

## 代谢分析

基于 UPLC – Orbitrap MS/MS 对比分析女贞子  
不同炮制品中多成分药代动力学特征\*赵灿楠<sup>1,2</sup>, 孙淑竹<sup>1,2,3</sup>, 郑历史<sup>1,2,3</sup>, 赵迪<sup>1,2,3</sup>, 李焕茹<sup>1,2</sup>, 冯素香<sup>1,2,3\*\*</sup>(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046;  
3. 河南省现代中药研发与应用工程研究中心, 郑州 450046)

**摘要** 目的: 建立血浆中红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的超高效液相色谱-质谱分析方法, 探究女贞子、酒女贞子、醋女贞子、盐女贞子、清蒸女贞子 5 种不同炮制品在大鼠体内的药代动力学特征差异。方法: SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为 6 组, 分别灌胃给予女贞子不同炮制品水提液  $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (以生药量计), 以京尼平苷为内标物, 血浆样品经甲醇沉淀蛋白, 采用 UPLC – MS/MS 负离子 SIM 模式测定不同时间点大鼠血浆中红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷以及女贞苷 G13 的浓度, Kinetic 5.1 软件计算药代动力学参数, GraphPad Prism 8.4.0 软件进行数据分析。结果: 红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷质量浓度在  $2.00 \sim 1385 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内, 女贞苷 G13 质量浓度在  $1.30 \sim 650 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内线性关系良好, 精密度 RSD 均  $< 10\%$ , 提取回收率均在  $85\% \sim 105\%$ , 基质效应和稳定性均符合生物样品的要求。药动力学研究结果显示, 与生女贞子相比, 酒女贞子的毛蕊花糖苷  $AUC_{0-\infty}$ 、 $MRT_{0-t}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $C_{\max}$  均显著升高 ( $P < 0.01$ ), 分别为  $751.36 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ ,  $5.87 \text{ h}$ ,  $377.82 \text{ h}$ ,  $38.11 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 盐女贞子的特女贞苷和女贞苷 G13  $C_{\max}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  和  $t_{1/2}$  均显著升高 ( $P < 0.01$ ),  $C_{\max}$  分别为  $66.45$ 、 $204.27 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $AUC_{0-\infty}$  分别为  $342.69$ 、 $423.44 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ ,  $t_{1/2}$  分别为  $101.64$ 、 $15.98 \text{ h}$ ; 醋蒸、酒蒸、清蒸女贞子的橄榄苦苷  $C_{\max}$  显著升高 ( $P < 0.05$ ), 分别为  $66.81$ 、 $68.00$ 、 $66.38 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。醋女贞子的红景天苷和木樨榄苷-11-甲酯  $AUC_{0-\infty}$  最高, 分别为  $5782.74$ 、 $545.26 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ 。结论: 本研究揭示了女贞子不同炮制品中 6 个活性成分在体内的变化规律及其差异特点, 为女贞子不同炮制品的临床应用提供依据。关键词: 女贞子; 红景天苷; 木樨榄苷-11-甲酯; 特女贞苷; 毛蕊花糖苷; 橄榄苦苷; 女贞苷 G13; 炮制; 超高效液相串联质谱; 药代动力学; 临床应用

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 – 1793(2024)12 – 2011 – 12

doi: 10.16155/j.0254 – 1793.2024 – 0377

Comparative pharmacokinetic characterization of multi – components in different  
artifacts of Ligustri Lucidi Fructus based on UPLC – Orbitrap MS/MS\*ZHAO Can – nan<sup>1,2</sup>, SUN Shu – ding<sup>1,2,3</sup>, ZHENG Li – shi<sup>1,2,3</sup>,  
ZHAO Di<sup>1,2,3</sup>, LI Huan – ru<sup>1,2</sup>, FENG Su – xiang<sup>1,2,3\*\*</sup>

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co – constructed by Henan Province &amp; Education Ministry of P. R., Zhengzhou 450046, China; 3. Henan Engineering Research Center of Modern Chinese Medicine Research, Development and application, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract Objective:** To establish an UPLC – MS method for the analysis of salidroside, methyloleoside,

\* 国家自然科学基金项目 (No. 82374041); 河南省中医药科学研究专项课题 (2023ZY1029)

\*\* 通信作者 Tel: 13526403080; E – mail: fengsx221@163.com

第一作者 Tel: 15236837705; E – mail: 3238811485@qq.com

specnuezhenide, acteoside, oleuropein, and G13 in plasma, and the differences in pharmacokinetic profiles of five different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus, wine Ligustri Lucidi Fructus, vinegar Ligustri Lucidi Fructus, salt Ligustri Lucidi Fructus and steamed Ligustri Lucidi Fructus *in vivo* of rats were investigated. **Methods:** SPF – grade male SD rats were randomly divided into 6 groups, and were given  $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  of aqueous extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus by gavage (for the amount of raw drug), and the plasma samples were methanol – precipitated proteins with geniposide as the internal standard, and the plasma samples were used to determine salidroside, methyloleoside, specnuezhenide, acteoside, oleuropein, and G13 in the plasma of the rats in the different time points by using the negative – ion SIM mode of UPLC – MS/MS. Kinetic 5.1 software was used to calculate the pharmacokinetic parameters, and GraphPad Prism 8.4.0 software was used to analyze the data.

**Results:** The mass concentrations of salidroside, methyloleoside, specnuezhenide, acteoside and oleuropein were in the range of  $2.00 - 1385 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , and the mass concentration of G13 was in the range of  $1.30 - 650 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , with good linearity, the relative standard deviations of the precision were all less than 10%, the recoveries of the extracts were all in the range of 85% – 105%, and the matrix effect and stability were in accordance with the requirements of biological samples. The results of pharmacokinetic study showed that the  $\text{AUC}_{0-\infty}$ ,  $\text{MRT}_{0-t}$ ,  $t_{1/2}$ , and  $C_{\max}$  of acteoside were significantly higher in wine Ligustri Lucidi Fructus ( $P < 0.01$ ) compared to raw Ligustri Lucidi Fructus, which was  $751.36 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ ,  $5.87 \text{ h}$ ,  $377.82 \text{ h}$ , and  $38.11 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively.  $C_{\max}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}$ , and  $t_{1/2}$  were significantly higher ( $P < 0.01$ ) for specnuezhenide and G13 in salt Ligustri Lucidi Fructus compared to raw Ligustri Lucidi Fructus, with  $C_{\max}$  of specnuezhenide and G13 in salt Ligustri Lucidi Fructus were  $66.45 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  and  $204.27 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. The  $\text{AUC}_{0-\infty}$  were  $342.69 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  and  $423.44 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ , and  $t_{1/2}$  were  $101.64 \text{ h}$  and  $15.98 \text{ h}$ , respectively. Compared to raw Ligustri Lucidi Fructus, the  $C_{\max}$  of oleuropein was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in vinegar Ligustri Lucidi Fructus, wine Ligustri Lucidi Fructus, and steamed Ligustri Lucidi Fructus with  $66.81 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $68.00 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , and  $66.38 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. The  $\text{AUC}_{0-\infty}$  of salidroside and methyloleoside was the highest in vinegar Ligustri Lucidi Fructus, which was  $5782.74 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  and  $545.26 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ , respectively. **Conclusion:** This study reveals the changing law of the six active ingredients in different artillery products of Ligustri Lucidi Fructus *in vivo* and their different characteristics, which provides a basis for the clinical application of different artillery products of Ligustri Lucidi Fructus.

**Keywords:** Ligustri Lucidi Fructus; salidroside; methyloleoside; specnuezhenide; acteoside; oleuropein; G13; process; UPLC – MS/MS; pharmacokinetics; clinical applications

女贞子为木犀科植物女贞 (*Ligustrum lucidum* Ait.) 的干燥成熟果实, 始载于《神农本草经》, 具有滋补肝肾、明目乌发之功效<sup>[1]</sup>。女贞子常用炮制品有生女贞子、酒女贞子、醋女贞子、盐女贞子以及清蒸女贞子。女贞子生品味性微寒, 清蒸后可缓解其寒凉之性, 滋补肝肾作用增强; 酒蒸后可治风虚、补腰膝、黑发强筋; 醋蒸后保肝作用增强; 盐蒸后入肾引药下行, 亦可增强其滋补肝肾、滋阴润燥的作用<sup>[2-5]</sup>。环烯醚萜苷类以及苯乙醇类是女贞子的主要有效成分<sup>[6-10]</sup>, 研究发现经不同炮制方法加工后有效成分的含量发生显著变化<sup>[11-13]</sup>, 绝大多数化学

成分只有入血并维持在一定浓度以上才能发挥药效, 所以研究其有效成分的体内代谢规律至关重要。目前对女贞子和酒女贞子体内成分代谢差异的研究较多<sup>[14-16]</sup>, 但对其5种炮制品提取物给药后体外主要差异性成分的体内过程尚未见报道。因此, 为进一步探究同批次女贞子不同炮制品中存在显著差异的化学成分在体内的代谢特征, 本研究采用 UPLC – MS 技术对灌胃给予同批次女贞子、酒女贞子、醋女贞子、盐女贞子以及清蒸女贞子5种不同炮制品提取物后大鼠血浆中的6个体外差异性成分进行药代动力学研究, 对比女贞子不同炮制品的药代动力学

特征,为女贞子不同炮制品的临床合理用药及其药效物质基础研究提供依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Orbitrap Fusion Lumos Tribrid 三合一超高分辨质谱仪、Vanquish 高效液相色谱仪、Xcalibur 工作站(ThermoFisher Scientific 公司);MS105DU 十万分之一分析天平(梅特勒-托利多(上海)有限公司);Heraeus Multifuge X1R 型冷冻台式高速离心机、SPD 2010-230 型离心低温浓缩仪、933 型超低温冰箱(Thermo Fisher Scientific 公司);XH-C 型振荡器(江苏优卓诺仪器制造有限公司);BE-3100 型混匀超级小精灵(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);Milli-QPOD 超纯水仪(Merck 公司)。

### 1.2 药品与试剂

女贞子药材(批号 20170601),购自安徽九合堂国药有限公司,经河南中医药大学陈随清教授鉴定为木犀科植物女贞的干燥成熟果实;红景天苷(批号 B20504,含量 $\geq 98\%$ )、木樨榄苷-11-甲酯(批号 B23144,含量 $\geq 96\%$ )、特女贞苷(批号 B21240,含量 $\geq 98\%$ )、橄榄苦苷(批号 B20425,含量 $\geq 98\%$ )、女贞苷 G13(批号 B20954,含量 $\geq 98\%$ )对照品,上海源叶生物科技有限公司;毛蕊花糖苷(批号 MUST-17020715,含量 $\geq 99.57\%$ )、京尼平苷(批号 MUST-16042018,含量 $\geq 99.64\%$ )对照品,成都曼思特生物科技有限公司;甲醇、乙腈、甲酸均为质谱纯,Fisher Scientific 公司;超纯水,自制。

### 1.3 动物

36 只清洁级雄性 SD 大鼠,体质量( $280 \pm 20$ )g,购于郑州市惠济区华兴实验动物养殖厂,实验动物许可证号:SCXK(豫)2019-0002,该实验经过由河南中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准文号:DWLL 201910323)。饲养条件:湿度( $60 \pm 5$ )%,温度  $22 \sim 25$  °C,12 h 光照黑暗循环,喂食正常维持饲料,实验前一晚禁食,自由饮水。实验动物的饲养和实验研究符合《河南省实验动物管理条例》。

## 2 方法与结果

### 2.1 定量分析

**2.1.1 供试品溶液的制备** 取女贞子原药材,除去杂质,洗净,阴干;再取女贞子原药材,分别加入黄酒、米醋、10% 盐水、水拌匀,每 100 kg 女贞子加辅料 20 kg<sup>[17]</sup>,密闭闷润 2 h,蒸制 8 h,阴干,即得女贞子、

酒女贞子、醋女贞子、盐女贞子以及清蒸女贞子 5 种炮制品。取女贞子不同炮制品粉末(过四号筛)各约 2 g,精密称定,分别置于 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 80% 的甲醇 25 mL,称量,超声(700 W,40 kHz)提取 1 h,放冷,用 80% 的甲醇补足减失的量,摇匀,过滤,用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,取续滤液,待测。

**2.1.2 测定条件** 液相色谱:采用 Thermo Scientific Accucore TM C<sub>18</sub> (100 mm  $\times$  2.1 mm,2.6  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱,以甲醇(A)-0.1% 甲酸水(B)为流动相,梯度洗脱(0~2 min,85% B $\rightarrow$ 70% B;2~4 min,70% B $\rightarrow$ 25% B;4~9 min,25% B;9~12 min,25% B $\rightarrow$ 0% B),流速 0.2 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,进样量 1  $\mu\text{L}$ ,进样室温度 4 °C,柱温 25 °C。

质谱:采用 ESI 离子源负离子检测,扫描模式为 SIM 模式,鞘气压力 3 500 kPa,辅助气体压力 700 kPa,扫气压力 0 kPa,负离子模式下毛细管电压为 2.5 kV,碰撞能量(CE)为 20、40、60 eV,离子传输管 300 °C,气化温度 275 °C,扫描范围  $m/z$  100~1 500。

**2.1.3 含量测定** 取“2.1.1”项供试品溶液,按照“2.1.2”项条件测定,生女贞中红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的含量分别为 2.994 4、1.010 5、10.929 2、0.122 3、1.893 4、3.171 7 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>。酒蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的含量分别为 3.122 4、0.293 6、9.204 9、0.564 0、1.795 0、2.142 6 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>。醋蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的含量分别为 3.167 0、0.295 7、10.081 5、0.394 9、1.550 6、3.117 3 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>。盐蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的含量分别为 3.142 8、0.303 5、10.693 1、0.540 4、1.445 7、3.153 0 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>。清蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的含量分别为 3.161 8、0.250 1、9.304 6、0.617 3、1.708 1、2.648 7 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>。

### 2.2 女贞子不同炮制品灌胃溶液的制备

取“2.1.1”各炮制品约 200 g,加入 10 倍量水煎煮 2 次,每次 1 h,过滤,滤液浓缩至 1.26 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 生药的药液,即得女贞子不同炮制品灌胃溶液。按照 4.2 g  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> 生药量灌胃给予女贞子不同炮制品灌胃溶液,实际给药剂量为生女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲

酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 分别为 12.576 5、4.244 1、45.902 6、0.513 7、7.952 3、13.321 1  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。酒蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 分别为 13.114 1、1.233 1、38.660 6、2.368 8、7.539 0、8.998 9  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。醋蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 分别为 13.301 4、1.241 9、42.342 3、1.658 6、6.512 5、13.092 7  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。盐蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 分别为 13.199 8、1.274 7、44.911 0、2.269 7、6.071 9、13.242 6  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。清蒸女贞子红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 分别为 13.279 6、1.050 4、39.079 3、2.592 7、7.174 0、11.124 5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

### 2.3 动物分组与给药

36 只大鼠适应性喂养 7 d 后,随机分为 6 组,组别为空白组、生女贞子组、酒蒸女贞子组、醋蒸女贞子组、盐蒸女贞子组、清蒸女贞子组,每组 6 只。分别灌胃女贞子不同炮制品灌胃溶液,分别于给药前和给药后 0.083、0.17、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、12、18、24 h 尾静脉取血约 400  $\mu\text{L}$ ,置含肝素钠抗凝剂的离心管中,并在取血后及时为大鼠补充等量生理盐水。血液样本静置后,置 4  $^{\circ}\text{C}$  离心机中 3 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,分离血浆,于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冻存待测。

### 2.4 溶液的制备

**2.4.1 对照品储备液** 精密称取红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 对照品各约 10 mg,分别置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,作为对照品储备液。

**2.4.2 内标溶液** 精密称取京尼平苷(IS)对照品约 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,作为内标储备液。精密量取内标储备液适量,用甲醇稀释成质量浓度为 55  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的内标溶液。

**2.4.3 混合对照品溶液** 精密量取对照品储备液适量,加甲醇梯度稀释制备质量浓度红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷为 2~1 000  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,毛蕊花糖苷为 3~1 400  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,橄榄苦苷为 2~1 200  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,女贞苷 G13 为 1~650  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液。

**2.4.4 混合质控溶液** 精密量取对照品储备液适量,加甲醇稀释制备得到低、中、高 3 个对应质量浓

度的混合对照品溶液,其中红景天苷质量浓度为 4.2、42、525  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;木樨榄苷-11-甲酯质量浓度为 4、40、500  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;特女贞苷质量浓度为 4.04、40.4、505  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;毛蕊花糖苷质量浓度为 5.54、55.4、692.5  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;橄榄苦苷质量浓度为 4.88、48.8、610  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;女贞苷 G13 质量浓度为 2.6、26、325  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合质控溶液。

### 2.5 血浆样品处理

精密吸取血浆样品 100  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL 离心管中,加入内标溶液 50  $\mu\text{L}$ ,加甲醇 400  $\mu\text{L}$ ,涡旋(2 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ )15 min,离心(12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,4  $^{\circ}\text{C}$ )10 min。取上清液,于离心浓缩仪中吹干,残渣加 50% 甲醇 100  $\mu\text{L}$  复溶,涡旋(2 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ )5 min,离心(14 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,4  $^{\circ}\text{C}$ )10 min,取上清液进样分析。部分血浆样品的高浓度时间点采取稀释 2 倍进样。

### 2.6 色谱及质谱条件

进样量 5  $\mu\text{L}$ ,其他同“2.1”项下色谱及质谱条件。

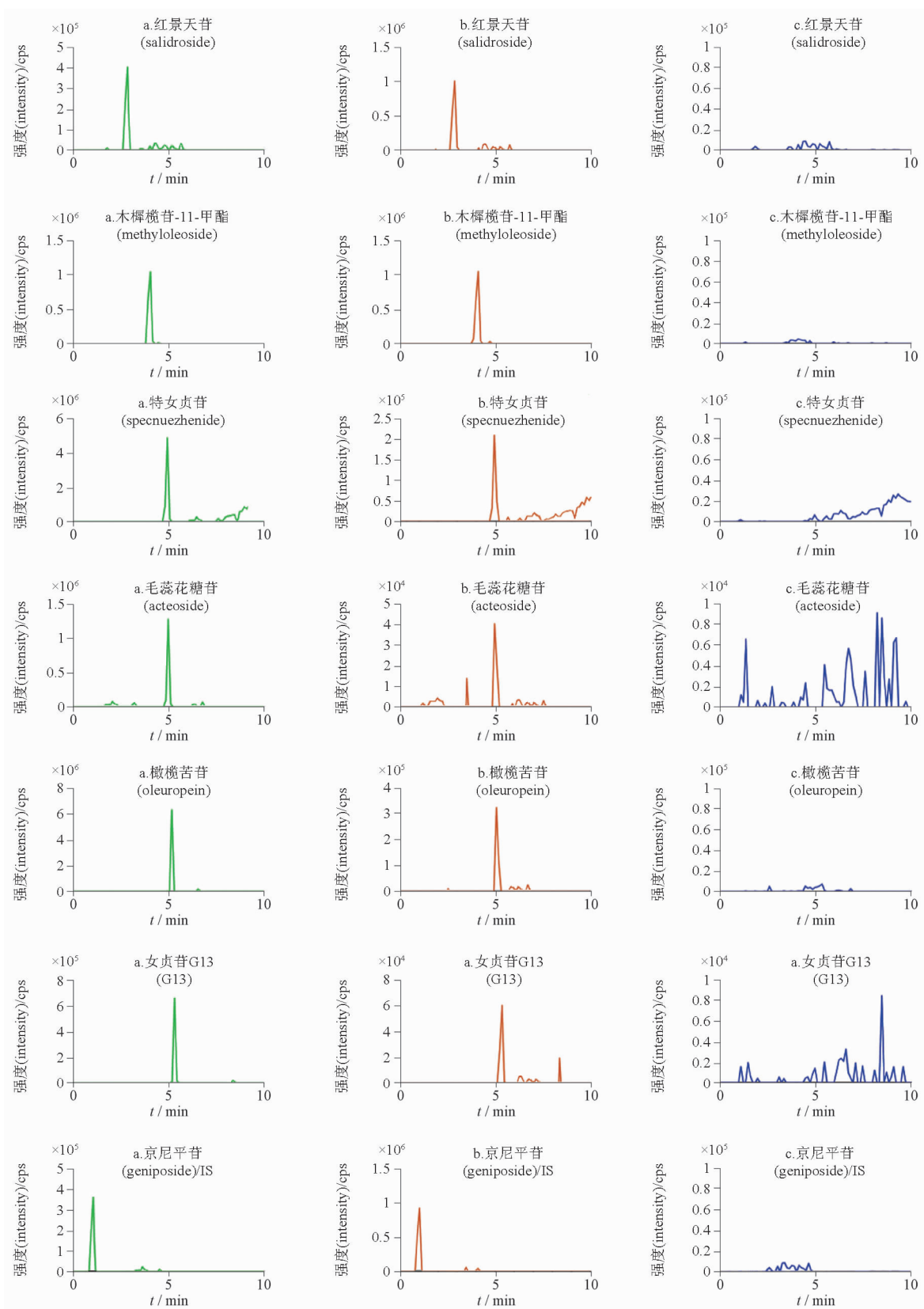
### 2.7 数据处理

采用 Kinetica 5.1 药物代谢动力学分析软件非房室模型分析法计算各给药组中红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷等 6 个成分的药代动力学参数,采用 GraphPad Prism 8.4.0 软件绘制药时曲线并进行单因素方差分析。

### 2.8 方法学考察

**2.8.1 专属性** 取大鼠空白血浆 100  $\mu\text{L}$ ,除用甲醇代替内标溶液外,其余按“2.5”项下方法处理制备空白血浆。精密量取红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13 的对照品储备液适量,用甲醇稀释成 400  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液;精密量取空白血浆 100  $\mu\text{L}$ ,置 1.5 mL 离心管中,精密加入混合对照品溶液 50  $\mu\text{L}$ ,按“2.5”项下自“加入内标溶液 50  $\mu\text{L}$ ”起操作,配制得到空白血浆加入混合对照品和内标的大鼠血浆样品。取大鼠灌胃给药后的血浆样品,按“2.5”项下方法制备大鼠给药后血浆样品溶液。以上溶液按“2.6”项下条件进样测定,结果见图 1。

结果显示,红景天苷、木樨榄苷-11-甲酯、特女贞苷、毛蕊花糖苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13、京尼平苷保留时间分别为 2.88、4.08、4.96、4.73、5.20、5.34、0.93 min,6 个待测成分及内标京尼平苷分离度良好,无内源及外源性干扰,方法专属性良好。



a. 空白血浆加对照品 (blank plasma with reference substance)    b. 给药后大鼠血浆 (rat plasma after administration)    c. 空白血浆 (blank plasma)

图 1 大鼠血浆中各待测成分色谱图

Fig. 1 Chromatograms of each component to be measured in rat plasma

**2.8.2 线性范围** 分别精密量取不同浓度梯度的混合对照品溶液 50  $\mu\text{L}$  和内标溶液 50  $\mu\text{L}$ , 于离心浓缩仪中吹干, 加入空白血浆 100  $\mu\text{L}$  混匀, 按“2.5”项方法处理血浆样品后进行分析, 以血药浓度  $X$  为横

坐标, 以待测成分与内标物峰面积的比值  $Y$  为纵坐标, 得到相应的线性回归方程。

大鼠血浆中 6 个成分在其线性范围内线性关系良好, 各成分标准曲线相关系数  $r$  均  $>0.9900$ , 见表 1。

表 1 待测成分的回归方程、相关系数( $r$ )、线性范围、检测限(LOD)、定量限(LOQ)

Tab. 1 Regression equation, correlation coefficient ( $r$ ), linear range, limit of detection and limit of quantification of the component to be measured

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	定量范围 (quantitative range)/(ng · mL <sup>-1</sup> )	$r$	LOD/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	LOQ/ (ng · mL <sup>-1</sup> )
红景天苷(salidroside)	$Y = 3.992 \times 10^{-4}X + 4.100 \times 10^{-3}$	2.101 ~ 1.050	0.998 7	0.630 3	2.101
木樨榄苷-11-甲酯(methyloleoside)	$Y = 1.314 \times 10^{-3}X - 6.300 \times 10^{-3}$	2.001 ~ 1.000	0.999 0	0.600 3	2.001
特女贞苷(specnuezhenide)	$Y = 2.641 \times 10^{-3}X + 8.860 \times 10^{-2}$	2.019 ~ 1.010	0.998 7	0.605 7	2.019
毛蕊花糖苷(acteoside)	$Y = 9.334 \times 10^{-4}X + 7.130 \times 10^{-2}$	2.770 ~ 1.385	0.995 3	0.831 0	2.770
橄榄苦苷(oleuropein)	$Y = 2.942 \times 10^{-3}X + 7.470 \times 10^{-2}$	2.440 ~ 1.220	0.998 0	0.732 0	2.440
女贞苷 G13(G13)	$Y = 1.010 \times 10^{-4}X + 4.400 \times 10^{-3}$	1.300 ~ 650.1	0.998 5	0.390 0	1.300

**2.8.3 精密度与准确度** 取“2.4.4”项下的高、中、低 3 种质量浓度的混合质控溶液各 100  $\mu\text{L}$ , 于离心浓缩仪中吹干, 分别加入空白血浆 100  $\mu\text{L}$  混匀, 得低、中、高 3 个质量浓度的质控(QC)样品。混匀制成高、中、低 3 种质量浓度的 QC 样品。按“2.5”项方法处理血浆样品后进行分析。日内精密度每一质量浓度平行 6 份样分别测定, 日间精密度用 6 个平行样品连续测定 3 d, 计算日间及日内准确度、精密度。准确度用相对误差 RE 表示, 精密度用相对标准偏差 RSD 表示。结果显示, 6 个成分日内、日间精密度的 RSD 范围分别为 1.5%~9.9%、0.33%~6.4%; 日内、日间准确度的 RE 范围分别为 -7.8%~9.2%、-6.3%~7.6%, RSD 均  $<10\%$ , 准确度在  $\pm 10\%$  的范围内, 符合要求。说明该方法的准确度符合生物样品分析方法指导原则的要求。

**2.8.4 基质效应和提取回收率** 按“2.8.3”项下方法制备低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品, 按“2.6”项下的条件进样分析, 记录成分峰面积与内标峰面积比值( $A$ ); 取大鼠空白血浆 100  $\mu\text{L}$ , 加甲醇 400  $\mu\text{L}$  沉淀蛋白, 涡旋后离心 10 min (12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 4  $^{\circ}\text{C}$ ), 取上清液于离心浓缩仪中吹干, 残渣加入低、中、高 3 个质量浓度的混合质控溶液及内标溶液各 50  $\mu\text{L}$ , 涡旋后离心 10 min (12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 4  $^{\circ}\text{C}$ ), 取上清进样分析, 记录成分峰面积与内标峰面积比值( $B$ )。另取纯水 100  $\mu\text{L}$ , 加甲醇 400  $\mu\text{L}$ , 于离心浓

缩仪中吹干, 残渣加入低、中、高 3 个质量浓度的混合质控溶液及内标溶液各 50  $\mu\text{L}$ , 涡旋后离心 10 min (12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 4  $^{\circ}\text{C}$ ), 取上清进样分析, 得到成分峰面积与内标峰面积比值( $C$ )。提取回收率 =  $A/B \times 100\%$ ; 基质效应 =  $A/C \times 100\%$ , 每个质量浓度样品平行 6 份样品。

如表 2 所示, 6 个成分的提取回收率在 87.1%~100.2%, 基质效应在 92.7%~102.3%, 表明提取方法精确可重复, 且待测成分不受血中成分干扰, 符合方法学要求。

**2.8.5 稳定性** 取“2.8.3”项下高、中、低 3 种质量浓度的 QC 样品(各平行 6 份), 分别测定各浓度成分的短期、冻融、长期稳定性。(1)短期稳定性: 将样品溶液室温(25  $^{\circ}\text{C}$ )放置 24 h; (2)冻融稳定性: 将样品溶液置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  下 24 h, 取出后室温下自然解冻, 后再置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  下 24 h, 如此反复冻融循环 3 次; (3)长期稳定性: 将样品溶液于 -80  $^{\circ}\text{C}$  保存 30 d。将样品分别按“2.5”项下方法处理后进样分析, 计算稳定性。结果见表 3, 稳定性良好。

## 2.9 药代动力学研究

大鼠分别灌胃女贞子不同炮制品水提液后, 采集不同时间点血浆样品, 血浆样品采集方法按“2.3”项进行, 血浆样品处理方法按“2.5”项进行, 利用上述所建立的 UPLC-MS/MS 方法测定不同采样点各成分的血药浓度, Kinetica 5.1 药物代谢动力学分析

表 2 女贞子不同炮制品特征成分的提取回收率和基质效应

**Tab. 2 Extraction recovery and matrix effect of the characteristic components of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus**

成分 (component)	浓度 (concentration)/(ng · mL <sup>-1</sup> )	基质效应(matrix effect)		提取回收率(extraction recovery)	
		(mean ± SD)/%	RSD/%	(mean ± SD)/%	RSD/%
红景天苷(salidroside)	525.2	94.4 ± 2.6	2.8	97.7 ± 2.4	2.5
	42.02	100.8 ± 1.8	1.8	93.4 ± 2.6	2.8
	4.202	98.0 ± 1.2	1.2	98.10 ± 2.219	2.3
木樨榄苷-11-甲酯(methyloleoside)	500.3	95.1 ± 2.9	3.0	95.98 ± 3.071	3.2
	40.02	93.6 ± 2.0	2.1	96.45 ± 2.832	2.9
	4.002	99.1 ± 2.0	2.0	100.1 ± 1.637	1.6
特女贞苷(specnuezhenide)	504.8	98.2 ± 1.9	1.9	87.13 ± 2.182	2.5
	40.39	96.3 ± 1.7	1.7	94.93 ± 2.615	2.8
	4.039	95.8 ± 3.1	3.3	93.16 ± 2.466	2.6
毛蕊花糖苷(acteoside)	692.6	99.8 ± 3.0	3.0	97.86 ± 4.032	4.1
	55.41	99.5 ± 3.0	3.1	95.64 ± 3.707	3.9
	5.541	100.8 ± 2.6	2.6	100.2 ± 2.9	2.9
橄榄苦苷(oleuropein)	610.1	98.7 ± 3.3	3.3	98.3 ± 3.3	3.4
	48.80	102.3 ± 3.7	3.7	99.2 ± 3.4	3.5
	4.880	102.2 ± 3.5	3.4	96.0 ± 3.0	3.1
女贞苷 G13(G13)	325.0	96.7 ± 3.5	3.7	98.2 ± 2.0	2.0
	26.00	92.6 ± 1.9	2.0	98.8 ± 2.9	3.0
	2.600	99.9 ± 2.2	2.2	93.3 ± 3.3	3.6

表 3 女贞子不同炮制品特征成分在不同条件下的稳定性

**Tab. 3 Stability of the characteristic components of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus under different conditions**

成分 (component)	浓度 (concentration)/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	短期稳定性 (short-term stability)		冻融稳定性 (freeze-thaw stability)		长期稳定性 (long-term stability)	
		测得量 (detected) mean ± SD/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	RSD/ %	测得量 (detected) mean ± SD/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	RSD/ %	测得量 (detected) mean ± SD/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	RSD/ %
红景天苷(salidroside)	525.2	518.1 ± 7.980	1.5	514.6 ± 17.28	3.4	527.4 ± 0.722 6	0.13
	42.02	40.87 ± 1.486	3.6	42.16 ± 1.324	3.1	42.48 ± 1.371	3.2
	4.202	4.158 ± 0.093 40	2.2	4.316 ± 0.092 35	2.1	4.152 ± 0.075 36	1.8
木樨榄苷-11-甲酯 (methyloleoside)	500.3	497.1 ± 14.07	2.8	510.0 ± 6.079	1.2	503.7 ± 9.630	1.9
	40.02	42.07 ± 1.491	3.5	40.52 ± 0.434 3	1.1	41.20 ± 2.822	6.8
	4.002	4.184 ± 0.358 0	8.6	4.050 ± 0.052 33	1.3	4.000 ± 0.052 68	1.3
特女贞苷(specnuezhenide)	504.8	505.8 ± 7.121	1.4	508.8 ± 6.420	1.3	500.9 ± 4.167	0.83
	40.39	41.00 ± 1.929	4.7	40.92 ± 0.508 6	1.2	41.64 ± 0.636 7	1.5
	4.039	4.027 ± 0.112 2	2.8	4.063 ± 0.087 75	2.2	4.027 ± 0.054 16	1.3
毛蕊花糖苷(acteoside)	692.6	691.7 ± 2.872	0.41	671.0 ± 20.90	3.1	667.7 ± 9.858	1.5
	55.41	52.46 ± 2.208	4.2	54.46 ± 0.477 1	0.88	55.50 ± 0.848 9	1.5
	5.541	5.523 ± 0.250 6	4.5	5.315 ± 0.113 8	2.1	5.386 ± 0.112 8	2.1
橄榄苦苷(oleuropein)	610.1	614.1 ± 7.790	1.3	609.4 ± 6.875	1.1	608.6 ± 3.190	0.52
	48.80	47.68 ± 0.665 4	1.4	48.51 ± 3.149	6.5	47.14 ± 1.148	2.4
	4.880	4.686 ± 0.138 5	3.0	4.610 ± 0.270 0	5.9	4.768 ± 0.155 5	3.3
女贞苷 G13(G13)	325.0	324.6 ± 19.26	5.9	322.5 ± 23.61	7.3	318.1 ± 21.55	6.8
	26.00	25.45 ± 0.747 3	2.9	27.13 ± 0.422 7	1.6	26.21 ± 1.569	6.0
	2.600	2.687 ± 0.117 2	4.4	2.449 ± 0.124 5	5.1	2.545 ± 0.064 72	2.5

软件进行非房室模型拟合,计算各个成分的达峰时间( $T_{max}$ )、达峰浓度( $C_{max}$ )等药代动力学参数,采用 GraphPad Prism 软件进行数据分析并绘制药时曲线图。5 种炮制品各成分平均血药浓度 - 时间曲线如图 2~7 所示,药代动力学参数如表 4~9 所示。

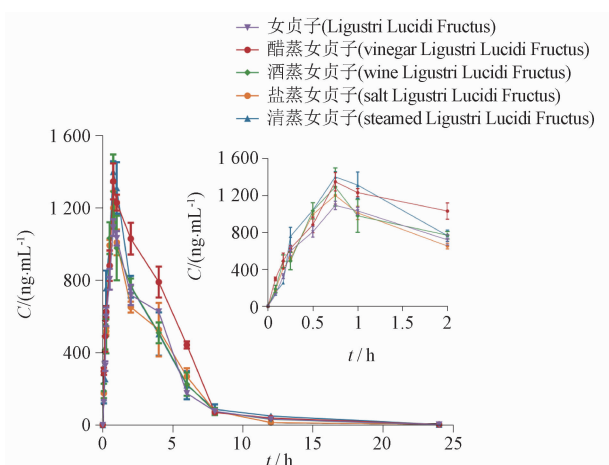


图 2 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后红景天苷平均血药浓度 - 时间曲线

Fig. 2 Mean blood concentration - time curve of salidroside in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

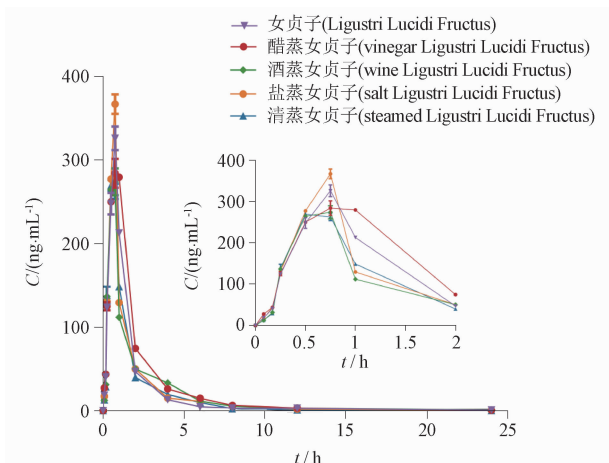


图 3 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后木樨榄苷 - 11 - 甲酯平均血药浓度 - 时间曲线

Fig. 3 Mean blood concentration - time curve of methyloleoside in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

### 3 讨论

大鼠灌胃给子女贞子 5 种不同炮制品后,女贞子不同炮制品中 6 个成分均可在口服给药后 1 h 内达到最高血药浓度,说明这些成分均可被机体迅速

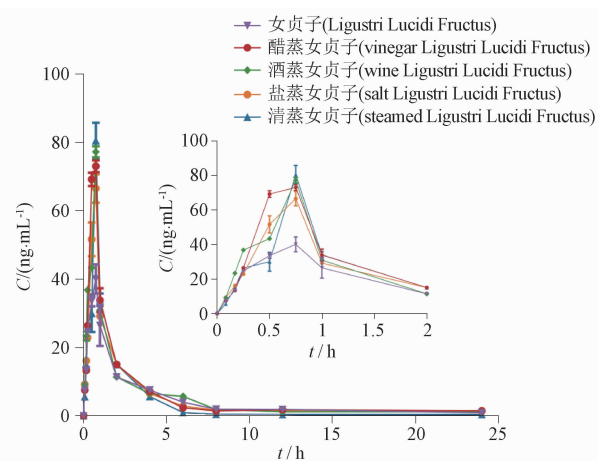


图 4 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后特女贞苷平均血药浓度 - 时间曲线

Fig. 4 Mean blood concentration - time curve of specnuezhenide in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

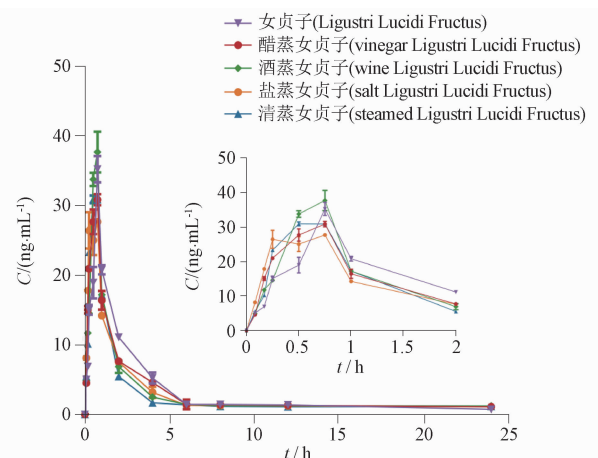


图 5 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后毛蕊花糖苷平均血药浓度 - 时间曲线

Fig. 5 Mean blood concentration - time curve of acteoside in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

吸收。女贞子不同炮制品含量测定结果显示,红景天苷在药材中含量较低但是其在大鼠血浆中的暴露量大血药浓度高,生物利用度较高,且文献报道红景天苷具有抗骨质疏松、保肝护肾、抗氧化应激等药理作用<sup>[18]</sup>,说明红景天苷可能是女贞子发挥药效的关键成分。醋女贞子中红景天苷和木樨榄苷 - 11 - 甲酯的  $AUC_{0-\infty}$  较其他 4 种炮制品显著升高 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),据文献报道红景天苷能有效缓解 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠肝纤维化<sup>[19]</sup>,木樨榄苷 - 11 - 甲酯对 Hep - G2 细胞具有强细胞毒作用,且醋可引药

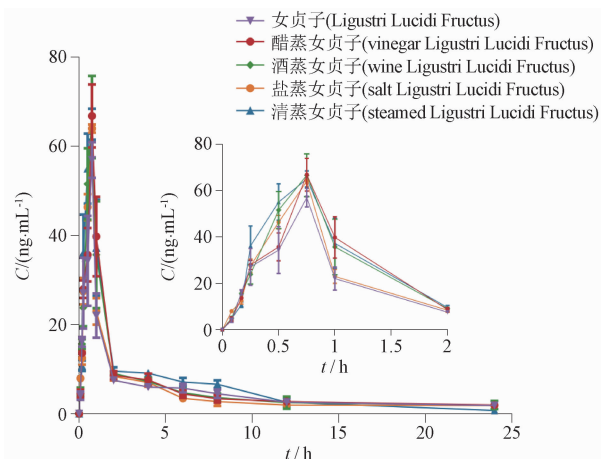


图6 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后橄榄苦苷平均血药浓度-时间曲线

Fig. 6 Mean blood concentration-time curve of oleuropein in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

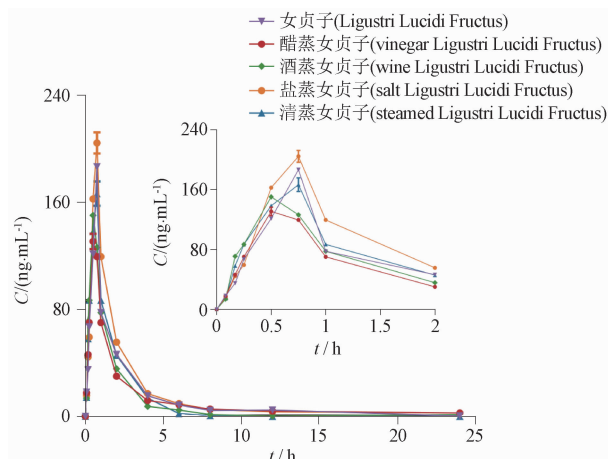


图7 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后女贞子 G13 平均血药浓度-时间曲线

Fig. 7 Mean blood concentration-time curve of G13 in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

表4 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后红景天苷药代参数

Tab. 4 Pharmacogenetic parameters of salidroside in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

名称 (designation)	AUC <sub>0-t</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	AUC <sub>0-∞</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	MRT <sub>0-t</sub> / h	t <sub>1/2</sub> / h	T <sub>max</sub> / h	CL <sub>z/F</sub> / (L · h <sup>-1</sup> )	C <sub>max</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> )
女贞子(Ligustri Lucidi Fructus)	4 219.87 ± 227.28	4 228.33 ± 228.74	3.48 ± 0.05	3.02 ± 0.07	0.75 ± 0.00	277.38 ± 15.01	1 091.02 ± 45.96
醋蒸女贞子(vinegar Ligustri Lucidi Fructus)	5 772.03 ± 458.95 <sup>b</sup>	5 782.74 ± 463.41 <sup>b</sup>	3.55 ± 0.10	3.14 ± 0.22	0.83 ± 0.12	237.15 ± 16.81	1 350.57 ± 92.60 <sup>b</sup>
酒蒸女贞子(wine Ligustri Lucidi Fructus)	4 213.89 ± 413.99 <sup>d</sup>	4 218.15 ± 415.30 <sup>d</sup>	3.36 ± 0.23	2.59 ± 0.11 <sup>bd</sup>	0.83 ± 0.12	315.95 ± 30.84 <sup>d</sup>	1 340.72 ± 154.64 <sup>b</sup>
盐蒸女贞子(salt Ligustri Lucidi Fructus)	4 079.34 ± 482.26 <sup>f</sup>	4 086.49 ± 485.08 <sup>df</sup>	3.29 ± 0.20	2.40 ± 0.11 <sup>bd</sup>	0.79 ± 0.09	333.41 ± 38.40 <sup>d</sup>	1 216.44 ± 72.25
清蒸女贞子(steamed Ligustri Lucidi Fructus)	4 593.34 ± 640.73 <sup>cf</sup>	4 601.14 ± 643.42 <sup>cf</sup>	3.50 ± 0.27	2.68 ± 0.19 <sup>adg</sup>	0.83 ± 0.12	302.87 ± 42.49 <sup>c</sup>	1 435.10 ± 26.54 <sup>bh</sup>

注 (note) : 与生品比较 (compared with raw products), a. (P < 0.05), b. (P < 0.01); 与醋蒸品比较 (compared with vinegar steamed products), c. (P < 0.05), d. (P < 0.01); 与酒蒸品比较 (compared with wine steamed products), e. (P < 0.05), f. (P < 0.01); 与盐蒸品比较 (compared with salt steamed products), g. (P < 0.05), h. (P < 0.01)

表5 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后木樨榄苷-11-甲酯药代参数

Tab. 5 Pharmacogenetic parameters of methyloleoside in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

名称 (designation)	AUC <sub>0-t</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	AUC <sub>0-∞</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	MRT <sub>0-t</sub> / h	t <sub>1/2</sub> / h	T <sub>max</sub> / h	CL <sub>z/F</sub> / (L · h <sup>-1</sup> )	C <sub>max</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> )
女贞子(Ligustri Lucidi Fructus)	413.83 ± 26.69	421.94 ± 29.99	2.42 ± 0.35	7.06 ± 0.86	0.75 ± 0.00	2 830.62 ± 199.96	326.04 ± 14.06
醋蒸女贞子(vinegar Ligustri Lucidi Fructus)	540.53 ± 17.40 <sup>b</sup>	545.26 ± 19.14 <sup>b</sup>	2.65 ± 0.14	4.89 ± 0.50	0.79 ± 0.09	638.53 ± 22.36 <sup>b</sup>	288.46 ± 10.66 <sup>b</sup>
酒蒸女贞子(wine Ligustri Lucidi Fructus)	428.58 ± 21.76 <sup>d</sup>	439.11 ± 29.28 <sup>d</sup>	3.05 ± 0.35 <sup>a</sup>	6.32 ± 1.77	0.71 ± 0.09	789.79 ± 52.60 <sup>b</sup>	278.53 ± 8.43 <sup>b</sup>
盐蒸女贞子(salt Ligustri Lucidi Fructus)	412.85 ± 18.47 <sup>d</sup>	417.90 ± 21.88 <sup>d</sup>	2.50 ± 0.29 <sup>e</sup>	4.74 ± 1.19	0.75 ± 0.00	856.41 ± 44.59 <sup>bc</sup>	366.93 ± 11.78 <sup>bdif</sup>
清蒸女贞子(steamed Ligustri Lucidi Fructus)	369.51 ± 18.44 <sup>adfg</sup>	371.50 ± 19.64 <sup>adfg</sup>	2.11 ± 0.22 <sup>cf</sup>	4.20 ± 1.55 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.00 <sup>bdh</sup>	793.94 ± 42.21 <sup>b</sup>	269.70 ± 6.90 <sup>bh</sup>

注 (note) : 同表4 (same as Tab. 4)

表 6 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后特女贞苷药代参数

Tab. 6 Pharmacogenetic parameters of specnuezhenide in rats after gavage of extracts of different concoctions of *Ligustri Lucidi Fructus*

名称 (designation)	AUC <sub>0-t</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	AUC <sub>0-∞</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	MRT <sub>0-t</sub> / h	t <sub>1/2</sub> / h	T <sub>max</sub> / h	CL <sub>r/F</sub> / (L · h <sup>-1</sup> )	C <sub>max</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> )
女贞子(Ligustri Lucidi Fructus)	103.57 ± 8.94	119.80 ± 16.78	5.08 ± 0.96	11.35 ± 4.77	0.79 ± 0.09	109 757.40 ± 17 860.51	40.53 ± 3.56
醋蒸女贞子(vinegar Ligustri Lucidi Fructus)	127.67 ± 11.68 <sup>b</sup>	147.34 ± 32.74	4.66 ± 0.44	8.58 ± 8.73	0.75 ± 0.00	83 718.67 ± 14 955.38 <sup>a</sup>	72.98 ± 1.69 <sup>b</sup>
酒蒸女贞子(wine Ligustri Lucidi Fructus)	118.41 ± 4.75	133.86 ± 8.94	4.48 ± 0.15	9.80 ± 8.77	0.75 ± 0.00	81 218.03 ± 5 223.05 <sup>a</sup>	77.21 ± 1.68 <sup>b</sup>
盐蒸女贞子(salt Ligustri Lucidi Fructus)	117.77 ± 9.75	342.69 ± 74.95 <sup>bdf</sup>	4.86 ± 0.30	101.64 ± 35.39 <sup>bdf</sup>	0.75 ± 0.00	38 924.94 ± 10 469.99 <sup>bdf</sup>	66.45 ± 4.14 <sup>bdf</sup>
清蒸女贞子(steamed Ligustri Lucidi Fructus)	92.24 ± 7.52 <sup>dth</sup>	96.15 ± 6.50 <sup>h</sup>	2.66 ± 0.27 <sup>bdlh</sup>	3.15 ± 0.20 <sup>h</sup>	0.75 ± 0.00	114 294.60 ± 7 309.99 <sup>dth</sup>	80.50 ± 5.25 <sup>bch</sup>

注(note):同表4(same as Tab.4)

表 7 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后毛蕊花糖苷药代参数

Tab. 7 Pharmacogenetic parameters of acteoside in rats after gavage of extracts of different concoctions of *Ligustri Lucidi Fructus*

名称 (designation)	AUC <sub>0-t</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	AUC <sub>0-∞</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	MRT <sub>0-t</sub> / h	t <sub>1/2</sub> / h	T <sub>max</sub> / h	CL <sub>r/F</sub> / (L · h <sup>-1</sup> )	C <sub>max</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> )
女贞子(Ligustri Lucidi Fructus)	77.32 ± 6.98	95.87 ± 17.23	5.13 ± 0.33	15.96 ± 4.65	0.75 ± 0.00	1 549.14 ± 277.38	35.23 ± 1.90
醋蒸女贞子(vinegar Ligustri Lucidi Fructus)	73.26 ± 3.95	125.59 ± 31.52	5.80 ± 0.21 <sup>a</sup>	32.74 ± 17.00	0.71 ± 0.09	3 963.52 ± 1 085.76	31.12 ± 0.62 <sup>b</sup>
酒蒸女贞子(wine Ligustri Lucidi Fructus)	69.90 ± 5.16	751.36 ± 501.36 <sup>bd</sup>	5.87 ± 0.30 <sup>b</sup>	377.82 ± 266.59 <sup>bd</sup>	0.71 ± 0.09	3 266.75 ± 3 792.24	38.11 ± 2.31 <sup>ad</sup>
盐蒸女贞子(salt Ligustri Lucidi Fructus)	67.54 ± 6.26	158.27 ± 66.50 <sup>f</sup>	5.80 ± 0.30 <sup>a</sup>	56.63 ± 35.65 <sup>f</sup>	0.58 ± 0.24	5 054.25 ± 2 678.32	28.12 ± 1.05 <sup>bef</sup>
清蒸女贞子(steamed Ligustri Lucidi Fructus)	63.01 ± 3.54 <sup>bc</sup>	104.78 ± 70.53 <sup>f</sup>	5.90 ± 0.35 <sup>b</sup>	23.48 ± 35.88 <sup>f</sup>	0.58 ± 0.12	8 951.94 ± 3 015.66 <sup>bce</sup>	30.94 ± 0.48 <sup>bfg</sup>

注(note):同表4(same as Tab.4)

表 8 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后橄榄苦苷药代参数

Tab. 8 Pharmacogenetic parameters of oleuropein in rats after gavage of extracts of different concoctions of *Ligustri Lucidi Fructus*

名称 (designation)	AUC <sub>0-t</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	AUC <sub>0-∞</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	MRT <sub>0-t</sub> / h	t <sub>1/2</sub> / h	T <sub>max</sub> / h	CL <sub>r/F</sub> / (L · h <sup>-1</sup> )	C <sub>max</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> )
女贞子(Ligustri Lucidi Fructus)	120.66 ± 20.50	151.77 ± 22.45	6.78 ± 0.33	11.62 ± 2.05	0.75 ± 0.00	14 993.12 ± 2 192.88	56.91 ± 4.04
醋蒸女贞子(vinegar Ligustri Lucidi Fructus)	132.73 ± 23.56	181.58 ± 50.05	6.18 ± 0.54	16.10 ± 6.01	0.75 ± 0.00	10 794.40 ± 2 760.84	66.81 ± 7.09 <sup>a</sup>
酒蒸女贞子(wine Ligustri Lucidi Fructus)	133.52 ± 32.59	176.26 ± 75.87	5.83 ± 0.96	11.85 ± 7.52	0.71 ± 0.09	14 066.72 ± 5 318.14	68.00 ± 6.81 <sup>a</sup>
盐蒸女贞子(salt Ligustri Lucidi Fructus)	114.26 ± 18.62	155.06 ± 39.53	5.94 ± 0.68	13.39 ± 5.30	0.75 ± 0.00	11 810.79 ± 3 436.56	63.98 ± 0.93
清蒸女贞子(steamed Ligustri Lucidi Fructus)	145.50 ± 21.84	151.38 ± 24.25	5.11 ± 0.43 <sup>b</sup>	5.33 ± 0.55 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.09	13 634.15 ± 2 313.18	66.38 ± 2.35 <sup>a</sup>

注(note):同表4(same as Tab.4)

表9 大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取液后女贞苷 G13 药代参数

Tab. 9 Pharmacogenetic parameters of G13 in rats after gavage of extracts of different concoctions of Ligustri Lucidi Fructus

名称 (designation)	AUC <sub>0-t</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	AUC <sub>0-∞</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> · h)	MRT <sub>0-t</sub> / h	t <sub>1/2</sub> / h	T <sub>max</sub> / h	CL <sub>r/F</sub> / (L · h <sup>-1</sup> )	C <sub>max</sub> / (ng · mL <sup>-1</sup> )
女贞子(Ligustri Lucidi Fructus)	291.28 ± 5.90	293.26 ± 6.29	3.47 ± 0.12	3.88 ± 0.21	0.75 ± 0.00	12 724.58 ± 269.67	186.47 ± 2.44
醋蒸女贞子(vinegar Ligustri Lucidi Fructus)	267.10 ± 10.20 <sup>b</sup>	322.16 ± 19.52	4.89 ± 0.20 <sup>b</sup>	14.53 ± 1.94 <sup>b</sup>	0.50 ± 0.00	11 424.58 ± 749.73 <sup>a</sup>	130.72 ± 5.68 <sup>b</sup>
酒蒸女贞子(wine Ligustri Lucidi Fructus)	220.36 ± 7.88 <sup>bd</sup>	226.56 ± 10.34 <sup>bd</sup>	2.62 ± 0.36 <sup>bd</sup>	3.09 ± 0.30 <sup>d</sup>	0.50 ± 0.00	11 144.68 ± 513.36 <sup>b</sup>	150.24 ± 1.02 <sup>bd</sup>
盐蒸女贞子(salt Ligustri Lucidi Fructus)	361.08 ± 11.90 <sup>bdf</sup>	423.44 ± 50.51 <sup>bdf</sup>	3.86 ± 0.20 <sup>df</sup>	15.98 ± 7.47 <sup>bf</sup>	0.75 ± 0.00	8 870.09 ± 958.03 <sup>bdf</sup>	204.27 ± 7.93 <sup>bdf</sup>
清蒸女贞子(steamed Ligustri Lucidi Fructus)	239.06 ± 6.74 <sup>bdeh</sup>	239.08 ± 6.74 <sup>adh</sup>	1.63 ± 0.03 <sup>bdfh</sup>	1.60 ± 0.01 <sup>dh</sup>	0.75 ± 0.00	13 038.88 ± 371.86 <sup>dih</sup>	166.42 ± 9.02 <sup>bdfh</sup>

注(note):同表4(same as Tab. 4)

入肝<sup>[20]</sup>,推测醋蒸更有利于女贞子在机体内发挥抗肝纤维化及抗肝癌的药理作用,并增强其保肝作用。与生女贞子相比,酒女贞子毛蕊花糖苷的 AUC<sub>0-∞</sub>、MRT<sub>0-t</sub>、t<sub>1/2</sub>、C<sub>max</sub> 均显著升高(P < 0.01),说明酒蒸后毛蕊花糖苷的暴露量增加且在体内持续时间延长,推测可使其发挥长效作用。文献研究表明,毛蕊花糖苷能够有效减少氧化低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞泡沫化<sup>[21]</sup>,且临床上患有动脉粥样硬化的患者少量饮酒可以增加血液循环舒张血管,因此推测在临床上治疗动脉粥样硬化可以优先选择酒蒸女贞子入药。

生女贞子和盐女贞子中特女贞苷和女贞苷 G13 的灌胃剂量相似,但与生女贞子相比,盐女贞子中特女贞苷和女贞苷 G13 的 C<sub>max</sub>、AUC<sub>0-∞</sub> 以及 t<sub>1/2</sub> 均显著升高(P < 0.01),说明盐蒸可以促进机体对特女贞苷和女贞苷 G13 的吸收并提高其生物利用度,现代药理研究表明特女贞苷可以抑制破骨细胞分化作用<sup>[22]</sup>,女贞苷 G13 对大鼠骨髓间充质干细胞的碱性磷酸酶活性有刺激作用<sup>[23]</sup>,且盐制后可提高骨密度、骨生长因子<sup>[24]</sup>,因此推测在临床上治疗骨质疏松病人时可以优先选用盐蒸女贞子。与生女贞子相比,醋蒸、酒蒸、清蒸女贞子橄榄苦苷的 C<sub>max</sub> 显著升高(P < 0.05),说明醋蒸、酒蒸、清蒸有利于机体对橄榄苦苷的吸收,橄榄苦苷具有降血糖、降血脂等多种药理作用<sup>[25]</sup>,因此推测醋蒸、酒蒸、清蒸可能会增强女贞子改善糖尿病的药理作用。

本研究所建立的 UPLC-MS/MS 分析方法简便、快速、灵敏,适用于大鼠灌胃女贞子不同炮制品提取物后 6 个活性成分的药代动力学研究。本研究结果补充了女贞子不同炮制品提取物在大鼠体内的药动

学特征,为女贞子不同炮制品的临床应用及后续的相关研究提供了依据。

#### 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 47  
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 47
- [2] 杨光明,陈晓红,刘路,等. 女贞子生品及炮制品的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2016, 47(5): 760  
YANG GM, CHEN XH, LIU L, et al. HPLC fingerprints of crude and processed Ligustri Lucidi Fructus [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(5): 760
- [3] 梁晓,吴鹏,张学兰,等. 女贞子不同炮制品 HPLC 指纹图谱色谱峰的归属与比较[J]. 中药材, 2015, 38(11): 2288  
LIANG X, WU P, ZHANG XL, et al. Identification and comparison of constituents of different processed products of Ligustrum lucidum Fruit by HPLC fingerprint [J]. J Chin Med Mater, 2015, 38(11): 2288
- [4] 蒋云秀,曹马怡洁,吴杰,等. 基于 HPLC 指纹图谱结合多元统计分析九制女贞子炮制过程中成分变化[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(7): 250  
JIANG YX, CAO MYJ, WU J, et al. Analysis on compositional changes during processing process of nine processed Nyuzhenzi (Ligustri Lucidi Fructus) based on HPLC fingerprint spectrum combined with multivariate statistical analysis [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(7): 250
- [5] 卢琪,张天泽,朱娟娟,等. 女贞子盐炙前后质量变化研究[J]. 中成药, 2023, 45(3): 815  
LU Q, ZHANG TZ, ZHU JJ, et al. Quality changes of Ligustrum lucidum before and after salt processing [J]. Chin Tradit Patent Med, 2023, 45(3): 815
- [6] CAO M, WU J, PENG Y, et al. Ligustri Lucidi Fructus, a traditional Chinese medicine: comprehensive review of botany, traditional uses, chemical composition, pharmacology, and toxicity [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 301: 115789

- [7] 栾茹乔, 赵鑫, 张学兰, 等. 女贞子高压酒炖工艺的优化[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2550  
LUAN RQ, ZHAO X, ZHANG XL, *et al.* Optimization of high - pressure wine - stewing process for Ligustri Lucidi Fructus[J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(8): 2550
- [8] 高赛, 周欣, 陈华国. 女贞子化学成分及质量控制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(12): 133  
GAO S, ZHOU X, CHEN HG. Research progress in chemical components and quality control of Ligustri Lucidi Fructus[J]. Chin J Inform Tradit Chin Med, 2018, 25(12): 133
- [9] 林伟雄, 邓李红, 李美洲, 等. 基于 UPLC 特征图谱及多成分同时定量的酒女贞子炮制工艺研究[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(3): 236  
LIN WX, DENG LH, LI MZ, *et al.* Study on processing procedure of wine - processed Ligustri Lucidi Fructus based on UPLC characteristic chromatogram and multicomponent content determination[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2022, 38(3): 236
- [10] 刘亭亭, 王萌. 女贞子化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14): 228  
LIU TT, WANG M. Research progress of chemical composition and pharmacological effects of Fructus Figustri Lucidi[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(14): 228
- [11] 姜秋, 蒋海强, 李慧芬, 等. 女贞子酒蒸过程中 5 种苯乙醇类成分的变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16): 60  
JIANG Q, JIANG HQ, LI HF, *et al.* Contents changes of five phenylethanols under steaming time spans with wine in Ligustri Lucidi Fructus[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(16): 60
- [12] 李转梅, 张学兰, 李慧芬, 等. 女贞子酒蒸过程中新女贞苷、木樨榄苷 - 11 - 甲酯和女贞酸的动态变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(12): 14  
LI ZM, ZHANG XL, LI HF, *et al.* Dynamic changes of neoneuzhenide, oleoside - 11 - methyl ester and nuezhenidic acid in wine steaming process of Ligustri Lucidi Fructus[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(12): 14
- [13] 孙乐, 张艳雪, 张学兰, 等. 女贞子的不同炮制品配伍对二至丸中 12 种成分含量的影响[J]. 中药材, 2020, 43(1): 56  
SUN L, ZHANG YX, ZHANG XL, *et al.* Effects of compatibility of different prepared products of ligustrum lucidum on the contents of twelve components in Erzhi pills[J]. J Chin Med Mater, 2020, 43(1): 56
- [14] LUAN R, ZHAO P, ZHANG X, *et al.* Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and kidney distribution of raw and wine - steamed Ligustri Lucidi Fructus extracts in diabetic nephropathy rats[J]. Molecules, 2023, 28(2): 791
- [15] ZHANG D, SUN L, LI H, *et al.* Pharmacokinetic comparison of nine bioactive components in rat plasma following oral administration of raw and wine - processed Ligustri Lucidi Fructus by ultra - high - performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry[J]. J Separ Sci, 2020, 43(21): 3995
- [16] 纪鑫, 刘晓谦, 高陆, 等. 基于女贞子和酒女贞子中主要差异性成分的体内药代动力学研究[J]. 药学报, 2021, 56(12): 3518  
JI X, LIU XQ, GAO L, *et al.* Pharmacokinetics of the main components differing between Ligustri Lucidi Fructus and its wine - steamed product[J]. Acta Pharm Sin, 2021, 56(12): 3518
- [17] 李焕茹, 朱泓锦, 冯志毅, 等. 女贞子及不同炮制品指纹图谱对比研究[J]. 中药材, 2022, 45(7): 1601  
LI HR, ZHU HJ, FENG ZY, *et al.* Comparative study on the fingerprints of Ligustri Lucidi Fructus and its different concoctions[J]. J Chin Med Mater, 2022, 45(7): 1601
- [18] 陈楠, 李晓莉, 张岩. 女贞子及其活性成分抗骨质疏松作用及途径研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(8): 1057  
CHEN N, LI XL, ZHANG Y. Research progress on osteoprotective effects of Fructus Ligustri Lucidi and its active components and action pathways involved[J]. Chin Pharmacol Bull, 2018, 34(8): 1057
- [19] 叶子雨, 何学东, 郑永军, 等. 女贞子活性成分抗肝纤维化作用机制研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(4): 1389  
YE ZY, HE XD, ZHENG YJ, *et al.* Research progress on mechanism of active components of Ligustri Lucidi Fructus against hepatic fibrosis[J]. Chin Tradit Herb Drug, 2024, 55(4): 1389
- [20] 张倩, 薛蓉, 徐瑞杰, 等. 中药“醋制入肝”炮制理论的研究进展与探讨[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(18): 4854  
ZHANG Q, XUE R, XU RJ, *et al.* Processing theory of "leading vinegar - processing Chinese medicine into liver" [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(18): 4854
- [21] 吕佳霖, 王荣荣, 贺明帅, 等. 基于网络药理学探讨女贞子治疗动脉粥样硬化的作用机制[J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(4): 498  
LÜ JL, WANG RR, HE MS, *et al.* Study on anti - atherosclerotic effect of Ligustrum lucidum based on network pharmacology[J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med, 2022, 41(4): 498
- [22] YE XS, JIANG JJ, YANG J, *et al.* Specneuzhenide suppresses diabetes - induced bone loss by inhibiting RANKL - induced osteoclastogenesis[J]. Abbs, 2022, 54(8): 1080
- [23] 战美, 邓雪, 朱迪, 等. 女贞子提取物及其成分促骨髓间充质干细胞成骨分化的作用[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(7): 2803  
ZHAN M, DENG X, ZHU D, *et al.* Effects of extracts of Fructus Ligustri Lucidi and its components on promoting osteoblast differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(7): 2803
- [24] HOU A, LÜ J, ZHANG S, *et al.* Salt processing: a unique and classic technology for Chinese medicine processing [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1116047
- [25] 张育贵, 张淑娟, 辛二旦, 等. 橄榄苦苷的药理作用研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(24): 3265  
ZHANG YG, ZHANG SJ, XIN ED, *et al.* Research statue on pharmacological action of Oleuropein[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2019, 35(24): 3265 (本文于 2024 年 6 月 5 日收到)