

何首乌活性成分在肝 L-02 细胞中吸收及代谢产物的 LC-MS/MS 定性分析

林佩¹, 陆建美¹, 张光远¹, 李云飞¹, 耿长安², 陈纪军², 俞捷^{1*}, 赵荣华¹ (1. 云南中医学院药学院, 昆明 650500; 2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650500)

摘要: 目的 研究何首乌主要活性成分在肝 L-02 细胞中的吸收和代谢。方法 将何首乌主要活性成分二苯乙烯苷(TSG)、大黄素(EN)作用于正常肝 L-02 细胞, 给药 0、2、4、6、8、12、24、36、48 h 后, 分别取上层培养液及细胞裂解液, 利用 HPLC 探究二者的吸收、蓄积及代谢规律, 并用 LC-MS 法进行代谢产物的定性分析。结果 TSG 在肝 L-02 细胞中无明显蓄积, HPLC 检测出 TSG 和一个代谢产物吸收峰, 且在 8 h 后浓度随给药时间延长呈递增趋势, 经 LC-MS/MS 鉴定为二苯乙烯苷葡萄糖醛酸结合物; EN 在肝 L-02 细胞中有部分蓄积, 细胞呈黄色, 检测出 4 个 EN 的代谢产物吸收峰, 浓度随时间的延长而增加, 经 LC-MS/MS 鉴定为大黄素葡萄糖醛酸的 3 个同分异构体及大黄素硫酸结合物。结论 大黄素较二苯乙烯苷更易被 L-02 细胞吸收, 在 L-02 细胞中二者的 I 相代谢产物均未被检测到, 仅检测到二者的 II 相代谢产物。

关键词: 二苯乙烯苷; 大黄素; 吸收; 代谢; 高效液相色谱质谱联用方法

doi: 10.11669/cpj.2015.12.013 中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2015)12-1048-06

Study on Absorption and Metabolism of Active Compounds of *Polygoni Multiflori Radix* in Hepatic L-02 Cells by Liquid Chromatography Tandem-Mass Spectrometry

LIN Pei¹, LU Jian-mei¹, ZHANG Guang-yuan¹, LI Yun-fei¹, GENG Chang-an², CHEN Ji-jun², YU Jie^{1*}, ZHAO Rong-hua¹ (1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the absorption and metabolism of active compounds of *Polygoni Multiflori Radix* in L-02 cells and elucidate their chemical structures by liquid chromatography tandem-mass spectrometry. **METHODS** The active compounds in *Polygoni Multiflori Radix*, 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside(TSG) and emodin(EN), were cultured into L-02 cells. Cell culture media and cell lysis were collected after 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 and 48 h respectively. Reversed-phase high-performance liquid chromatography(HPLC) was used to explore the possible absorption and metabolism. Liquid chromatography-tandem-mass spectrometry(LC-MS/MS) was used to identify the chemical structures of the metabolic products. **RESULTS** TSG showed no obvious accumulation in L-02 cells. One metabolic product of TSG was detected by HPLC, and its concentration increased with time after 8 h. This metabolite was identified as the glucuronidation of TSG by LC-MS/MS. In contrast, EN was partially accumulated in L-02 cells. Three isomers of glucuronidations and one sulfation of EN were also identified by LC-MS/MS. **CONCLUSION** EN is easier to be absorbed and accumulated in L-02 cells than TSG. Phase II metabolic reactions play an important role in the metabolism of TSG and EN in cells. However, the accurate binding sites need to be further confirmed.

KEY WORDS: stilbene glucoside; emodin; absorption; metabolism; LC-MS/MS

何首乌为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)的干燥块根,具有降血脂、延缓动脉粥样硬化、抗衰老、提高免疫力、益智等作用,能显著降低血清总胆固醇和甘油三酯,临床常用于治疗高脂血症^[1]。何首乌的主要化学成分为二苯乙烯苷类、

蒽醌类、卵磷脂类等^[2]。现代研究表明,二苯乙烯苷类为何首乌主要活性成分,其中以 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(二苯乙烯苷, TSG)含量最高,是何首乌质量控制的指标性成分^[3-4]。蒽醌类成分大黄素(EN)也被证实能够较好

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81260553; 81460623); 云南省应用基础研究重点项目(2014FA035); 云南省应用基础研究面上项目(2012FD043)

作者简介: 林佩,女,硕士研究生 研究方向: 天然产物结构修饰及活性研究 * 通讯作者: 俞捷,女,副教授,硕士生导师 研究方向: 药物分析与药理学 Tel: (0871) 65918055 E-mail: cz_yujie@gmail.com

的抑制胆固醇、甘油三酯合成限速酶的活性,升高高密度脂蛋白的含量,进而发挥降脂活性^[5]。然而众多蒽醌类成分的毒性研究也提示^[6],蒽醌类成分会使细胞变小,危害细胞膜的完整性,也有可能造成线粒体膜的消失;蒽醌类成分的三环共平面结构,具有DNA嵌入剂的基本结构特征,可使DNA自身双螺旋结构发生解旋或拉长,使DNA转录和复制受到阻碍或抑制,是产生致突变性和基因毒性的原因。

课题组前期利用Caco-2细胞模型,模拟人肠道上皮对何首乌主要化学成分体外吸收情况中发现^[7],二苯乙烯苷与大黄素表观渗透系数均较小,表明二者的吸收性欠佳。与此同时,在Caco-2细胞裂解液中检测到了TSG和EN的代谢产物,推测TSG和EN及其代谢产物可能都具有一定的药理作用。因此提出利用检测药物在肝细胞内的蓄积及代谢情况,探究二苯乙烯苷和大黄素可能的代谢方式,及原型化合物与代谢产物之间的时-效关系,更清楚地了解该类化合物发挥药效的物质基础,有利于二苯乙烯苷、大黄素等化合物的药用开发。

肝脏作为体内脂、糖代谢的主要器官,可在细胞水平上提供吸收、代谢、转运等综合信息,为药物安全性评价、临床合理用药等提供了重要、理想的体外模型^[8-9],也是评价药物成分对肝细胞功能影响的理想模型。故本实验用肝L-02细胞进行体外研究,设定给药后0、2、4、6、8、12、24、36、48 h共计9个取样时间点,探索二苯乙烯苷、大黄素两种成分在肝细胞内的吸收与代谢情况,为进一步探究二苯乙烯苷与大黄素的药理、毒理作用及其机制提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞

正常人肝L-02细胞(昆明动物研究所)。

1.2 试剂

2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(TSG, J110844-201109,中国药品生物制品检定所,纯度高于98%)、大黄素(EN, J110756-200110,中国药品生物制品检定所,纯度高于98%,结构见图1);RPMI 1640培养基、磷酸盐缓冲液(PBS, Gibco公司);胎牛血清(FBS, Hyclone公司);二甲基亚砜(DMSO, 美国Sigma公司);细胞裂解液(1% Triton X-100, Solarbio公司);乙腈、甲醇为色谱纯,甲酸为分析纯;去离子水由中国上海默克密理博公司的MingChe™-D 24UV系统产生。

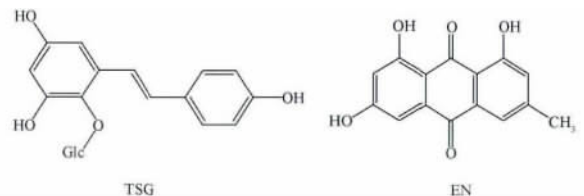


图1 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(TSG)、大黄素(EN)的化学结构

Fig. 1 The chemical structure of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside(TSG) and emodin(EN)

1.3 仪器

超净工作台(SW-CJ-4FD型,苏州安泰空气技术有限公司);荧光倒置相差显微镜(ECLIPSE TS 100,日本Nikon公司);二氧化碳培养箱(MCO-20AIC型,日本三洋科技有限公司);高速台式冷冻离心机(TJL-20M,长沙湘仪离心机仪器有限公司);十万分之一电子分析天平(AB 265-S, METTLER TOLEDO公司);高效液相色谱仪(1200 LC, 美国Agilent);ZOR-BAX SB-C18色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 美国Agilent);LC-MS-IT-TOF仪(日本岛津);C-18色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm, 美国Agilent)等。

2 方法

2.1 细胞培养用药溶液配制

分别精密称取二苯乙烯苷8.12 mg、大黄素5.43 mg于离心管中,加入1 mL DMSO使其完全溶解得 $2 \times 10^{-2} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度药液,取0.3 mL高浓度药液加入2.7 mL培养液配制 $2 \times 10^{-3} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 中浓度药液,再取0.75 mL中浓度药液加入9.25 mL培养液制得最终浓度为 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的给药浓度。0.22 μm针头式过滤器过滤除菌,存于4℃备用。

2.2 细胞实验

取对数生长期的肝L-02细胞,用0.25%胰蛋白酶消化,细胞计数后用正常培养液配成单个细胞悬液,以每孔 3×10^5 个细胞的密度接种于6孔培养板中,每孔培养液体积2 mL。将培养板移入CO₂培养箱中,在37℃、5% CO₂及饱和湿度条件下,培养48 h使其充分贴壁生长,待细胞长至80%融合时,给药组加入等体积2 mL $150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二苯乙烯苷、大黄素药液,空白组给予正常培养液,每组设3个复孔,置于培养箱中进行培养。以给药后0、2、4、8、12、24、36、48 h为时间梯度,分取细胞及上层培养

液,在取得的细胞中分别加入 2 mL 的 1% Triton X-100 细胞裂解液,反复冻融 3 次,以 $2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液,乙腈除蛋白后,以 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 针头式过滤器过滤;上层培养液乙腈除蛋白后,以 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 针头式过滤器过滤,存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。

2.3 高效液相色谱分析实验条件

流动相:0.5% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B) (80:20) 梯度洗脱,顺序为:0~5 min,30% B;5~10 min,65% B;10~15 min,85% B;15~20 min,90% B;检测波长:280 nm,流速: $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm,5 μm)。

2.4 高效液相色谱-质谱检测实验条件

2.4.1 色谱检测条件 流动相:0.05% 甲酸水溶液(A)-0.05% 甲酸乙腈溶液(B) (95:5),梯度洗脱,顺序为:0~12 min,100% B;12~15 min,100% B;检测波长:280 nm,流速: $0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,色谱柱:Agilent C₁₈ (2.1 mm×150 mm,1.8 μm)。

2.4.2 质谱检测条件 精确相对分子质量由三氟乙酸钠($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Na}$)校正,ESI 正负离子切换模式下测定, N_2 压力:100 kPa, N_2 流速: $1.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,喷雾电压: -3.50 kV ,检测电压: 1.60 kV ,设备温度: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,加热模块温度: $200\text{ }^{\circ}\text{C}$,CDL 温度: $200\text{ }^{\circ}\text{C}$,母离子选择范围: $m/z \pm 3.0$,选择时间:20 ms,CID 裂解时间:30 ms,离子搜集时间:10 ms,裂解能量:50%,裂解气:氩气(50%),相对分子质量扫描范围: m/z 100~2 000。

3 结果

3.1 细胞形态的变化

荧光倒置相差显微镜下观察 L-02 细胞培养 48 h 后,正常组细胞贴壁伸展为单层,相邻细胞连接成片,形态舒展,折光均匀,细胞核大而明显;二苯乙烯苷组细胞贴壁生长,与正常组相比细胞略有收缩;大黄素组细胞贴壁生长,细胞收缩变小,变圆,且呈现黄色,细胞核周围出现较多空泡样结构(图 2)。

3.2 二苯乙烯苷与大黄素在肝 L-02 细胞内的吸收代谢

3.2.1 二苯乙烯苷组 HPLC 检测各时间点细胞培养液(图 3),发现随着给药时间延长,TSG 原型化合物的含量有所降低,在 0 至 8 h 内细胞对二苯乙烯苷的吸收速率较快,培养液中的二苯乙烯苷含量下降比例较大(图 4);与此同时,检测到与 TSG 吸

收光谱相似的化合物 A,其浓度随给药时间的延长而增加,在给药 8 至 48 h 之间增长比例较大。如图 3 所示,化合物 A 的保留时间比 TSG 短,极性较 TSG 大。根据药物在体内的代谢原则,推测化合物 A 为二苯乙烯苷的代谢产物,而在细胞裂解液中未能检测到 TSG 以及可能的代谢产物。结果表明,在药物作用前期,细胞对 TSG 的吸收速率较快,通过膜蛋白介导的物质运输途径进入细胞,参与生化反应,并以代谢产物的形式释放出细胞,两者均不在细胞内蓄积。

3.2.2 大黄素组 HPLC 检测大黄素组细胞培养液(图 5),发现 4 个具有和大黄素相似的吸收光谱的化合物 B、C、D、E,且极性 $B > C > D > E > \text{EN}$;化合物 B、C、D 的含量随给药时间的延长而增加,以化合物 D 最为显著(图 6)。与 TSG 组不同,给药后 2 h 即可在细胞裂解液中检测到大黄素原型化合物(图 6),说明大黄素比二苯乙烯苷更易进入并蓄积在肝细胞内;随给药时间的延长,细胞内大黄素的浓度并没有明显升高,推测大黄素因极性较小,较易进入肝细胞并快速代谢,多以代谢产物的形式释放出

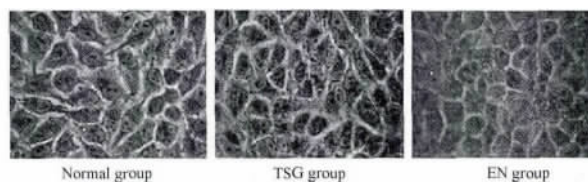


图 2 不同药物作用 L-02 细胞 48 h 后细胞形态图(10×40)
Fig. 2 Morphological pictures of L02 cells treated with different drugs for 48 h(10×40)

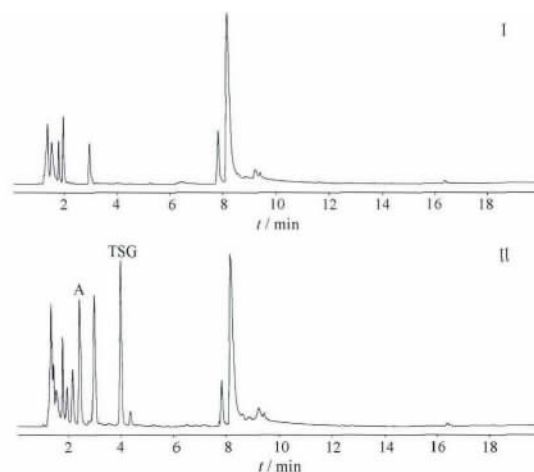


图 3 二苯乙烯苷组细胞培养液高效液相色谱图
I - 空白培养液对照; II - 二苯乙烯苷组给药 48 h 后培养液
Fig. 3 HPLC Chromatograms of TSG in cell culture media
I - blank culture media; II - TSG in cell culture media after 48 h

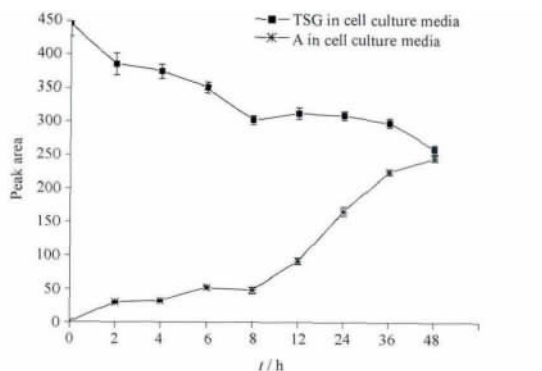


图4 二苯乙烯苷及其代谢产物A在肝细胞培养液中浓度与时间关系图. $n=3 \bar{x} \pm s$

Fig. 4 Concentration-time profiles of TSG and its metabolic product A in cell culture media. $n=3 \bar{x} \pm s$

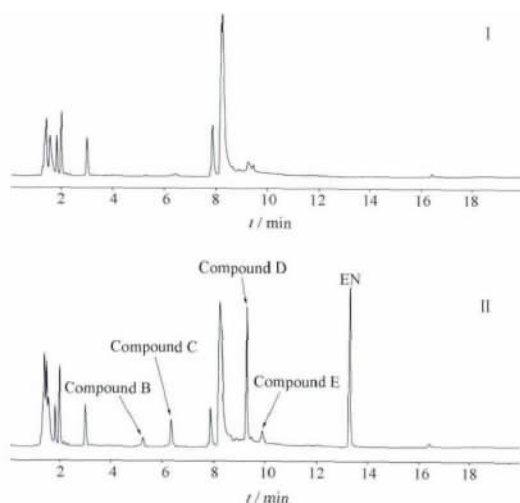


图5 大黄素组细胞培养液高效液相色谱图

I - 空白培养液对照; II - 大黄素组给药48 h后培养液

Fig. 5 HPLC Chromatograms of EN in cell culture media

I - blank culture media; II - EN in cell culture media after 48 h

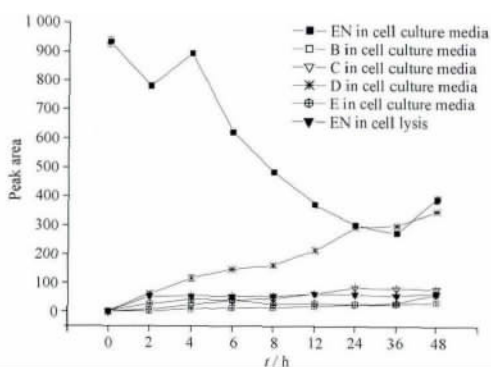


图6 大黄素及可能的代谢产物浓度与时间关系图.

$n=3 \bar{x} \pm s$

Fig. 6 Concentration-time relationships of EN and its metabolic products in cell culture media. $n=3 \bar{x} \pm s$

细胞,减小在细胞内的蓄积量,一定程度上缓解了大黄素原型化合物对细胞的损伤。

3.3 代谢产物的 LC-MS/MS 定性分析

3.3.1 二苯乙烯苷组 将TSG对照品、给药48 h后的细胞培养液,经处理后分别注入液-质联用系统中,在负离子模式全扫描一级质谱条件下,获得了图7标示中的13个色谱峰的准分子离子峰。排除生物样品中常见的无关物质外,结合苷类成分可能的代谢途径,推测 m/z 581 的色谱峰6、7、8 为二苯乙烯苷的葡萄糖醛酸结合产物。为进一步了解代谢产物的质谱断裂规律,本实验采用 MS^2 离子阱技术,选择 m/z 581 为母离子进行二级质谱分析,结果发现 m/z 581 母离子裂解成了 m/z 405 和 m/z 243 两个碎片离子峰,其中 m/z 405 为 m/z 581 的母离子脱掉葡萄糖醛酸基 (m/z 176) 形成, m/z 243 为由 m/z 581 的母离子脱去葡萄糖基 (m/z 162) 的同时,又脱去了葡萄糖醛酸基 (表3)。因此,在结果“3.2.1”中,二苯乙烯苷在肝 L-02 细胞中的代谢产物 A 即为二苯乙烯苷葡萄糖醛酸结合产物的3个同分异构体6、7、8 中的一个化合物。

3.3.2 大黄素组 将大黄素对照品、给药48 h后的细胞培养液,经处理后分别注入液-质联用系统中,在负离子模式全扫描一级质谱条件下,获得了标示中的19个色谱峰的准分子离子峰 (图8)。其中色谱峰11、13、14 均为 m/z 445 (表3),选择 m/z 445 为母离子进行二级质谱分析,均得到 m/z 269 碎片离子峰,是 m/z 445 母离子脱掉葡萄糖醛酸基 (m/z 176) 形成,推测色谱峰11、13、14 为大黄素葡萄糖醛酸的3个同分异构体;对色谱峰15 (表3),选择 m/z 350 为母离子进行二级质谱分析,得到 m/z 269 碎片离子峰,是 m/z 350 母离子脱掉磺酸基 (m/z 81) 形成,推测色谱峰15 则为大黄素硫酸结合产物。因此,结合保留时间大小,在结果“3.2.2”中,大黄素在肝 L-02 细胞中的代谢产物 B、C、D 分别为大黄素葡萄糖醛酸的3个同分异构体11、13、14,化合物E 为大黄素硫酸结合物15。

4 讨论

药物代谢广义包括药物吸收、分布、代谢和排泄过程,狭义是指药物的化学结构改变,即药物的生物转化,它是药物体内消除的主要方式之一,被认为是影响药物作用的最重要因素之一。研究药物代谢,明确代谢途径,确定代谢产物的活性,对制定合理的临床用药方案、剂型设计及新药开发都具有重要的指导意义。在分子生物学技术推动下,药物代谢领

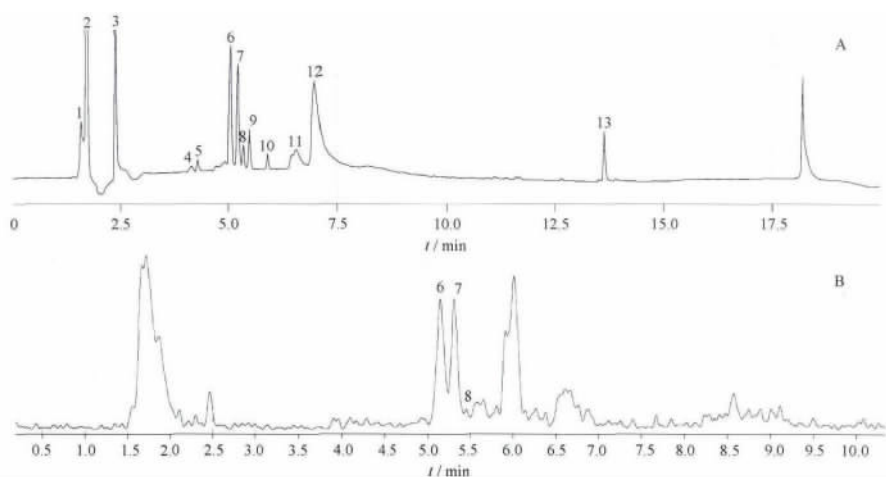


图 7 TSG 组细胞培养液样品色谱图 (A) 及总离子流图 (B)
 1 ~ 5 ,12 ,13 – 内源性产物; 6 ~ 8 – TSG 代谢产物; 10 – TSG 原型化合物
Fig. 7 HPLC Chromatogram (A) and total ion flow chart (B) of TSG in cell culture media
 1 ~ 5 ,12 ,13 – endogenous; 6 ~ 8 – metabolic products of TSG; 10 – TSG

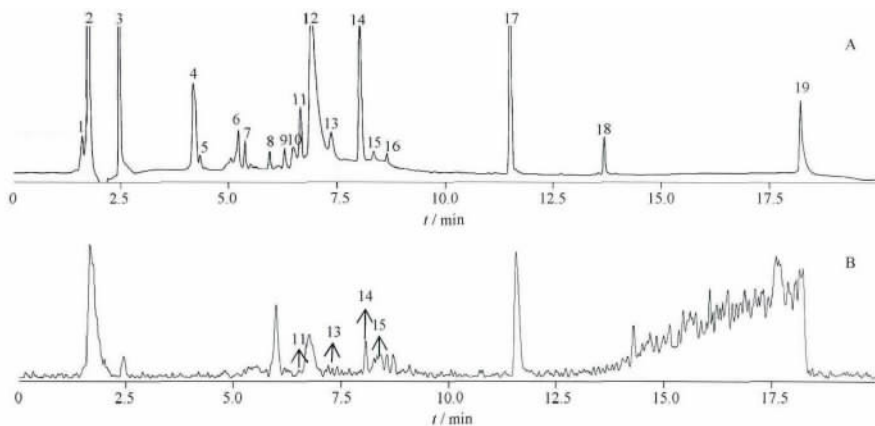


图 8 EN 细胞培养液样品色谱图 (A) 及总离子流图 (B)
 1 ~ 7 ,9 ,10 ,18 ,19 – 内源性产物; 11 ,13 ~ 15 – EN 代谢产物; 17 – EN 原型化合物
Fig. 8 HPLC Chromatogram (A) and total ion flow chart (B) of EN in cell culture media
 1 ~ 7 ,9 ,10 ,18 ,19 – endogenous products; 11 ,13 ~ 15 – metabolic products of EN; 17 – EN

表 3 何首乌中二苯乙烯苷和大黄素组细胞培养液中相关吸收峰 (图 7 8) 的鉴定

Tab. 3 Identification of the components in cell culture media of TSG and EN peak numbers correspond to those found in Fig. 7 and Fig. 8

Group	Peak No.	MS(<i>m/z</i>)	MS ² (<i>m/z</i>)	Identification
TSG related peaks	6	581	405 [M – GlcUA] ⁺ , 243 [M – GlcUA – Glc] ⁺	Glucuronidation of TSG
	7	581	405 [M – GlcUA] ⁺ , 243 [M – GlcUA – Glc] ⁺	Glucuronidation of TSG
	8	581	405 [M – GlcUA] ⁺ , 243 [M – GlcUA – Glc] ⁺	Glucuronidation of TSG
EN related peaks	11	445	269 [M – GlcUA] ⁺	Glucuronidation of EN
	13	445	269 [M – GlcUA] ⁺ , 181	Glucuronidation of EN
	14	445	269 [M – GlcUA] ⁺	Glucuronidation of EN
	15	348	269 [M – SO ₃ H] ⁺	Sulfation of EN

域的研究对临床个体化给药以及药物的相互作用有着极其重要价值。
 本实验中 ,二苯乙烯苷通过膜蛋白介导的物质运输途径进入细胞 ,转化为代谢产物 ,代谢产物较快被转运出细胞 ,二者共同存在培养液中并作用于 L-02 细胞; 大黄素是脂溶性化合物 ,极性较小 ,进入细

胞的量随时间延长而增加,进入细胞后绝大部分转化为葡萄糖醛酸和硫酸结合物,少部分蓄积在细胞内部。二苯乙烯苷与大黄素的代谢产物,均保留了化合物本身的基本骨架,可能产生一种成分与其代谢产物之间的“叠加作用”^[10],共同构成了药物发挥药效的药理作用机制。

药物在体内的代谢通常分为两相:第Ⅰ相主要是官能团化反应,包括对药物分子的氧化、还原、水解等;第Ⅱ相又称为结合反应,将第Ⅰ相中药物产生的极性基团与体内的内源性成分,如葡萄糖醛酸、硫酸、甘氨酸或谷胱甘肽,经共价键结合,生成极性大、易溶于水 and 易排出体外的结合物^[11]。二苯乙烯苷和大黄素均具有多个活泼的羟基结构,较易产生Ⅱ相代谢反应。本实验中未检测到Ⅰ相代谢产物,仅检测到Ⅱ相代谢产物。二苯乙烯苷和大黄素作用于L-02细胞后,均产生不同异构体的葡萄糖醛酸结合产物及硫酸结合产物,但因质谱无法确定取代基的位置,所以精准结构还有待于进一步的光谱分析。

二苯乙烯苷作为何首乌主要活性成分,对它的体内吸收代谢研究越来越受到重视,研究报道^[6]二苯乙烯苷主要排泄途径是胆汁,胆汁中除含有少量的原型药物外,绝大部分是以代谢物二苯乙烯苷的C₃-OH葡萄糖醛酸结合物的形式排泄。而大黄素等蒽醌类化合物因安全性备受关注,现代研究发现^[12-14],葡萄糖醛酸化是单羟基和多羟基蒽醌类药物的主要代谢方式,大黄素的药动学研究也表明,大鼠口服给药后,大黄素主要以葡萄糖醛酸化代谢产物的形式进入体循环。

本实验鉴于课题组前期发现二苯乙烯苷和大黄素对脂肪化肝细胞有较好的降脂活性,因此将肝L-02细胞作为实验对象,探究大黄素、二苯乙烯苷在肝细胞的吸收代谢特点。结果显示,二苯乙烯苷和大黄素作用于肝L-02细胞后,产生二苯乙烯苷葡萄糖醛酸结合物,大黄素葡萄糖醛酸化产物的3个同分异构体以及大黄素硫酸结合物,不仅将验证了二苯乙烯苷和大黄素的代谢规律,还填补了二者在离体肝细胞中代谢研究的空缺。

REFERENCES

- [1] Ch. P(2010) Vol. I (中国药典2010年版一部) [S]. 2010: 164.
- [2] WANG W J, XUE Y M, ZHAO R H, et al. Progress of chemical composition and pharmacological of Padix Polygoni Multiflori [J]. *J Yunnan Coll Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2007, 30(3): 60-64.
- [3] KIM H K, CHOI Y H, CHOI J S, et al. A new stilbene glucoside gallate from the roots of *Polygonum multiflorum* [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2008, 31(10): 1225-1229.
- [4] XU Y L, DONG Q, HU F Z. Simultaneous quantitative determination of eight active components in *Polygonum multiflorum* Thunb. by RP-HPLC [J]. *J Chin Pharm Sci* (中国药学: 英文版), 2009, 18(4): 358-361.
- [5] WANG W G, HE Y R, LIN P, et al. In vitro effects of active components of *Polygonum Multiflorum* Radix on enzymes involved in the lipid metabolism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 763-770.
- [6] BUENZ E J. Aloin induces apoptosis in Jurkat cells [J]. *Toxicol in Vitro*, 2008, 22(2): 422-429.
- [7] YU J, LI N, LIN P, et al. Intestinal transportations of main chemical compositions of *Polygoni Multiflori Radix* in caco-2 cell model [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 23(49): 2077-2082.
- [8] LIU S Y, DUAN Y, LI X. Recent development of metabolomics and its application in liver [J]. *J Mol Diagn Ther* (分子诊断与治疗杂志), 2009, 1(3): 197-202.
- [9] XU G Y, GE W H. Metabonomics and the progress of liver metabolomics [J]. *Neimonggu Tradit Chin Med* (内蒙古中医药), 2011, 30(6): 115-116.
- [10] XU F, YANG D H, SHANG M Y, et al. Effective forms, additive effect, and toxicities scattering effect of pharmacodynamic substances of traditional Chinese medicines (TCMs) - some reflections evoked by the study on TCM metabolic disposition [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术—中医药现代化), 2014, 16(4): 688-703.
- [11] YANG X W, HAO M R. *Metabolite Analysis for Chemical Constituents of Traditional Chinese Medicines* (中国成分代谢分析) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House, 2003: 95-96.
- [12] LIU W, WANG Y F, LIU Z Q. Glucuronidation of emodin in human liver and intestinal microsomes [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2012, 28(9): 1681-1685.
- [13] SHIA C S, JUANG S H, TSAI S Y, et al. Metabolism and pharmacokinetics of anthraquinones in *rheum palmatum* in rats and ex vivo antioxidant activity [J]. *Planta Med*, 2009, 75(13): 1386-1392.
- [14] SHIA C S, HOU Y C, TSAI S Y, et al. Differences in pharmacokinetics and ex vivo antioxidant activity following intravenous and oral administrations of emodin to rats [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99(4): 2185-2195.

(收稿日期: 2014-12-08)