

基于UPLC-Q-Exactive-MS技术鉴定接骨七厘片的化学成分及血中移行成分



方晓洋^{1,2}, 周融融³, 沈冰冰^{1,2}, 何维维^{1,2}, 肖洁^{1,4}, 徐瑾⁵, 曾宏亮^{1,4}, 张水寒^{1,2}

1. 湖南中医药大学中医药研究院 (长沙 410208)
2. 湖南省中医药研究院中药资源研究所 (长沙 410013)
3. 湖南省中医药研究院附属医院中心实验室 (长沙 410006)
4. 湖南省中医药研究院医学实验动物中心 (长沙 410013)
5. 湖南金沙药业有限责任公司 (长沙 410015)

【摘要】目的 采用超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱 (UPLC-Q-Exactive-MS) 技术对接骨七厘片的化学成分及大鼠血中移行成分进行定性分析, 为该制剂的体内有效物质研究提供参考。**方法** 体外色谱条件: Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱 (50 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液和甲醇 (梯度洗脱), 柱温为 30 °C, 进样量为 5 μL; 体外质谱条件: 样品经电喷雾电离, 采用正负离子双模式检测, 扫描范围为 *m/z* 100~1 500。体内色谱条件: ACQUITY HPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为 95% 水 +5% 乙腈和 47.5% 乙腈 +47.5% 异丙醇 +5% 水 (梯度洗脱), 柱温为 40 °C, 进样量为 8 μL。体内质谱条件: 样品经电喷雾电离, 采用正负离子双模式检测, 扫描范围为 *m/z* 70~1 050。连续 7 d 灌胃给予 SD 大鼠接骨七厘片, 通过腹主动脉取血获得含药血清及空白血清样品 (雌、雄性接骨七厘片含药血清组和雌、雄性空白血清组)。采用非靶向 LC-MS 技术并利用 Progenesis Q1 软件进行对比分析, 鉴定大鼠血中移行成分。**结果** 体外共鉴定出 75 种化合物, 体内共鉴定出 98 种化合物, 结合体内外鉴定的化学成分, 共鉴定出 7 种入血成分, 分别为甲基异茜草素、花生四烯酸、柠檬酸、焦谷氨酸、3-吡啶丙酸、16-羟基棕榈酸、油酸酰胺。**结论** 该方法高效、准确灵敏, 为今后在接骨七厘片药效物质基础和质量控制研究提供科学参考。

【关键词】 接骨七厘片; 成分分析; 含药血清; 超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱; 化学成分; 代谢产物; 入血成分

【中图分类号】 R286.0 **【文献标识码】** A

Identification of the compounds of Jiegu Qili tablets and constituents absorbed into blood based on UPLC-Q-Exactive-MS technology

FANG Xiaoyang^{1,2}, ZHOU Rongrong³, SHEN Bingbing^{1,2}, HE Weiwei^{1,2}, XIAO Jie^{1,4}, XU Jin⁵, ZENG Hongliang^{1,4}, ZHANG Shuihan^{1,2}

1. Academy of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
2. Institute of Chinese Medicine Resources, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202404200

基金项目: 湖南省自然科学基金面上项目 (2021JJ30416)

通信作者: 曾宏亮, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, Email: zenghl155@163.com

张水寒, 博士, 研究员, 博士研究生导师, Email: zhangshuihan0220@126.com

410013, China

3. Center Laboratory, Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China

4. Center of Medical Laboratory Animals, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, China

5. Hunan Jinsha Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410015, China

Corresponding authors: ZENG Hongliang, Email: zenghl155@163.com; ZHANG Shuihan, Email: zhangshuihan0220@126.com

【Abstract】Objective To conduct the qualitative analysis of the chemical composition and mobile components in rat blood of Jiegu Qili tablets using ultra performance liquid chromatography-quadrupole-exactive-mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive-MS) technology, and to provide reference for the *in vivo* study of effective substances in this preparation. **Methods** *In vitro* chromatographic condition was as follows: Hypersil GOLD C₁₈ chromatography column (50 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) was used, the mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution and methanol (gradient elution), the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 5 μL. *In vitro* mass spectrometry condition was as follows: the sample was ionized by electric spray and detected by positive and negative ion dual mode, with scanning range of *m/z* 100~1 500. *In vivo* chromatographic condition was as follows: ACQUITY HPLC HSS T3 chromatography column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was used, the mobile phase was 5% water+5% acetonitrile and 47.5% acetonitrile+47.5% isopropanol+5% water (gradient elution), the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 8 μL. *In vivo* mass spectrometry condition was as follows: the sample was ionized by electric spray and detected by positive and negative ion dual mode, with scanning range of *m/z* 70~1 050. SD rats were given Jiegu Qili tablets by intragastric administration for 7 days, and drug-containing serum and blank serum samples (female and male Jiegu Qili tablets serum group, and female and male blank serum group) were obtained through abdominal aorta. The non-targeted LC-MS technique and Progenesis QI software were used for comparative analysis to identify the transitional components in the blood of rats. **Results** 75 compounds were identified *in vitro*, and 98 compounds were identified *in vivo*. Based on the chemical composition identified *in vitro* and *in vivo*, a total of 7 blood components were identified, including methyl isoquercetin, arachidonic acid, citric acid, pyroglutamic acid, 3-indole propionic acid, 16 hydroxypalmitic acid, and oleic acid amide. **Conclusion** This method is efficient, accurate and sensitive, and can provide scientific reference for future research on the pharmacological substance basis and quality control of Jiegu Qili tablets

【Keywords】 Jiegu Qili tablets; Component analysis; Medicated serum; Ultra performance liquid chromatography-quadrupole-exactive-mass spectrometry; Chemical composition; Metabolites; Blood components

中药血清药物化学是通过口服给药, 对比药物、空白血清与含药血清的图谱差异, 从而对血中移行成分进行鉴定^[1], 可以反应机体对药物吸收代谢和药物在体内相互作用的影响, 有效避免体外化学成分盲目分离引起的假阳性或假阴性现象^[2]。因此, 鉴定血中移行成分是探究中药及其复方药效物质基础不可或缺的一步。

接骨七厘片源自于清代沈金鳌《杂兵源流犀烛》中接骨紫金丹衍生而来, 由当归、烫骨碎补、炒乳香、炒没药、酒大黄、土鳖虫、血竭、硼砂、煅自然铜9味药组成^[3], 具有活血化瘀、接骨止痛等药效作用^[4]。临床研究表明, 接骨七厘片对桡骨远端骨折与胫腓骨骨折功能恢复具有良好效果, 同时还能缩短临床症状消失时间, 缓解疼痛^[5-6]。

在以往的研究中,通常是对复方中单味药进行分析,结果表明当归主要药效成分有当归多糖、挥发油藁本内酯、阿魏酸等^[7];骨碎补黄酮类物质(柚皮苷、木犀草素、山奈酚等)具有促进骨折愈合、骨质疏松、抗炎等作用^[8];乳香主要有效成分为 β -乳香酸、 α -香树脂素、乳香醇等萜类物质^[9];目前从没药中共鉴定出的成分有 100 多种,主要的化学成分为苍术内酯 III、木香烯内酯、莪术二酮等,大黄蒽醌类化合物(大黄酸、大黄素、大黄酚等)是发挥药效的基础物质^[10];土鳖虫所含成分主要是氨基酸类(谷氨酸、天冬氨酸等、脂溶性物质、生物碱类核苷类等物质^[11];血竭有效成分主要为黄酮类物质(黄烷、黄烷醇、查尔酮等)^[12];硼砂与煅自然铜属于矿物质类中药,主要成分为镁、铁、锌等无机化合物,但目前鲜有对接骨七厘片的化学成分及血中移行成分进行报道。因此,有必要进一步研究该复方所含化学成分并明确其药效物质基础。本研究采用超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱(ultra performance liquid chromatography-quadrupole-exactive-mass spectrometry, UPLC-Q-Exactive-MS)技术对接骨七厘片化学成分及大鼠血中移行成分进行测定,为其药效物质基础研究提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

Q-Exactive HF-X 质谱仪与 HPLC 液相色谱系统(美国 Thermo Fisher Scientific);Centrifuge 5424R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf);SBL-10TD 型控温超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);NewClassic MS 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo);LNG-T88 台式快速离心浓缩干燥器(太仓市华美生化仪器厂)。

1.2 主要药品与试剂

自制接骨七厘片(规格:每片相当于原生药量 0.3 g,批号:20180401),9 味药材当归、土鳖虫、炒乳香、炒没药、烫骨碎补、硼砂、血竭、煅自然铜、酒大黄均由湖南金沙药业有限责任公司提供,批号分别为:20221101、20221103、P045221210、P044221107、20221106、Y005221002、Y064220820、P047221002、P00120221002;甲醇、乙腈和甲酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠 24 只,雌雄各半,体重(200 ± 20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004;饲养于湖南新领航检测技术有限公司屏障环境,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2022-0005,室温 20.0~26.0 °C,相对湿度 40.0%~70.0%。该研究所有操作严格按照我国实验动物福利伦理相关法律法规和湖南新领航检测技术有限公司相关标准操作规程执行(伦理审批号:IACUC-XLH-2023-107)。

1.4 方法

1.4.1 样品的制备

①接骨七厘片样品的制备。精密称取 0.5 g 接骨七厘片干燥粉末置具塞锥形瓶中,加入 50 mL 50% 甲醇水称定重量,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)提取 30 min,静置放冷后用 50% 甲醇水补足减失的重量,摇匀,0.22 μ m 微孔滤膜过滤,得到接骨七厘片 50% 甲醇提取液。

②接骨七厘片含药血清样品的制备。SD 大鼠适应性喂养 1 周后随机分为雌、雄性空白对血清和雌、雄性接骨七厘片含药血清组。含药血清组给药剂量按成人临床等效剂量的 2 倍计算为 0.54 g/kg,每日称取 1.56 g 接骨七厘片干燥粉末(含损耗量)加入 25 mL 水,混匀得到接骨七厘片水溶液,含药血清组给予接骨七厘片水溶液灌胃(1 mL/100 g);空白血清组给予等体积超纯水,连续灌胃两周。末次给药 1 h 后通过乙醚麻醉进行腹主动脉取血,4 °C 条件下 $1\ 006.2 \times g$ 离心 10 min,收集血清。

取含药血清样本 100 μ L,加入含 L-2- 氯苯丙氨酸等 4 种内标 300 μ L 提取液中,涡旋混匀,低温超声提取 30 min 后置于 -20 °C 30 min;4 °C 条件下 $18\ 894.2 \times g$ 离心 15 min,取上清液氮气吹干,加入 100 μ L 复溶液(乙腈:水=1:1)复溶涡旋,超声萃取 5 min 后,4 °C 条件下 $18\ 894.2 \times g$ 离心 10 min,取上清液。

1.4.2 色谱条件

①体外色谱条件。采用 Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.9 μ m),流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~5 min, 5%~30% B; 5~10 min, 30%~60% B; 10~28 min, 60%~100% B; 28~30 min, 100% B),柱温为 30 °C,进样量为 5 μ L。

②体内色谱条件。采用 ACQUITY HPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为 95% 水 + 5% 乙腈 (A) - 47.5% 乙腈 + 47.5% 异丙醇 + 5% 水 (B), 梯度洗脱 (0~3 min, 100%~80% A; 3~4.5 min, 80%~65% A; 4.5~5 min, 65%~0% A; 5~6.4 min, 0% A; 6.4~8 min, 0%~100% A), 柱温为 40 °C, 进样量为 8 μL。

1.4.3 质谱条件

①体外质谱条件。样品经电喷雾电离, 采用正负离子双模式检测, 扫描范围为 m/z 100~1 500, 鞘气流速为 35 arb, 辅助气流速为 13 arb, 辅助气温度为 375 °C, 毛细管温度为 320 °C, 正负离子模式毛细管电压分别为 3 500 V 和 -3 500 V, 全扫描分辨率为 60 000, 二级质谱分辨率为 7 500。

②体内质谱条件。样品经电喷雾电离, 采用正负离子双模式检测, 扫描范围为 m/z 70~1 050,

鞘气流速为 50 arb, 辅助气流速为 13 arb, 辅助气温度为 425 °C, 毛细管温度为 325 °C, 正负离子模式毛细管电压分别为 3 500 V 和 -3 500 V, 全扫描分辨率为 60 000, 二级质谱分辨率为 7 500。

2 结果

2.1 接骨七厘片体外成分鉴定

通过优化液相和质谱条件后, 经 Accurate-Mass Q-TOF 获得正负离子模式下接骨七厘片质谱图 (图 1)。经 Compound Discoverer 3.2.0.421 数据库比较分析, 初步鉴定 75 个化合物, 包括 6 个苯丙素类化合物、4 个生物碱类化合物、8 个黄酮类化合物、3 个萜类化合物、4 个醌类化合物、3 个酚类化合物、2 个香豆素类化合物、2 个嘌呤代谢物、1 个糖苷类化合物、4 个有机酸、7 个氨基酸、10 个脂肪酸、4 个酰胺类化合物以及 17 个其他化合物, 具体见表 1。

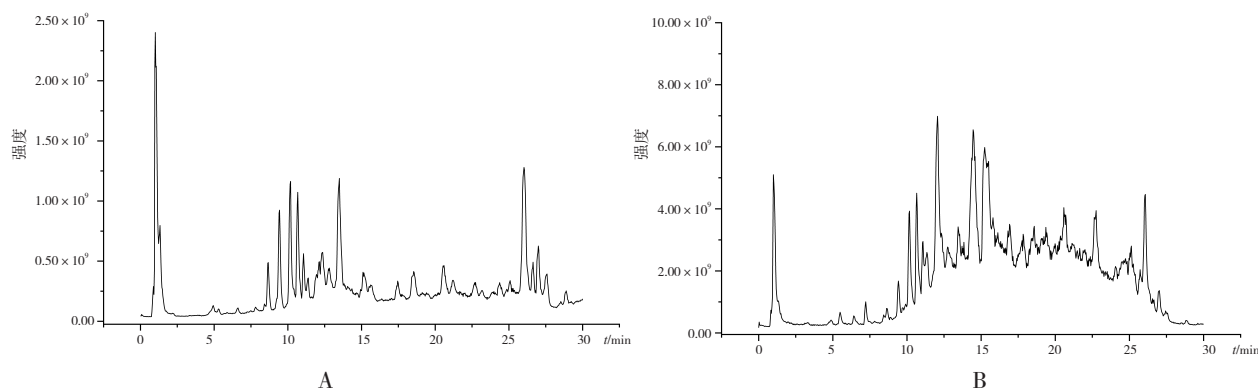


图1 接骨七厘片50%甲醇提取液的正负离子模式质谱图

Figure 1. Positive and negative ions mode mass spectra of 50% methanol extraction solution of Jiegu Qili tablets

注: A. 负离子模式; B. 正离子模式。

表1 接骨七厘片50%甲醇提取液成分鉴定表

Table 1. The ingredient identification form of 50% methanol extraction solution of Jiegu Qili tablets

| 序号 | 保留时间 | 分子式 | 分子离子峰 | 准确度 (ppm) | 名称 | 匹配度 | 来源 |
|----|------|--|-------------------------------|-----------|-----------|------|---------------------|
| 1 | 0.96 | C ₅ H ₁₃ NO | 72.093 09 [M-H] ⁻ | 2.18 | 胆碱 | 96.4 | 当归 ^[13] |
| 2 | 1.01 | C ₇ H ₁₂ O ₆ | 191.055 56 [M-H] ⁻ | -5.27 | D-(-)-奎宁酸 | 99.9 | 当归 |
| 3 | 1.02 | C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 173.103 85 [M-H] ⁻ | -2.16 | L-精氨酸 | 96.1 | 当归 ^[14] |
| 4 | 1.03 | C ₇ H ₁₅ NO ₃ | 160.097 37 [M-H] ⁻ | -2.45 | 左旋肉碱 | 99.1 | — |
| 5 | 1.06 | C ₅ H ₁₁ NO ₂ | 116.071 15 [M-H] ⁻ | -0.43 | 缬氨酸 | 95.0 | 当归 |
| 6 | 1.23 | C ₉ H ₁₇ NO ₄ | 202.107 93 [M-H] ⁻ | -1.74 | 乙酰左旋肉碱 | 98.9 | — |
| 7 | 1.27 | C ₆ H ₅ NO ₂ | 122.024 20 [M-H] ⁻ | -0.42 | 烟酸 | 96.1 | 当归 |
| 8 | 1.32 | C ₅ H ₄ N ₄ O ₃ | 167.020 51 [M-H] ⁻ | -3.69 | 尿酸 | 94.0 | — |
| 9 | 1.38 | C ₅ H ₄ N ₄ O | 135.030 69 [M-H] ⁻ | -0.97 | 次黄嘌呤 | 96.0 | 土鳖虫 ^[15] |
| 10 | 1.45 | C ₆ H ₈ O ₇ | 191.019 18 [M-H] ⁻ | -4.91 | 柠檬酸 | 99.1 | 当归 |
| 11 | 1.46 | C ₅ H ₇ NO ₃ | 128.034 77 [M-H] ⁻ | -0.39 | D-焦谷氨酸 | 98.8 | 土鳖虫 |

续表1

| 序号 | 保留时间 | 分子式 | 分子离子峰 | 准确度 (ppm) | 名称 | 匹配度 | 来源 |
|----|-------|---|-------------------------------|-----------|--|------|-------------------------------|
| 12 | 1.51 | C ₅ H ₇ NO ₃ | 128.034 77 [M-H] ⁻ | -9.05 | 4-氧代脯氨酸 | 99.8 | 当归 |
| 13 | 1.66 | C ₉ H ₁₁ NO ₃ | 180.066 07 [M-H] ⁻ | -1.65 | L-酪氨酸 | 98.8 | 当归/大黄 ^[16] |
| 14 | 1.88 | C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ | 266.088 93 [M-H] ⁻ | -0.78 | 腺苷 | 99.9 | 当归/土鳖虫 |
| 15 | 1.99 | C ₆ H ₁₃ NO ₂ | 130.086 80 [M-H] ⁻ | -0.29 | 异亮氨酸 | 99.7 | 当归 |
| 16 | 2.14 | C ₇ H ₆ O ₅ | 153.087 18 [M-H] ⁻ | -4.91 | 没食子酸 | 99.9 | 当归/骨碎补 ^[8] / 大黄 |
| 17 | 3.31 | C ₉ H ₁₁ NO ₂ | 164.071 15 [M-H] ⁻ | -1.09 | L-苯丙氨酸 | 99.2 | 当归/骨碎补 ^[17] |
| 18 | 4.25 | C ₆ H ₆ O ₃ | 125.023 87 [M-H] ⁻ | 0.06 | 间苯三酚 | 98.5 | — |
| 19 | 4.87 | C ₁₁ H ₉ NO ₂ | 186.055 50 [M-H] ⁻ | -1.30 | 反式-3-吡啶丙酸 | 93.3 | 土鳖虫 |
| 20 | 4.87 | C ₇ H ₆ O ₃ | 137.023 87 [M-H] ⁻ | -7.54 | 4-羟基苯甲酸 | 99.2 | 当归/骨碎补/没药 ^[18] |
| 21 | 5.87 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 353.087 26 [M-H] ⁻ | 8.13 | 绿原酸 | 95.9 | 当归 ^[19] |
| 22 | 6.11 | C ₁₀ H ₉ N | 142.065 67 [M-H] ⁻ | -0.82 | 2-萘胺 | 98.5 | — |
| 23 | 6.11 | C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ | 215.082 05 [M-H] ⁻ | -0.5 | 2,3,4,9-tetrahydro-1H-β-carboline-3-carboxylic acid | 99.0 | 土鳖虫 |
| 24 | 6.35 | C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₄ | 349.118 83 [M-H] ⁺ | 19.33 | 喜树碱 | 94.8 | — |
| 25 | 6.42 | C ₁₄ H ₁₉ NO | 216.138 84 [M-H] ⁻ | -1.95 | 乙氧基喹啉 | 97.5 | — |
| 26 | 6.59 | C ₉ H ₆ O ₄ | 177.018 78 [M-H] ⁻ | -1.60 | 秦皮乙素 | 99.0 | — |
| 27 | 6.68 | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | 289.071 21 [M-H] ⁻ | -0.87 | 儿茶素 | 97.8 | 大黄/骨碎补 |
| 28 | 7.28 | C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₄ | 241.118 83 [M-H] ⁻ | -2.39 | — | 98.6 | — |
| 29 | 7.79 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | 583.150 65 [M-H] ⁻ | -1.26 | 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-4-oxo-4H-chromen-7-yl-6-O-(6-deoxy-α-L-mannopyranosyl)-β-D-glucopyranoside | 90.7 | — |
| 30 | 7.82 | C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂ | 209.129 00 [M-H] ⁻ | -1.31 | 3-(2-methylpropyl)-octahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione | 96.9 | — |
| 31 | 7.90 | C ₁₅ H ₂₁ NO | 230.154 49 [M-H] ⁻ | -0.94 | α-piperidinobutiophenone | 95.6 | — |
| 32 | 8.66 | C ₁₅ H ₁₂ O ₆ | 287.055 56 [M-H] ⁻ | -2.28 | 圣草酚 | 99.0 | 骨碎补 ^[20] |
| 33 | 9.42 | C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄ | 579.171 38 [M-H] ⁻ | -2.29 | 柚皮苷 | 99.5 | 骨碎补/没药 |
| 34 | 9.56 | C ₂₁ H ₂₂ O ₉ | 417.118 56 [M-H] ⁻ | -2.28 | NP-005474 | 98.3 | — |
| 35 | 9.71 | C ₁₅ H ₁₅ NO | 224.107 54 [M-H] ⁻ | -2.33 | 对二甲氨基二苯丙酮 | 96.8 | — |
| 36 | 9.74 | C ₂₁ H ₂₉ NO ₂ | 326.212 00 [M-H] ⁻ | -2.31 | 布托菲诺 | 90.1 | — |
| 37 | 9.89 | C ₁₄ H ₁₄ O ₄ | 245.081 38 [M-H] ⁻ | -11.86 | (2S)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H,3H,7H-furo[3,2-g] chromen-7-one | 90.7 | — |
| 38 | 9.96 | C ₂₁ H ₂₇ NO | 308.201 44 [M-H] ⁻ | -2.33 | 苯丙哌林 (benproperine) | 95.3 | — |
| 39 | 10.22 | C ₉ H ₁₁ NO | 150.091 89 [M+H] ⁺ | -3.08 | N-(2,4-二甲苯基) 甲酰胺 | 94.5 | 土鳖虫 |
| 40 | 10.42 | C ₉ H ₁₆ O ₄ | 189.112 68 [M-H] ⁺ | -4.88 | 杜鹃花酸 | 99.8 | 当归 |
| 41 | 10.45 | C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O | 317.140 24 [M-H] ⁺ | -13.25 | 4-phenanthro [9,10-e] [1,2,4] triazin-3-ylmorpholine | 93.0 | — |
| 42 | 10.56 | C ₁₆ H ₁₂ O ₃ | 253.086 47 [M-H] ⁺ | -1.81 | 7-甲氧基黄酮 | 99.7 | — |
| 43 | 10.62 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁ | 463.124 04 [M-H] ⁺ | -1.42 | 6-O-[(2E)-3-phenyl-2-propenoyl]-1-O-(3,4,5-trihydroxybenzoyl)-β-D-glucopyranose | 96.8 | — |
| 44 | 11.29 | C ₁₆ H ₁₂ O ₃ | 253.086 47 [M-H] ⁺ | -1.85 | 4'-甲氧基黄酮 | 99.7 | — |
| 45 | 11.37 | C ₁₁ H ₁₄ O ₅ | 227.091 95 [M-H] ⁺ | -6.23 | 京尼平 | 97.0 | — |
| 46 | 11.49 | C ₂₀ H ₁₂ N ₄ O | 323.093 29 [M-H] ⁻ | -13.53 | 6-[5-(1-naphthyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl] quinoxaline | 95.0 | — |
| 47 | 11.91 | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ | 253.050 08 [M-H] ⁻ | -2.00 | 甲基异茜草素 | 99.9 | — |
| 48 | 12.86 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 269.181 38 [M-H] ⁺ | -1.43 | 芒柄花素 | 93.6 | — |
| 49 | 13.29 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | 287.055 56 [M-H] ⁺ | -2.01 | 木犀草素 | 96.0 | 骨碎补/大黄 |

续表1

| 序号 | 保留时间 | 分子式 | 分子离子峰 | 准确度 (ppm) | 名称 | 匹配度 | 来源 |
|----|-------|---|-------------------------------|-----------|--|-------|---------------------------|
| 50 | 13.30 | C ₉ H ₈ O ₄ | 181.050 08 [M-H] ⁺ | -1.72 | 4-oxo-4,5,6,7-tetrahydrobenzo [b] furan-3-carboxylic acid | 93.5 | — |
| 51 | 14.03 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 271.060 65 [M-H] ⁺ | -1.64 | 金雀异黄酮 | 97.6 | — |
| 52 | 14.14 | C ₁₈ H ₃₄ O ₅ | 331.248 45 [M-H] ⁺ | -1.05 | (15Z)-9,12,13-trihydroxy-15-octadecenoic acid | 93.3 | — |
| 53 | 14.30 | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ | 253.050 08 [M-H] ⁻ | -2.03 | 大豆异黄酮 | 99.9 | 乳香 ^[21] |
| 54 | 15.08 | C ₁₆ H ₁₄ O ₄ | 269.081 38 [M-H] ⁻ | -0.96 | 4-甲氧基-2',4'-二羟基查耳酮 | 98.1 | 血竭 |
| 55 | 15.25 | C ₁₆ H ₁₂ O ₅ | 283.060 65 [M-H] ⁻ | -1.33 | — | 90.7 | — |
| 56 | 15.63 | C ₁₄ H ₈ O ₄ | 239.034 43 [M-H] ⁻ | 8.41 | 丹蒾醌 | 97.9 | — |
| 57 | 16.79 | C ₂₅ H ₃₀ O ₄ | 395.222 23 [M-H] ⁺ | -7.76 | 9-(4-ethoxyphenyl)-3,3,6,6-tetramethyl-3,4,5,6,7,9-hexahydro-1H-xanthene-1,8(2H)-dione | 90.1 | — |
| 58 | 18.50 | C ₁₈ H ₃₄ O ₄ | 315.253 53 [M-H] ⁺ | -1.55 | (±)9(10)-dihome | 95.0 | — |
| 59 | 20.11 | C ₂₀ H ₂₈ O ₃ | 317.211 67 [M-H] ⁺ | -9.17 | 咖啡醇 | 96.1 | — |
| 60 | 20.28 | C ₃₀ H ₄₆ O ₄ | 471.347 41 [M-H] ⁺ | -1.33 | 18β-甘草次酸 | 99.3 | — |
| 61 | 20.56 | C ₁₈ H ₃₀ O ₂ | 279.232 41 [M-H] ⁺ | -2.36 | α-亚麻酸 | 99.1 | 土鳖虫 |
| 62 | 23.82 | C ₂₃ H ₃₂ O ₂ | 339.232 41 [M-H] ⁻ | -1.65 | 2,2'-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基苯酚) | 97.1 | — |
| 63 | 24.10 | C ₁₆ H ₃₂ O ₃ | 271.227 32 [M-H] ⁻ | -1.10 | 16-羟基棕榈酸 | 98.5 | 土鳖虫 |
| 64 | 24.28 | C ₁₆ H ₃₃ NO | 254.243 89 [M-H] ⁻ | -2.02 | 十六碳酰胺 | 99.0 | — |
| 65 | 24.76 | C ₁₈ H ₃₅ NO | 282.279 69 [M-H] ⁺ | -2.05 | 油酸酰胺 | 97.8 | 土鳖虫 |
| 66 | 24.92 | C ₂₀ H ₃₂ O ₂ | 305.248 06 [M-H] ⁺ | -1.45 | 花生四烯酸 | 99.3 | 当归 |
| 67 | 25.08 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 281.248 06 [M-H] ⁺ | -1.36 | 亚油酸 | 100.0 | 当归 ^[7] /大黄/土鳖虫 |
| 68 | 25.52 | C ₁₈ H ₃₇ NO | 254.397 35 [M-H] ⁺ | -2.19 | 硬脂酰胺 | 97.8 | — |
| 69 | 25.75 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 257.248 06 [M-H] ⁺ | -2.55 | 棕榈酸 | 100 | 当归/大黄/土鳖虫 |
| 70 | 25.98 | C ₂₆ H ₄₃ NO ₃ | 418.332 12 [M-H] ⁺ | -8.55 | N-油酰肌氨酸 | 90.9 | — |
| 71 | 26.14 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | 281.248 06 [M-H] ⁻ | -1.99 | 反式岩芹酸 | 100.0 | — |
| 72 | 27.17 | C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 283.263 71 [M-H] ⁻ | -1.40 | 硬脂酸 | 99.8 | — |
| 73 | 27.59 | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ | 455.352 52 [M-H] ⁻ | -0.76 | β-乳香酸 | 99.7 | 乳香 |
| 74 | 28.85 | C ₃₀ H ₄₆ O ₂ | 437.341 96 [M-H] ⁻ | -1.54 | 2,2'-亚乙基双(4,6-二叔丁基苯酚) | 99.8 | — |
| 75 | 28.88 | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ | 455.352 52 [M-H] ⁻ | -0.76 | 齐墩果酸 | 99.9 | — |

2.1.1 蒽醌类化合物

本试验共鉴定出4种蒽醌类化合物,该类化合物主要以[M-H]⁻分子离子峰形式存在。以47号化合物为例,准分子离子峰为m/z 254.05740,推测其分子式为C₁₅H₁₀O₄。其失去1个CO得到m/z 225.05 [M-H-CO]⁻的离子碎片,或失去1个CO₂得到m/z 209.15 [M-H-CO₂]⁻的离子碎片,分别再失去1个CO₂和1个CO得到m/z 182.09 [M-H-CO-CO₂]⁻的离子碎片。与相关文献^[22]比对,推测其为甲基异茜草素。其裂解过程见图2。

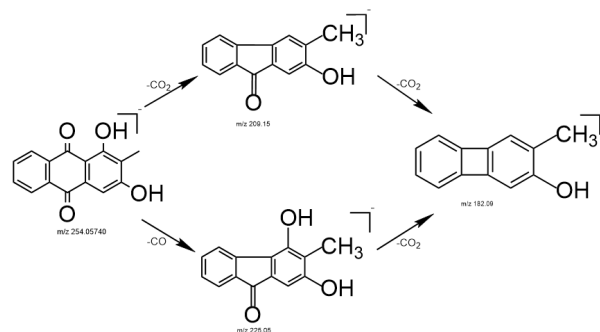


图2 茜草素可能的裂解过程
Figure 2. Possible cleavage of alizarin

2.1.2 黄酮类化合物

本试验共鉴定出 8 种黄酮类化合物。以 32 号化合物为例,其分子离子峰为 287.055 56 [M-H]⁻,推测其化合物为 C₁₅H₁₂O₆。其中获得 *m/z* 151.00、*m/z* 135.04、*m/z* 107.01 等离子碎片(图 3),与相关文献^[23]相比较,推测其为圣草酚。

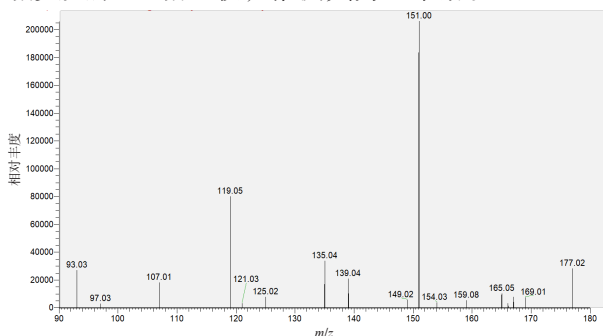


图3 圣草酚二级质谱图

Figure 3. Secondary mass spectra of holyherbol

2.1.3 苯丙素类化合物

本试验共鉴定出 6 个苯丙素类化合物,该化合物主要以 [M-H]⁻ 分子离子峰形式存在。以 21 号化合物为例,其分子离子峰为 353.087 26 [M-H]⁻,推测其分子式为 C₁₆H₁₈O₉。其脱去 1 分子 C₉H₅O₃ 得到 *m/z* 191.06 [M-H-C₉H₅O₃]⁻ 的离子碎片,或脱去 1 分子 C₆H₉O₅ 得到 *m/z* 179.03 [M-H-C₆H₉O₅]⁻ 的离子碎片。与相关文献^[24]相比较,推测其为绿原酸。其裂解过程见图 4。

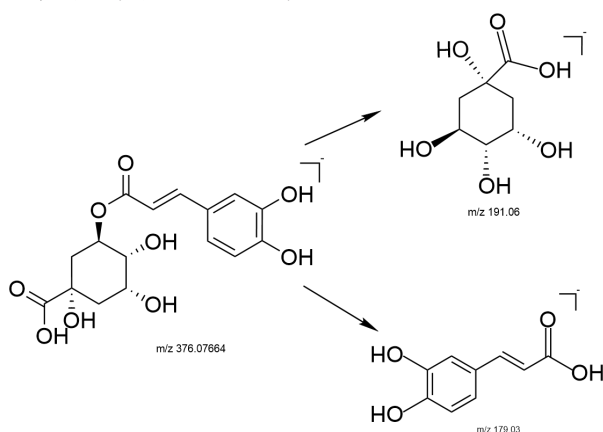


图4 绿原酸可能的裂解过程

Figure 4. Possible cleavage process of chlorogenic acid

2.1.4 生物碱类化合物

本试验共鉴定出 4 个生物碱类化合物,该化合物主要以 [M+H]⁺ 分子离子峰形式存在。以 24 号化合物为例,准分子离子峰为 348.117 73,推测其分子式为 C₂₀H₁₆N₂O₄。其脱去 1 分子 CO₂ 得到 *m/z*

303.09 [M+H-CO₂]⁺ 的离子碎片,再失去 1 分子 C₃H₄O 得到 *m/z* 245.05 [M+H-CO₂-C₃H₄O]⁺ 的离子碎片,然后再失去 C₆H₄O₃ 得到 *m/z* 166.53 [M+H-CO₂-C₃H₄O-C₆H₄O₃]⁺ 的离子碎片。与相关文献^[25]对比,推测其为喜树碱。其裂解过程见图 5。

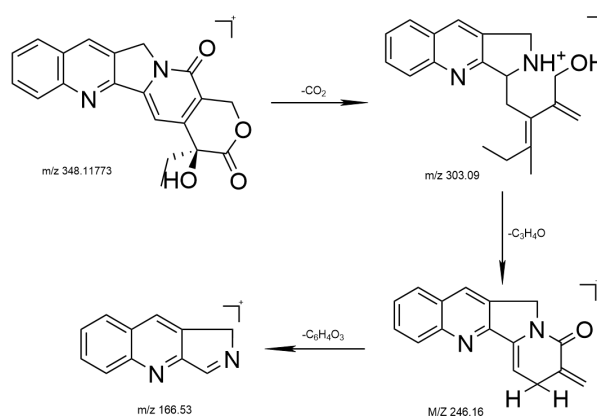


图5 喜树碱可能的裂解过程

Figure 5. Possible cleavage process of camptothecin

2.1.5 有机酸类化合物

本试验共鉴定出 4 个有机酸类化合物,该化合物主要以 [M-H]⁻ 分子离子峰形式存在。以 10 号化合物为例,准分子离子峰为 192.026 06,推测其分子式为 C₆H₈O₇。其二级质谱获得 *m/z* 191.02、*m/z* 111.01、*m/z* 173.01 等离子碎片(图 6),其中失去 1 分子 CO₂ 和 2 分子 H₂O 获得 *m/z* 111.01 [M-H-CO₂-2H₂O]⁻ 离子碎片。与相关文献^[26]对比,推测其为柠檬酸。

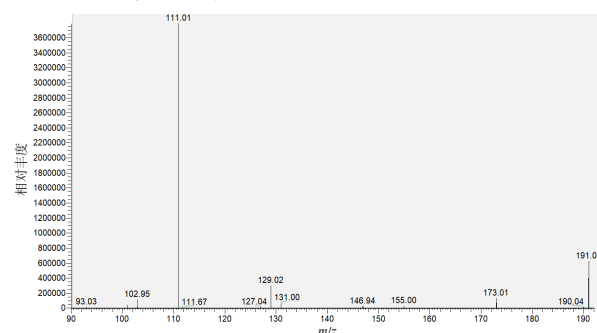


图6 柠檬酸在负离子模式下二级质谱图

Figure 6. Secondary mass spectra of citric acid in negative ion mode

2.1.6 其他类化合物

在上述化合物基础之上,还鉴定出 3 个萜类、3 个酚类、2 个嘌呤代谢物、1 个糖苷类、7 个氨基酸、10 个脂肪酸、4 个酰胺类及 17 个其它化合物。分析鉴定方法同黄酮类、蒽醌类等鉴定过程。

2.2 接骨七厘片血中移行成分鉴定

参照体外化学成分鉴定方法及相关文献，对接骨七厘片血清样品通过 LC/MS 检测，得总离子色谱图（图 7）。结合体外化学成分，共鉴定出

7 个入血成分，分别为甲基异茜草素、花生四烯酸、柠檬酸、焦谷氨酸、3-吡啶丙酸、16-羟基棕榈酸、油酸酰胺。其结构见图 8。

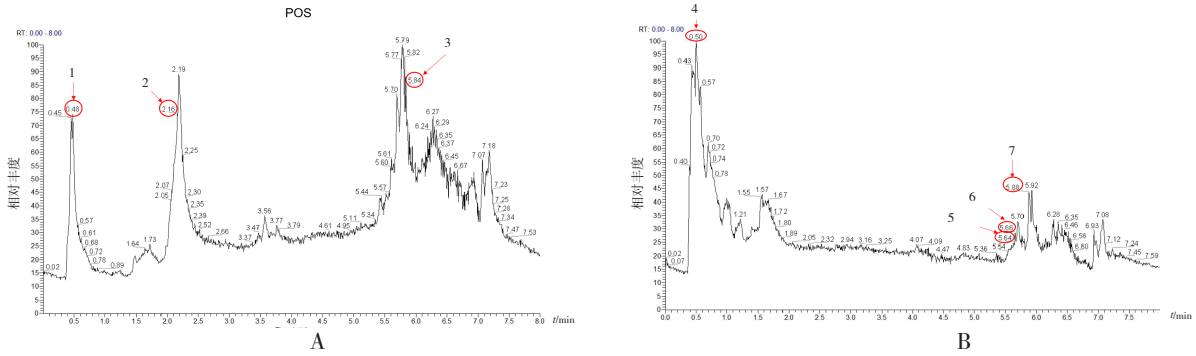


图7 接骨七厘片含药血清总离子色谱图

Figure 7. Total ion chromatogram of medicated serum of Jiegu Qili tablets

注：A. 正离子模式；B. 负离子模式；1. 焦谷氨酸；2. 3-吡啶丙酸；3. 油酸酰胺；4. 柠檬酸；5. 甲基异茜草素；6. 花生四烯酸；7. 16-羟基棕榈酸。

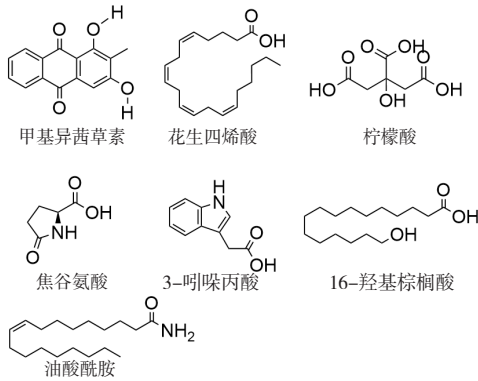


图8 接骨七厘片入血成分结构

Figure 8. The structure of the blood components of Jiegu Qili tablets

2.2.1 接骨七厘片含药血清HMDB分类

对所鉴定的化合物进行 HMDB (Human Metabolome Database) 分类，脂质与脂质样分子占比最重，为 45.78% (141 种)，其次为有机酸及其衍生物 18.51% (57 种)、有机杂环化合物 10.71% (33 种)、苯类化合物 8.12% (25 种)、有机氧化合物 5.19% (16 种) 等，其中能明确鉴定出 98 种化合物。接骨七厘片含药血清 HMDB 分类图见图 9。

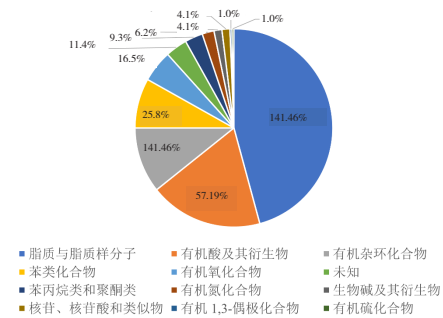


图9 接骨七厘片含药血清HMDB分类图

Figure 9. HMDB classification diagram of medicated serum of Jiegu Qili tablets

2.2.2 接骨七厘片含药血清PLS-DA分析

对血清样本进行偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)，以和 Y 矩阵的解释率 (R^2Y)、模型的预测能力 (Q^2) 等考察模型的有效性及其可靠程度，一般认为参数 R^2Y 和 $Q^2 > 0.5$ 则模型可靠。如图 10

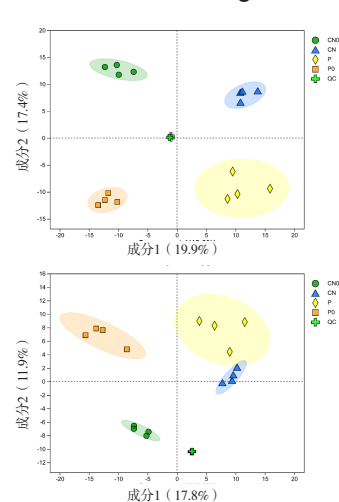


图10 接骨七厘片含药血清各类成分 PLS-DA得分图

Figure 10. PLS-DA score plot of various components of medicated serum of Jiegu Qili tablets

注：A. 正离子模式；B. 负离子模式；CN0为空白血清雌性组；CN为空白血清雄性组；P为含药血清雄性组；PO为含药血清雌性组；QC为质控样本。

所示，含药血清雌、雄性组和空白血清雌、雄性组明显分开，说明含药血清中与正常血清中的化学成分发生明显变化；正常雌性组与正常雄性组、含药血清雌性组与含药血清雄性组均明显分开，说明含药血清雌雄两组、正常雌雄两组化学成分也存在明显差异。

2.2.3 接骨七厘片含药血清代谢物聚类分析

研究表明，大鼠性别不同，其吸收、分布、代谢、排泄可能存在差异^[27]。如图 11 所示，大鼠性别不同，其排名前 50 的接骨七厘片代谢物存在明显差异，性别相同其成分大部分相同，对于雌性大鼠，含药血清组与正常血清组中 12(R)-HETE、NLc5Cer、PE-NMe2 (18:1(11Z)/15:0)、L-赖氨酸、异丁烯、丙酸、L-脯氨酸、CDP-DG (i-18:0/LTE4)、SM (d14:1/20:0) 等存在明显差异；对于雄性大鼠，含药血清组与正常血清组中 12(R)-HETE 与 11,17-二羟基-3,20-二氧戊环-4-烯-21-乙酸酯存在明显差异，但性别的差异导致药物在大鼠体内代谢物差异是否会影响接骨七厘片的药效作用还有待进一步研究。

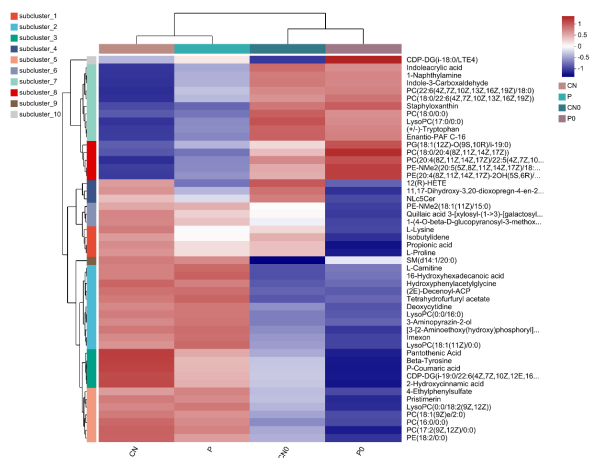


图 11 接骨七厘片含药血清聚类热图

Figure 11. Cluster heatmap of medicated serum of Jiegu Qili tablets

3 讨论

中药复方接骨七厘片具有较好的接骨止痛的作用，然而现有研究对于复方中有效化学成分及其入血成分尚不清楚，因此明确其主要化学成分及大鼠体内成分对于揭示接骨七厘片的药效物质基础，阐明其药效作用具有重要意义。

本研究主要通过 UPLC-Q-Exactive-MS 技术鉴定接骨七厘片成分及含药血清成分，分别得到相应

质谱图，同时获得各成分的保留时间、相对分子质量与特征结构碎片等重要信息，结合数据库鉴定入血成分。本研究将接骨七厘片水溶液、50% 甲醇溶液、纯甲醇溶液进行 UPLC-Q-Exactive-MS 分析比较，结果发现接骨七厘片 50% 甲醇提取液的响应较多，并进一步分析共鉴定出 75 种化合物。通过 LC-MS 技术对大鼠体内成分进行鉴定，结果发现空白对照组与接骨七厘片给药组化学成分存在明显差异，且性别不同其成分也存在一定差异。

结合体内外化学成分，共鉴定出 7 种入血成分，分别为甲基异茜草素、花生四烯酸、柠檬酸、焦谷氨酸、3-吡啶丙酸、16-羟基棕榈酸、油酸酰胺。研究表明，甲基异茜草素能明显抑制破骨前体细胞分化，削弱破骨细胞的过度激活从而抑制骨吸收，对因破骨细胞功能增强导致的骨质疏松、风湿性关节炎、癌症骨转移等骨代谢疾病有一定启示^[28]；柠檬酸可作为一种有效的骨靶向修饰分子，能显著提高药物递送系统的骨靶向性，在骨酸性条件下实现药物的快速释放，减少绝经后骨质疏松小鼠的骨质流失^[29]。花生四烯酸通过与二十碳五烯酸或二十二碳六烯酸结合显著增加骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化，并增加成骨 Runt 相关转录因子 2 的表达^[30]。研究表明甲基异茜草素、柠檬酸、花生四烯酸药理作用与接骨七厘片主要功效相吻合。而对于另外几种化合物，3-吡啶丙酸有益于肠上皮屏障功能并能缓解结肠炎小鼠免疫细胞的炎症反应^[31]并能通过修复肠道屏障及缓解炎症达到治疗 2 型糖尿病的效果^[32]；油酸酰胺能显著抑制脂多糖诱导的炎症因子的产生^[33]；焦谷氨酸能缓解高盐饮食小鼠肠道结构受损，降低小肠炎症因子的分泌^[34]且其与贝壳碳酸钙反应后生成的焦谷氨酸钙对抗骨质疏松有一定的效果^[35]。研究药物在体内的代谢过程和产物，是揭示药物在体内发挥作用的关键物质基础^[36]。这些成分能够经口服被吸收入血，很可能在机体内协同发挥其药效作用，可能是接骨七厘片的药效物质。

综上，本研究在大鼠体内检测到的入血成分较少，推测可能是由于血清样品中存在其他内源性物质，这些物质在机体代谢中可能发生质变而未被鉴定出来。因此，接骨七厘片的药效物质还需进一步挖掘。

参考文献

- 1 张晓芹, 林炳锋, 刘爽, 等. 基于UHPLC-Q/TOF-MS技术鉴定青钱柳叶在大鼠体内的入血成分及代谢产物[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(17): 2435-2445. [Zhang XQ, Lin BF, Liu S, et. Based on UHPLC-Q/TOF-MS technology, the blood components and metabolites of *Salix glauca* leaves in rats were identified[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2023, 40(17): 2435-2445.] DOI: [10.13748/j.cnki.issn.1007-7693.20222841](https://doi.org/10.13748/j.cnki.issn.1007-7693.20222841).
- 2 Xiong H, Li N, Zhao L, et al. Integrated serum pharmacochemistry, metabolomics, and network pharmacology to reveal the material basis and mechanism of Danggui Shaoyao San in the treatment of primary dysmenorrhea[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 942955. DOI: [10.3389/fphar.2022.942955](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.942955).
- 3 孙凯, 熊辉, 杨洪军, 等. 接骨七厘片(胶囊)治疗骨折临床应用专家共识[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(7): 1976-1981. [Sun K, Xiong H, Yang HJ, et. Expert consensus on the clinical application of seven centimeters (capsules) in the treatment of fractures[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(7): 1976-1981.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20221230.502](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20221230.502).
- 4 杨玮玲. 接骨七厘片联合低分子肝素钠注射液治疗腰椎骨折患者的临床疗效[J]. 医疗装备, 2022, 35(15): 111-113. [Yang WL. Clinical efficacy of Elderberry Qili tablets combined with low molecular weight heparin sodium injection in the treatment of patients with lumbar vertebral fractures[J]. Medical Equipment, 2022, 35(15): 111-113.] DOI: [10.3969/j.issn.1002-2376.2022.15.037](https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-2376.2022.15.037).
- 5 林社海. 接骨七厘片联合手法复位在桡骨远端骨折功能恢复中的应用效果[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(6): 160-161. [Lin SH. Effect of joint slices combined with manual reduction in the functional recovery of distal radius fractures[J]. Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use, 2021, 14(6): 160-161.] DOI: [10.15887/j.cnki.13-1389/r.2021.06.064](https://doi.org/10.15887/j.cnki.13-1389/r.2021.06.064).
- 6 李彬, 李广彬. 接骨七厘片联合交锁髓内钉固定术治疗胫腓骨骨折临床研究[J]. 新中医, 2022, 54(14): 95-98. [Li B, Li GB. Clinical study of the treatment of tibia and fibular fracture by interlocking intramedullary nail fixation[J]. Journal of New Chinese Medicine, 2022, 54(14): 95-98.] DOI: [10.13457/j.cnki.jncm.2022.14.021](https://doi.org/10.13457/j.cnki.jncm.2022.14.021).
- 7 周美丽, 韩妮萍. 当归的有效成分及药理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2024, 17(7): 1420-1427. [Zhou ML, Han NP. Research progress on the active ingredients and pharmacological effects of *Angelica sinensis*[J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2024, 17(7): 1420-1427.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-1749.2024.07.038](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-1749.2024.07.038).
- 8 周群, 曾弦, 黄丹, 等. 骨碎补化学成分和生物活性研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(8): 2727-2741. [Zhou Q, Zeng X, Huang D, et al. Research progress on chemical composition and biological activity of bone fragmentation[J]. Institutes of Science and Development, Chinese Academy of Sciences, 2021, 23(8): 2727-2741.] DOI: [10.11842/wst.20210203004](https://doi.org/10.11842/wst.20210203004).
- 9 叶琪, 苏宏娜, 杨艺, 等. 乳香有效成分治疗冠心病的作用机制研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(16): 5379-5389. [Ye Q, Su HN, Yang Y, et al. Research progress on the mechanism of action of Frankincense active ingredient in the treatment of coronary heart disease[J]. Chinese Herbal Medicines, 2023, 54(16): 5379-5389.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2023.16.027](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2023.16.027).
- 10 曾健, 李聪, 熊磊, 等. 大黄有效成分及其药理作用研究进展[J]. 山东化工, 2024, 53(10): 135-137. [Zeng J, Li C, Xiong L, et. Research progress on the active components of Rhubarb and its pharmacological effects[J]. Shandong Chemical Industry, 2024, 53(10): 135-137.] DOI: [10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2024.10.075](https://doi.org/10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2024.10.075).
- 11 王潇, 文敏, 郑沛, 等. 土鳖虫化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. 环球中医药, 2024, 17(5): 933-940. [Wang X, Wen M, Zheng P, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of Soil soft-shelled turtle insect and its prediction and analysis of quality marker (Q-Marker)[J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2024, 17(5): 933-940.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-1749.2024.05.035](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-1749.2024.05.035).
- 12 周露, 段亚飞, 王奕航, 等. 血竭化学成分及其糖尿病肾脏疾病肾小管损伤保护作用评价[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(5): 1249-1254. [Zhou L, Duan YF, Wang YH, et al. Evaluation of chemical components of blood exhaustion and its protective effect on renal tubular injury in diabetic kidney disease[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(5): 1249-1254.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20231207.202](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20231207.202).
- 13 赵孟依, 毕成浩, 李梦娇, 等. 基于UPLC-Q-TOF/

- MS 技术的龙生蛭胶囊成分快速分析[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2024, 26(8): 2144-2153. [Zhao MY, Bi CH, Li MJ, et al. Rapid analysis of components of dragon leech capsules based on UPLC-Q-TOF/MS technology[J]. Institutes of Science and Development, Chinese Academy of Sciences, 2024, 26(8): 2144-2153.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-SJKX2024111200R.htm>.
- 14 刘佳敏, 黄海, 梁朋朋, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 结合网络药理学探讨黑逍遥散改善失眠大鼠学习记忆能力的药效物质基础及作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 19-30. [Liu JM, Huang H, Liang PP, et al. Based on UPLC-Q-TOF-MS combined with network pharmacology, the pharmacodynamic material basis and mechanism of Hei Xiaoyaosan in improving the learning and memory ability of insomnia rats were discussed[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2024, 30(21): 19-30.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20250162](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20250162).
- 15 倪林君, 刘晓凤, 胡筱, 等. 虫类药土鳖虫化学成分研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 170-176. [Ni LJ, Liu XF, Hu X, et al. Research progress on the chemical composition of insect medicine soil soft-shelled turtle insects[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2024, 42(11): 170-176.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2024.11.033](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2024.11.033).
- 16 刘金金, 刘艳梅, 梁慧, 等. 三化汤化学成分鉴定[J]. 中成药, 2024, 46(4): 1195-1208. [Liu JJ, Liu YM, Liang H, et al. Identification of chemical components of Sanhua decoction[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2024, 46(4): 1195-1208.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.021](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.021).
- 17 李晓红. 骨碎补药材质量控制方法及药动学研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10163-2010171659.htm>.
- 18 杨宝. 没药化学成分的研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023. DOI: [10.27180/d.cnki.gjxzc.2023.000154](https://doi.org/10.27180/d.cnki.gjxzc.2023.000154).
- 19 李海英, 贺鹏, 李文皎, 等. 补阳还五汤化学成分、药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测[J]. 中草药, 2024, 55(13): 4575-4587. [Li HY, He P, Li WJ, et al. Research progress on chemical composition, pharmacological effects and prediction of quality markers (Q-Marker) of Buyang Huanwu decoction[J]. Chinese Herbal Medicines, 2024, 55(13): 4575-4587.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.029](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.029).
- 20 张方晴. 骨碎补总黄酮抗糖皮质激素性骨质疏松潜在有效成分及其分子机制的初步探讨[D]. 北京: 北京协和医学院, 2023. DOI: [10.27648/d.cnki.gzxhu.2023.000563](https://doi.org/10.27648/d.cnki.gzxhu.2023.000563).
- 21 刘洪玲. 乳香挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 370-371. [Liu HL. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of the chemical composition of frankincense volatile oils[J]. Lishizhen Medicine and Materia Research, 2009, 20(2): 370-371.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-0805.2009.02.060](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-0805.2009.02.060).
- 22 Zhao X, Wei J, Yang M. Simultaneous analysis of iridoid glycosides and anthraquinones in *Morinda officinalis* using UPLC-QQQ-MS/MS and UPLC-Q/TOF-MS(E)[J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1070. DOI: [10.3390/molecules23051070](https://doi.org/10.3390/molecules23051070).
- 23 陈志. 基于基因测序和 UPLC-Q-TOF/MS 对四个鸡血藤属物种进行叶绿体基因组特征分析及化学成分分析[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023. DOI: [10.27180/d.cnki.gjxzc.2023.000624](https://doi.org/10.27180/d.cnki.gjxzc.2023.000624).
- 24 Yu H, Fu J, Guo H H, et al. Metabolites analysis of anti-myocardial ischemia active components of *Saussurea involucreata* based on gut microbiota-drug interaction[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7457. DOI: [10.3390/ijms23137457](https://doi.org/10.3390/ijms23137457).
- 25 张程瑞. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的喜树花果茎叶的靶向代谢组学分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2020. DOI: [10.27345/d.cnki.gsnyu.2020.001038](https://doi.org/10.27345/d.cnki.gsnyu.2020.001038).
- 26 Lima K, Malmir M, Camoes SP, et al. Quality, safety and biological studies on *Campylanthus glaber* aerial parts[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(10): 1373. DOI: [10.3390/ph16101373](https://doi.org/10.3390/ph16101373).
- 27 Zuo MT, Gong MD, Ma X, et al. Sex differences in the in vivo exposure process of multiple components of gelsemium elegans in rats[J]. *Metabolites*, 2022, 13(1): 33. DOI: [10.3390/metabo13010033](https://doi.org/10.3390/metabo13010033).
- 28 刘元. 甲基异茜草素对破骨细胞分化调节机制的研究[D]. 陕西延安: 延安大学, 2021. DOI: [10.27438/d.cnki.gyadu.2021.000246](https://doi.org/10.27438/d.cnki.gyadu.2021.000246).
- 29 Chen ZH, Du DY, Fu YF, et al. Citric acid-modified pH-sensitive bone-targeted delivery of estrogen for the treatment of postmenopausal osteoporosis[J]. *Mater Today Bio*, 2023, 22: 100747. DOI: [10.1016/](https://doi.org/10.1016/)

- [j.mtbio.2023.100747](https://doi.org/10.1186/j.mtbio.2023.100747).
- 30 Abshirini M, Ilesanmi-Oyelere BL, Kruger MC. Potential modulatory mechanisms of action by long-chain polyunsaturated fatty acids on bone cell and chondrocyte metabolism[J]. *Prog Lipid Res*, 2021, 83: 101113. DOI: [10.1016/j.plipres.2021.101113](https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101113).
- 31 Wlodarska M, Luo C, Kolde R, et al. Indoleacrylic acid produced by commensal peptostreptococcus species suppresses inflammation[J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(1): 25–37. DOI: [10.1016/j.chom.2017.06.007](https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.06.007).
- 32 Liu D, Zhang S, Li S, et al. Indoleacrylic acid produced by *Parabacteroides distasonis* alleviates type 2 diabetes via activation of AhR to repair intestinal barrier[J]. *BMC Biol*, 2023, 21(1): 90. DOI: [10.1186/s12915-023-01578-2](https://doi.org/10.1186/s12915-023-01578-2).
- 33 Moon SM, Lee SA, Hong JH, et al. Oleamide suppresses inflammatory responses in LPS-induced RAW264.7 murine macrophages and alleviates paw edema in a carrageenan-induced inflammatory rat model[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56: 179–185. DOI: [10.1016/j.intimp.2018.01.032](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.032).
- 34 徐琰昭, 汤梦琪, 徐境含, 等. 焦谷氨酸对高盐饮食小鼠肠道健康及肠道菌群的作用 [J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(2): 102–108. [Xu JZ, Tang MQ, Xu JH, et al. Effect of pyroglutamic acid on intestinal health and intestinal microbiota in mice on high-salt diet[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(2): 102–108.] DOI: [10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024997](https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024997).
- 35 李焱. 焦谷氨酸钙的抗骨质疏松、抗阿尔茨海默症及抗疲劳活性初步研究 [D]. 山东青岛: 青岛大学, 2020. DOI: [10.27262/d.cnki.gqdau.2020.001866](https://doi.org/10.27262/d.cnki.gqdau.2020.001866).
- 36 杨丽平, 杜茂波, 马放, 等. 基于 LC/MS 技术的益气清热膏冻干粉及含药血清成分鉴定 [J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(8): 4725–4730. [Yang LP, Du MB, Ma F, et al. Identification of lyophilized powder and medicated serum components of Yiqi Qingheat cream based on LC/MS technology[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2022, 37(8): 4725–4730.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTTotal-BXY202208100.htm>.

收稿日期: 2024 年 04 月 30 日 修回日期: 2024 年 08 月 08 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳