

UPLC-Q-TOF-MS检测槲皮素代谢产物在大鼠血清及组织中的分布

邢萌萌, 朱科学, 聂少平, 李娜, 李文娟, 杨希, 谢明勇*
(南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘要: 目的: 采用四极杆-飞行时间串联质谱(Q-TOF-MS)检测分析大鼠口服槲皮素单体后血清和组织中的代谢产物。方法: 血清和组织样品采用Sephadex LH-20固相萃取小柱进行分离纯化, 使用Q-TOF-MS检测, 以体积分数0.1%甲酸溶液-乙腈为流动相梯度洗脱, 电喷雾离子源负离子条件下进行扫描, 鉴定大鼠给药槲皮素单体后血清及组织中的代谢产物。结果: 槲皮素在血液中主要以其与葡萄糖醛酸、硫酸酯结合物的形式存在, 约占全部代谢物的73.70%, 一部分也以其与脂肪酸结合物的形式存在, 约占26.30%; 此外, 槲皮素在体内分布广泛, 在组织中的总含量由高到低依次为乳腺>子宫>卵巢>肾上腺>心>脾>肝>肾。结论: Q-TOF-MS可快速、有效地鉴定出SD大鼠血清及组织中的槲皮素代谢产物, 为今后进行槲皮素与人类健康效应相关的研究提供参考。

关键词: 槲皮素; 四极杆-飞行时间串联质谱仪; 葡萄糖醛酸; 硫酸酯; 代谢物

Determination of Quercetin Metabolites in Rats Serum and Tissues by UPLC-Q-TOF-MS

XING Meng-meng, ZHU Ke-xue, NIE Shao-ping, LI Na, LI Wen-juan, YANG Xi, XIE Ming-yong*
(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Objective: To determine quercetin metabolites in serum and tissues of rats after intragastric administration of quercetin aglycone by quadrupole-time of flight-mass spectrometry (Q-TOF-MS). Methods: The pre-processed serum and tissue samples were separated and purified by Sephadex LH-20 solid-phase column. The collected aliquots were analyzed by Q-TOF-MS in the negative ion mode using gradient elution with a mobile phase composed of 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) to identify the metabolites of quercetin. Results: The Q-TOF-MS analysis showed that quercetin was primarily metabolized to glucuronides and sulfates (73.70%) as well as esters (26.30%). Moreover, quercetin and quercetin metabolites were widely distributed in rat tissues, especially in the female reproductive organs in SD rats. Its total concentration in tissues was as follows: breast > uterus > ovary > adrenal gland > heart > spleen > liver > kidney. Conclusion: Q-TOF-MS can quickly and effectively identify quercetin metabolites in serum and tissues of SD rats and provide references for future study on the relationship between quercetin or its metabolites and health effect in the future.

Key words: quercetin; quadrupole-time of flight-mass spectrometry; glucuronides; sulfates; metabolites

中图分类号: R151.2; R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)24-0158-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201324033

类黄酮(flavonoids)是植物中一类重要的次生代谢产物, 以结合态(黄酮苷)或自由态(黄酮苷元)的形式广泛存在于蔬菜、水果、豆类和茶叶等食源性植物中^[1], 主要分布于植物的外层组织中, 例如皮和外层叶中。美国居民平均每天摄入类黄酮类物质约1g以上。研究表明黄酮类化合物能有效减少慢性退行性疾病(包括心脑血管疾病^[2]、

癌症、类风湿性关节炎、Parkinson's^[3]和Alzheimer's^[4]疾病等)的发生, 具有潜在的健康促进效应。槲皮素是1种主要的类黄酮类物质, 以槲皮素-3,4'-二葡萄糖苷酸、槲皮素-4'-葡萄糖苷酸、异鼠李素-4'-葡萄糖苷酸等形式^[5]存在于包括洋葱在内的许多植物中, 具有抗癌^[6]、抗氧化^[7]、抗炎、抗动脉粥样硬化以及心脑血管保护^[2]等生物活性。实

收稿日期: 2013-02-21

基金项目: 科技部国际合作项目(2010DFA31780)

作者简介: 邢萌萌(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为营养与食品卫生学。E-mail: xingmengmeng0723@163.com

*通信作者: 谢明勇(1957—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学与分析、食品营养与安全、糖生物化学、中药现代化及传统食品现代化。E-mail: myxie@ncu.edu.cn

验动物或人口服摄入槲皮素后,它在血清及组织中的存在形式及其代谢产物的情况一直是研究热点,目前大多数文献对槲皮素在血液及组织中的研究仅局限于对其水溶性代谢产物分析,对脂溶性代谢产物的研究很少。因此,本实验采用正己烷-氯仿和甲醇洗脱血清萃取样品,并通过Sephadex LH-20固相萃取小柱对槲皮素脂溶性和水溶性代谢产物进行分离^[8],使用检出限低、灵敏度和分离度高的四极杆-飞行时间串联质谱仪(quadrupole-time of flight-mass spectrometry, Q-TOF-MS)来分析槲皮素在体内的代谢物,为槲皮素的代谢产物分析提供理论依据,对槲皮素等黄酮类物质更深入的代谢分析及生物活性研究提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

槲皮素(quercetin)、异鼠李素(isorhamnetin)标准品(纯度>99%) 上海同田生物有限公司;胰脂肪酶、 β -葡萄糖醛酸酶、硫酸酯酶 美国Sigma-Aldrich公司;SephadexTM LH-20葡聚糖凝胶 瑞典GE Healthcare Bio-Sciences AB公司;甲醇、乙腈、甲酸等(均为色谱纯) 德国Merck公司;乙酸铵、乙酸乙酯、正己烷、氯仿(均为分析纯) 上海振兴化工一厂;实验用水为超纯水 美国Millipore公司。

1.2 仪器与设备

6538 GHD Accurate-MS Q-TOF LC-MS(配有G4212A DAD检测器、电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)、ZORBAX Eclipse Plus C₁₈色谱柱 美国Agilent公司;移液枪 德国Eppendorf公司;Sephadex LH-20小柱 南昌青云谱恒盛玻璃仪器厂;3K15冷冻离心机 美国Sigma公司;纯水系统 美国Millipore公司;氮吹仪 北京成萌伟业科技有限公司;DZG26050真空干燥箱 上海森信实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 动物实验

SD雌性大鼠(南昌大学实验动物中心提供),共16只,随机分为空白组和灌胃组,饲养环境温度控制在25℃,适应期为7d,每天控制自由进食、饮水时间为8h,喂食特殊饲料(质量分数分别为:45.4%玉米淀粉、24.5%酪蛋白、10.0%蔗糖、6.0%玉米油、5.0%纤维素、1.0%糊化淀粉、1.0%维生素、7.0%矿物质)。

1.3.1.1 血清、组织样品采集

灌胃组每天按160mg/kg的剂量灌胃给药槲皮素二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)混悬溶液,空白组给以等量DMSO溶液,连续灌胃21d,在第21天给药4h后于内眼眶静脉丛取血,立即于4℃、5000r/min离心15min,

取血清,置-80℃冷冻贮存备用。随后解剖大鼠取其肝脏、乳腺、卵巢、子宫等组织称质量后于-80℃保存备用。灌胃前1h取空白血清作为对照。

1.3.1.2 血样及组织样品处理

血样预处理:取300 μ L灌胃4h后的血清、空白对照血清,加入2mL乙酸乙酯涡旋混匀后5000r/min离心5min,萃取4次,合并上清液于玻璃试管中, N₂吹干。

组织样品预处理:用生理盐水将组织样本制成匀浆液,用3倍体积的乙酸乙酯涡旋混匀,5000r/min离心5min,萃取4次,合并上清液于玻璃试管中, N₂吹干。

血清及组织样品中槲皮素脂溶性、水溶性代谢产物分离:参照文献[8],预处理后的血清或组织样本,用正己烷-氯仿(1:1, V/V)和甲醇进行洗脱样品,采用Sephadex LH-20固相萃取小柱进行分离纯化,定量收集洗脱液得正己烷相(即脂溶相)和甲醇相(即水溶相)。

1.3.1.3 酶解处理和进样

正己烷相和甲醇相分别为2等份, N₂吹干,1份用于检测代谢产物,1份用于检测原成分。分别做以下处理:1)1份正己烷相以200 μ L甲醇复溶,加入1g/100mL胰脂肪酶溶液150 μ L,37℃水浴酶解4h,检测槲皮素、异鼠李素的脂肪酸衍生物;2)1份甲醇相以200 μ L甲醇复溶,用醋酸铵缓冲液调节pH值约4.9,涡旋混匀,加入5 μ L β -葡萄糖醛酸酶和5 μ L硫酸酯酶,涡旋混匀后37℃水浴密闭酶解过夜,检测槲皮素、异鼠李素的葡萄糖醛酸和硫酸衍生物。1)、2)样品酶解完成后,加入2mL乙酸乙酯涡旋混匀,5000r/min离心5min,萃取4次,合并上清液于玻璃试管中, N₂吹干。最后以200 μ L甲醇复溶,过0.22 μ m滤膜,进样;3)另外1份正己烷相和甲醇相洗脱部分不做酶处理,直接以200 μ L甲醇复溶,过0.22 μ m滤膜,进样检测槲皮素、异鼠李素原成分。

1.3.2 色谱条件^[8-10]

色谱柱:ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(RRHD)(2.1mm $\times$ 50mm, 1.8 μ m);流动相A:体积分数为0.1%甲酸溶液;流动相B:100%乙腈;梯度洗脱:0~1min, 10%~35%B;1~3min, 35%B;3~6min, 35%~80%B;6~8min, 80%B;8~9min, 80%~10%B;9~10min, 10%B;流速0.35mL/min;柱温30℃;样品温度20℃;进样量5 μ L;检测波长360、260nm。

1.3.3 质谱条件^[9-11]

电喷雾离子源负离子模式;离子源温度100℃;气化室温度350℃;脱溶剂气(N₂)体积流量10L/min;裂解电压180V;质量扫描范围 m/z 50~1000;定性离子 m/z 301、315。

1.3.4 线性关系和精密度考察

槲皮素和异鼠李素对照品经60℃真空干燥至质量恒定,精密称取0.4mg置于100mL容量瓶中,加甲醇溶解并

稀释至刻度, 摇匀, 制成4 μ g/mL对照品储备液。精密量取4 μ g/mL对照品溶液50mL, 置于100mL容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得质量浓度为2 μ g/mL的工作液, 按上述方法分别配制质量浓度为0.000、0.005、0.010、0.050、0.250、0.500、0.750、1.000、1.500、2.000、4.000 μ g/mL的标准液。取上述溶液按1.3.2节和1.3.3节条件检测, 同时记录色谱图。

分别对0.5、2 μ g/mL的槲皮素和异鼠李素标准溶液进行日间6次平行进样, 考察仪器日间精密度。

1.3.5 空白基质加标回收率

在空白血液和组织中加入4 μ g/mL槲皮素100 μ L、4 μ g/mL异鼠李素100 μ L标品溶液, 停留30min, 按1.3.1.2节步骤处理, 用1000 μ L甲醇复溶, 过0.22 μ m滤膜, 上机检测, 测定回收率。

2 结果与分析

2.1 槲皮素与异鼠李素标准液的检测

根据1.3节条件, 槲皮素和鼠李素的保留时间(retention time, RT)分别为2.49min和4.20min。对标准液样品进行分析(图1), 发现该条件能够较好地分离和检测槲皮素与异鼠李素, 其定性分子[M-H]⁻分别为 m/z 301.03和 m/z 315.05。

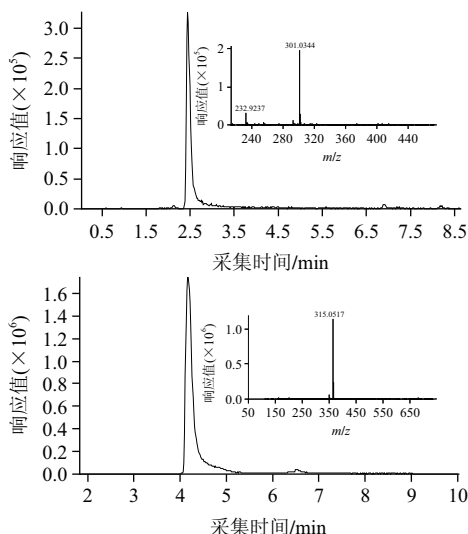


图1 槲皮素(a)和异鼠李素标准液(b)的离子色谱图及质谱图

Fig.1 Ion current chromatogram and mass spectra of quercetin and isorhamnetin standards

2.2 线性关系和精密度

以槲皮素标准品进样, 以质量浓度(x)对峰面积积分值(y)进行线性回归, 得回归方程为: 槲皮素 $y=4206865.52x+5814.11$, $R^2=0.999$; 异鼠李素 $y=4018191.42x+6457.19$, $R^2=0.999$ 。结果表明: 槲皮素和异鼠李素标准品进样质量浓度在0.000~4.000 μ g/mL范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

由于使用小颗粒快速填充柱(粒径为1.8 μ m), 超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)比高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)具有更高的灵敏度和精密度。对2 μ g/mL槲皮素标样进行6次平行测定, 其相对标准偏差仅为1.65%。槲皮素和异鼠李素的检出限均为1ng/mL, 表明UPLC-Q-TOF-MS能满足血清样本中槲皮素和异鼠李素微量检测的需要。

2.3 空白基质加标回收率

根据得到的线性回归方程分别计算出血清和各组织的槲皮素、异鼠李素含量以及平均加标回收率(表1)。乙酸乙酯萃取后, 大于80%的槲皮素和异鼠李素能被回收, 回收率较高且较稳定, 适合实验中血液和组织中槲皮素及异鼠李素的提取。

表1 血清及各组织中槲皮素及异鼠李素提取回收率

Table 1 Recoveries of quercetin and isorhamnetin in serum and tissues

样品	槲皮素		异鼠李素	
	回收率	RSD	回收率	RSD
血清	83.11	3.11	80.03	3.32
肝	82.14	3.62	79.83	3.47
肾	81.56	3.59	80.21	3.52
心	82.47	3.27	81.46	3.44
脾	82.92	3.32	81.39	3.62
肾上	84.74	3.13	82.65	3.14
子宫	84.79	3.15	82.78	3.21
卵巢	83.34	3.26	83.16	3.19
乳腺	82.65	3.34	82.38	3.11

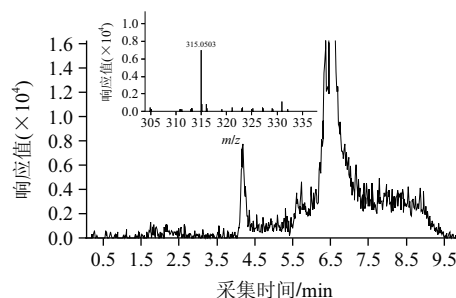
2.4 血清及组织中槲皮素及其代谢产物的检测

表2 样品中槲皮素和异鼠李素的含量

Table 2 The contents of quercetin and isorhamnetin in serum and tissues

样品	甲醇酶相			正己烷酶相			总代谢物
	槲皮素	异鼠李素	槲皮素+异鼠李素	槲皮素	异鼠李素	槲皮素+异鼠李素	
血清*	0.0905	0.1107	0.2012	0.0718	—	0.0718	0.2730
肝	0.0633	0.0810	0.1443	0.1002	0.0401	0.1403	0.2846
肾	0.0630	0.1321	0.1951	—	—	—	0.1951
心	0.1763	1.5631	1.7394	0.0701	0.0344	0.1045	1.8439
脾	0.0275	0.1256	0.1531	0.0259	0.1114	0.1373	0.2904
肾上腺	1.9159	2.1771	4.093	0.6967	—	0.6967	4.7897
卵巢	2.5345	1.7289	4.2634	0.6289	0.1864	0.8153	5.0787
子宫	0.5522	2.6555	3.2077	1.5193	1.6581	3.1774	6.3851
乳腺	41.2471	2.7430	43.9901	1.2561	0.4966	1.7527	45.7428

注: *. 单位为 μ mol/L; —. 未检出。



a. 血清甲醇酶相中异鼠李素

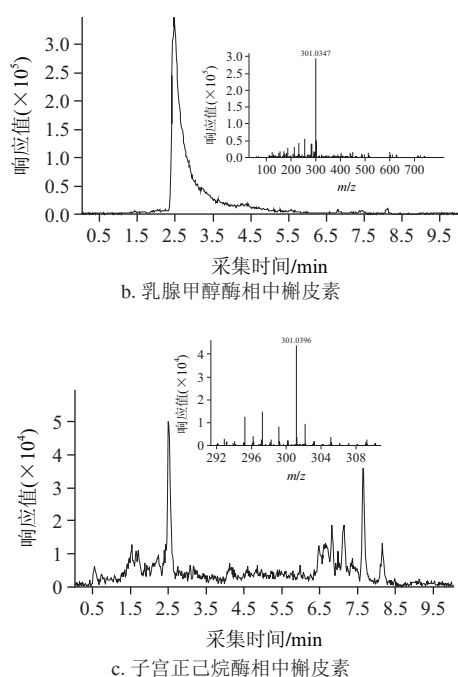


图2 血清和组织样品中各分离相中槲皮素、异鼠李素的离子色谱图及其质谱图

Fig.2 Ion current chromatograms and mass spectra of quercetin and isorhamnetin in serum and tissues

2.4.1 血清

如表2和图2a所示,血清甲醇分离相经 β -葡萄糖醛酸酶和硫酸酯酶酶解后,能检测到槲皮素和异鼠李素;血清正己烷分离相经胰脂肪酶酶解后能检测到槲皮素,不能检测到异鼠李素。但未经酶处理的血清正己烷分离相和甲醇分离相并未检测到槲皮素、异鼠李素及其裂解产物,说明槲皮素和异鼠李素进入大鼠体内以后,很快与体内葡萄糖醛酸、硫酸或脂肪酸形成了衍生物,在体内以结合物的形式存在。这种结合形式是否会影响人体对生物活性物质的吸收和利用,有待进一步考察和研究。

通过线性回归方程计算出大鼠灌胃给药槲皮素后,血清中槲皮素及其代谢产物的总浓度为 $0.2730\mu\text{mol/L}$ 。其中以槲皮素和异鼠李素的葡萄糖醛酸、硫酸结合物形式存在的代谢物的浓度约为 $0.2012\mu\text{mol/L}$ (其中槲皮素结合物的浓度为 $0.0905\mu\text{mol/L}$,异鼠李素结合物的浓度约为 $0.1107\mu\text{mol/L}$);以槲皮素脂肪酸衍生物形式存在的代谢物的浓度约为 $0.0718\mu\text{mol/L}$ 。通过计算可得出血清中以槲皮素为原形的代谢物中,与脂肪酸成酯的代谢物约占槲皮素血液中代谢物的26.30%;血清中槲皮素及异鼠李素与葡萄糖醛酸、硫酸成酯的代谢物约占血清中槲皮素代谢物73.70%,其中槲皮素结合酯占44.98%,异鼠李素结合酯约为55.02%。

2.4.2 组织

本实验考察8种组织,包括雌性大鼠的生殖器官(子宫、卵巢和乳腺),大鼠的内分泌器官(肾上腺)和高灌注

器官(肝脏、肾、心脏及脾脏)。与血清类似,各组织未经酶处理的正己烷分离相和甲醇分离相均未检测到槲皮素、异鼠李素及其裂解物形式。

各组织甲醇分离相经 β -葡萄糖醛酸酶和硫酸酯酶酶解后,能检测到槲皮素和异鼠李素(图2b);除肾脏外,其余组织的正己烷分离相经胰脂肪酶酶解后均能检测到槲皮素(图2c),部分组织也能检测到少量异鼠李素。大鼠灌胃给药21d(灌胃后第4h取血)后,各组织酶解后的槲皮素和异鼠李素的含量见表2。大鼠组织中槲皮素及异鼠李素的葡萄糖醛酸、硫酸衍生物的含量由高到低为:乳腺>卵巢>肾上腺>子宫>心>肾>脾>肝;槲皮素及异鼠李素的脂肪酸结合物的含量由高到低为:子宫>乳腺>卵巢>肾上腺>肝>脾>心,其中肾中没有检测到脂肪酸结合物。由表2可以得出,不同代谢形式的总槲皮素在各组织中的含量由高到低依次为乳腺>子宫>卵巢>肾上腺>心>脾>肝>肾。结果表明槲皮素在体内分布广泛,尤其在雌性SD大鼠生殖器官中分布较高。

3 讨论

过去一直认为类黄酮物质(如槲皮素及其衍生物)很少被吸收,但近几年许多体内外实验结果显示,槲皮素及其衍生物进入体内后,有相当一部分通过“LPH被动吸收”^[12-13]和“主动转运/CBG”^[14-16]而被机体吸收利用,在血液中则多以糖或硫酸衍生物等活性形式存在并发挥作用。

本研究使用Sephadex LH-20固相萃取小柱成功分离出槲皮素脂溶性(正己烷相,主要为槲皮素脂肪酸衍生物)和水溶性(甲醇相,主要为槲皮素葡萄糖醛酸、硫酸衍生物)代谢产物。在Q-TOF-ESI-MS负离子模式下检测大鼠及其组织中的代谢物,检测限为 1ng/mL 。实验结果显示:SD大鼠槲皮素持续灌胃21d后血清和组织中没有检测到槲皮素单体形式;而样品经胰脂肪酶、 β -葡萄糖醛酸酶和硫酸酯酶等酶解后则可以检测到槲皮素或异鼠李素,说明血清和组织中存在槲皮素葡萄糖醛酸、硫酸和脂肪酸结合物。这与Justino^[17]、Mullen^[18]等的研究一致。此外,Aziz等^[19]的人体实验结果表明槲皮素在人体血中主要是以葡萄糖苷形式存在;Morand等^[20]通过动物实验发现,槲皮素的循环代谢产物中91.5%是异鼠李素和槲皮素的葡萄糖苷酸-硫酸化衍生物,其余8.5%为槲皮素和异鼠李素的葡萄糖苷酸化衍生物。

本实验结果显示:血清中槲皮素代谢物的总浓度为 $0.2730\mu\text{mol/L}$,其中槲皮素及其甲基化物异鼠李素的葡萄糖醛酸、硫酸衍生物的含量约为 $0.2012\mu\text{mol/L}$ (其中槲皮素葡萄糖醛酸、硫酸衍生物占44.98%,异鼠李素葡萄糖醛酸、硫酸衍生物约55.02%),占槲皮素代谢物总量的

73.70%；槲皮素及异鼠李素的脂肪酸衍生物的浓度约为 $0.0718\mu\text{mol/L}$ (全部为槲皮素结合酯)，占槲皮素代谢物总量的26.30%。研究结果说明：槲皮素在体内更易与葡糖醛酸、硫酸结合成酯，这与类黄酮化合物的吸收代谢机制相一致，槲皮素昔元可能在肠黏膜通或肝脏中通过UDP-葡糖醛酸酶转移酶/硫酸转移酶将槲皮素转化为其结合物形式^[21-23]，随后再进入循环系统。然而也有相当一部分槲皮素与脂肪酸成酯，说明体内存在槲皮素的脂肪酸衍生物，但是目前国内外大多数文献对槲皮素在体内的研究仅局限于对其水溶性代谢产物分析，对脂溶性研究则很少，所以本实验对大鼠体内的槲皮素代谢产物进行分离和分析，得到槲皮素脂肪酸结合物的代谢物形式。但是异鼠李素因其羟基被甲基化，不易与脂肪酸结合成酯，故血液中脂肪酸成酯部分全部是以槲皮素形式存在。大鼠组织中的结果与血清类似，SD大鼠持续灌胃21d后各组织水溶性代谢产物(葡糖醛酸、硫酸结合物)中，卵和乳腺中槲皮素结合物的含量大于异鼠李素结合物，其余组织则相反，这可能与槲皮素在体内代谢成其甲基化物异鼠李素、再与葡糖醛酸、硫酸成酯有关。肝、卵、子宫和乳腺等组织中均含一定量槲皮素、异鼠李素的脂肪酸结合物。此外，槲皮素及其代谢产物在组织中的含量由高到低依次为乳腺>子宫>卵巢>肾上腺>心>脾>肝>肾，表明槲皮素在体内分布广泛，这与de Boer^[24]、Abrahamse^[25]等研究相类似。槲皮素及其代谢产物在雌性大鼠生殖器官中的分布较高，这可能与其对生殖系统疾病(例如肿瘤)有一定的作用有着密切关系。本实验通过对槲皮素代谢产物的分析，为研究槲皮素等类黄酮物质的不同代谢产物对防治某些疾病(如心脑血管疾病、肿瘤)的生理机制提供一定参考依据。此外，研究结果对类黄酮生物活性物质的了解、开发及利用具有十分重要的意义。

参考文献：

- [1] DICK A J, REDDEN P R, DEMARCO A C, et al. Flavonoid glycosides of Spartan apple peel[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1987, 35(4): 529-531.
- [2] 李云峰, 郭长江. 类黄酮物质抗动脉粥样硬化作用研究进展[J]. *疾病控制杂志*, 2003, 7(3): 239-242.
- [3] ARREDONDO F, ECHEVERRY C, ABIN-CARRIQUIRY J A, et al. After cellular internalization, quercetin causes Nrf2 nuclear translocation, increases glutathione levels, and prevents neuronal death against an oxidative insult[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 49(5): 738-747.
- [4] ANSARI M A, ABDUL H M, JOSHI G, et al. Protective effect of quercetin in primary neurons against A β (1-42): relevance to Alzheimer's disease[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2009, 20(4): 269-275.
- [5] SLIMESTAD R, FOSSEN T, VÅGEN I M. Onions: a source of unique dietary flavonoids[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(25): 10067-10080.
- [6] INDAP M, RADHIKA S, MOTIWALE L, et al. Quercetin: antitumor activity and pharmacological manipulations for increased therapeutic gains[J]. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2006, 68(4): 465-469.
- [7] ZHOU Jing, WANG Liufang, WANG Jinyi, et al. Synthesis, characterization, antioxidative and antitumor activities of solid quercetin rare earth (III) complexes[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2001, 83(1): 41-48.
- [8] 许春莲, 胡晓鹏, 邱奇琦, 等. 小鼠血浆中槲皮素脂溶性及水溶性代谢产物的分离与测定[J]. *食品科学*, 2012, 33(6): 132-136.
- [9] 陈峰, 符乃光, 任守忠, 等. 液相色谱-质谱联用法测定大鼠血浆中的槲皮素代谢物[J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43(3): 225-227.
- [10] WANG L, MORRIS M E. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for quercetin and conjugated quercetin metabolites in human plasma and urine[J]. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical Life Sciences*, 2005, 821(2): 194-201.
- [11] 符乃光, 陈峰, 魏娜, 等. LC-MS法鉴定槲皮素在大鼠体内的主要代谢产物[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(5): 764-768.
- [12] DAY A J, DÍAZ J C, KROON P A, et al. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase[J]. *FEBS Letters*, 2000, 468(2/3): 166-170.
- [13] DAY A J, GEE J M, DUPONT M S, et al. Absorption of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside in the rat small intestine: the role of lactase phlorizin hydrolase and the sodium-dependent glucose transporter[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2003, 65(7): 1199-1206.
- [14] WALGREN R A, LIN J T, KINNE R K H, et al. Cellular uptake of dietary flavonoid quercetin 4'- β -glucoside by sodium-dependent glucose transporter SGLT1[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, 294(3): 837-843.
- [15] GEE J M, DUPONT M S, RHODES M J C, et al. Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1998, 25(1): 19-25.
- [16] MURPTA K, TERAJO J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2003, 417(1): 12-17.
- [17] JUSTINO G C, SANTOS M R, CANÁRIO S, et al. Plasma quercetin metabolites: structure-antioxidant activity relationships[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2004, 432(1): 109-121.
- [18] MULLEN W, EDWARDS C A, CROZIER A. Absorption, excretion and metabolite profiling of methyl-, glucuronyl-, glucosyl- and sulpho-conjugates of quercetin in human plasma and urine after ingestion of onions[J]. *British Journal of Nutrition*, 2006, 96(1): 107-116.
- [19] AZIZ A A, EDWARDS C A, LEAN M E J, et al. Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4'- O - β -glucoside and isorhamnetin-4'- O - β -glucoside by human volunteers after the consumption of onions[J]. *Free Radical Research*, 1998, 29(3): 257-269.
- [20] MORAND C, CRESPIY V, MANACH C, et al. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties[J]. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 1998, 275: R212-R219.
- [21] CRESPIY V, MORAND C, MANACH C, et al. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 1999, 277(1): G120-G126.
- [22] PISKULA M K, TERAJO J. Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues[J]. *The Journal of Nutrition*, 1998, 128(7): 1172-1178.
- [23] DÉPREZ S, BREZILLON C, RABOT S, et al. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids[J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(11): 2733-2738.
- [24] de BOER V C, DIHAL A A, van der WOUDE H, et al. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs[J]. *The Journal of nutrition*, 2005, 135(7): 1718-1725.
- [25] ABRAHAMSE S L, KLOOTS W J, van AMELSVOORT J M. Absorption, distribution, and secretion of epicatechin and quercetin in the rat[J]. *Nutrition Research*, 2005, 25(3): 305-317.