

酒制蜂胶中 6 种活性成分体内药动学研究及其代谢产物鉴定

陈 靖<sup>1</sup>, 柴 玲<sup>2\*</sup>, 赵夏荫<sup>3</sup>

(1. 常德职业技术学院, 湖南 常德 415000; 2. 广西壮族自治区中医药研究院, 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西 南宁 530022; 3. 中国中药控股有限公司, 广东 佛山 528000)

**摘要:** **目的** 研究酒制蜂胶中乔松素、白杨素、高良姜素、对香豆酸、山柰酚、柚皮素体内药动学, 并鉴定其代谢产物。 **方法** 大鼠灌胃给予酒制蜂胶 (1.0 g/kg), 于 0.033、0.083、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、9、12、24、36 h 采血, 采用 UPLC-Q Exactive Orbitrap MS 法测定 6 种活性成分血药浓度, 计算主要药动学参数, 并对其代谢产物进行分析。 **结果** 乔松素、白杨素、高良姜素、对香豆酸、山柰酚、柚皮素 AUC<sub>0-*t*</sub> 分别为 179.52、277.30、430.93、21 778.14、59.76、778.35 ng/mL · h, *T*<sub>max</sub> 均在 0.30 h 以内。共鉴定出 15 种代谢产物, 主要涉及葡萄糖醛酸化、硫酸酯化等途径。 **结论** 该方法准确可靠, 可为明确酒制蜂胶药效物质及其体内过程提供依据。各活性成分不仅以原型成分入血, 又可通过 I、II 相代谢发挥药效。

**关键词:** 酒制蜂胶; 活性成分; 体内药动学; 代谢产物; UPLC-Q Exactive Orbitrap MS

**中图分类号:** R969.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)10-3392-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.038

蜂胶为蜜蜂科昆虫意大利蜂 *Apis mellifera* L. 工蜂采集的植物树脂与其上额腺、蜡腺等分泌物混合形成的具有黏性的固体胶状物<sup>[1]</sup>, 酒制蜂胶为该药材经粉碎、乙醇浸泡提取、干燥后的炮制品, 临床上内治体虚早衰、高脂血症、消渴, 外治皮肤皲裂、烧烫伤<sup>[1]</sup>。蜂胶中含有黄酮、酚酸、萜烯酸、糖类、氨基酸等多种成分<sup>[2-5]</sup>, 以黄酮、酚酸为主, 具有抗氧化、抗炎、降血糖、抗肿瘤等生物活性<sup>[5-8]</sup>。

目前, 国内外学者关于蜂胶的研究大多为功能成分、生物活性, 鲜有涉及药动学方面<sup>[9-10]</sup>。乔松素、白杨素、高良姜素、对香豆酸、山柰酚、柚皮素为蜂胶中重要的黄酮、酚酸类物质<sup>[10]</sup>, 但其药动学、代谢产物尚不明确, 故阐明它们在体内的代谢规律、鉴定其代谢产物对揭示蜂胶药效物质基础具有重要意义。

超高效液相与高分辨质谱联用技术具有良好的定量与定性能力<sup>[11]</sup>, 可实现入血成分的快速识别、解析, 已成为入血成分研究的首选方法<sup>[12]</sup>。本实验采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q Exactive Orbitrap MS) 法测定酒制蜂胶中乔松素、白杨素、高良姜素、对香豆酸、山柰酚、柚皮素的血药浓度, 开展体内药动学分析, 并对其代谢产物进行鉴定, 以期为该炮制品药效物质基础、作用机制的进一步研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统、UltiMate 3000 超快速高效液相色谱系统 (美国热电公司); Milli-Q 纯水仪 (美国密理博公司); 艾本德 5810R 真

空浓缩仪 (德国艾本德公司); KQ2200DV 数控声波清洗仪器 (昆山市超声仪器有限公司); ME55 型电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂与药物 乔松素 (批号 PCS0734)、白杨素 (批号 PCS0041)、高良姜素 (批号 PCS0429)、对香豆酸 (批号 PCS0296)、山姜素 (批号 PCS0819)、山柰酚 (批号 PCS0796)、柚皮素 (批号 PCS0914)、氯霉素 (批号 PCS220411) 对照品均购自成都植生化纯生物技术有限公司, 纯度≥98%。酒制蜂胶 (批号 220301) 购自湖南一方天江药业有限公司, UPLC-MS 法测得乔松素、白杨素、高良姜素、对香豆酸、山柰酚、柚皮素含量分别为 16.97、41.28、35.21、4.672、3.135、21.73 mg/g (未检测到氯霉素)。聚乙二醇 400 (上海阿拉丁生物试剂有限公司)。乙腈、乙醇、甲酸均为色谱纯 (德国默克公司)。

1.3 动物 雌性 SD 大鼠, SPF 级, 体质量 (270±10) g, 购自广西医科大学动物实验中心, 动物生产许可证号 SCXK (桂) 2020-0003, 饲养温度 20~25 ℃, 相对湿度 40%~55%。

2 方法

2.1 UPLC-Q Exactive Orbitrap MS 分析条件

2.1.1 色谱 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸 (A)-甲醇 (B), 梯度洗脱 (0~2 min, 5% B; 2~13 min, 5%~95% B; 13~14 min, 95%~100% B; 14~16 min, 100% B; 16~16.1 min, 100%~5% B; 16.1~19 min, 5% B); 体积流量

收稿日期: 2023-02-28  
作者简介: 陈 靖 (1984—), 女, 硕士, 副教授, 从事中药活性成分、药理作用研究。E-mail: 49587571@qq.com  
\* 通信作者: 柴 玲 (1986—), 女, 硕士, 副研究员, 从事中药活性成分、质量标准研究。E-mail: cicichai001@163.com

0.3 mL/min；柱温 30 ℃；自动进样器温度 4 ℃；进样量 2 μL。

2.1.2 质谱 加热型电喷雾离子源（HESI），正负离子扫描；传输毛细管温度 320 ℃；鞘气体积流量 35 psi（1 psi=6.895 kPa）；辅助气体积流量 10 psi，温度 350 ℃；扫描模式 Full MS/dd-MS<sup>2</sup>，范围  $m/z$  70~1 050；一、二级扫描分辨率 70 000、17 500；碰撞气高纯氮气。各活性成分、内标质谱扫描模式均为负离子模式（HESI<sup>-</sup>），分子式、母离子  $m/z$  分别为 C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>、255.065 18 [M-H]<sup>-</sup>（乔松素），C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>、253.049 53 [M-H]<sup>-</sup>（白杨素），C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>、269.044 44 [M-H]<sup>-</sup>（高良姜素），C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>、163.038 97 [M-H]<sup>-</sup>（对香豆酸），C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>、285.039 36 [M-H]<sup>-</sup>（山柰酚），C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>、271.060 09 [M-H]<sup>-</sup>（柚皮素），C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、321.003 95 [M-H]<sup>-</sup>（内标氯霉素）。

2.2 分组、给药及采血 12 只大鼠适应性喂养 1 周后，随机分为空白组和给药组，禁食（自由饮水）12 h 后，空白组灌胃给予 20% 乙醇-50% PEG400 混合液，给药组按 1.0 g/kg 剂量灌胃给予 20% 乙醇-50% PEG400 溶解的酒制蜂胶混悬液，于 0.033、0.083、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、9、12、24、36 h 眼眶静脉丛采血各约 200 μL，置于 EP 管中（预涂 0.1% 肝素钠抗凝液 10 μL），4 ℃、6 000 r/min 离心 10 min，取上清液，置于-80 ℃冰箱中保存。

2.3 对照品、内标溶液制备 精密称取乔松素、白杨素、高良姜素、对香豆酸、山柰酚、柚皮素、氯霉素（内标）对照品适量，甲醇溶解并定容，制成质量浓度 1.0 mg/mL 的贮备液，置于-20 ℃冰箱中保存，精密量取适量（氯霉

素除外），甲醇制成 10.0 μg/mL 溶液，再依次稀释至系列质量浓度（乔松素、白杨素均分别为 0.5、1、2、4、10、20、50、100、200 μg/L，高良姜素分别为 0.5、1、2、4、10、20、50、100、250 μg/L，山柰酚分别为 0.5、1、2、4、10、20、50、100、150 μg/L，对香豆酸分别为 10、20、50、100、200、500、1 000、2 000、8 000 μg/L，柚皮素分别为 2、4、10、20、50、100、200、250、500 μg/L），即得对照品溶液。再用甲醇将氯霉素贮备液稀释至 1.0 μg/mL，即得内标溶液。

2.4 血浆样品处理 吸取血浆样品、甲醇各 50 μL，加入内标溶液 10 μL、乙腈（含 0.1% 甲酸）800 μL，涡旋混匀 2 min，静置 2 min，13 000 r/min 离心 10 min，移取上清液至干净 EP 管中，离心浓缩至干，50 μL 甲醇复溶，13 000 r/min 离心 1 min，取上清液，即得。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验 取空白血浆、空白血浆+对照品、灌胃给药 24 h 后血浆样品适量，按“2.4”项下方法处理，在“2.1”项条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，血浆中杂质及其他内源性物质对各活性成分、内标无干扰，表明该方法满足生物样品的专属性要求。

3.1.2 线性关系考察 吸取空白血浆、对照品溶液各 50 μL，加入内标溶液 10 μL、乙腈（含 0.1% 甲酸）800 μL，按“2.4”项下方法处理，在“2.1”项条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），对照品、内标峰面积比值为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各活性成分在各自范围内线性关系良好（R<sup>2</sup>>0.99）。

表 1 各活性成分线性关系

活性成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(ng·mL <sup>-1</sup> )	LLOQ/(ng·mL <sup>-1</sup> )
乔松素	Y=0.037 3X+0.066 7	0.999 3	0.5~200	0.5
白杨素	Y=0.037 1X+0.297	0.997 5	0.5~200	0.5
高良素姜	Y=0.030 9X+0.032 9	0.997 3	0.5~250	0.5
对香豆酸	Y=0.007X+0.316 6	0.999 9	10~8 000	10
山柰酚	Y=0.015 3X+0.029 8	0.998 7	0.5~150	0.5
柚皮素	Y=0.014 7X+0.003 3	0.999 9	2~500	2

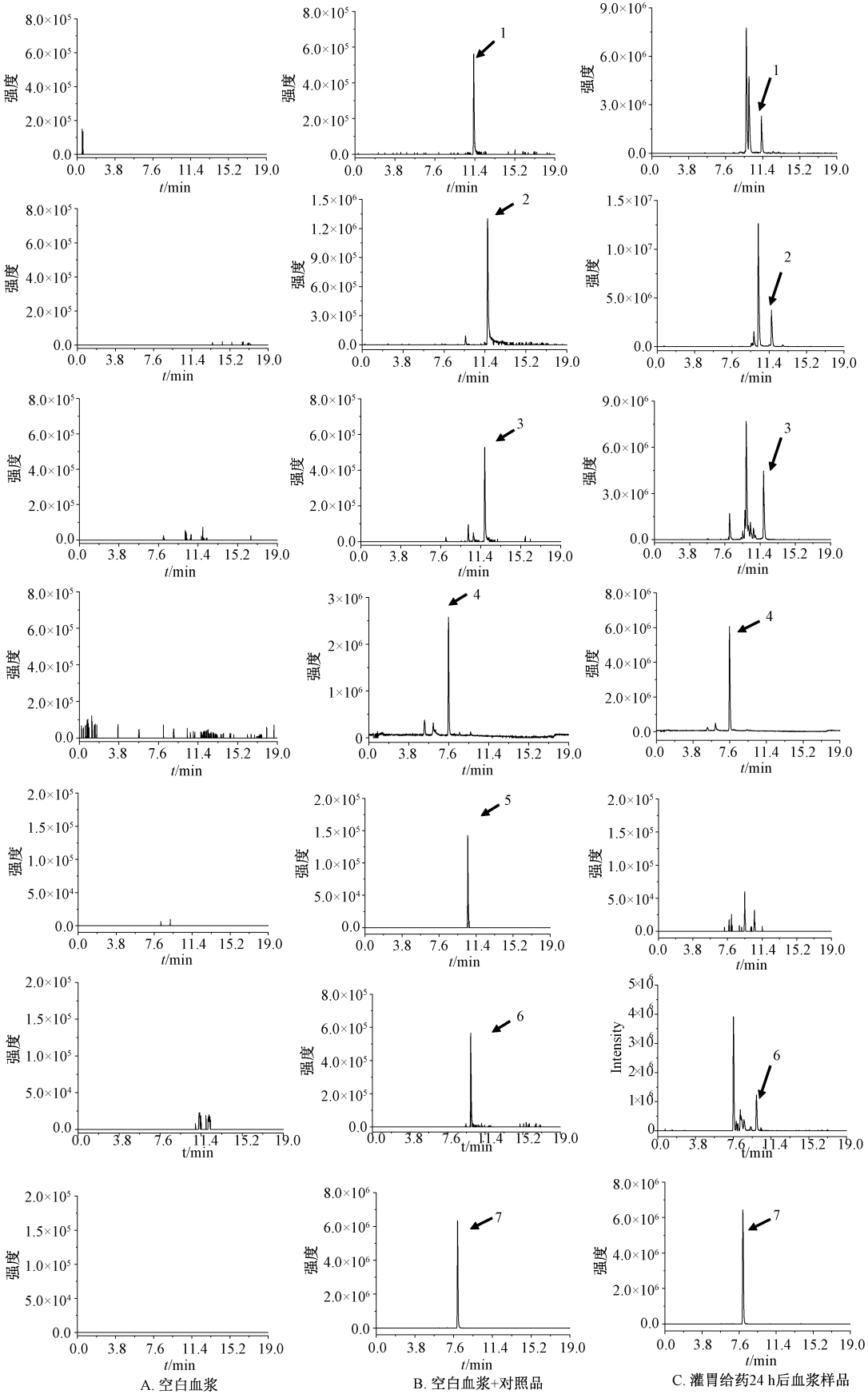
3.1.3 精密度、准确度试验 吸取空白血浆 50 μL，加入不同质量浓度对照品溶液，得到低、中、高质量浓度的质控样品，按“2.4”项下方法处理，在“2.1”项条件下进样测定，结果见表 2。由此可知，各活性成分日内、日间准确率为 85.10%~112.15%，精密度 RSD 均低于 10%，满足生物样品分析要求。

3.1.4 提取回收率、基质效应试验 取低、中、高质量浓度质控样品各 6 份，按“2.4”项下方法处理，在“2.1”项条件下进样测定，记录化合物、内标峰面积比值；另取空白血浆适量，同法操作，记录两者比值；另取甲醇代替空白血浆，同法操作，记录两者比值，按文献 [13] 报道计算提取回收率、基质效应，结果见表 2。由此可知，各活性成分提取回收率为 87.07%~110.97%，基质效应为

98.60%~114.43%，满足生物样品分析要求。

3.1.5 稳定性试验 取低、中、高质量浓度质控样品各 6 份，分别考察室温放置 2 h、自动进样器中 12 h、反复冻融 3 次、-80 ℃下放置 21 d 的稳定性<sup>[14]</sup>，结果见表 3。由此可知，各活性成分准确率为 85.44%~113.82%，RSD 均小于 11%，满足生物样品分析要求。

3.2 体内药动学研究 血药浓度-时间曲线见图 2，再采用 WinNonlin 软件中的非房室模型计算主要药动学参数，结果见表 4。由此可知，各活性成分 T<sub>max</sub> 均在 0.30 h 以内，表明其吸收均较快；t<sub>1/2α</sub> 依次为山柰酚<对香豆酸<乔松素<高良姜素<柚皮素<白杨素；灌胃给药后 12、24、36 h，血浆中均未检测到山柰酚；大多数活性成分血药浓度-时间曲线存在“双峰”现象。



1. 乔松素 2. 白杨素 3. 高良素姜 4. 对香豆酸 5. 山柰酚 6. 柚皮素 7. 内标 (氯霉素)

图 1 各活性成分 UPLC-Q Exactive Orbitrap MS 图

表 2 各活性成分精密度、准确度试验结果 (n=6)

活性成分	质量浓度/ (ng·mL <sup>-1</sup> )	日内精密度		日间精密度		回收率		基质效应	
		准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%	数值/%	RSD/%	数值/%	RSD/%
乔松素	1.5	95.44	4.41	96.34	1.91	89.84	2.01	106.80	3.68
	15	109.12	4.11	106.32	2.35	89.97	5.24	102.30	3.31
	150	102.61	0.68	100.72	1.82	106.30	5.39	109.40	6.71
白杨素	1.5	96.54	8.26	98.27	5.96	91.06	3.40	107.71	3.51
	25	102.15	6.21	100.21	1.77	106.12	5.11	107.21	6.92
	150	99.83	1.70	98.74	1.02	105.55	3.11	110.93	1.96
高良姜素	1.5	92.35	7.62	104.15	9.94	87.11	8.48	114.43	6.34
	20	88.98	5.77	86.89	2.22	99.23	7.53	103.53	7.50
	200	106.71	2.79	105.35	1.22	104.92	6.37	110.51	7.66
对香豆酸	20	107.62	6.65	113.71	4.78	101.52	6.64	105.89	4.07
	300	100.71	1.33	102.32	2.89	110.97	1.98	111.51	7.65
	6 000	98.65	5.96	92.50	6.79	109.75	8.77	105.51	9.31
山柰酚	1.5	85.47	2.55	85.10	1.07	87.07	9.30	111.87	7.16
	15	106.37	8.14	107.52	1.28	97.78	9.63	110.65	5.56
	120	102.44	4.54	97.47	4.84	106.52	7.00	104.69	9.05
柚皮素	6	112.15	8.00	114.53	1.99	100.23	12.35	105.55	10.64
	50	104.23	4.75	100.44	3.35	96.64	11.17	98.60	6.49
	400	97.01	5.90	90.12	6.92	107.98	5.04	103.91	6.22

表 3 各活性成分稳定性试验结果 (n=6)

活性成分	质量浓度/ (ng·mL <sup>-1</sup> )	室温放置 2 h		自动进样器中 12 h		反复冻融 3 次		-80 ℃下放置 21 d	
		准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%
乔松素	1.5	106.91	6.65	107.91	9.90	100.12	8.41	110.21	3.27
	15	110.31	1.17	99.39	5.81	103.41	5.45	103.84	7.01
	150	113.82	6.13	109.63	8.05	112.33	6.55	113.45	2.64
白杨素	1.5	103.84	9.71	93.47	4.98	103.42	9.75	98.94	7.21
	25	102.13	7.08	91.76	8.76	92.41	9.03	99.31	10.09
	150	101.01	6.92	98.98	9.36	101.05	6.92	97.67	5.94
高良姜素	1.5	112.25	1.98	104.91	6.38	112.43	9.44	113.51	3.73
	20	92.75	1.74	86.02	5.62	88.37	8.18	89.79	4.36
	200	107.71	4.56	103.92	7.78	109.48	6.32	105.72	3.05
对香豆酸	20	106.43	9.84	100.44	7.53	107.84	9.92	105.24	8.25
	300	110.52	2.82	103.38	8.00	110.59	3.94	105.23	6.01
	6 000	98.75	6.44	104.26	7.14	106.54	5.27	102.62	5.09
山柰酚	1.5	85.44	7.90	86.14	3.57	87.08	8.70	91.25	10.42
	15	93.08	7.00	101.97	5.87	104.95	10.75	103.15	3.72
	120	92.04	1.91	104.31	2.57	106.58	7.53	107.67	3.34
柚皮素	6	102.25	6.23	102.72	7.53	110.09	5.07	110.00	8.53
	50	110.76	1.18	102.24	5.92	102.21	4.60	108.85	1.82
	400	104.77	5.97	101.43	7.63	106.43	4.49	106.51	2.92

表 4 各活性成分主要药动力学参数 (x̄±s, n=6)

活性成分	T <sub>max</sub> /h	C <sub>max</sub> /(ng·mL <sup>-1</sup> )	AUC <sub>0~t</sub> /(ng·mL <sup>-1</sup> ·h)	AUC <sub>0~∞</sub> /(ng·mL <sup>-1</sup> ·h)	t <sub>1/2α</sub> /h	MRT <sub>0~t</sub> /h
乔松素	0.25±0.00	124.69±9.93	179.52±24.28	263.26±56.81	7.24±3.79	13.21±1.68
白杨素	0.30±0.12	138.30±13.53	277.30±83.37	328.35±117.30	11.96±5.97	10.57±3.47
高良姜素	0.25±0.00	187.51±17.74	430.93±153.07	406.15±78.28	9.73±2.70	13.49±5.19
对香豆酸	0.27±0.15	4 894.99±836.80	21 778.14±858.45	22 329.55±749.44	4.91±0.95	7.91±0.86
山柰酚	0.17±0.10	102.65±30.76	59.76±12.07	72.21±9.09	3.39±1.34	1.88±0.78
柚皮素	0.12±0.07	182.81±33.48	778.35±143.65	900.52±149.74	10.77±1.64	11.35±0.43

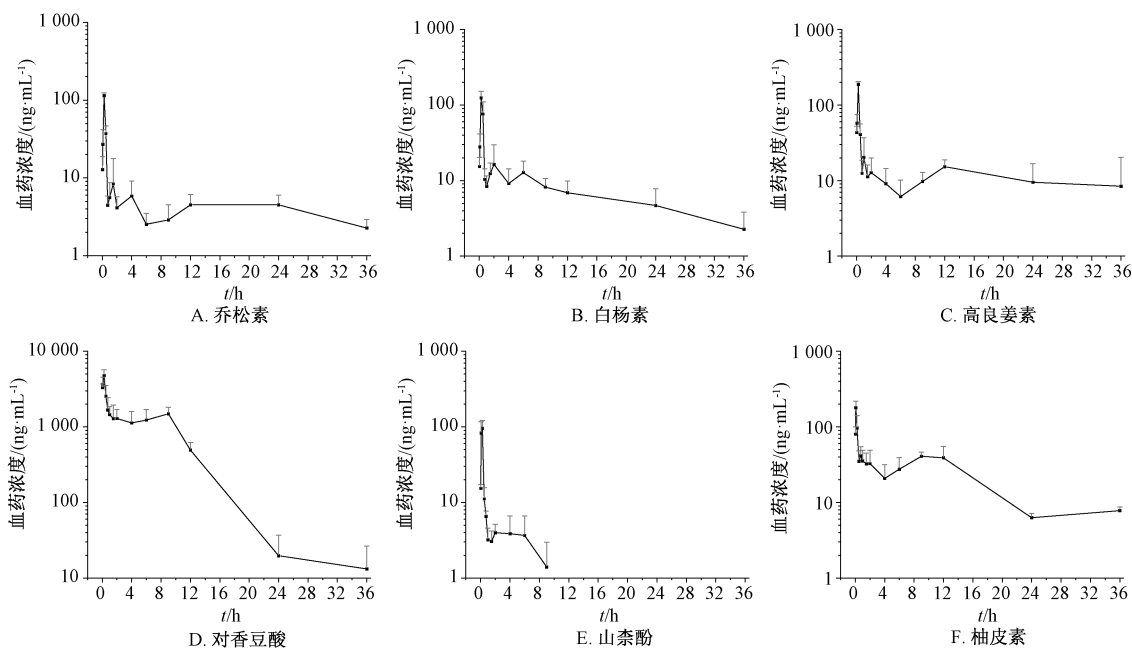


图 2 各活性成分血药浓度-时间曲线 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

3.3 代谢产物鉴定 6 种活性成分中，除了对香豆酸为酚酸类外，其他 5 种均为黄酮类。前期报道，上述成分代谢途径包括 I 相代谢反应（羟基化、去羟基化、还原）、II 相代谢反应（甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化）<sup>[15]</sup>。

将“2.2”项下不同时间点采集的血浆等体积混合，按“2.4”项下方法处理，在“2.1”项条件下进样测定，总离子流图见图 3，并且发现 15 种代谢产物，具体见表 5。由此可知，各活性成分均发生了 I、II 相代谢反应，以后者为主。

$m/z$  433.110 05  $[M+H]^+$ ，其碎片离子  $m/z$  257.079 22 与母离子分子量相差 176，为后者脱去一分子葡萄糖醛酸所得； $m/z$  153.017 27、131.048 46 与乔松素对照品在正离子模式下的一致，推测可能为该成分发生葡萄糖醛酸化的代谢产物，即乔松素葡萄糖醛酸，分子式为  $C_{21}H_{20}O_{10}$ 。M2 在负离子模式下产生准分子离子峰  $m/z$  335.022 09  $[M+H]^-$ ，其碎片离子  $m/z$  255.065 14 与母离子分子量相差 80，为后者脱掉一分子硫酸酯所得，推测可能为乔松素发生硫酸酯化的代谢产物，即乔松素硫酸酯，分子式为  $C_{15}H_{12}SO_7$ 。

4 讨论

体内药动力学研究表明，酒制蜂胶乔松素、白杨素、高良姜素、山柰酚、柚皮素、对香豆酸达峰时间均不超过 0.3 h，表明它们在大鼠体内的吸收速度较快<sup>[16]</sup>，其中对香豆酸体内暴露量远大于其他成分，提示该成分主要以原型形式吸收入血，而其他 5 种黄酮的原型成分最大峰浓度均不高。再鉴定上述 6 种成分的代谢产物，发现它们发生了 I、II 相代谢反应，推测一旦摄入体内后可能经历广泛的系统前代谢，在肠道、肝脏中通过甲基化、葡萄糖醛酸化、硫酸化等代谢途径，其原型以极低浓度在体内定位<sup>[17]</sup>，而结合型代谢产物在生理活动中往往起着重要作用<sup>[18]</sup>。另外，高良姜素葡萄糖醛酸化代谢出现了 2 种同分异构体的代谢物，表明经肝脏代谢时葡萄糖醛酸化主要发生在 3、7 位羟基上<sup>[19]</sup>，所鉴定到的高良姜素葡萄糖醛酸 A、B 根据其极性不同，推测可能分别为高良姜素-3-O-β-D-葡萄糖醛酸、高良姜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸<sup>[20]</sup>。同时，共鉴定出相关代谢产物 15 个，主要为 II 相代谢物，并且酒制蜂胶入血成分的药效物质形式还有待于进一步研究，其药效作用机制尚需继续在动物、细胞、分子水平进行验证。

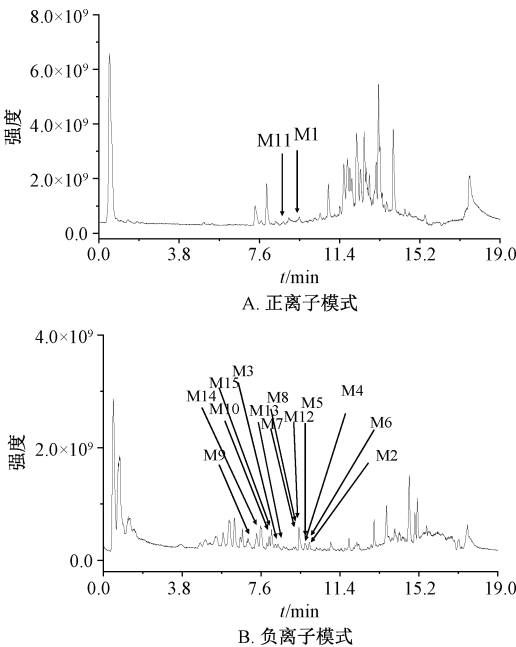


图 3 大鼠血浆 UPLC-Q Exactive Orbitrap MS 总离子流图

以乔松素为例。M1 在正离子模式下产生准分子离子峰



表 5 各活性成分代谢产物

编号	$t_R/\text{min}$	分子式	离子类型	理论值 $m/z$	测定值 $m/z$	离子碎片 $m/z$	名称	代谢途径
M1	9.44	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	433.112 9	433.110 0	257.079 2,153.017 2	乔松素葡萄糖醛酸	葡萄糖醛酸化
M2	9.96	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{SO}_7$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	335.021 9	335.022 0	255.065 1,151.001 9	乔松素硫酸酯	硫酸酯化
M3	8.40	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	271.060 0	271.060 1	151.001 9,94.923 2	羟基乔松素	羟基化
M4	9.85	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	429.081 6	429.081 3	253.049 5,209.060 9	白杨素葡萄糖醛酸	葡萄糖醛酸化
M5	9.77	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	445.076 5	445.076 2	269.044 4,241.049 2	高良姜素葡萄糖醛酸 A	葡萄糖醛酸化
M6	9.92	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	445.076 5	445.076 1	269.044 5,210.840 5	高良姜素葡萄糖醛酸 B	葡萄糖醛酸化
M7	9.51	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{SO}_8$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	349.001 2	349.001 1	269.044 5,65.001 3	高良姜素硫酸酯	硫酸酯化
M8	9.51	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	459.092 1	459.091 8	283.060 0,255.064 8	甲基高良姜素葡萄糖醛酸	甲基化/葡萄糖醛酸化
M9	6.09	$\text{C}_9\text{H}_8\text{SO}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	242.995 7	242.995 6	163.038 3,119.048 4	对香豆酸硫酸酯	硫酸酯化
M10	7.93	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{SO}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	245.011 4	245.011 2	165.054 0,119.048 4	对羟基苯丙酸硫酸酯	还原/硫酸酯化
M11	8.82	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	463.087 1	463.083 7	287.053 1,241.084 2	山柰酚葡萄糖醛酸	葡萄糖醛酸化
M12	9.56	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{SO}_9$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	364.996 1	364.995 7	285.039 4,185.041 0	山柰酚硫酸酯	硫酸酯化
M13	8.71	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	447.092 1	447.091 7	271.060 3,151.001 8	柚皮素葡萄糖醛酸	葡萄糖醛酸化
M14	7.58	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	461.107 8	461.107 2	285.075 6,175.023 0	甲基柚皮素葡萄糖醛酸	甲基化/葡萄糖醛酸化
M15	8.27	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{SO}_8$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	351.016 9	351.016 7	271.060 0,151.001 8	柚皮素硫酸酯	硫酸酯化

参考文献:

[ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 373-374.

[ 2 ] Vieira de Moraes D, Rosalen P L, Ikegaki M, *et al.* Active antioxidant phenolics from Brazilian red propolis: An optimization study for their recovery and identification by LC-ES-I-QTOF-MS/MS[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(2): 297.

[ 3 ] Popova M, Gerginova D, Trusheva B, *et al.* A preliminary study of chemical profiles of honey, cerumen, and propolis of the African stingless bee *Meliponula ferruginea*[J]. *Foods*, 2021, 10(5): 997.

[ 4 ] 张 研, 曹翠玲, 祖铁红, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定蜂胶中 31 种酚类化合物[J]. 分析试验室, 2023, 42(6): 775-783.

[ 5 ] Wahyuni E A, Chen C Y, Wu H N, *et al.* Propolisalleviates 4-aminobiphenyl-induced oxidative DNA damage by inhibition of CYP2E1 expression in human liver cells[J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(8): 1504-1513.

[ 6 ] 蒋侠森. 蜂胶的化学成分、抗氧化谱效分析及长白山蜂胶的特性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.

[ 7 ] 程晓雨, 张江临, 胡福良. 蜂胶的降血糖作用及其分子机制研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(6): 1070-1076.

[ 8 ] 郑宇斐. 中国蜂胶及其黄酮类单体抗黑素瘤作用及其机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.

[ 9 ] 舒海燕. 蜂胶中酚酸类成分的药代动力学研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(2): 338-340.

[ 10 ] 杨红丽. 中国蜂胶化学组分分析及抗氧化活性组分的筛选和评价[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2016.

[ 11 ] Zhou J T, Liu H Y, Liu Y, *et al.* Development and evaluation of a parallel reaction monitoring strategy for large-scale targeted metabolomics quantification[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(8): 4478-4486.

[ 12 ] Zhang A H, Sun H, Yan G L, *et al.* Chinmedomics: a powerful approach integrating metabolomics with serum pharmacochemistry to evaluate the efficacy of traditional Chinese medicine[J]. *Engineering*, 2019, 5(1): 60-68.

[ 13 ] Food and Drug Administration. Guidance for industry: Bioanalytical method validation, Center for Drug. Evaluation and Research, USD department of health and human services [R]. 2001.

[ 14 ] 任 慧, 郭 盛, 张祎盈, 等. UHPLC-MS/MS 测定补肺活血胶囊中 8 种有效成分在大鼠体内血药浓度及药代动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 215-223.

[ 15 ] 吴劭萍, 张祎盈, 冯一帆, 等. 杞菊明目颗粒在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中代谢产物的鉴定[J]. 中成药, 2022, 44(6): 1725-1731.

[ 16 ] Chen F, Tan Y F, Li H L, *et al.* Differential systemic exposure to galangin after oral and intravenous administration to rats[J]. *Chem Cent J*, 2015, 9(1): 14.

[ 17 ] Thilakarathna S H, Rupasinghe H P. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement [J]. *Nutrients*, 2013, 5(9): 3367-3387.

[ 18 ] 何佳珂, 于 洋, 陈西敬, 等. 黄酮类化合物的药物代谢研究进展[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(21): 2789-2794.

[ 19 ] Yodogawa S, Arakawa T, Sugihara N, *et al.* Glucurono- and sulfo- conjugation of kaempferol in rat liver subcellular preparations and cultured hepatocytes [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(8): 1120-1124.

[ 20 ] Liu R R, Li H L, Wei N, *et al.* Simultaneous determination of two galangin metabolites from *Alpinia Officinarum* Hance in rat plasma by UFLC-MS/MS and its application in pharmacokinetics study[J]. *Peer J*, 2021, 9: e11041.