

基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS分析甘松新酮及其代谢产物在大鼠体内的分布

石利娟^{1,2}, 赵雪莲^{2,3}, 田一凡², 李利民⁴, 刘圆², 周小江^{1*}, 黄艳菲^{2*}

(1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208; 2. 西南民族大学, 青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室, 成都 610225;
3. 阿坝师范学院, 四川阿坝 623002; 4. 四川省中医药科学院, 成都 610042)

[摘要] 目的:采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS)分析甘松活性成分甘松新酮在大鼠体内的代谢和分布情况,并推测其代谢途径。方法:大鼠连续3 d灌胃30 mg·kg⁻¹剂量的甘松新酮混悬液,于设定的时间点收集血浆、尿液、粪便,以及心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、肠组织,经处理后进行UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS分析,采用Xcalibur 2.2软件分析质谱数据,通过比较给药组和空白组的基峰色谱和提取离子色谱搜索代谢产物,再根据色谱峰相对保留时间(t_R)、准分子离子峰、精确分子质量及二级质谱图碎片离子等信息,利用SciFinder、PubChem等数据库检索元素组成和参考相关文献,从而鉴定可能的代谢产物,并推断代谢途径。结果:共鉴定甘松新酮代谢产物30种,从尿液、粪便、血浆、脑、心、肝、脾、肺、肾、胃、肠中分别鉴定了15、19、12、7、4、11、8、13、13、8、12种代谢产物。甘松新酮在大鼠体内主要通过羟基化、去羟基化、还原、脱氢、水合、脱水、羧基化、葡萄糖醛酸化和去羟基异丙基等途径代谢。结论:甘松新酮可在大鼠体内发生I相和II相代谢,代谢产物广泛分布在大鼠的主要器官中,该研究结果可为甘松新酮的药效物质基础、作用机制研究,以及临床应用提供依据。

[关键词] 甘松新酮; 体内代谢; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS); 组织分布; 倍半萜; 甘松; 代谢途径

[中图分类号] R22;R28;R969.1;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2024)22-0187-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20241163 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240528.1632.002>

[网络出版日期] 2024-05-29 13:55:41

Distribution of Nardosinone and Its Metabolites in Rats Analyzed by UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS

SHI Lijuan^{1,2}, ZHAO Xuelian^{2,3}, TIAN Yifan², LI Limin⁴, LIU Yuan²,
ZHOU Xiaojiang^{1*}, HUANG Yanfei^{2*}

(1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Tibetan Plateau Ethnic Medicinal Resources Protection and Utilization Key Laboratory of National Ethnic Affairs Commission of the People's Republic of China, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China;
3. Aba Teachers College, Aba 623002, China; 4. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610042, China)

[Abstract] **Objective:** Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS) was used to investigate the metabolism

[收稿日期] 2024-03-02

[基金项目] 四川省自然科学基金项目(2022NSFSC1605);西南民族大学中央高校基本科研业务费专项(ZYN2023071)

[第一作者] 石利娟,在读硕士,从事中药鉴定方向的研究,E-mail:1759018079@qq.com

[通信作者] *周小江,博士,教授,从事中药有效成分与品质评价方向的研究,E-mail:gale9888@163.com;

*黄艳菲,博士,助理研究员,从事中药药效物质及质量评价方向的研究,Tel:028-89165778,E-mail:47118549@qq.com

and distribution of nardosinone in rats, then metabolic pathways were speculated. **Method:** Rats were administered with $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of nardosinone suspension by gavage for 3 consecutive days, and plasma, urine, feces, and tissues of heart, liver, spleen, lung, kidney, brain, stomach, and intestine were collected at predetermined time points. After treatment, the samples were processed for UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS, and the MS data were analyzed using Xcalibur 2.2 software. The metabolites were searched by comparing the base peak chromatogram and extracted ion chromatogram between the treated group and blank group, and based on the relative retention time(t_R), quasi-molecular ion peak, precise molecular mass, and fragment ions of MS/MS, the elemental composition were searched using databases such as SciFinder and PubChem, as well as referring to relevant literature, the possible metabolites were identified and the metabolic pathways were inferred. **Result:** A total of 30 metabolites of nardosinone were identified, including 15, 19, 12, 7, 4, 11, 8, 13, 13, 8 and 12 metabolites in urine, feces, plasma, brain, heart, liver, spleen, lung, kidney, stomach and intestine, respectively. The main metabolic pathways of nardosinone in rats were hydroxylation, dehydroxylation, reduction, dehydrogenation, hydration, dehydration, carboxylation, glucuronidation, and dehydroxy-isopropyl. **Conclusion:** Nardosinone can be metabolized by phase I and phase II metabolism in rats, and the metabolites are widely distributed in the major organs. The results of this study can provide a basis for further research on the pharmacodynamic material basis, pharmacological mechanism and clinical application of nardosinone.

[Keywords] nardosinone; *in vivo* metabolism; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS); tissue distribution; sesquiterpene; Nardostachys Radix et Rhizoma; metabolic pathways

甘松为败酱科甘松属植物甘松 *Nardostachys jatamansi* 的干燥根及根茎,具有悠久的药用历史,归脾、胃经,有理气止痛、开郁醒脾、安神的功效,内服用于治疗脾胃气滞、脘腹胀痛、痰眩、瘵病癫痫、心悸怔忡等病症,外用可用于治疗牙痛和脚气等^[1]。现代药理研究发现,甘松作用广泛,可作用于心血管系统、神经系统、内分泌系统和消化系统,具有抗心律失常、抗抑郁、抗癫痫、抗惊厥、抑菌、抗炎等作用^[2]。产生这些功效的药效物质来源于甘松中丰富的化学成分,研究表明,甘松主要含有萜类、挥发油类、黄酮类、香豆素类、木脂素类化合物等,其中倍半萜类成分甘松新酮是甘松的主要化学成分^[3]。目前,大量研究已证实甘松新酮具有心肌细胞保护^[4-7]、抗心律失常^[8-9]、神经元保护^[10-12]、促神经生长^[13-15]及抗抑郁、调控肝脏糖脂代谢紊乱等作用,是甘松的主要药效物质之一^[2]。

药效物质的在组织器官的分布与药物作用靶点和中药归经的解释存在密切关系^[16],而发挥药效的物质既包括原型成分,还可能包括代谢产物,这些物质又被称为“显效形式”^[17-18]。通过研究药物的原型成分和代谢产物在体内的组织分布,可阐明药效物质的作用靶点、明确药物在作用靶点的显效形式及研究药材的性味归经,从而更有效指导临床用

药。前期研究发现,甘松新酮静脉注射后在大鼠体内快速消除,半衰期为 2 h ^[19],并且可在小鼠体内发生广泛的代谢,产生丰富的代谢产物,代谢类型包括羟基化、还原、脱水、葡萄糖醛酸化、磺化、去甲基化、羧基化等^[20]。然而,有关甘松新酮及其代谢产物的体内组织分布鲜有报道,尚不清楚甘松新酮及其代谢产物的体内分布规律,因此,有必要对甘松新酮及其代谢产物的体内组织分布进行研究,为阐明甘松广泛作用功效的物质基础提供研究依据。超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS)具有高灵敏度、高准确度的特点,是复杂体系中化合物结构鉴定的有效手段^[21-24],因此,本研究拟采用该方法,研究灌胃给药后,甘松新酮在大鼠血浆、尿液和粪便中的代谢产物,以及甘松新酮和代谢产物在主要脏器心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、肠的分布特征,为进一步阐明甘松新酮和甘松的药效物质基础和作用机制提供科学依据。

1 材料

Vanquish 型超高效液相色谱仪、Q-Exactive Focus 型超高分辨质谱仪、Xcalibur 质谱工作站、Sorvall ST 16R 型高速冷冻离心机(美国 Thermo Scientific 公司),AE240 型十万分之一电子天平[梅

特勒-托利多仪器(上海)有限公司],DXL-D型大鼠代谢笼(苏州市冯氏实验动物设备有限公司),MD200-2型氮吹仪(杭州奥盛仪器有限公司),GWB-1E型超纯水系统(北京普析通用仪器有限公司),甘松新酮(成都普菲德生物技术有限公司,批号19112604,纯度 $\geq 98\%$),0.9%氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号L121052608),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津福晨化学试剂有限公司,批号20221009),乙腈、甲醇均为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。SD雄性大鼠,体质量180~220 g,由四川省中医药科学院实验动物中心提供,合格证号SCXK(川)2023-0019。本动物实验经西南民族大学学术委员会批准,批准编号SWU-202401160。

2 方法

2.1 溶液制备 称取甘松新酮适量,加入0.5% CMC-Na溶液,配成质量浓度为 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的甘松新酮混悬液,每日现配现用。

2.2 动物实验 6只SD大鼠随机分为空白组和给药组,每组3只,饲养于SPF级动物房,温度 $22\sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$,昼夜循环12 h,实验前适应性喂养5 d。给药组按 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量灌胃给药,连续给药3 d,空白组给予相同体积的0.5% CMC-Na溶液,给药期间正常饮食。收集给药期间的尿液和粪便,尿液收集容器中提前加入适量甲醇防腐,每隔6 h收集尿液,收集后放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱暂存,全部收集后将其合并, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩至干,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。每隔6 h收集1次粪便,收集后放入烘箱(不超过 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$)烘至完全干燥状态,将其合并,置于干燥器中保存备用。第3次给药后,分别于0.5、1、1.5 h各取1只大鼠,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,心脏穿刺采血。不同时间点血液 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min(离心半径5.5 cm,下同),取上清液即为不同时间点血浆样品,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。取血后,立即用 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的生理盐水快速进行心脏灌流至肝脏呈现土黄色时停止,分别取心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、肠组织, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 生理盐水反复冲洗去除表面浮血、黏膜及内容物等杂质后,用滤纸吸干水分,称取质量后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

2.3 生物样品处理

2.3.1 尿液样品 取减压浓缩后的尿液固体适量,加入4倍量甲醇超声提取30 min(频率40 kHz,功率300 W,下同),提取液 $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩至干,称取1 g加甲醇

5 mL超声溶解后过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,待测。

2.3.2 粪便样品 将干燥的粪便研碎混匀,称取适量粪便粉末加入5倍量甲醇超声提取3次,每次30 min,合并提取液,于 $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩至干,称取100 mg加入甲醇3 mL超声溶解后过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,待测。

2.3.3 血浆样品 取不同时间点的血浆各2 mL,合并后加入4倍量甲醇超声30 min, $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min去除蛋白,取上清液于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩至干,加甲醇300 μL 溶解后过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,待测。

2.3.4 组织样品 分别取各脏器适量,加4倍量 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的生理盐水,分别匀浆后,取匀浆液6 mL,加入8倍量甲醇超声提取30 min, $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液,于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩至干,加甲醇1 mL复溶后过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,得各脏器样品,待测。

2.3.5 检测条件 色谱条件为ACQUITY UPLC HSS C_{18} 色谱柱($2.1\text{ mm}\times 75\text{ mm}$, $1.8\text{ }\mu\text{m}$),以流动相水(A)-乙腈(B),梯度洗脱($0\sim 3\text{ min}$, $2\%\sim 7\%\text{ B}$; $3\sim 10\text{ min}$, $7\%\sim 20\%\text{ B}$; $10\sim 14\text{ min}$, $20\%\sim 68\%\text{ B}$; $14\sim 25\text{ min}$, $68\%\sim 90\%\text{ B}$),柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样体积 $2\text{ }\mu\text{L}$,流速 $0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。质谱条件为电喷雾离子源(ESI),正离子模式检测,传输管温度 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$,喷雾电压3.5 kV,辅助气流量 $3\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,辅助气温度 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$,锥孔气流量 $12\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,扫描模式为Full MS/dd-MS²,Full MS分辨率70 000,dd-MS²分辨率17 500,扫描范围 m/z 100~1 000。

2.3.6 数据处理 根据文献[25]方法,对甘松新酮在大鼠体内的代谢产物进行分析。构建甘松新酮已知代谢产物数据库和特征中性丢失数据库,采用Xcalibur 2.2软件分析质谱数据,通过比较给药组和空白组的基峰色谱(BPCs)和提取离子色谱(EICs)搜索代谢产物,再根据色谱峰相对保留时间(t_R)、准分子离子峰、精确分子质量及二级质谱图碎片离子等信息,利用SciFinder、PubChem等数据库检索元素组成和参考相关文献,从而鉴定可能的代谢产物,并推断代谢途径,采用ChemDraw 19.0软件绘制甘松新酮及其代谢产物的结构、质谱裂解规律与可能的代谢途径。

3 结果

3.1 甘松新酮的质谱裂解规律分析 正离子模式下,在尿液中检测到了甘松新酮原型,其准分子离子峰为 m/z 251.164 0 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 。甘松新酮的过氧桥易发生断裂、失去1分子 H_2O ^[26],形成单氧四元环的碎片离子 m/z 233.153 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^{+}$,进一步失去

1分子H₂O,产生 m/z 215.141 8 [M+H-2H₂O]⁺。另一方面,甘松新酮准分子离子失去羟基异丙基(C₃H₆O)生成甘松新酮酸 m/z 193.1216 [M+H-C₃H₆O]⁺[20],进一步丢失中性碎片,依次形成 m/z 151.075 4 [M+H-C₃H₆O-C₃H₆]⁺、 m/z 123.044 1 [M+H-C₃H₆O-C₃H₆-C₂H₄]⁺、 m/z 177.090 9 [M+H-C₃H₆O-CH₄]⁺、 m/z 149.096 2 [M+H-C₃H₆O-CH₄-CO]⁺、 m/z 135.080 5 [M+H-C₃H₆O-CH₄-CO-CH₂]⁺、 m/z 121.064 9 [M+H-C₃H₆O-CH₄-CO-2CH₂]⁺; m/z 233.153 2 [M+H-H₂O]⁺还可进一步裂解,形成 m/z 215.141 8 [M+H-2H₂O]⁺、 m/z 219.137 9 [M+H-H₂O-CH₂]⁺、 m/z 205.158 4 [M+H-H₂O-CO]⁺、 m/z 191.142 8 [M+H-H₂O-CO-CH₂]⁺、 m/z 175.111 7 [M+H-H₂O-CO-CH₂-CH₄]⁺、 m/z 161.096 4 [M+H-H₂O-CO-CH₂-CH₄-CH₂]⁺、 m/z 163.111 7 [M+H-H₂O-CO-CH₂-C₂H₄]⁺、 m/z 145.102 3 [M+H-H₂O-CO-CH₂-C₂H₄-

H₂O]⁺、 m/z 131.078 5 [M+H-H₂O-CO-CH₂-C₂H₄-H₂O-CH₂]⁺、 m/z 103.062 5 [M+H-H₂O-CO-CH₂-C₂H₄-H₂O-CH₂-C₂H₄]⁺、 m/z 89.043 2 [M+H-H₂O-CO-CH₂-C₂H₄-H₂O-CH₂-C₂H₄-CH₂]⁺。甘松新酮二级质谱及主要碎片的可能的裂解途径见增强出版附加材料。

3.2 甘松新酮代谢产物分析 从大鼠含药尿液、粪便和血浆中共鉴定出甘松新酮的代谢产物15、19、12种,大鼠主要组织中鉴定的代谢产物数量分别为心脏4种、肝11种、脾8种、肺13种、肾13种、脑7种、胃8种、肠12种。除去重复的代谢产物,共鉴定出30种甘松新酮代谢产物。在大鼠体内,甘松新酮发生羟基化、去羟基化、脱氢、还原、脱水、水合、葡萄糖醛酸化、去羟基异丙基和羧基化等代谢反应。代谢产物信息见表1,甘松新酮代谢产物可能的代谢途径见图1。

表1 甘松新酮及其代谢产物在大鼠尿液、粪便、血浆及器官组织中的分布

Table 1 Distribution of nardosinone and its metabolites in urine, feces, plasma and organ tissues of rats

代谢物	<i>t_R</i> /min	分子式	<i>m/z</i> 实测值	δ /ppm	碎片离子	代谢类型	来源
M0	15.51	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	251.164 0	-0.17	233.153 2、219.137 9、205.158 4、191.142 8、177.090 9、161.096 4、149.096 2、135.080 5、107.085 8	甘松新酮原型	a
M1	8.19	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	267.159 0	-0.40	249.148 3、231.137 7、209.117 4、193.086 5、191.106 6、177.127 3、175.075 8、151.075 0、107.085 8	单羟基化	a、g、h、j
M2	8.25	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	267.157 0	-0.40	249.148 2、231.137 7、209.117 1、193.086 1、191.106 8、177.127 3、151.075 2、107.085 8	单羟基化	b~f、h、i、k
M3	10.30	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	267.158 9	-0.70	249.149 4、231.138 6、209.116 3、207.099 9、193.086 1、191.105 5、177.127 8、175.074 8、151.075 4、107.086 3	单羟基化	c、f
M4	13.45	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	267.159 0	-0.40	249.149 8、231.138 3、203.142 7、191.106 0、177.127 8、167.106 0、163.112 6、151.075 5、107.086 3	单羟基化	c、f、g、h、j、k
M5	5.27	C ₁₅ H ₂₂ O ₅	283.153 8	-0.60	265.143 7、247.132 3、229.122 0、203.106 7、185.095 8、175.112 1、157.102 0	二羟基化	a、c
M6 ¹⁾	9.71	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.169 2	-0.10	217.158 5、199.148 4、191.143 2、179.107 6、161.095 8、135.080 1、121.101 5、107.086 2	去羟基化	a、b、e~i、k
M7 ¹⁾	10.43	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.169 1	-0.60	217.158 6、199.148 2、191.143 7、189.163 2、179.105 4、175.147 4、161.095 8、147.117 3、135.080 0、133.101 8	去羟基化	c、k
M8 ¹⁾	10.75	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.169 2	-0.20	217.158 7、207.174 0、199.148 5、191.143 3、189.163 3、179.105 6、175.147 5、161.096 0、135.080 1、121.101 4	去羟基化	a、b、f、h、i、k
M9 ¹⁾	12.69	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.169 2	-0.10	179.105 6、175.112 3、157.100 3、135.080 1、133.101 8、123.080 0、119.085 2、107.085 2	去羟基化	c、f、k
M10 ¹⁾	14.54	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.168 9	-1.30	217.158 7、201.127 6、199.148 6、189.163 3、175.112 1、161.095 5、147.117 1、135.080 0、123.081 0	去羟基化	c、i、k
M11 ¹⁾	10.43	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	253.179 6	-1.00	235.169 2、217.158 6、209.153 7、199.148 1、189.163 7、175.147 4	还原	a~d、h、j、k
M12 ¹⁾	11.94	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	253.179 7	-0.50	235.168 2、217.158 8、209.153 7、199.147 9、191.143 6、189.163 4、175.147 6	还原	b、c
M13 ¹⁾	12.69	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	253.179 7	-0.40	235.168 3、217.158 6、191.143 4、173.133 1、145.101 8、131.085 6	还原	c、f、j

续表 1

代谢物	t_R/min	分子式	m/z 实测值	δ/ppm	碎片离子	代谢类型	来源
M14 ¹⁾	6.88	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.148 5	-0.30	231.138 9、213.126 9、203.142 0、191.105 9、177.127 7、脱氢 163.112 7、149.059 5、135.080 3		a、d、e、i
M15 ¹⁾	8.35	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.148 5	-0.10	231.138 6、213.126 1、203.142 4、191.105 9、177.128 1、脱氢 163.112 4、149.059 5、135.080 1		a、c、d、f、h、i
M16 ¹⁾	10.80	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.148 4	-0.60	231.139 4、205.159 0、191.108 1、161.060 2、149.059 4、脱氢 135.080 2、119.085 3		a~d、h
M17 ¹⁾	14.25	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.148 5	-0.20	231.137 0、221.154 2、207.100 8、189.090 4、179.106 4、脱氢 175.075 6、165.091 9、161.096 4		b、c、h、i、j
M18 ¹⁾	14.49	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.147 9	-2.40	231.139 6、219.137 8、205.159 0、191.108 2、161.060 2、脱氢 149.059 4、137.060 3		b、c、g、h、i
M19 ¹⁾	6.43	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	269.174 5	-0.90	251.165 4、233.152 0、215.141 7、207.136 6、193.121 7、水合 189.126 4、187.148 3、181.086 5		c、h、i
M20 ¹⁾	12.72	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	269.174 5	-0.90	251.165 3、233.152 4、215.141 6、207.139 4、189.126 1、水合 161.132 7、147.117 2		a、c、g、i、k
M21 ¹⁾	12.86	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	269.174 5	-0.80	251.165 2、233.152 3、215.141 6、207.138 9、189.126 2、水合 161.132 7、147.117 1		a、b、d、f~k
M22 ¹⁾	9.23	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233.153 5	-0.40	215.143 0、205.158 7、197.132 5、189.126 3、161.132 8、脱水 147.117 2		a、i
M23 ¹⁾	12.78	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233.153 5	-0.50	215.141 5、205.159 7、197.132 0、189.126 3、161.132 8、脱水 147.117 3		a、f、g
M24 ¹⁾	14.52	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233.153 6	-0.20	215.141 5、205.159 8、197.134 6、191.105 8、189.126 3、脱水 177.092 0、163.075 1、161.132 8		a~k
M25	10.59	C ₁₆ H ₂₄ O ₆	313.165 7	3.80	239.171 0、213.148 7、201.113 5、183.138 5、171.101 1	羟基化、还原、羧基化	b
M26	11.89	C ₁₆ H ₂₄ O ₆	313.164 2	-1.30	269.174 1、205.050 4、185.117 6、171.101 0、157.086 7	羟基化、还原、羧基化	c
M27	13.21	C ₁₆ H ₂₄ O ₆	313.162 6	-6.40	269.178 3、209.118 1、191.108 2、183.138 5、165.092 1	羟基化、还原、羧基化	a、b
M28	11.78	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	263.127 7	-0.50	245.118 1、205.086 6、175.040 3、147.052 1	二羟基化、脱氢、脱水	k
M29	6.47	C ₂₁ H ₃₀ O ₉	427.195 1	-2.60	369.154 5、193.035 0、175.025 0、157.013 9、131.033 6、葡萄糖醛酸化 113.023 5、103.002 3、85.028 5		a
M30	8.36	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	207.101 5	-0.30	191.070 6、189.091 8、177.054 5、175.075 5、165.091 9	去羟基异丙基、二 羟基化、脱水	c、j

注：a.尿液；b.血浆；c.粪便；d.脑；e.心；f.肝；g.脾；h.肺；i.肾；j.胃；k.肠；¹⁾新代谢产物

M1~M4的准分子离子峰分别为 m/z 267.159 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 m/z 267.157 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 m/z 267.158 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 m/z 267.159 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ，分子式预测为 C₁₅H₂₂O₄，比甘松新酮多 16 Da，推测为甘松新酮的单羟基化代谢产物。根据 M1~M4 的二级质谱图显示相同的特征碎片离子 m/z 249 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 231 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 191 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_6]^+$ 、 m/z 177 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{H}_6-\text{CH}_2]^+$ ，分别比甘松新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 215.141 8 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 175.111 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_4]^+$ 、 m/z 161.096 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_4-\text{CH}_2]^+$ 多 16 Da。 m/z 249.14 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 与 m/z 231.13 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ 表明 M1~M4 均可连续丢失两分子 H₂O，与甘松新酮过氧桥环连续丢失 H₂O 而失去过氧桥的规律一致，故推测

M1~M4 为甘松新酮单羟基化代谢产物。其中，M2 的二级质谱中， m/z 267.157 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 丢失碎片 C₅H₈O₂ 产生 m/z 167.107 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2]^+$ ，进而失去 CH₄ 和 CO₂ 分别产生 m/z 151.075 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CH}_4]^+$ 和 m/z 107.085 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CH}_4-\text{CO}_2]^+$ ，丢失 CO₂ 表明羰基邻位 C 上有 O，因此推测羟基化位于 C-8 上，该结果与文献[20]鉴定的 8-羟基甘松新酮一致，故鉴定 M2 为 8-羟基甘松新酮，M2 在正离子模式下可能的裂解途径见增强出版附加材料。

M5 的准分子离子峰为 m/z 283.153 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ，分子式预测为 C₁₅H₂₂O₅，比甘松新酮多 32 Da，推测为甘松新酮的二羟基化代谢产物。二级质谱中，准分子离子连续丢失 H₂O，产生碎片离子 m/z 265.143 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 247.132 3 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ 、

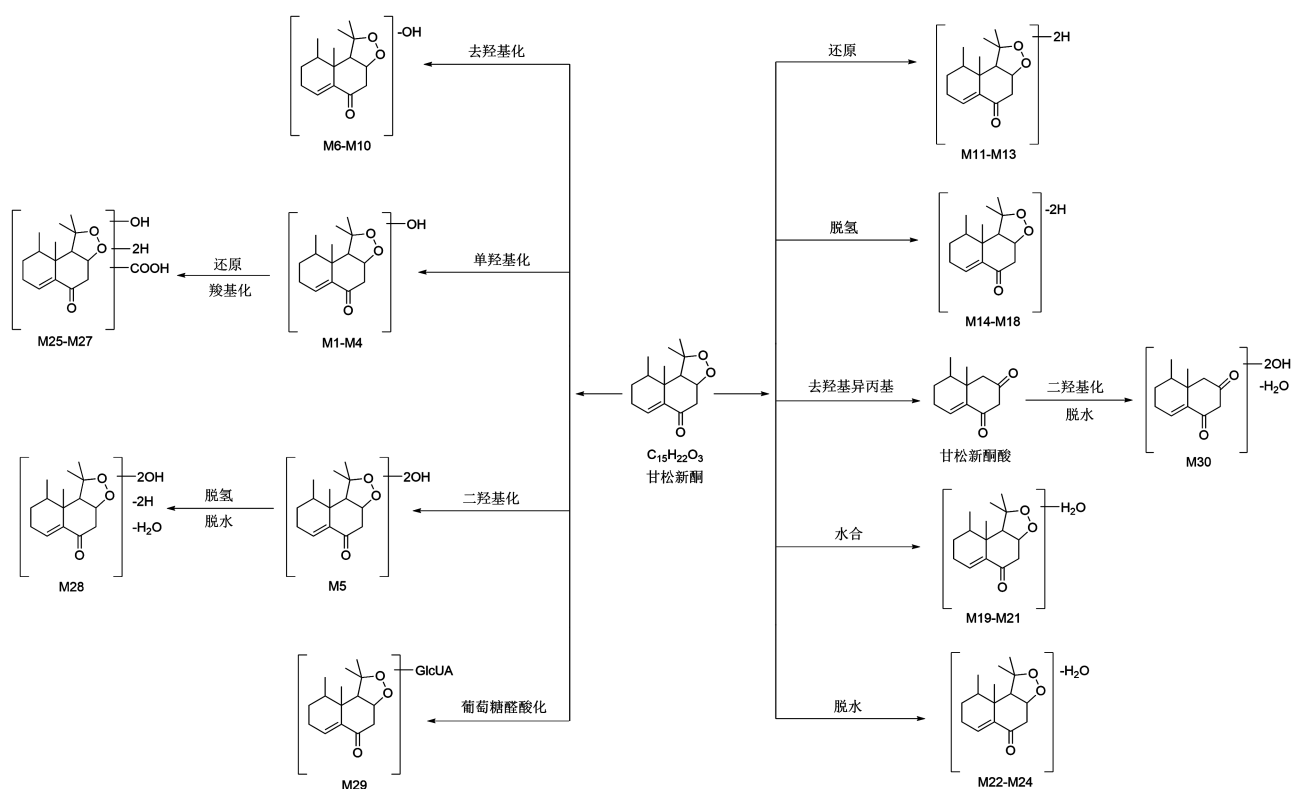


图1 甘松新酮可能的代谢途径

Fig. 1 Possible metabolic pathways of nardosinone

m/z 229.122 0 $[M+H-3H_2O]^+$, 其中, 碎片离子 m/z 265.143 7 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 247.132 3 $[M+H-2H_2O]^+$ 分别比甘松新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 215.141 8 $[M+H-2H_2O]^+$ 多 32 Da。此外, m/z 247.132 3 $[M+H-2H_2O]^+$ 发生丢失 H_2O 、 CO 的裂解特征与甘松新酮一致。因此推测 **M5** 为甘松新酮二羟基化代谢产物。

M6~M10 的准分子离子峰分别为 m/z 235.169 2 $[M+H]^+$ 、 m/z 235.169 1 $[M+H]^+$ 、 m/z 235.169 2 $[M+H]^+$ 、 m/z 235.169 2 $[M+H]^+$ 、 m/z 235.168 9 $[M+H]^+$, 分子式预测为 $C_{15}H_{22}O_2$, 比甘松新酮少 16 Da, 推测为甘松新酮的去羟基化代谢产物。其特征离子碎片 m/z 217 $[M+H-H_2O]^+$ 比甘松新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[M+H-H_2O]^+$ 少 16 Da, 并且二级质谱中, **M6** 和 **M7** 均产生了失去羰基(CO)的特征离子碎片 m/z 207 $[M+H-CO]^+$, 说明 **M6** 和 **M7** 脱去的羟基位于过氧桥。因此, 推测 **M6~M10** 为甘松新酮去羟基化代谢产物。

M11~M13 的准分子离子峰分别为 m/z 253.179 6 $[M+H]^+$ 、 m/z 253.179 7 $[M+H]^+$ 、 m/z 253.179 7 $[M+H]^+$, 分子式预测为 $C_{15}H_{24}O_3$, 比甘松新酮多 2 Da, 推测为甘松新酮的还原代谢产物。从甘松新酮的结构可知, 甘松新酮在 C-1 和 C-10 之间有一个双键,

C-9 上有一个酮羰基易发生还原反应。通过计算氢还原在 C-1 和 C-10 位双键的 $C \log P$ 值与还原在酮羰基上的 $C \log P$ 值分别为 3.12 和 2.76, 说明酮羰基还原产物的保留时间在前, 烯基还原产物的保留时间在后。其碎片离子 m/z 235 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 217 $[M+H-2H_2O]^+$ 分别比甘松新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 215.141 8 $[M+H-2H_2O]^+$ 多 2 Da, 并且二级质谱中, **M11** 可连续脱水而得到 m/z 235.169 2 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 217.158 6 $[M+H-2H_2O]^+$ 和 m/z 199.148 1 $[M+H-3H_2O]^+$, 表明 **M11** 除了过氧桥易脱去 2 分子 H_2O , 还存在 1 个 $-OH$ 在质谱中易形成脱水的产物离子。故推测 **M11** 为甘松新酮还原酮羰基的代谢产物, 经 SciFinder 检索, 该化合物为新化合物, 其可能的裂解途径见增强出版附加材料。**M12~M13** 推测为甘松新酮还原代谢产物。

M14~M18 准分子离子峰分别为 m/z 249.148 5 $[M+H]^+$ 、 m/z 249.148 5 $[M+H]^+$ 、 m/z 249.148 4 $[M+H]^+$ 、 m/z 249.148 5 $[M+H]^+$ 、 m/z 249.147 9 $[M+H]^+$, 分子式预测为 $C_{15}H_{20}O_3$, 比甘松新酮少 2 Da, 推测为甘松新酮的脱氢代谢产物。二级质谱中, **M14~M18** 易发生脱水反应, 产生脱水特征碎片离子 m/z 231 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 213 $[M+H-2H_2O]^+$ 分别比甘松

新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 215.141 8 $[M+H-2H_2O]^+$ 少 2 Da。此外,还可脱去异丙基产生 m/z 207 $[M+H-C_3H_6]^+$,进而产生失去羰基的特征离子 m/z 179.10 $[M+H-C_3H_6-CO]^+$,说明脱氢反应主要发生在甘松新酮的 A 环和 B 环,故推测 **M14~M18** 为甘松新酮脱氢代谢产物。

M19~M21 的一级质谱显示相同的准分子离子峰为 m/z 269.17 $[M+H]^+$,分子式预测为 $C_{15}H_{24}O_4$,比甘松新酮多 18 Da,推测为甘松新酮的水合代谢产物。二级质谱中,**M19~M21** 可产生连续脱水的特征碎片离子 m/z 251 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 233 $[M+H-2H_2O]^+$ 、 m/z 215 $[M+H-3H_2O]^+$,其中,碎片离子 m/z 251 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 233 $[M+H-2H_2O]^+$ 分别比甘松新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 215.141 8 $[M+H-2H_2O]^+$ 多 18 Da,因此,可推测 **M19~M21** 为甘松新酮水合代谢产物。

M22~M24 准分子离子峰分别为 m/z 233.153 5 $[M+H]^+$ 、 m/z 233.153 5 $[M+H]^+$ 、 m/z 233.153 6 $[M+H]^+$,分子式预测为 $C_{15}H_{20}O_2$,比甘松新酮少 18 Da,推测为甘松新酮的脱水代谢产物。二级质谱中,显示脱水产物离子 m/z 215 $[M+H-H_2O]^+$ 和失去羰基的特征离子 m/z 205 $[M+H-CO]^+$,其碎片离子 m/z 215 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 197 $[M+H-2H_2O]^+$ 分别比甘松新酮特征离子 m/z 233.153 2 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 215.141 8 $[M+H-2H_2O]^+$ 少 18 Da,并且在甘松新酮结构中,羰基与双键形成共轭键,较为稳定,因此,推测脱水反应可能发生在过氧桥环上,故推测 **M22~M24** 为甘松新酮脱水代谢产物。

M25~M27 准分子离子峰分别为 m/z 313.165 7 $[M+H]^+$ 、 m/z 313.164 2 $[M+H]^+$ 、 m/z 313.162 6 $[M+H]^+$,分子式预测为 $C_{16}H_{24}O_6$,比 **M1~M4** 多 46 Da,推测为甘松新酮的羟基化、氢化、羧基化代谢产物。**M26、M27** 的二级质谱图中碎片离子 m/z 269.17 $[M+H-CO_2]^+$ 表明结构中羧基的存在,且 **M25** 与 **M26、M27** 保留时间相近并具有相同的碎片离子 m/z 171 $[M+H-C_7H_{10}O_3]^+$ 与 m/z 183 $[M+H-C_5H_6O_4]^+$,**M25** 应为二者的同分异构体,可推测 **M25~M27** 为甘松新酮羟基化、氢化、羧基化代谢产物。

M28 的准分子离子峰为 m/z 263.127 7 $[M+H]^+$,分子式预测为 $C_{15}H_{18}O_4$,比 **M5** 少 20 Da,推测为甘松新酮的二羟基化、脱氢、脱水代谢产物。碎片离子 m/z 245.118 1 $[M+H-H_2O]^+$ 比 **M5** 碎片离子 m/z 265.143 7 $[M+H-H_2O]^+$ 少 20 Da,并且具有特征碎片离子 m/z 217.048 9 $[M+H-C_3H_6O]^+$,此外,二级

质谱图显示 m/z 263.127 7 发生丢失 H_2O 的裂解特征与 **M5** 一致,故可推测其为甘松新酮二羟基化、脱氢、脱水代谢产物。

M29 的准分子离子峰为 m/z 427.195 1 $[M+H]^+$,分子式预测为 $C_{21}H_{30}O_9$,比甘松新酮多 176 Da,推测为甘松新酮的葡萄糖醛酸化代谢产物。同时二级质谱图显示特征碎片离子 m/z 369.154 5 $[M+H-C_3H_6O]^+$ 比甘松新酮特征离子 m/z 193.121 6 $[M+H-C_3H_6O]^+$ 多 176 Da;准分子离子丢失 $C_{15}H_{22}O_2$ 而得到脱氢的葡萄糖醛酸 m/z 193.035 0 $[M+H-C_{15}H_{22}O_2]^+$,脱氢的葡萄糖醛酸发生分子内脱水,丢失 1 个 H_2O 而得到脱氢的葡萄糖醛酸内酯 m/z 175.025 0 $[M+H-C_{15}H_{22}O_2-H_2O]^+$,故推测 **M29** 为甘松新酮葡萄糖醛酸化代谢产物。

M30 的准分子离子峰为 m/z 207.101 5 $[M+H]^+$,分子式预测为 $C_{12}H_{14}O_3$,比甘松新酮酸多 14 Da,推测为甘松新酮酸的二羟基化、脱水代谢产物。裂解过程主要发生烷基丢失,与甘松新酮酸裂解规律一致,并且产生的特征碎片离子 m/z 191.070 6 $[M+H-CH_4]^+$ 比甘松新酮特征离子 m/z 177.090 9 $[M+H-C_3H_6O-CH_4]^+$ 多 14 Da,故推测 **M30** 为甘松新酮酸二羟基化、脱水代谢产物。

4 讨论

本研究对甘松新酮在大鼠体内的代谢产物及组织分布进行了全面分析与鉴定。总共鉴定甘松新酮代谢产物 30 种,从尿液、粪便、血浆、脑、心、肝、脾、肺、肾、胃、肠中分别鉴定了 15、19、12、7、4、11、8、13、13、8、12 种代谢产物。代谢途径包括单羟基化、葡萄糖醛酸化、二羟基化、羟基化还原-羧基化、甘松新酮酸二羟基化-脱水等,这些代谢反应与文献报道的甘松新酮代谢反应一致^[20];此外,研究还新发现了甘松新酮去羟基化、脱氢、还原、脱水、水合等代谢反应。甘松新酮进入体内代谢过程中,在尿液中检测到甘松新酮原型,与文献报道一致^[20]。甘松新酮发生的 I 相代谢包括去羟基化、葡萄糖醛酸化、脱氢、还原、脱水、水合,II 相代谢主要是 3 条途径,其一是甘松新酮先代谢为甘松新酮酸后再脱水、二羟基化发生进一步代谢,其二是甘松新酮先单羟基化后再进一步发生还原、羧基化的代谢反应,以及甘松新酮二羟基化后再脱氢脱水。

现代药理研究认为,药物疗效与不良反应在某种程度与组织器官的载药量有关,即大多数药物通过血液运输到组织器官,并维持一定血药浓度和组织浓度才能发挥药效^[27-28]。也有研究发现,甘松新

酮水溶性较差,导致其生物利用度较低^[29]。但从文献报道及本文研究结果表明,甘松新酮进入大鼠体内后,发生广泛代谢并分布至不同组织中^[20],从甘松新酮代谢产物组织分布数量可以看出,甘松新酮代谢产物分布最多的组织是肾和肺,其次是肠和肝,分布较少的是胃、脾和脑,最后是心脏。本研究仅在大鼠尿液中发现了甘松新酮的原型,据报道,通过腹腔注射的方式,可在大鼠脑组织中发现甘松新酮原型^[30],证实甘松新酮是甘松改善帕金森模型大鼠运动和认知症状的物质基础之一。本研究通过灌胃给药的方式,未在大鼠脑组织中发现甘松新酮原型,而发现了甘松新酮还原、单羟基化、脱氢、脱水和水合代谢产物,表明通过口服的方式可能是甘松新酮代谢产物在脑部发挥药理活性。

据文献报道,甘松新酮在电喷雾离子源正离子模式下,母核C环的1,2-二氧五环易失去1分子水及进一步丢失羰基^[26];另一方面,C环易产生跨环碎裂及烷基丢失的碎片离子。本研究通过对甘松新酮的二级质谱数据进行进一步分析,对文献报道质谱裂解规律进行了补充。研究发现,甘松新酮母核C环的1,2-二氧五环可连续丢失2分子水及通过重排而形成无氧的四元环,进一步易产生丢失羰基和烷基的碎片离子。另外,母核易失去羟基异丙基(C_3H_6O)生成甘松新酮酸,进一步产生丢失烷基、羰基等碎片离子。这些裂解规律尚未见文献进行详细报道。

综上所述,本文研究了甘松新酮在大鼠体内的代谢和组织分布情况,共鉴定出30种代谢产物,推测了部分代表性代谢产物可能的裂解方式及代谢产物可能的代谢途径,补充了甘松新酮代谢相关的研究,为甘松新酮及甘松的作用机制研究和临床应用提供数据参考。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:89.
- [2] 张小荣,崔治家,何海,等. 甘松化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中国中医药信息杂志,2023,30(11):183-190.
- [3] 南笑珂,张鲁,罗琳,等. 中药甘松化学成分与药理作用的研究进展[J]. 中国现代中药,2018,20(10):1312-1318.
- [4] 李红艳,赵思涵,梅显运,等. 甘松新酮对H9C2心肌细胞低氧损伤的作用及其机制[J]. 华南师范大学学

报:自然科学版,2021,53(2):51-58.

- [5] 李红艳,梅显运,杨慧雅,等. 基于PI3K/Akt/mTOR通路探讨甘松新酮对H9c2心肌细胞低氧损伤的保护作用[J]. 中国比较医学杂志,2023,33(7):41-47.
- [6] DU M, HUANG K, GAO L, et al. Nardosinone protects H9c2 cardiac cells from angiotensin II -induced hypertrophy[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2013, 33(6):822-826.
- [7] 钱薇,邹丽,王秀秀,等. 甘松新酮对SD大鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(16):2-5.
- [8] 简鹏,李庆海,范立华. 甘松新酮对快速性心律失常大鼠心肌细胞抑制作用的实验研究[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(22):2240-2242.
- [9] 姜文睿,高嘉良,董艳,等. 中药治疗室性期前收缩的研究与应用[J]. 世界中西医结合杂志,2017,12(11):1490-1493.
- [10] 李玮,石晋丽,李琴,等. 甘松新酮对缺糖缺氧损伤原代培养神经元的保护作用[J]. 药学学报,2013,48(9):1422-1429.
- [11] KO W, PARK J S, KIM K W, et al. Nardosinone-type sesquiterpenes from the hexane fraction of nardostachys jatamansi attenuate NF- κ B and MAPK signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells[J]. Inflammation, 2018, 41(4):1215-1228.
- [12] BIAN L H, YAO Z W, WANG Z Y, et al. Nardosinone regulates the slc38a2 gene to alleviate Parkinson's symptoms in rats through the GABAergic synaptic and cAMP pathways [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153:113269.
- [13] LI P, YAMAKUNI T, MATSUNAGA K, et al. Nardosinone enhances nerve growth factor-induced neurite outgrowth in a mitogen-activated protein kinase- and protein kinase C-dependent manner in PC12D cells [J]. J Pharmacol Sci, 2003, 93(1):122-125.
- [14] LI Z H, LI W, SHI J L, et al. Nardosinone improves the proliferation, migration and selective differentiation of mouse embryonic neural stem cells [J]. PLoS One, 2014, 9(3):e91260.
- [15] LI P, MATSUNAGA K, YAMAKUNI T, et al. Nardosinone, the first enhancer of neurite outgrowth-promoting activity of staurosporine and dibutyryl cyclic AMP in PC12D cells [J]. Brain Res Dev Brain Res, 2003, 145(2):177-183.
- [16] 徐树楠. 中药归经现代研究方法探讨[J]. 中国药理学通报,2004(5):598-600.

- [17] 杨秀伟. 基于体内过程的中药有效成分和有效效应物质的发现策略[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(5): 365-370.
- [18] 蔡少青, 王璇, 尚明英, 等. 中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3435-3443.
- [19] LU Z, ZHOU P, ZHAN Y, et al. Quantification of nardosinone in rat plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its pharmacokinetics application[J]. J Chromatogr Sci, 2015, 53(10): 1725-1729.
- [20] ZHANG J, LV Y, ZHANG J, et al. Analysis of *in vivo* existence forms of nardosinone in mice by UHPLC-Q-TOF-MS technique [J]. Molecules, 2022, 27(21): 7267.
- [21] 梁光焰, 吴云山, 陈伟英, 等. 巴西苏木素在大鼠体内的代谢产物与代谢途径分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 67-73.
- [22] 杜宝香, 付岩, 孙启慧, 等. 基于中药血清药物化学的桂枝加葛根汤干预流感病毒性肺炎功效组分表征[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(19): 168-175.
- [23] LIU S, DAI G, SUN L, et al. Biotransformation and metabolic profile of limonin in rat liver microsomes, bile, and urine by high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(40): 10388-10393.
- [24] XIA Y Y, XU H Y, CAI Y Y, et al. Simultaneous determination of evodiamine and evodine in Beagle dog plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Asian Nat Prod Res, 2013, 15(3): 235-243.
- [25] 黄楷迪, 朱西杰, 牛阳, 等. 复方蜥蜴散大鼠血浆、尿液、胆汁、粪便中代谢产物的鉴定[J]. 中草药, 2022, 53(3): 678-686.
- [26] 姚子蔚, 边丽华, 李秋雨, 等. 甘松新酮、去氢木香内酯和甘松香酮H——3个倍半萜类成分的电喷雾质谱裂解规律研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2021, 23(7): 2353-2360.
- [27] 李川. 中药多成分药代动力学研究: 思路与方法[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(4): 607-617.
- [28] 唐文富, 万美华, 黄熙. 方剂组织药理学新假说[J]. 中草药, 2005, (1): 1-3, 149.
- [29] 耿晓萍, 石晋丽, 刘勇, 等. 甘松中甘松新酮的提取工艺研究[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(2): 291-293.
- [30] BIAN L H, YAO Z W, ZHAO C B, et al. Nardosinone alleviates Parkinson's disease symptoms in mice by regulating dopamine D₂ receptor [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 6686965.

[责任编辑 李嘉麟]