

基于 LC-MS/MS 法分析栀子 16 种功效成分的小鼠组织分布

Analysis of tissue distribution of 16 functional components of *Gardenia jasminoides Ellis* based on LC-MS/MS in mice

秦佳琪¹, 饶志², 吕东霞²,
张帆², 雒馨怡², 魏玉辉^{1,2}

(1. 兰州大学药学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院药剂科, 甘肃兰州 730000)

QIN Jia-qi¹, RAO Zhi²,
LÜ Dong-xia², ZHANG Fan²,
LUO Xin-yi², WEI Yu-hui^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2. Department of Pharmacy, First Hosiptal of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82174067, 82460856); 甘肃省卫生健康委员会中医药科研课题资助项目 (GZKP-2022-33); 甘肃省联合科研基金资助项目 (23JRRA1492); 兰州大学第一医院院内基金资助项目 (ldyyyn2023-34)

作者简介: 秦佳琪 (1998-), 女, 硕士研究生, 主要从事中药药理及机制研究

通信作者: 魏玉辉, 教授, 博士生导师

Tel: (0931) 8356854

E-mail: yhwei@lzu.edu.cn

摘要:目的 建立小鼠体内不同组织中栀子 16 种功效成分测定的液相色谱-质谱联用 (LC-MS/MS) 分析方法。方法 小鼠灌胃给予栀子后取回肠、结肠、胃、肝、肾、脑组织, 用沉淀蛋白法处理样品, Waters CORTECS C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150.0 mm, 2.7 μm), 流动相甲醇-水溶液进行梯度洗脱, 内标物为特女贞苷, 流速 0.4 mL · min⁻¹, 柱温 40 °C, 电喷雾离子源, 负离子模式检测。考察该方法的专属性、标准曲线和定量下限、精密度与回收率、稳定性以及重现性, 并考察栀子功效成分在小鼠体内的组织分布特征。结果 本研究建立了 16 种栀子功效成分在复杂基质中的分析方法, 其线性范围为 0.98 ~ 6.00 × 10⁴ ng · mL⁻¹, 定量下限为 0.92 ~ 11.72 ng · mL⁻¹, 日内、日间精密度及回收率 RSD 值均小于 15%。16 种功效成分在回肠组织中均有较高含量, 胃组织次之。环烯醚萜类成分在各组织中均有较高分布, 二萜类成分西红花酸主要分布于肝、脑中, 而西红花苷 II 主要分布于结肠中。结论 本方法专属性高, 灵敏度、重现性及稳定性较好, 且基质效应可控, 适用于进行复杂基质中栀子成分分析研究。栀子成分群主要分布于肠道, 这可能是其发挥功效的重要部位, 其药理作用可能与其成分在不同组织中的趋向性相关。

关键词: 栀子; 环烯醚萜类; 二萜类; 液相色谱-质谱联用仪; 功效成分; 组织分布
DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.019

中图分类号: R28 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821 (2025) 08-1157-07

Abstract: Objective To develop a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for quantifying 16 bioactive constituents of *Gardenia jasminoides Ellis* in various murine tissues.

Methods The ileum, colon, stomach, liver, kidney and brain tissues of mice were collected following intragastric administration of *Gardenia jasminoides Ellis*. Subsequently, the samples were processed by precipitating protein. The analysis was performed using the Waters CORTECS C₁₈ column (4.6 mm × 150.0 mm, 2.7 μm) with mobile phase gradient elution consisting of a methanol-water solution, and specnuezhenide was used as the internal standard; the flow rate was set at 0.4 mL · min⁻¹ while maintaining a column temperature of 40 °C; detection was performed in negative ion mode utilizing an electrospray ion source. Furthermore, the method was evaluated for its specificity, standard curve and lower limit of quantification, precision and recovery, stability and reproducibility. Additionally, the tissue distribution characteristics of the active components of *Gardenia jasminoides Ellis* in

mice were investigated. **Results** This study established a method for the analysis of 16 bioactive constituents in *Gardenia jasminoides Ellis* within complex matrices. The linear range spanned from 0.98 to $6.00 \times 10^4 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, with a limit of quantitation ranging from 0.92 to $11.72 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the RSD values for intra-day and inter-day precision as well as recovery were all below 15%. Amongst the examined tissues, ileum tissue exhibited the highest levels of these active components, followed by gastric tissue. Iridoid components demonstrated extensive distribution across various tissues. The diterpenoid constituent crocetin was predominantly found in the liver and brain, while crocin II showed higher distribution in the colon. **Conclusion** The method exhibits high specificity, excellent sensitivity, reproducibility, and stability. Moreover, the matrix effect can be controlled effectively, rendering it suitable for analyzing *Gardenia jasminoides Ellis* in complex matrices. The intestine is the major tissue for the distribution of *Gardenia jasminoides Ellis*, which may be an important part for its efficacy. Furthermore, the extensive pharmacological effects of *Gardenia jasminoides Ellis* may be related to the component tendency to different tissues.

Key words: *Gardenia jasminoides Ellis*; iridoids; diterpenoids; liquid chromatography – tandem mass spectrometry; active component; tissue distribution

梔子(*Gardenia jasminoides Ellis*)来源于茜草科植物梔子的干燥成熟果实,是国家卫生健康委员会颁布的第1批药食两用资源,具有泻火除烦、清热利湿、凉血止血等功效^[1]。梔子药理作用众多且化学成分复杂,目前已发现其有环烯醚萜类、二萜色素类、有机酸类、黄酮类、挥发油类等200余种成分^[2],其功效符合多成分、弱效应、协调整合的传统中药材作用特点,口服后其不同药效成分通过体循环分布至不同脏器,该特征对成分的体内蓄积及其药理作用将产生重要影响。本研究在综合考虑梔子药材中各类成分含量、药理活性主要成分及仪器检测灵敏度的基础上^[3-5],选择了8种环烯醚萜类成分、3种二萜色素类成分、4种有机酸类成分及1种黄酮类成分,用液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatography – tandem mass spectrometry, LC – MS/MS)技术同时测定其不同组织中的含量,分析其小鼠组织中的分布特征。

材料与方法

1 材料

动物 健康雄性昆明种小鼠,鼠龄4周,体质量18~22 g,兰州生物制品研究所有限公司提供。动物许可证号:SCXK(甘)2022-0001。本实验经兰州大学第一医院伦理委员会批准(伦理批号:LDYYLL2024-60)。

药品与试剂 梔子饮片,批号:211202,产地:江西,购自甘肃冠兰中药饮片有限公司,经甘肃省药品检验研究院宋平顺主任药师鉴定为茜草科植物梔子的干燥成熟果实所制饮片。京尼平,纯度:≥98.0%,批号:22031801,成都康邦生物科技有限公司生产;西红花苷I,纯度:≥98.0%,批号:200846,成都普利斯生物科技有限公司生产;京尼平苷,纯度:≥98.0%,

批号:DST200713-032,西红花苷II,纯度:≥98.0%,批号:DST200527-012,西红花酸,纯度:≥98.0%,批号:DST190316-041,均由东美天医药/德斯特生物有限公司生产;京尼平酸,纯度:≥98.0%,批号:2016072,异绿原酸A,纯度:≥98.0%,批号:20160803,异绿原酸B,纯度:≥98.0%,批号:20160702,咖啡酸,纯度:≥98.0%,批号:20160418,异槲皮苷,纯度:≥98.0%,批号:20160702,均由成都艾科达化学试剂有限公司生产;京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷,纯度:≥98.0%,批号:G27S10L96112,乙酰车业草苷酸甲酯,纯度:≥98.0%,批号:S08J7D15970,山梔苷B,纯度:≥98.0%,批号:P17AJF19588,鸡屎藤次苷甲酯,纯度:≥98.0%,批号:D17GB171807,山梔苷,纯度:≥98.0%,批号:S28HB196447,绿原酸,纯度:≥98.0%,批号:A22GB158496,特女贞苷,纯度:≥98.0%,批号:G11HB18692,均由上海源叶生物科技有限公司生产。

仪器 1260 HPLC系统、6460三重四极杆质谱仪、Masshunter质谱工作站,均为美国Agilent公司产品。

2 梔子水提物冻干粉制备

称取梔子药材100 g,加入纯化水1.0 L,浸泡4 h,加热煮沸1 h,3层纱布过滤,滤渣加入水1.0 L重复煎煮1次,合并2次所得滤液,浓缩,置于-60℃真空冷冻干燥,制得样品冻干粉末。

3 动物分组、给药方法与样本采集

给药前将小鼠禁食12 h,自由饮水。小鼠随机分为空白组及给药组,每组5只,空白组灌胃给予饮用水,给药组按生药量 $1.59 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给予梔子水提物溶液,每天灌胃给药1次,连续给药4周。在末次给药2 h后,麻醉处死小鼠,摘取胃、肝、肾、脑、结肠、

回肠组织,用 0.9% NaCl 清洗,滤纸吸干,置于 -80 ℃ 冰箱待测。

4 测定方法

色谱条件 色谱柱: Waters CORTECS C₁₈ 液相色谱柱(4.6 mm × 150.0 mm, 2.7 μm); 流动相: 水(A) - 甲醇(B); 柱温: 40 °C; 流速: 0.4 mL · min⁻¹; 进样量: 2 μL。梯度洗脱程序: 0 ~ 8 min, 20% B; 8 ~ 15 min, 20% ~ 40% B; 15 ~ 17 min, 40% B; 17 ~ 21 min, 40% ~ 85% B; 21 ~ 26 min, 20% B 平衡色谱柱。

质谱条件 电喷雾离子源、负离子模式、多反应监测模式,具体离子源参数参考本课题组前期研究^[6]。

样品处理 称取各组织约 100 mg 至 1.5 mL 离心管中,加入甲醇 0.4 mL,用匀浆机(65 Hz)匀浆 3 min,以 $1.0 \times 10^4 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,吸取上清液 300 μL 至 1.5 mL 离心管中,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后进样分析。

对照品溶液制备 称取 16 种对照品及内标适量,加入甲醇 1.0 mL 配制成药 5.0 mg · mL⁻¹ 的单体对照品储备液。从上述各单体对照品储备液中精密量取储备液适量,混合后加入甲醇稀释,配制得到含各单体质量浓度约为 0.5 ~ 60.0 μg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液,以及质量浓度为 0.5 μg · mL⁻¹ 的内标溶液。

5 方法学考察

专属性 按照分别“样品处理”项下所述方法分别制备空白组织匀浆液,向组织匀浆液中加入待测物,以及样品组织匀浆液,并按照“4”项下操作获得空白组织匀浆液及待测物匀浆液色谱峰,考察栀子各组

分及内标物峰型、保留时间及内源性物质干扰。

标准曲线和定量下限 线性关系考察以栀子各成分在组织中的药物浓度(x)为横坐标,以峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程,以信噪比(signal-to-noise ratio, S/N) ≥ 10 为定量下限标准。

精密度与回收率 按“样品处理”项下所述方法配制低、中、高 3 个质量浓度质控样品各 6 份,1 d 内测定作为日内精密度;连续配制 3 d,每天测定 1 次,求得不同浓度质控样品间的日间精密度。在空白匀浆上清液中配制各质量浓度样品,进样记录所得数据为 SET1;配制的质控样品完全按照“样品处理”项下操作后进样所得数据为 SET2。以 $SET2/SET1$ 计算提取回收率。

稳定性 在本实验条件下,标准组织样品经3次冻融、室温放置12 h以及-80 ℃保存30 d后测定,计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值。

基质效应 配制低、中、高 3 个质量浓度质控样品各 6 份,除以等体积去离子水代替空白组织匀浆液外,其余按“样品处理”项下方法操作,记录所得数据为 SET3。以 SET1/SET3 计算基质效应。

结 果

1 方法学评价

专属性 在上述条件下,以回肠组织为例进行方法学考察。结果表明,栀子各组分及内标峰型较好,保留时间内基质内源性物质不干扰成分的测定,其在空白组织、组织中添加对照品、给药后组织中的色谱图见图 1。

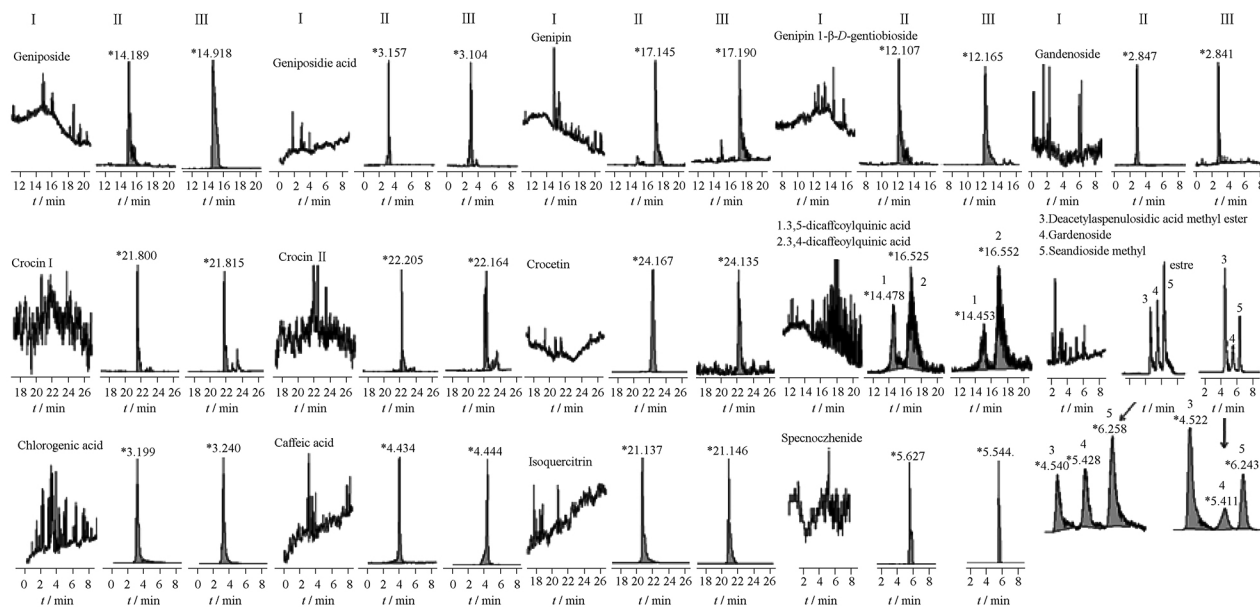


图 1 梔子中 16 种成分及内标的回肠组织匀浆液的典型色谱图

Figure 1 Typical chromatograms of 16 components of *Gardenia jasminoides* Ellis and internal standard in ileal homogenate

I : Blank tissue homogenate; II : Reference substance + blank tissue homogenate; III : Sample.

标准曲线与定量下限 梔子各成分的标准曲线、线性范围及定量下限见表1。

精密度与回收率 梔子各成分在低、中、高3个质量浓度质控品精密度日内、日间相对标准偏差均小于15%,回收率值处于80.55%~101.33%,提示该方

法重现性高,回收率符合测定要求,方法准确可靠。结果见表2。

稳定性 短期(室温12 h)、长期(-80℃30 d)及冻融(-80℃到室温)稳定性试验表明,梔子各成分的RSD值均小于15%,表明样品及供试品溶液在

表1 梔子中16种成分在组织匀浆液中的线性关系

Table 1 Calibration curves of 16 components from *Gardenia jasminoides Ellis* in tissue homogenate of mice

Analyte	Standard curve	Range of linearity (ng · mL ⁻¹)	R ²	Limit of quantification (ng · mL ⁻¹)
Geniposide	$y = 1.10x + 8.22$	117.19 - 6.00 × 10 ⁴	0.999 5	0.92
Geniposidic acid	$y = 0.95x + 4.39$	3.91 - 2 000.00	0.995 7	1.95
Genipin	$y = 1.27x + 7.75$	0.98 - 500.00	0.995 3	0.98
Genipin 1 - β - D - gentiobioside	$y = 0.18x + 6.28$	117.19 - 6.00 × 10 ⁴	0.996 6	0.92
Deacetylasperulosidic acid methyl ester	$y = 7.19x + 26.71$	117.19 - 6.00 × 10 ⁴	0.998 7	0.92
Scandioside methyl ester	$y = 16.05x + 16.04$	23.44 - 1.20 × 10 ⁴	0.991 3	1.46
Gardenoside	$y = 8.47x + 26.84$	23.44 - 1.20 × 10 ⁴	0.990 9	1.46
Shanzhiside	$y = 1.09x + 1.10$	23.44 - 1.20 × 10 ⁴	0.994 2	1.46
Crocin I	$y = 0.51x + 3.45$	5.86 - 3 000.00	0.991 0	2.93
Crocin II	$y = 0.47x + 14.30$	5.86 - 3 000.00	0.991 9	1.47
Crocetin	$y = 1.86x + 6.38$	5.86 - 3 000.00	0.990 4	2.93
Chlorogenic acid	$y = 6.78x + 8.30$	5.86 - 3 000.00	0.995 6	1.47
3,5 - dicaffeoylquinic acid	$y = 10.38x + 8.95$	11.72 - 6 000.00	0.990 7	11.72
3,4 - dicaffeoylquinic acid	$y = 6.39x + 7.59$	11.72 - 6 000.00	0.991 6	5.86
Caffeic acid	$y = 4.14x + 3.55$	0.98 - 500.00	0.995 3	0.98
Isoquercitrin	$y = 5.22x + 45.68$	0.98 - 500.00	0.994 1	0.98

表2 用液相色谱-质谱联用仪测定梔子中成分在小鼠组织匀浆液中的精密度和回收率

Table 2 Precision and recovery of components from *Gardenia jasminoides Ellis* in tissue homogenate of mice by liquid chromatography - tandem mass spectrometry

Analyte	Concentration (ng · mL ⁻¹)	Intra - day (n = 6)			Inter - day (n = 6)			Extraction recovery (%)
		Measured	RSD	RE	Measured	RSD	RE	
		(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	
Geniposide	234.40	223.61 ± 20.95	9.37	-4.60	252.72 ± 29.74	11.77	7.83	86.19
	1 875.00	2 032.50 ± 172.75	8.50	8.40	2 056.45 ± 142.23	6.92	9.68	90.94
	3.00 × 10 ⁴	3.23 × 10 ⁴ ± 2 134.57	6.60	7.80	2.91 × 10 ⁴ ± 2 945.38	10.11	-2.90	93.50
Geniposidic acid	7.80	8.64 ± 0.65	7.54	10.57	8.81 ± 0.82	9.27	12.75	90.22
	62.50	66.37 ± 4.95	7.46	6.18	64.95 ± 3.08	4.74	3.92	91.19
	1 000.00	1 067.21 ± 74.00	6.93	6.72	908.37 ± 127.45	14.03	-9.16	88.79
Genipin	2.00	2.05 ± 0.16	7.84	5.15	2.12 ± 0.15	6.90	8.43	89.48
	15.60	16.89 ± 1.55	9.20	8.12	15.18 ± 1.72	11.34	-2.85	92.37
	250.00	260.68 ± 11.96	4.59	4.27	237.73 ± 12.42	5.22	-4.91	88.58
Genipin 1 - β - D - gentiobioside	234.40	218.37 ± 17.95	8.22	-6.83	256.46 ± 30.10	11.74	9.42	81.70
	1 875.00	2 029.84 ± 190.92	9.41	8.25	2 056.98 ± 223.69	10.87	9.71	93.89
	3.00 × 10 ⁴	3.09 × 10 ⁴ ± 2 649.80	8.57	3.02	3.17 × 10 ⁴ ± 1 581.01	4.99	5.70	100.18
Deacetylasperulosidic acid methyl ester	234.40	260.68 ± 34.90	13.39	11.22	225.13 ± 32.73	14.54	-3.95	97.44
	1 875.00	2 049.78 ± 155.69	7.60	9.32	1 966.21 ± 125.21	6.37	4.86	84.65
	3.00 × 10 ⁴	3.17 × 10 ⁴ ± 2 684.29	8.46	5.81	2.80 × 10 ⁴ ± 3 161.34	11.28	-6.60	90.53
Scandioside methyl ester	46.90	51.85 ± 5.23	10.07	10.62	49.42 ± 4.79	9.70	5.43	88.92
	375.00	355.30 ± 33.30	9.37	-5.25	405.72 ± 44.25	10.91	8.19	90.91
	6 000.00	5 636.60 ± 163.44	2.90	-6.06	6 328.89 ± 518.41	4.19	5.48	94.44

续表 2(continued table 2)

Analyte	Concentration (ng · mL ⁻¹)	Intra - day (n = 6)			Inter - day (n = 6)			Extraction recovery (%)
		Measured	RSD	RE	Measured	RSD	RE	
		(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	(ng · mL ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	
Gardenoside	46.90	44.74 ± 3.02	6.75	-4.56	50.51 ± 5.98	11.85	7.75	86.25
	375.00	406.63 ± 34.43	8.47	8.43	411.35 ± 28.75	6.99	9.69	90.92
	6 000.00	6 468.59 ± 423.83	6.55	7.81	5 823.86 ± 533.48	6.16	-2.94	93.50
Shanzhiside	46.90	51.03 ± 3.98	7.80	8.86	52.18 ± 3.26	6.24	11.32	84.74
	375.00	409.27 ± 19.41	4.74	9.14	395.80 ± 14.65	3.70	5.55	83.87
	6 000.00	6 312.75 ± 512.57	8.12	5.21	5 703.99 ± 707.14	12.40	-4.93	86.45
Crocina I	11.70	11.57 ± 1.28	11.08	-1.29	11.07 ± 1.47	13.24	-5.56	90.58
	93.80	101.63 ± 8.66	8.52	8.40	102.81 ± 7.04	6.85	9.66	101.33
	1 500.00	1 617.31 ± 106.43	6.58	7.82	1 456.03 ± 142.31	9.77	-2.93	89.69
Crocina II	11.70	12.61 ± 1.29	10.24	7.61	12.34 ± 1.03	8.38	5.26	87.44
	93.80	100.04 ± 5.62	5.62	6.70	100.51 ± 4.62	4.60	7.21	81.92
	1 500.00	1 581.56 ± 60.99	3.86	5.44	1 587.48 ± 110.49	6.96	5.83	82.27
Crocin	11.70	12.27 ± 1.04	8.48	4.70	12.52 ± 0.95	7.55	6.83	90.38
	93.80	101.15 ± 4.30	4.25	7.89	99.84 ± 9.45	9.47	6.47	86.81
	1 500.00	1 453.88 ± 85.16	5.86	-3.07	1 413.70 ± 104.50	7.39	-5.75	91.37
Chlorogenic acid	11.70	10.76 ± 1.01	9.37	-8.23	12.49 ± 1.49	8.95	10.59	80.55
	93.80	98.21 ± 6.46	6.58	4.76	100.53 ± 7.39	7.35	7.23	91.41
	1 500.00	1 617.59 ± 104.42	6.46	7.84	1 531.96 ± 85.89	5.61	2.13	100.07
3,5 - dicaffeoylquinic acid	23.40	25.59 ± 1.93	7.55	9.19	26.65 ± 1.97	7.39	13.69	96.81
	187.50	196.04 ± 12.38	6.31	4.55	207.12 ± 13.24	6.39	10.47	91.40
	3 000.00	3 099.14 ± 231.12	7.46	3.30	3 144.07 ± 154.89	4.93	5.80	99.51
3,4 - dicaffeoylquinic acid	23.40	25.71 ± 2.19	8.52	9.70	25.39 ± 1.33	5.25	8.32	85.40
	187.50	201.32 ± 16.41	8.15	7.37	196.21 ± 13.13	6.69	4.65	83.57
	3 000.00	3 083.69 ± 248.25	8.25	2.79	3 220.30 ± 198.61	6.17	7.34	89.57
Caffeic acid	2.00	2.13 ± 0.15	7.15	8.94	2.03 ± 0.13	6.53	3.78	87.74
	15.60	16.63 ± 0.75	4.49	6.44	16.98 ± 1.44	8.48	8.69	89.32
	250.00	261.13 ± 15.06	5.77	4.45	265.18 ± 9.73	3.67	6.07	85.51
Isoquercitrin	2.00	2.14 ± 0.26	12.24	9.57	2.16 ± 0.22	10.32	10.37	90.51
	15.60	16.58 ± 0.86	5.22	6.11	16.08 ± 0.72	4.48	2.93	100.11
	250.00	260.89 ± 10.03	3.85	4.36	256.35 ± 17.26	6.73	2.54	94.64

RE: Relative error.

测试条件下稳定性良好。

基质效应 基质效应处于 81.4% ~ 97.7%, 提示该方法回收率较好, 不受基质中离子干扰。

2 方法学应用

小鼠灌胃给予栀子后, 各组织中 16 种栀子成分含量测定结果见表 3。结果表明: 栀子中各成分在回肠组织中均有较高含量, 其中京尼平 - 1 - β - D 龙胆

双糖苷、异绿原酸 A、异绿原酸 B 仅在回肠中测得有分布; 胃组织中各成分含量低于回肠, 但多种成分含量亦高于其他组织; 在肝、肾、脑、结肠组织中环烯醚萜类的京尼平苷、京尼平苷酸、京尼平、去乙酰车叶草苷酸甲酯、鸡屎藤次苷甲酯均有较高的分布; 西红花酸主要分布于肝、脑中; 西红花苷 II 主要分布于结肠中。

表 3 小鼠口服栀子后 16 种主要成分的组织分布 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 3 Distribution characteristics of 16 major components after oral administration of Gardenia jasminoides Ellis in mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Ingredient	Organization (ng · mg ⁻¹)					
	The stomach	Ileum	Colon	Liver	Renal	Brain
Geniposide	67.82 ± 92.48	3 068.86 ± 2 078.85	2.68 ± 1.53	24.55 ± 13.01	22.06 ± 13.50	2.68 ± 1.53
Geniposidic acid	3.45 ± 6.19	96.66 ± 83.21	0.28 ± 0.44	39.21 ± 21.90	18.00 ± 9.12	0.39 ± 0.29
Genipin	5.83 ± 5.40	10.99 ± 4.29	0.75 ± 0.21	1.16 ± 0.63	1.01 ± 1.15	0.84 ± 0.18
Genipin 1 - β - D - gentiobioside	97.95 ± 71.56	3 556.12 ± 1 082.58	-	-	-	-

续表3(continued table 3)

Ingredient	Organization (ng · mg ⁻¹)					
	The stomach	Ileum	Colon	Liver	Renal	Brain
Deacetylasperulosidic acid methyl ester	7.69 ± 6.06	1 902.84 ± 1 807.98	0.91 ± 0.59	4.79 ± 2.01	2.41 ± 0.67	0.48 ± 0.67
Scandioside methyl ester	0.61 ± 0.35	389.95 ± 346.54	0.73 ± 0.66	1.44 ± 1.19	0.59 ± 0.07	0.30 ± 0.22
Gardenoside	0.08 ± 0.11	469.88 ± 466.89	0.07 ± 0.11	0.27 ± 0.28	0.18 ± 0.07	0.15 ± 0.11
Shanzhiside	6.24 ± 6.86	593.44 ± 527.79	0.08 ± 0.11	—	—	—
Crocin I	15.03 ± 24.54	93.81 ± 98.49	2.01 ± 0.50	—	—	—
Crocin II	14.18 ± 23.15	101.18 ± 95.86	2.81 ± 0.55	—	—	—
Crocetin	16.16 ± 8.98	152.73 ± 89.59	—	3.63 ± 1.53	0.15 ± 0.08	1.24 ± 1.21
Chlorogenic acid	1.01 ± 0.64	71.86 ± 88.80	0.20 ± 0.09	0.09 ± 0.13	0.18 ± 0.06	0.26 ± 0.18
3,5-dicaffeoylquinic acid	—	6.89 ± 3.45	—	—	—	—
3,4-dicaffeoylquinic acid	—	15.19 ± 5.06	—	—	—	—
Caffeic acid	0.45 ± 0.71	5.56 ± 7.89	0.12 ± 0.02	—	—	—
Isoquercitrin	0.98 ± 0.87	6.18 ± 7.33	0.17 ± 0.03	0.10 ± 0.14	—	—

—: Not detected.

讨 论

本课题组在建立质谱条件时发现,京尼平苷、京尼平、京尼平 1-β-D 龙胆双糖苷、去乙酰车叶草苷酸甲酯、鸡屎藤次苷甲酯、山梔苷 B、山梔苷、异槲皮苷在正离子全扫描模式下可产生 [M + H]⁺ 及 [M + Na]⁺ 响应,在负离子全扫描模式下产生 [M - H]⁻ 响应;而京尼平酸、西红花酸、西红花苷 I、西红花苷 II、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、咖啡酸由于其结构中具有强失电子基团,仅能产生 [M - H]⁻ 信号响应。因此,本研究选用负离子监测模式分析上述化合物的 [M - H]⁻ 信号,可以实现 16 种成分的同时测定。由于分析物中存在多对同分异构体,所以在色谱条件优化时需完成同分异构体的完全分离。经过对色谱柱及流动相的反复尝试,最终选定甲醇-水作为流动相, Waters CORTECS C₁₈ 液相色谱柱作为色谱柱进行分离,并用梯度洗脱以保证实现所有分析物的完全分离及良好峰型。方法学验证结果表明,本研究所建立的方法专属性高,灵敏度、重现性及稳定性较好,适合进行复杂基质中梔子成分的分析研究。

本研究发现,回肠是梔子中各成分蓄积量最多的部位。本课题组前期在大鼠回肠组织中发现 60 种梔子提取物成分,多于其入血成分(45 种)^[7],亦证明回肠是梔子成分分布最多的部位。同时,本课题组的多项动物研究发现,梔子灌胃给药后能发挥其药理作用^[8-9],而非口服途径其药效减弱或消失;有报道亦指出,中药材必须口服通过肠道方能产生药效^[10]。由于梔子成分需经肠道吸收,因而推测其大量成分可能停留于肠壁发挥其药理作用。据文献报道,梔子中

的环烯醚萜类成分京尼平 1-β-D-龙胆双糖苷、京尼平酸、京尼平苷、京尼平,二萜色素类成分西红花苷 I、西红花苷 II、西红花酸,有机酸类成分绿原酸、咖啡酸等均可富集于肠道,起到改善肠道形态、减轻炎症^[11]、调节肠黏膜免疫、促进胰岛素分泌^[12-13] 等作用。因此,肠道可能是梔子发挥功效的重要部位。此外,梔子经肠道吸收后,多种成分也可广泛分布于体内其他组织中。目前,已有大量研究发现,梔子中的环烯醚萜类成分是其重要的药效物质,对包括胃肠道^[14-15]、肝^[16]、神经系统^[17]、心血管系统^[18] 在内的多种疾病均有显著疗效,而西红花酸已被证实具有保肝、抗抑郁等作用^[19-20]。梔子具有的这些广泛药理作用可能与其功效成分的组织分布密切相关。

本研究用 LC-MS/MS 建立了梔子中 16 种功效成分在小鼠组织中的含量测定方法,并将其应用于小鼠灌胃梔子后其成分在不同组织中的分布研究,各成分在被分析的组织样本中呈现出种类和含量差异,可能导致药理作用与功效成分在不同组织中分布的趋向性相关。后续将进一步研究梔子功效成分在不同疾病模型中的靶组织分布情况及其体内动态变化,为阐释梔子药效物质基础提供依据。

参考文献:

- [1] 傅春升,娄红祥,张学顺. 梔子的化学成分与药理作用[J]. 国外医药(植物药分册),2004,19(4):152-156.
- [2] WANG L, CHEN S, LIU S, et al. A comprehensive review of ethnopharmacology, chemical constituents, pharmacological effects, pharmacokinetics, toxicology, and quality control of gardeniae fructus [J/OL]. J Ethnopharmacol, 2024, 320: 117397. 2024-02-10 [2024-10-29]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37956915/>.
- [3] 饶志,张帆,董毓松,等. 梔子“辨状论质”及其品质成因研究进展[J]. 中草药,2023,54(6):1998-2004.

- [4] 王晓慧,张帆,席莉莉,等. 栀子的药效与毒性及其作用机制研究进展[J]. 中国药物警戒,2021,18(1):94—99.
- [5] WANG L, LIU S, ZHANG X, *et al.* A strategy for identification and structural characterization of compounds from *Gardenia jasminoides* by integrating macroporous resin column chromatography and liquid chromatography – tandem mass spectrometry combined with ion – mobility spectrometry [J/OL]. *J Chromatogr A*, 2016, 1452: 47—57. 2016 – 06 – 24 [2024 – 10 – 29]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27208986/>.
- [6] 饶志,郭思鸣,何思芳,等. LC – MS/MS 法同时测定耐碳青霉烯肠杆菌感染重症患者血浆中替加环素及阿米卡星的药物浓度[J]. 药物分析杂志,2023,43(3):387—393.
- [7] 张国强,文苑洁,董毓松,等. 基于回肠顶端钠依赖性胆酸转运体探究栀子水提物对小鼠胆汁淤积的治疗作用[J]. 中草药,2023,54(1):122—130.
- [8] 张国强,魏玉辉,文苑洁,等. 栀子水提物对雌激素诱导的胆汁淤积大鼠中硫酸化胆酸盐的影响及机制研究[J]. 中国药理学杂志,2020,55(20):1680—1685.
- [9] ZHANG F, WEI Y H, DUAN Y T, *et al.* Potential mechanism of cholagogic effect about *Gardenia Jasminoides Ellis* (Zhizi) – mediated increase of bile acids urinary excretion in normal rats [J]. *Chin Herbal Med*, 2018, 10(4):431—436.
- [10] CROW J M. Microbiome; That healthy gut feeling [J]. *Nature*, 2011, 480(7378):S88—S89.
- [11] 汤军华,沈毅弘. 栀子苷对支气管哮喘幼年小鼠气道炎症反应的抑制作用[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(20):2581—2583,2588.
- [12] 周洁,李世朋,冯凯祥,等. 栀子苷对胰岛素抵抗 HepG₂ 细胞的胰岛素受体及核因子 κ B 的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(5):362—365.
- [13] 戚琛晔,席守民,马灵筠,等. 栀子苷对胰岛素抵抗 HepG – 2 细胞葡萄糖转运体 4 表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2014,30(6):537—539.
- [14] LEE J H, LEE D U, JEONG C S. *Gardenia jasminoides Ellis* ethanol extract and its constituents reduce the risks of gastritis and reverse gastric lesions in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(6):1127—1131.
- [15] 王书航,金向群,刘玉梅. 高效液相色谱法测定藿香清胃胶囊中栀子苷和甘草苷的含量[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(20):2049—2051.
- [16] SHEN B, FENG H, CHENG J, *et al.* Geniposide alleviates non – alcohol fatty liver disease via regulating Nrf2/AMPK/mTOR signalling pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9):5097—5108.
- [17] ZHANG W, ZHANG F, HU Q, *et al.* The emerging possibility of the use of geniposide in the treatment of cerebral diseases: A review [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1):86.
- [18] LIN J, WANG X, GU M, *et al.* Geniposide ameliorates atherosclerosis by restoring lipophagy via suppressing PARP1/PI3K/AKT signalling pathway [J/OL]. *Phytomedicine*, 2024, 129: 155617. 2024 – 04 – 10 [2024 – 10 – 29]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38614041/>.
- [19] SREEKANTH G P, CHUNCHARUNEE A, YENCHITSOMANUS P T, *et al.* Crocetin improves dengue virus – induced liver injury [J]. *Viruses*, 2020, 12(8):825.
- [20] LIN S, CHEN Z, WU Z, *et al.* Involvement of PI3K/AKT pathway in the rapid antidepressant effects of crocetin in mice with depression – like phenotypes [J]. *Neurochem Res*, 2024, 49(2):477—491.

(收稿日期 2024 – 11 – 06)

· 科学文摘 ·

托布替尼与特立氟胺治疗复发性多发性硬化症患者的临床研究

引自:OH J, *et al.* Tolebrutinib versus teriflunomide in relapsing multiple sclerosis [J/OL]. *N Engl J Med*, 2025. 2025 – 04 – 08 [2025 – 04 – 12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40202623/>.

托布替尼是一种口服脑渗透布鲁顿酪氨酸激酶抑制药,靶向外周和中枢神经系统的髓样细胞(包括小胶质细胞)和 B 细胞。OH 等在 2 项Ⅲ期、双盲、双模拟、事件驱动的试验(GEMINI 1 和 GEMINI 2)中,将复发性多发性硬化症受试者以 1:1 的比例随机分配接受托布替尼(60 mg,每天 1 次)或特立氟胺(14 mg,每天 1 次),每种药物都有匹配的安慰剂。主要终点是年化复发率。关键的次要终点是确认持续至少 6 个月的残疾恶化。

该研究共有 974 例受试者参加了 GEMINI 1 的招募,899 例受试者参加了 GEMINI 2 的招募。中位随访时间为 139 周。托布替尼组和特立氟胺组的年化复发率在 GEMINI 1 试验中分别为 0.13 和 0.12(率比为 1.06,95% 置信区间为 0.81 ~ 1.39, $P > 0.05$),在 GEMINI 2 试验中均为 0.11(率比为 1.00,95% 置信区间 0.75 ~ 1.32, $P > 0.05$)。托布替尼组和特立氟胺组确诊残疾恶化持续至少 6 个月的受试者的汇总百分比分别为 8.3% 和 11.3%(风险比为 0.71,95% 置信区间为 0.53 ~ 0.95)。2 个治疗组发生不良事件的受试者百分比相似,但托布替尼组的轻微出血百分比高于特立氟胺组(瘀点发生率为 4.5% *vs.* 0.3%,月经过多发生率为 2.6% *vs.* 1.0%)。

该研究表明,托布替尼在降低复发性多发性硬化症患者的年化复发率方面并不优于特立氟胺。