for MS/MS data acquisition. The metabolites were analyzed and identified by combining PeakView and MetabolitePilot software. Eupalinolide F undergoes phase I metabolism such as hydrolysis, oxidation, reduction, methylation, etc., through the combination of glucuronidation, sulfuric acid esterification and glutathione II and multiple biotransformation pathways, formed a series of 55 related metabolites. The method is highly efficient and sensitive, and clarifies the metabolic transformation process of the eupalinolide F in rats, and provides scientific reference for the traditional Chinese medicine *Eupatorium lindleyanum* drug-effect material basis, new drug research and development and clinical application.

Key words: eupalinolide F; metabolites; UPLC-Q-TOF-MS; rats

野马追为菊科植物轮叶泽兰 (*Eupatorium lindleyanum* DC.) 的干燥地上部分^[1]。又名白鼓钉、化食草等。除新疆以外广泛分布于全国各地, 其中江苏省盱眙县为该药材的道地产区^[2,3]。早在 1988 年江苏省地方药材标准就已有收载, 现收录于 2015

年版《中华人民共和国药典》^[4]。本品味苦、性平, 归肺经, 具有化痰、止咳、平喘之功效, 常用于治疗痰多、咳嗽、气喘等病症^[5,6]。随着对野马追药材研究的不断深入, 新近药理报道还指出其具有降血脂、抗动脉粥样硬化等作用^[7-13]。课题组前期通过对野马追提取物研究发现, 其降血脂效果与辛伐他汀相当, 部分药理检测指标还优于辛伐他汀, 但起效物质和起效过程尚不明确, 阻碍了其进一步开发和应用。

随着高分辨质谱在中药化学领域的快速普及和发展, 多重质量亏损过滤 (MMDF) 技术在海量数据

收稿日期: 2019-07-12 接受日期: 2019-09-30

基金项目: 国家重大新药创制项目 (2017ZX09101002-002-004); 重庆市科学技术局计划 (cstc2018jxjl-jbky130005, cstc2019jcyj-msxmX0464); 重点产业共性关键技术创新专项 (cstc2016zdcy-ztx10004)

* 通信作者 Tel: 86-23-89029061; E-mail: qingl666@sina.com

挖掘过程中优势逐渐显现,对于目标化合物筛查、药物代谢及天然产物鉴定等方面具有越来越大的应用空间。借助超高效液相色谱-飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS)技术,分析中药复杂成分和中药代谢^[14],能够省略分离纯化过程的同时鉴定痕量的药物及其代谢产物;同时,在药物代谢物筛选与表征过程中,具有去除背景离子干扰,排除假阳性,提高分析效率等诸多明显优势。倍半萜内酯是野马追的主要特征性成分,野马追内酯 F (eupalinolide F) 在倍半萜成分中含量较高,故本研究以探究大鼠血浆中野马追内酯 F 的代谢产物为目标,采用高分辨质谱,基于多重质量亏损和动态背景扣除技术,系统分析了野马追内酯 F 在大鼠体内的生物转化过程,为明确野马追药材的药效物质基础及深入开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

1.1.1 仪器

LC-30A 型超高效液相色谱仪(日本,岛津公司);二元高压泵、自动进样器、柱温箱;Triple TOF™ 4600 型四极杆串联飞行时间高分辨质谱仪(美国,AB 公司);Analyst 1.6 工作站、PeakView 1.2.0.3 数据处理软件、MetabolitePilot 1.5.0.8532 代谢产物鉴定软件;DW-86L486 型超低温冰箱(中国,中科美菱公司);Microfuge 20R 型超高速离心机(美国,贝克曼库尔特公司)。

1.1.2 实验动物

SD 大鼠,SPF 级,10 只,雄性,体重 200 ± 20 g,由重庆市中药研究院实验动物研究所提供,实验动物生产许可证号 SCXK(渝)2012-0006,动物合格证号 0003054。动物饲养于重庆市中药研究院药化所,动物实验环境(温度 $20 \sim 25$ °C,湿度 50% ~ 65%),自由摄食和饮水;并按实验动物使用的“3R”原则给人以人道主义关怀。

1.1.3 药材与试剂

野马追内酯 F 对照品为自制,经高效液相色谱(HPLC)归一化法测定,纯度 > 95%。乙腈、甲醇、水(色谱纯级,德国 Merck 公司);甲酸(色谱纯级,美国 ACS 公司);乙醇(分析纯,重庆川东化工公司)。

1.2 野马追内酯 F 灌胃给药

取 SPF 级 SD 大鼠 10 只,饲养 3 天后禁食 12 h,自由饮水。按照 10 mg/kg 体重剂量灌胃,分别于给

药后 30、60、90、120、180、240 min 眼眶静脉丛取血 0.5 mL 于装有肝素钠的 EP 管中,于 $10\ 625 \times g$ 离心 10 min 取上层血浆, -80 °C 冰箱保存,备用。

1.3 样品采集与处理

按照采血时间点,精密吸取 10 只大鼠血浆样品各 50 μ L 于 1.5 mL EP 管中,加入色谱甲醇 600 μ L 后涡旋混匀 2 min,于 $10\ 625 \times g$ 离心 10 min,分别吸取上清液和空白对照液 2 μ L 进样,进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。

1.4 实验条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Luna-C₁₈ (2 mm \times 100 mm, 3 μ m);流动相:A 为 0.1% 甲酸水溶液,B 为乙腈;梯度程序:0 ~ 2.0 min,6% B;2.0 ~ 10.0 min,6% ~ 80% B;10.0 ~ 12.0 min,80% B;12.0 ~ 12.1 min,80% ~ 6% B;12.1 ~ 15.0 min,6% B;流速:0.2 mL/min,柱温:30 °C,进样量:2 μ L。

1.4.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),负离子模式采集数据,喷雾电压(IS):4 500 V;雾化气压力(GS1):50 Psi;气帘气压力(CUR):15 Psi;辅助气压力(GS2):45 Psi;离子源温度(TEMP):600 °C;簇裂解电压(DP):55 V;碰撞能量(CE):40 V;碰撞能量滚动区间(CES):15 V;检测模式为 IDA(信息关联采集模式),多重质量亏损(MMDF)和动态背景扣除(DBS)为触发二级的条件,满足该条件优先进行二级扫描。

1.5 代谢产物分析鉴定

查阅野马追化学相关文献,采用 ChemDraw 软件建立野马追内酯 F 的 mol 格式文件,导入 PeakView 软件,结合 Formula Finder、Mass Calculators 等功能,对野马追内酯 F 标准品和血浆样品进行定性分析,并将上述结果代入 MetabolitePilot 软件,对该化合物产生的所有代谢产物进行分析鉴定。

2 结果与讨论

2.1 野马追内酯 F 质谱鉴定分析

采用 UPLC-Q-TOF-MS 对野马追内酯 F 标准品和血浆样品进行分析。如图 1B、图 2 所示,野马追内酯 F 在 ESI 负离子模式中的母离子 [M-H]⁻ 的质荷比为 m/z 419.173 4,经质谱电离裂解作用分别脱去 116.051 7、176.072 3、220.063 4、264.089 1、304.133 3 Da 生成质荷比为 m/z 303.121 7、243.101 1、199.110 0、155.083 4、115.040 1 的碎片离子,利用 PeakView 软件的 Mass Calculators 功能计

算出 $C_5H_8O_3$ 、 $C_7H_{12}O_5$ 、 $C_{12}H_{12}O_4$ 、 $C_{14}H_{16}O_5$ 、 $C_{17}H_{20}O$ 的理论值分别为 116.046 8、176.067 9、220.073 0、264.099 2、304.130 5 Da,与脱去碎片的实际值之差均小于 0.01 Da。通过上述对二级碎片裂解规律的分析并结合化合物结构特点,判定该化合物应为野马追内酯 F。

将野马追内酯 F 分子式 ($C_{22}H_{28}O_8$) 代入 Peak-View 软件的 XIC Manager 筛查表中对该化合物保留

时间、强度等质谱参数进行提取处理;由图 1A、1C 可知,有效部位在 5.872 min 处有超过 200 000 cps 响应,而血浆样品在 5.888 min 处有接近 10 000 cps 响应,进一步对其 MS/MS 碎片进行比较分析(如图 1B、1D),发现两者的裂解碎片质荷比基本一致,据此判断血浆样品中含有野马追内酯 F。由初步的量时曲线(图 3)可以看出,采血时间为灌胃后 30 min 时,血浆样品中野马追内酯 F 离子强度为 8773 cps;

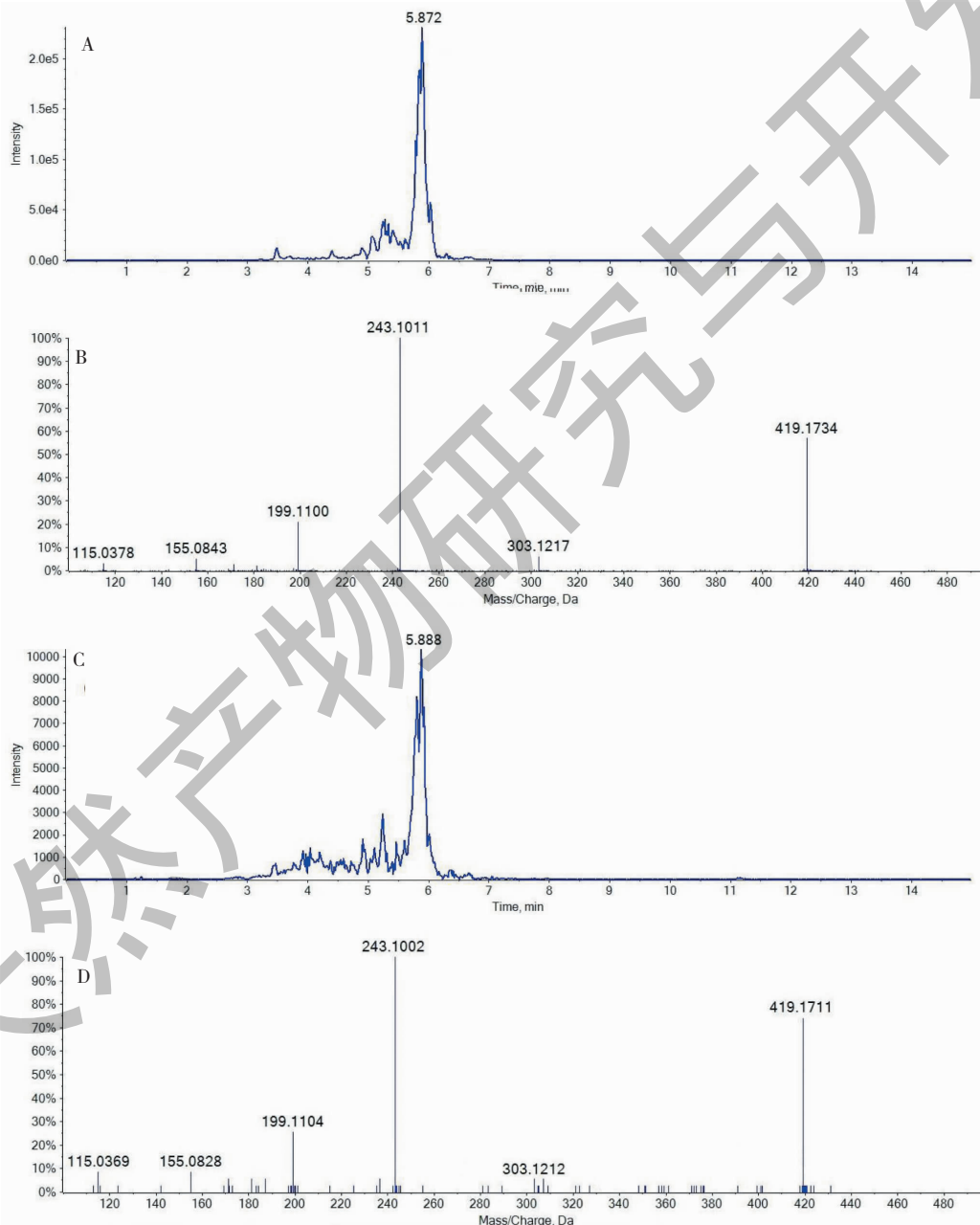


图 1 野马追内酯 F 的提取离子图和二级质谱图

Fig. 1 Extraction ionogram and secondary mass spectrum of eupalinolide F

注: A. 对照品提取离子图; B. 对照品二级质谱图; C. 血浆样品提取离子图; D. 血浆样品二级质谱图。Note: A. XIC of effective fraction; B. MS/MS of effective fraction; C. XIC of plasma; D. MS/MS of plasma.

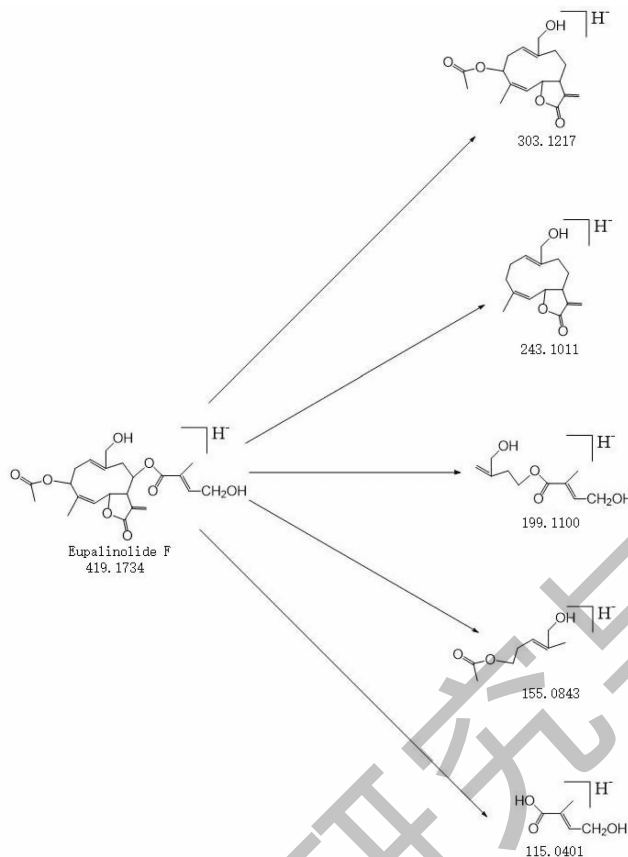


图2 野马追内酯 F 裂解规律图

Fig. 2 Pyrolysis chart of eupalinolide F

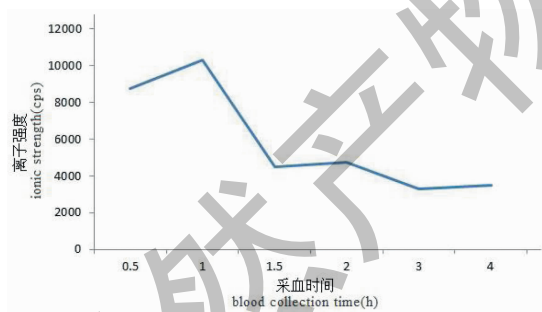


图3 野马追内酯 F 量时曲线图

Fig. 3 Mass spectrometric response intensity and time curve of eupalinolide F

当采血时间为 60 min 时,野马追内酯 F 的血药浓度达到最大值;之后直到 240 min,血浆样品中野马追内酯 F 离子强度逐渐降低。由上述数据分析结果可知,入血后野马追内酯 F 的离子强度可以达到标准品的 1/20,可能与该药物吸收代谢特性以及血浆样品的基质效应等因素相关。

2.2 野马追内酯 F 在大鼠体内代谢转化分析

采用 ChemDraw 软件建立野马追内酯 F 的 mol

格式文件,导入 MetabolitePilot 软件中,获取该化合物理论裂解参数,再将标准品的 Q-TOF 数据作为血浆样品的参比对照导入该软件,以 2.2 项下的保留时间、二级碎片等分析结果对野马追内酯 F 实际质谱信息进行筛选匹配,建立该化合物的质谱数据库;MetabolitePilot 软件会自动对以野马追内酯 F 为母核的所有代谢产物进行分析处理,再结合相应代谢产物的二级碎片裂解规律进行补充鉴定,代谢产物鉴定结果见表 1、图 4。

通过大鼠体内生物转化分析研究,以野马追内酯 F 为原型共鉴定出了 55 个代谢产物,其中 I 相代谢包括氢化、氧化、酯键水解、成酮、脱氧、甲基化、去甲基等 12 种反应类型;II 相代谢包括葡萄糖苷结合、葡萄糖醛酸结合、乙酰化、磷酸酯化、硫酸酯化、谷胱甘肽结合、半胱氨酸结合、谷氨酰胺结合、硫磺酸结合等 10 种反应类型;发生两次以上代谢过程均包含水解反应,与化合物原型含有两个酯键和一个内酯的结构特征相符;I 相代谢中氧化反应较多,可以是单纯加氧或成酮,而还原反应以不饱和双键加

表 1 野马追内酯 F 代谢产物鉴定结果

Table 1 The identification results of the metabolic products of eupalinolide F

编号 No.	保留时间 t_R (min)	代谢过程 Metabolic reaction	分子式 Formula	测量值 Measurede mass (m/z)	偏差 Deviation (ppm)	峰面积 Peak Area	得分 Score (%)
M1	1.86	Loss of $C_{17}H_{20}O_5$ + Oxidation and Methylation	$C_6H_{10}O_4$	145.046 9	-1.5	231 000	65.0
M2	2.08	Loss of $C_{17}H_{20}O_5$	$C_5H_8O_3$	115.036 4	-2.5	217 000	79.0
M3	3.43	Loss of O and $C_2H_2O_2$ + Internal Hydrolysis	$C_{20}H_{28}O_6$	363.164 4	-1.4	86 100	56.6
M4	3.50	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_2$ + Glucose Conjugation	$C_{21}H_{30}O_{10}$	441.176 8	0.3	126 000	75.0
M5	3.50	Loss of $C_{17}H_{20}O_5$ + Methylation	$C_6H_{10}O_3$	129.052 2	-2.9	689 000	64.6
M6	3.50	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_2$ + Demethylation and Oxidation	$C_{14}H_{18}O_6$	281.097 3	-2.6	67 100	69.9
M7	3.55	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Internal Hydrolysis	$C_{15}H_{22}O_5$	281.135 9	-1.6	113 000	73.3
M8	3.71	Loss of Water	$C_{22}H_{26}O_7$	401.177 0	1.0	39 500	68.6
M9	3.97	Glutathione Conjugation	$C_{32}H_{45}N_3O_{14}S$	726.261 7	3.4	292 000	71.9
M10	3.97	Glucuronide Conjugation	$C_{28}H_{36}O_{14}$	595.205 3	3.5	46 700	75.8
M11	3.99	Loss of $C_2H_2O_2$ + Glutathione Conjugation	$C_{30}H_{43}N_3O_{12}S$	668.253 8	1.5	202 000	48.1
M12	4.04	Acetylation	$C_{24}H_{30}O_9$	461.166 1	-3.8	76 700	61.8
M13	4.11	Loss of C_2H_2O + Acetylcysteine Conjugation	$C_{25}H_{33}NO_{10}S$	538.176 7	2.6	78 900	33.1
M14	4.11	Loss of C_2H_2O + Tri-Oxidation and Demethylation	$C_{19}H_{24}O_{10}$	411.127 3	-2.7	115 000	48.4
M15	4.16	Loss of C_2H_2O + Internal Hydrolysis	$C_{20}H_{28}O_8$	395.169 1	-5.0	66 200	77.4
M16	4.18	Loss of C_2H_2O + Cysteine Conjugation	$C_{23}H_{31}NO_8S$	480.169 8	0.2	170 000	50.5
M17	4.21	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_2$ + Internal Hydrolysis and Di-Oxidation	$C_{15}H_{22}O_8$	329.121 3	-0.7	38 500	72.2
M18	4.21	Loss of $C_5H_6O_2$ + Demethylation	$C_{16}H_{20}O_6$	307.118 7	0.0	120 000	75.0
M19	4.25	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_2$ + Demethylation and Di-Oxidation	$C_{14}H_{18}O_7$	297.095 0	-0.1	112 000	71.6
M20	4.25	Loss of $C_5H_6O_2$ + Tri-Oxidation	$C_{17}H_{22}O_9$	369.117 4	-4.6	59 600	74.5
M21	4.26	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Demethylation and Methylene to Ketone	$C_{14}H_{16}O_5$	263.092 2	-1.1	110 000	53.4
M22	4.37	Loss of $C_5H_6O_2$ + Glutathione Conjugation	$C_{27}H_{39}N_3O_{12}S$	628.222 5	0.8	55 800	73.0
M23	4.40	Loss of O and $C_2H_2O_2$	$C_{20}H_{26}O_5$	345.153 5	-4.8	1 000 000	55.1
M24	4.42	Loss of $C_5H_6O_2$ + Tetra-Oxidation and Demethylation	$C_{16}H_{20}O_{10}$	371.096 2	-2.8	105 000	51.4
M25	4.46	Loss of $C_2H_2O_2$ + Oxidation and Taurine Conjugation	$C_{22}H_{31}NO_9S$	484.163 9	-1.6	77 500	50.5
M26	4.51	Loss of C_2H_2O + Di-Acetylation of Amines	$C_{24}H_{30}O_9$	461.185 0	0.9	172 000	48.6
M27	4.52	Loss of $C_2H_2O_2$ + Internal Hydrolysis	$C_{20}H_{28}O_7$	379.174 0	-1.9	158 000	75.9
M28	4.61	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Glucuronide Conjugation	$C_{21}H_{28}O_{10}$	439.160 5	-1.1	91 700	75.0
M29	4.65	Loss of Hydroxymethylene	$C_{21}H_{26}O_7$	389.143 7	-3.3	99 100	57.8
M30	4.65	Loss of C_2H_2O + Taurine Conjugation	$C_{22}H_{31}NO_9S$	484.165 2	1.1	45 200	50.0
M31	4.66	Loss of $C_2H_2O_2$ + Glucuronide Conjugation	$C_{26}H_{34}O_{12}$	537.199 8	3.7	92 600	49.3
M32	4.80	Loss of $C_5H_6O_2$ + Demethylation and Di-Oxidation	$C_{16}H_{20}O_8$	339.106 0	-1.4	87 700	74.4
M33	4.84	Internal Hydrolysis	$C_{22}H_{30}O_9$	437.181 5	-0.4	178 000	82.3
M34	4.84	Loss of $C_{17}H_{20}O_5$ + Bis-Phosphorylation	$C_5H_{10}O_9P_2$	274.965 8	-2.3	379 000	40.3
M35	5.10	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Sulfate and Glucuronide Conjugation	$C_{21}H_{28}O_{13}S$	519.117 1	-1.4	202 000	75.0
M36	5.21	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Di-Hydrogenation	$C_{15}H_{24}O_4$	267.157 2	-1.3	72 000	46.1
M37	5.22	Loss of $C_5H_6O_2$ + Tri-Oxidation and Demethylation	$C_{16}H_{20}O_9$	355.101 5	-0.4	108 000	49.1
M38	5.24	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_2$ + Glucuronide Conjugation	$C_{21}H_{28}O_{11}$	455.148 2	-1.9	62 800	69.1
M39	5.29	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Glucose Conjugation	$C_{21}H_{30}O_9$	425.181 3	-1.0	477 000	75.0
M40	5.29	Hydrogenation	$C_{22}H_{30}O_8$	421.186 6	-0.4	132 000	84.8

续表 2 (Continued Tab. 2)

编号 No.	保留时间 t_R (min)	代谢过程 Metabolic reaction	分子式 Formula	测量值 Measurde mass (m/z)	偏差 Deviation (ppm)	峰面积 Peak Area	得分 Score (%)
M41	5.36	Loss of $C_2H_2O_2$	$C_{20}H_{26}O_6$	361.163 8	-4.1	136 000	87.0
M42	5.40	Demethylation and Hydrogenation	$C_{21}H_{28}O_8$	407.170 3	-2.1	92 700	77.4
M43	5.48	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$	$C_{15}H_{20}O_4$	263.125 5	-2.8	87 600	77.6
M44	5.58	Loss of $C_2H_2O_2$ + Bis-Demethylation	$C_{18}H_{22}O_6$	333.134 8	1.4	115 000	75.0
M45	5.74	Loss of $C_5H_6O_2$	$C_{17}H_{22}O_6$	321.131 0	-0.3	67 800	81.8
M46	5.81	Loss of $C_{17}H_{20}O_5$ + Glutamine Conjugation	$C_{10}H_{16}N_2O_5$	243.098 7	0.2	95 600	59.3
Parent	5.88	Metabolite prototype	$C_{22}H_{28}O_8$	419.169 7	-3.4	56 900	93.8
M47	5.91	Loss of C_2H_2O + Loss of Water	$C_{20}H_{24}O_6$	359.147 6	-1.7	57 900	93.1
M48	5.96	Loss of $C_5H_6O_3$ and O + Demethylation and Methylene to Ketone	$C_{16}H_{18}O_5$	289.107 9	-0.9	136 000	76.6
M49	6.08	Methylation	$C_{23}H_{30}O_8$	433.189 3	1.8	127 000	73.4
M50	6.08	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Sulfate Conjugation	$C_{15}H_{20}O_7S$	343.083 2	-0.4	126 000	47.8
M51	6.29	Loss of O and $C_2H_2O_2$ + Demethylation and Glucuronide Conjugation	$C_{25}H_{32}O_{11}$	507.188 3	2.2	89 700	50.7
M52	6.34	Loss of O and $C_2H_2O_2$ + Acetylation	$C_{22}H_{28}O_6$	387.191 8	2.1	170 000	64.7
M53	6.83	Loss of C_2H_2O and $C_5H_6O_3$ + Methylation	$C_{16}H_{22}O_4$	277.141 3	-1.6	75 600	71.0
M54	7.04	Loss of $C_2H_2O_2$ and $C_5H_6O_3$ + Di-Hydrogenation	$C_{15}H_{24}O_3$	251.161 4	-1.5	119 000	44.4
M55	7.57	Loss of O and $C_2H_2O_2$ + Methylation	$C_{21}H_{28}O_5$	359.169 3	-4.6	106 000	56.7

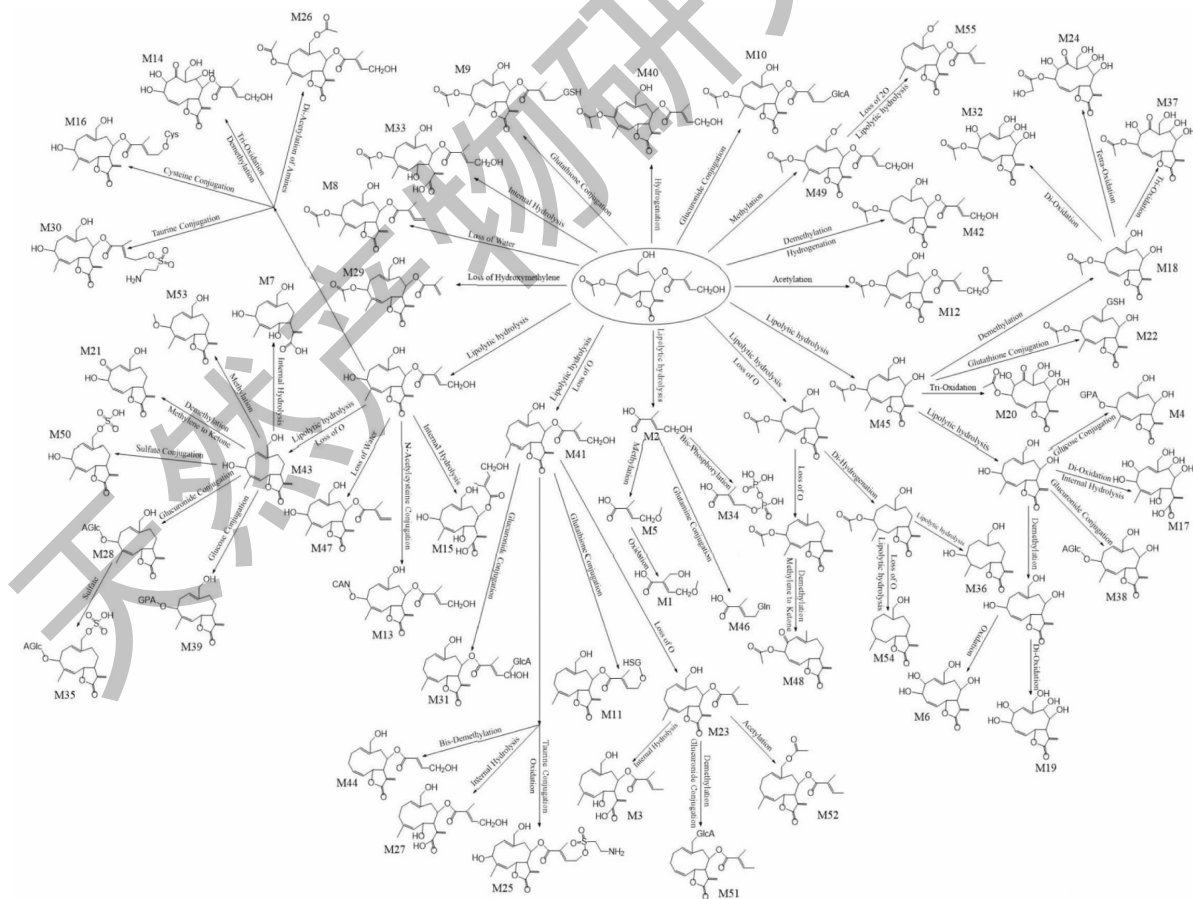


图 4 野马追内酯 F 代谢过程图

Fig. 4 Metabolic process diagram of eupalinolide F

氢为主;单独的 II 相反应只有谷胱甘肽结合(M9)、葡萄糖醛酸结合(M10)和乙酰化(M12),其余 17 个发生了结合反应的 II 相代谢产物均伴随了 I 相水解反应。由此可见 I 相反应过程通过氧化、还原、水解在野马追内酯 F 分子结构中引入或脱去功能基团从而发挥药效活性或失去活性;II 相反应则通过与内源性物质经共价键结合,生成极性大、水溶性高的结合物,经尿液排泄。

3 结论

本研究进行了野马追内酯 F 的大鼠体内生物转化分析,共鉴定出了 55 个代谢产物,其中 I 相水解反应是主要代谢过程;在血浆中检出的野马追内酯 F 离子强度可以达到灌胃标准品的 1/20,表明该化合物的吸收程度较高,但该化合物起效过程和起效机制尚不明确,课题组拟后续通过血浆蛋白结合率、药代动力学、P450 酶体外代谢等实验进行深入探讨。野马追的主要化学成分包括黄酮、萜、生物碱、甾醇等类成分^[15,16],其中野马追内酯 F 是属于吉马烷型倍半萜类的一种,是野马追主要特征有效成分,据笔者统计,野马追萜类成分包括二萜、倍半萜和三萜,该类化合物共计 38 种之多^[17],而市面上销售的纯品仅野马追内酯 A、野马追内酯 B 和野马追内酯 H,想要对该类化合物的体内代谢产物进行逐一分析鉴定,存在着较大困难,本研究基于前期对野马追内酯 F 进行的分离、纯化工作,在利用高分辨质谱对野马追内酯 F 化学结构进行定性解析基础上,采用 MetabolitePilot 软件对野马追内酯 F 的所有代谢产物进行快速分析鉴定,为明确野马追的体内起效物质基础提供了新思路,也为野马追的新药开发及临床应用等提供科学参考。

参考文献

- Zhen YF, Zhong HH, Wang YR, et al. Refining optimization of sesquiterpene lactones from *Eupatorium lindleyanum* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2017, 39:2050-2054.
- Li Q, He ZY, Du HF, et al. Optimization of ethanol extraction technology of anti-atherosclerosis effective fraction in lindley [J]. *China Pharm* (中国药房), 2018, 29:753-756.
- Chen YT, Lyu WQ, Pan CX, et al. Determination of two active ingredient contents of *Eupatorium lindleyanum* in nineteen growing areas [J]. *China Tradit Pat Med* (中成药), 2019, 41:373-377.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典;

- 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 313.
- He ZY, Liang XM, Zhang XM, et al. Multi-index evaluation technology to study the quality of *Eupatorium lindleyanum* in different producing areas [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2017, 40:1647-1650.
- Wang KJ, Chen Y, Zhou YD. Lindley eupatorium herb extract prevents and attenuates vascular inflammation reaction in atherosclerosis [J]. *J Third Mil Med Univ* (第三军医大学学报), 2012, 34:1853-1856.
- Ito K, Sakakibara Y, Haruna M, et al. Four new germacranolides from *Eupatorium lindleyanum* DC [J]. *Chem Lett*, 1979, 8:1469-1472.
- Yang NY, Duan JA, Shang EX, et al. Analysis of sesquiterpene lactones in *Eupatorium lindleyanum* by HPLC-PDA-ESI-MS/MS [J]. *Phytochem Anal*, 2010, 21:144-149.
- Wu SQ, Xu NY, Sun Q, et al. Six new sesquiterpenes from *Eupatorium lindleyanum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95:1637-1644.
- Huo J, Yang SP, Ding J, et al. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium lindleyanum* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67:1470-1475.
- Huo J, Yang SP, Ding J, et al. Two new cytotoxic sesquiterpenoids from *Eupatorium lindleyanum* DC [J]. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48:473-477.
- Yan G, Ji L, Luo Y, et al. Preparative isolation and purification of three sesquiterpenoid lactones from *Eupatorium lindleyanum* DC by high-speed counter-current chromatography [J]. *Molecules*, 2012, 17:9002.
- Yang NY, Qian SH, Duan JA, et al. Cytotoxic Sesquiterpene lactones from *Eupatorium lindleyanum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2007, 9:339-345.
- Qin WH, Yang Y, Li Q, et al. Study on the chemical difference between raw semen strychni and frying semen strychni based on plant [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31:240-249.
- Zhe CJ, Ren HL, Wu TW, et al. Chemical constituents and antipyretic effect of *Eupatorium lindleyanum* DC [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27:816-821.
- Wu SQ, Sun Q, Zhe CJ, et al. Chemical constituents of *Eupatorium lindleyanum* [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2012, 37:937-940.
- Zhong HH. Study on screening of anti-inflammatory activity site and preparation technology of *Eupatorium lindleyanum* DC [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine. (南京中医药大学), 2017.