颈舒颗粒中三七皂苷 R_1、人参皂苷 Rg_1 和人参皂苷 Rb_1 在脊髓型颈椎病模型大鼠中的药代动力学研究

周传铭[1,2#]，陈 瑞[1,2#]，许 杉[3]，律立红[1,2]，徐智儒[1,2*]

（1. 中国医药工业研究总院有限公司，上海医药工业研究院创新药物与制药工艺国家重点实验室，上海 200437；
2. 上海市生物物质成药性评价专业技术服务中心，上海 200437；3. 河南省肿瘤医院，郑州大学附属肿瘤医院，河南郑州 450008）

摘要：颈舒颗粒在临床上已被证明对脊髓型颈椎病（CSM）有较好的治疗效果，其主要活性成分为三七皂苷 R_1（**1**）、人参皂苷 Rg_1（**2**）和人参皂苷 Rb_1（**3**）。该研究建立了超高效液相色谱 - 质谱联用（UPLC-MS）法检测 CSM 模型大鼠血浆中的 **1**、**2** 和 **3** 浓度，用于研究颈舒颗粒在大鼠体内的药代动力学特征。结果显示，大鼠灌胃给予颈舒颗粒后，**1** 的血浆浓度较低（<8.892 ng/mL），**2** 和 **3** 的 c_{max}、$AUC_{0\to t}$ 和 $t_{1/2}$ 分别为（27.75±4.13）和（123.60±8.56）ng/mL、（255.41±38.59）和（1 344.32±122.52）h·ng·mL^{-1}，以及（11.97±3.75）和（14.54±2.71）h。该检测方法灵敏、可靠，可用于 **1**、**2** 和 **3** 在 CSM 模型大鼠体内的药代动力学研究。

关键词：颈舒颗粒；脊髓型颈椎病；药代动力学；LC-MS/MS

中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)12-1745-08

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.12.009

Pharmacokinetic Study on Notoginsenoside R_1, Ginsenoside Rg_1 and Ginsenoside Rb_1 of *Jingshu Keli* in Rat with Cervical Spondylotic Myelopathy Model

ZHOU Chuanming[1,2#], CHEN Rui[1,2#], XU Shan[3], LYU Lihong[1,2], XU Zhiru[1,2*]

(*1. State Key Lab. of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 200437; 2. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Drug-ability Evaluation, Shanghai 200437; 3. Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University, Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008*)

ABSTRACT: The therapeutic effects of *Jingshu Keli*(or *Jingshu* granules) on cervical spondylotic myelopathy(CSM) have been substantiated in clinical practice. Its main active constituents are notoginsenoside R_1(**1**), ginsenoside Rg_1(**2**), and ginsenoside Rb_1(**3**). This study established an ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry(UPLC-MS) method for determination of the concentrations of **1**, **2**, and **3** in plasma of rats with CSM, then the pharmacokinetic characteristics of **1**, **2**, and **3** in the rats were investigated. The results showed that after oral gavage administration of *Jingshu Keli* to the rat, the plasma concentration of **1** was low(<8.892 ng/mL); the c_{max}, $AUC_{0\to t}$ and $t_{1/2}$ for **2** and **3** were(27.75±4.13) and(123.60±8.56) ng/mL, (255.41±38.59) and(1 344.32±122.52) h·ng·mL^{-1}, (11.97±3.75) and(14.54±2.71) h, respectively. This detection method was sensitive and reliable, and was suitable for the pharmacokinetic study of **1**, **2**, and **3** in the rat model of CSM.

Key Words: *Jingshu Keli*; cervical spondylotic myelopathy; pharmacokinetics; LC-MS/MS

脊髓型颈椎病（cervical spondylotic myelopathy，CSM）是一种进行性的脊柱退行性疾病，被认为是导致成人脊髓功能障碍的关键因素[1]。国际上，由于缺乏足够的数据支持非手术干预（物理治疗、药物治疗和脊柱注射），许多患者通过手术治疗 CSM[2—4]。在中国，中药在轻中度 CSM 的非手术治疗中具有显著优势[2,5—7]。

#对文章贡献等同。

收稿日期：2023-01-17

作者简介：周传铭(1998—)，男，硕士研究生，研究方向：药物代谢动力学。

陈 瑞(1993—)，男，硕士研究生，研究方向：药物代谢动力学、代谢组学和表面分析。

通信作者：徐智儒(1978—)，女，博士，研究员，从事新药的临床前药代动力学、中药药效物质基础研究、毒物相关的筛查及体内代谢机制研究。

E-mail：zhiruxu@hotmail.com

颈舒颗粒是 ChP(2020 年版）收录的中药配方颗粒，方药由七味成分组成：三七 333 g、当归 333 g、川芎 333 g、红花 333 g、天麻 333 g、肉桂 222 g 和人工牛黄 92.5 g。近年来，多项临床研究[8—9]表明，颈舒颗粒联合针灸、推拿等其他治疗方法对 CSM 有积极作用，可显著提高患者的生活质量。

根据中药“君臣佐使”的配伍理论，处方中的君药是三七，且 ChP(2020 年版）中规定了三七的质量控制标准；而三七的主要活性物质包括三七皂苷 R_1(notoginsenoside R_1，**1**)、人参皂苷 Rg_1(ginsenoside Rg_1，**2**) 以及人参皂苷 Rb_1(ginsenoside Rb_1，**3**) 等[10]。前期研究[11]中采用 HPLC 法进行分析，结果显示颈舒颗粒中 **1**、**2** 和 **3** 的含量较高。此外，研究[12]显示颈舒颗粒以及 **1**、**3** 可通过 Kir3.1 离子通道降低动作电位频率和超极化静息膜电位，以缓解 CSM 症状。但少有研究[13—14]报道生物样品中 **1**、**2** 和 **3** 的检测方法，且与颈舒颗粒相关的药代动力学研究也相对较少。因此，本研究拟建立超高效液相色谱 - 质谱联用 (UPLC-MS) 法同时测定 CSM 模型大鼠血浆中的 **1**、**2** 和 **3**，并对 **1**、**2** 和 **3** 在大鼠体内的药代动力学进行相关研究，以填补颈舒颗粒药动学研究的空白。

1　仪器与试药

Waters UPLC-MS 系统（包括 Waters I-CLASS UPLC 液相系统，Xevo TQ-S 质谱，UNIFI 工作站）、ACQUITY UPLC I-Class/Vion IMS QTOF 型超高效液相色谱 - 四极杆串联飞行时间质谱联用仪（美国 Waters 公司）；Eppendorf 5810 R 全自动高速冷冻离心机、Eppendorf Mix Mate 涡旋仪均购于德国艾本德有限公司；CP225D 型电子天平（德国赛多利斯公司）；0.22 μm 微孔膜购于上海安谱实验科技股份有限公司。

1 对照品（批号 110745-201318，纯度 94.0%）、**2** 对照品（批号 110703-201530，纯度 91.7%）、**3** 对照品（批号 110704-201625，纯度 95.0%）均购自中国食品药品检定研究院；颈舒颗粒［国药集团精方（安徽）药业股份有限公司，批号 20160101］；4- 羟基环孢素 A［内标 (IS)，**4**］对照品和空白大鼠血浆由本实验室提供；LC-MS 级甲酸［梯希爱（上海）化成工业发展有限公司］；LC-MS 级甲醇（德国默克公司）。

SD 大鼠，雄性 12 只，体质量 200 ～ 300 g，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司，合格证编号：2015000559968。在恒温净化通风动物房饲养，23.0 ～ 27.0 ℃，相对湿度 50%～ 70%，自由进食与饮水。

2　方法与结果

2.1　色谱与质谱条件

色谱条件：色谱柱 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱 (2.1 mm×100 mm，1.7 μm)；流动相　甲醇 (A) 和 0.1%（体积分数）甲酸水溶液 (B)，梯度洗脱 (0—0.2 min，A 25%；0.2—3.5 min，A 25%—98%；3.5—3.9 min，A 98%；3.9—4.0 min，A 98%—25%；4.0—5.5 min，A 25%)；柱温　55 ℃；流速 0.3 mL/min；进样量　5 μL。

质谱条件：离子源　电喷雾离子化源 (ESI)；源温度 150 ℃；雾化气体温度　500 ℃；毛细管电压 2.5 kV；检测方式 $[M+Na]^+$；扫描方式 选择反应监测 (MRM)。待测物及内标的质谱检测参数如表 1 所示。

表 1　待测物的质谱参数

Tab.1　The Mass Spectrometric Parameters of Analytes

物质名称	母离子的*m/z*	子离子的*m/z*	锥孔电压/V	碰撞电压/V
1	955.29	775.26	94	40
2	823.35	643.29	88	36
3	1 131.50	789.30	30	50
4	1 219.10	156.11	79	60

2.2　溶液配制

分别精密称取 **1**、**2**、**3** 和 **4** 对照品适量，以适量甲醇溶解，用 80%（体积分数）甲醇稀释，配制成质量浓度为 1 mg/mL 的对照品贮备液。再精密移取 **1**、**2** 和 **3** 对照品贮备液适量，混合后用 80%甲醇依次稀释为对照品工作液 (40、100、200、1 000、4 000、10 000、20 000 ng/mL) 和高、中、低质控样品工作液 (15 000、500、80 ng/mL)；同法将内标对照品贮备液稀释为 5 μg/mL 的内标工作液，备用。

2.3　动物试验与样品处理

将所有动物随机分为对照组和试验组（n=6)，

照文献[15]方法进行动物造模处理，其中对照组进行假手术处理。用蒸馏水 1 mL 溶解颈舒颗粒 100 g，所得颈舒颗粒药液灌胃给予 2 组大鼠，剂量为 4.8 g/kg（临床剂量的 2 倍），术后 d7—d14 给药，每日 2 次。在 d14 首次给药后，分别于 0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、24 h 时通过眼眶采血采集约 100 μL 血样，置以 1%肝素钠抗凝的离心管中，4 ℃离心（6 200×*g*）8 min，所得血浆于 －80 ℃保存备用。所有试验步骤均根据美国国立卫生研究院（第 8 版，2011 年修订）和中国医药工业研究总院（SOPAN043，中国上海）发布的《试验动物护理和使用指南》进行。

血浆样品处理：取大鼠血浆 50 μL 于 1.5 mL 离心管，加入内标工作液 5 μL，混匀，再加入甲醇 150 μL，充分混合。离心（16 200×*g*）10 min，过滤（0.22 μm 微孔膜），取上清液 90 μL，加入 80%甲醇 180 μL，混匀后即可进样分析。

2.4 方法学验证

方法学验证用样品的制备：取空白大鼠血浆 50 μL、对照品工作液 2.5 μL 和内标工作液 5 μL，按“**2.3**”项下方法处理。用于 3 种待测物标准曲线试验的样品质量浓度分别为 2、5、10、50、200、500、1 000 ng/mL。血浆中 4 种质控样品，即定量下限（LLOQ）、低浓度质控（LQC）、中浓度质控（MQC）、高浓度质控（HQC）的质量浓度分别为 2、4、25、750 ng/mL。

2.4.1 专属性试验

取 6 份来源不同的 SD 大鼠空白血浆，按“**2.3**”项下方法处理，制作不含内标的空白基质样品。另采用空白血浆添加对照品工作液，按“**2.3**”项下方法处理，制作 LLOQ 样品，按“**2.1**”项下条件进行 UPLC-MS/MS 分析。结果如图 1 所示，大鼠血浆中的内源性物质均不干扰 **1**、**2**、**3** 和 **4** 的测定，表明专属性良好。

2.4.2 线性试验

取方法学验证用样品，按“**2.1**”项下条件进行 UPLC-MS/MS 分析，权重为 $1/c^2$，用峰面积内标法定量检测。以待测物与 **4** 的峰面积比值（*Y*）对相应的质量浓度（*c*）进行加权线性回归。结果显示，**1**、**2** 和 **3** 的质量浓度为 2 ～ 1 000 ng/mL 时线性关系良好，线性方程分别为 $Y_1=7.56\times10^{-4}+1.79\times10^{-3}c_1$（$R^2=0.994\ 3$）、$Y_2=5.08\times10^{-3}+7.63\times10^{-3}c_2$（$R^2=0.996\ 1$）、$Y_3=1.34\times10^{-3}+2.86\times10^{-3}c_3$（$R^2=0.997\ 5$）。

2.4.3 精密度与准确度试验

按“**2.4**”项下方法配制大鼠血浆质控样品各 5 份，以“**2.1**”项下条件进行 UPLC-MS/MS 分析，测定血浆样品的浓度，并计算批内、批间精密度与准确度。连续测定 3 个分析批次。结果（表 2）显示，该方法用于 **1**、**2** 和 **3** 检测的精密度与准确度良好。

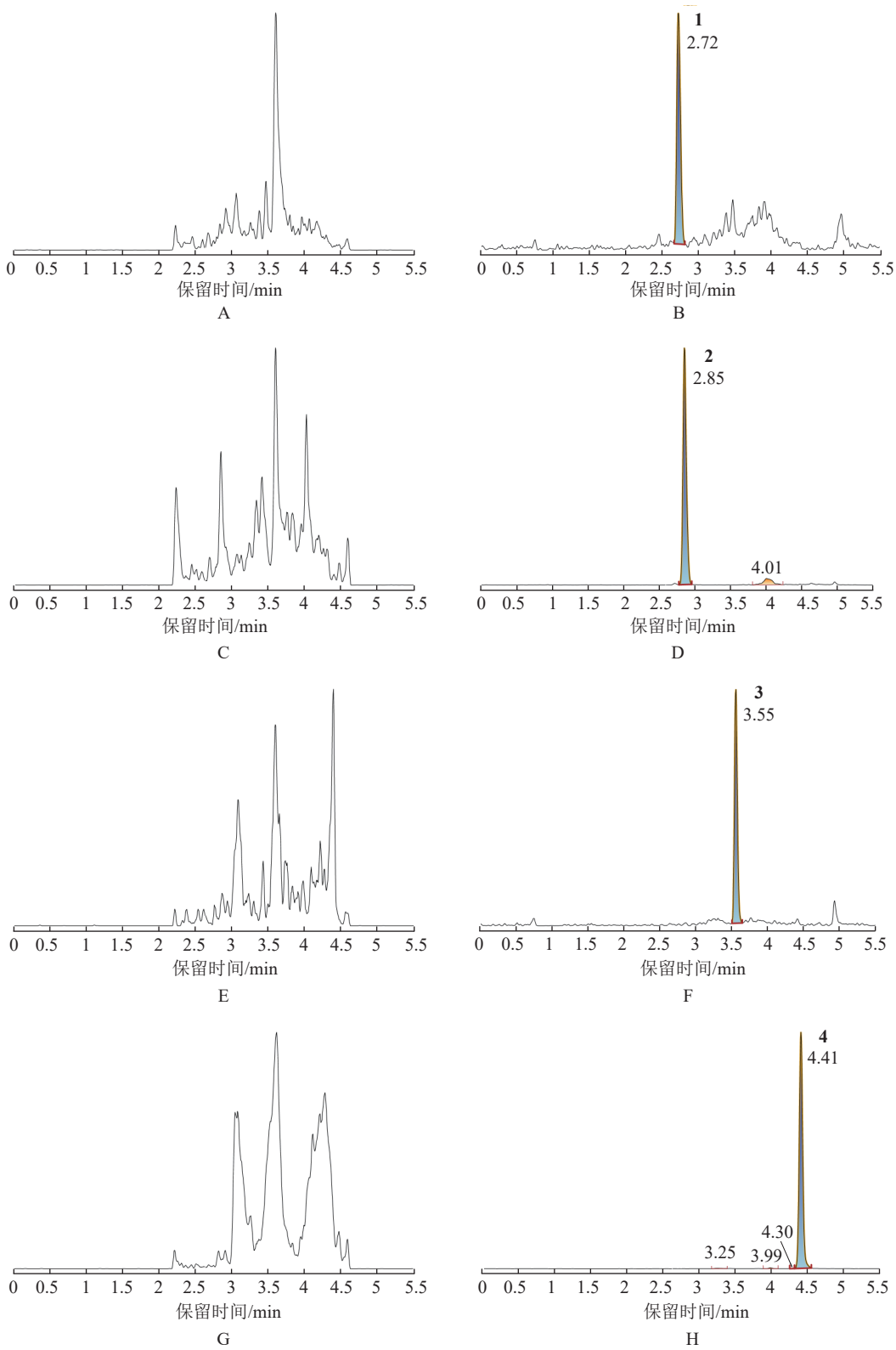
2.4.4 稳定性试验

考察 **1**、**2** 和 **3** 血浆样品在处理前室温放置 4 h、处理后室温放置 4 h、冻融循环 3 次（－80 ℃）、进

表 2 1、2、3 在大鼠血浆中的精密度和准确度结果（*n*=5）

Tab.2 Precision and Accuracy Results of **1**, **2** and **3** in Rat Plasma（*n*=5）

样品	配制浓度/(ng·mL^{-1})	测试浓度/(ng·mL^{-1})	RSD/%		准确度/%
			批间	批内	
1	2	2.05±0.09	4.40	6.69	102.64
	4	4.03±0.08	2.04	6.84	101.82
	25	24.16±0.65	2.68	6.63	98.98
	750	749.60±5.12	0.68	2.33	100.28
2	2	2.08±0.08	3.90	9.52	97.68
	4	4.08±0.11	2.60	10.89	98.93
	25	24.16±1.16	4.79	6.68	97.55
	750	747.00±2.52	0.34	2.36	99.68
3	2	2.11±0.15	6.91	8.65	105.17
	4	4.06±0.21	5.18	6.01	101.04
	25	24.36±1.51	6.22	8.90	101.05
	750	741.40±8.79	1.19	1.90	100.00



A—**1** 检测条件下的空白基质样品；B—LLOQ 样品中的 **1**；C—**2** 检测条件下的空白基质样品；D—LLOQ 样品中的 **2**；E—**3** 检测条件下的空白基质样品；F—LLOQ 样品中的 **3**；G—**4** 检测条件下的空白基质样品；H—LLOQ 样品中的 **4**。

图 1　大鼠血浆样品中 1、2、3 和 4 的色谱图

Fig.1　Chromatograms of **1**, **2**, **3** and **4** in Rat Plasma Samples

样器中放置 24 h 以及长期（2 周）于 －80 ℃放置的稳定性。按“**2.4**”项下方法配制低、高质量浓度（4、750 ng/mL）的大鼠血浆质控样品，各平行制备 5 份，按上述不同的条件处理样品，根据当天随行标准曲线计算样品浓度。结果（表 3）显示，血浆样品稳定性良好。

2.4.5 基质效应和提取回收率试验

按“**2.4**”项下方法配制低、高质量浓度（4、750 ng/mL）的大鼠血浆质控样品，平行制备 6 份，作为基质样品。

取对照品工作液 2.5 μL、内标工作液 5 μL、80%甲醇 270 μL 混匀，作为无基质样品进行 UPLC-MS/MS 分析。低、高质量浓度（4、750 ng/mL）样品均平行制备 6 份。

取大鼠空白血浆 50 μL 于 1.5 mL 离心管中，按“**2.3**”项下操作，取上清液用对照品工作液稀释后置进样瓶内进行 UPLC-MS/MS 分析，作为提取基质样品。低、高质量浓度（4、750 ng/mL）样品均平行制备 6 份。

通过提取基质样品中 **1**、**2**、**3** 和 **4** 峰面积与无基质样品中 **1**、**2**、**3** 和 **4** 峰面积的各自比值求得基质效应，结果如表 4 所示。

2.5 **1**、**2** 和 **3** 在大鼠体内的药代动力学研究

取“**2.3**”项下血浆样品，以“**2.1**”项下方法检测，采用 GraphPad Prism 8 软件对数据进行统计分析，MaS Studio 1.3.1 软件计算药代动力学参数。结果显示，试验组大鼠体内 **1**、**2** 和 **3** 的含量均高于对照组，其中试验组大鼠体内 **3** 的含量显著高于 **1** 和 **2**。两组大鼠血浆中 **1**、**2** 和 **3** 的浓度 - 时间曲线如图 2 所示，药动学参数如表 5 所示。

对照组大鼠血浆样本几乎没有测到 **1**，其质量浓度低于 LLOQ（2 ng/mL），所以 **1** 药代动力学参数无法计算。试验组大鼠血浆样本虽可检测到 **1**，但浓度均为 2.008 ～ 8.892 ng/mL，缺少足够的结果进行尾点拟合，因此试验组 **1** 的药代动力学参数同样无法计算。

对照组和试验组中 **2** 的 c_{max} 和 t_{max} 均相近，试验组 $t_{1/2}$[（11.97±3.75）h] 略长于对照组 [（8.89±2.54）h]，但无显著性差异。试验组 $AUC_{0\to t}$ [（255.41±38.59）h·ng·mL^{-1}]、$AUC_{0-\infty}$ [（336.83±

表 3 **1**、**2**、**3** 在大鼠血浆中的稳定性结果（n=5）

Tab.3 Stability Results of **1**, **2** and **3** in Rat Plasma（n=5）

样品	质量浓度/（ng·mL^{-1}）	放置条件									
		冻融循环3次		处理前室温放置4 h		处理后室温放置4 h		自动进样器放置24 h		－80 ℃放置2周	
		测得质量浓度/（ng·mL^{-1}）	RSD/%	测得质量浓度/（ng·mL^{-1}）	RSD/%	测得质量浓度/（ng·mL^{-1}）	RSD/%	测得质量浓度/（ng·mL^{-1}）	RSD/%	测得质量浓度/（ng·mL^{-1}）	RSD/%
1	4	4.16±0.21	5.1	4.12±0.23	5.6	4.04±0.41	10.1	4.14±0.43	10.5	4.23±0.15	3.8
	750	748.20±6.39	0.9	740.10±11.65	1.6	745.80±11.33	1.5	747.40±10.87	1.5	746.60±6.39	0.9
2	4	4.14±0.19	4.6	4.00±0.18	4.5	4.10±0.29	7.1	3.97±0.25	6.4	4.10±0.29	7.1
	750	742.00±6.69	0.9	743.50±12.89	1.7	746.60±12.22	1.6	748.40±10.63	1.4	746.50±5.06	0.8
3	4	4.18±0.19	4.6	4.15±0.13	3.1	4.07±0.17	4.3	4.11±0.31	7.6	4.12±0.14	3.4
	750	745.20±6.19	0.8	747.40±12.40	1.7	743.80±11.07	1.5	743.20±9.34	1.3	741.20±7.06	1.0

表 4 **1**、**2**、**3** 在大鼠血浆中的提取回收率及基质效应

Tab.4 Recoveries and Matrix Effects of **1**, **2** and **3** in Rat Plasma

样品	质量浓度/（ng·mL^{-1}）	回收率/%		基质效应/%	
		准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%
1	4	91.71±5.86	6.39	93.43±0.08	8.10
	750	96.68±4.08	4.22	97.38±0.06	6.67
2	4	88.74±11.54	13.01	90.15±0.12	13.03
	750	95.46±5.21	5.46	85.55±0.07	8.29
3	4	92.28±7.76	8.40	88.15±0.08	9.63
	750	93.45±5.45	5.83	94.56±0.10	10.06

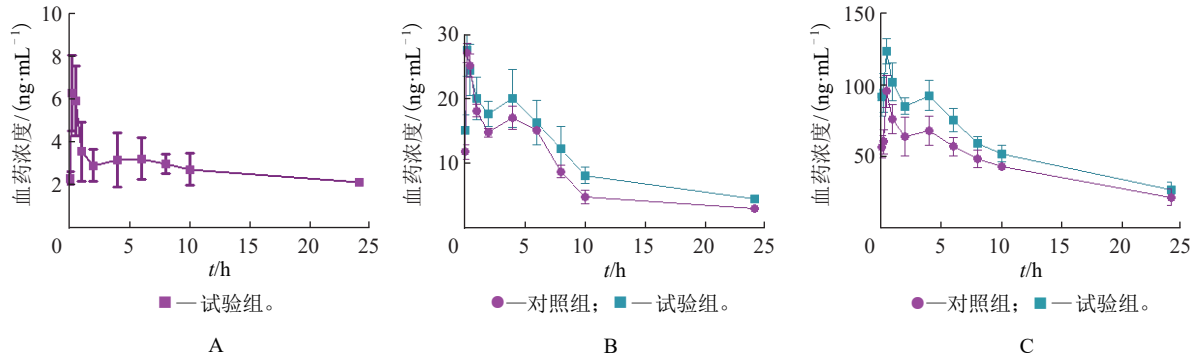


图 2　1（A）、**2**（B）和 **3**（C）的血药浓度 - 时间曲线（n=6）

Fig.2　Plasma Concentration-time Curves of **1** (A), **2** (A) and **3** (C) (n=6)

表 5　2、3 药代动力学参数（n=6）

Tab.5　Pharmacokinetic Parameters of **2** and **3** (n=6)

物质名称	**2**		**3**	
药动学参数	对照组	试验组	对照组	试验组
$AUC_{0\to t}$/(h·ng·mL^{-1})	196.37±14.92	255.41±38.59	1 057.32±52.48	1 344.32±122.52
$AUC_{0\to\infty}$/(h·ng·mL^{-1})	237.29±28.08	336.83±46.42	1 588.25±411.04	1 929.12±314.53
$MRT_{0\to t}$/h	7.34±0.29	8.13±0.41	8.93±0.83	8.68±0.39
$MRT_{0\to\infty}$/h	12.44±2.32	16.37±4.15	21.43±10.55	19.58±3.59
c_{max}/(ng·mL^{-1})	27.24±1.50	27.75±4.13	95.62±11.34	123.60±8.56
t_{max}/h	0.25	0.25	0.50	0.50
$t_{1/2}$/h	8.89±2.54	11.97±3.75	15.30±7.53	14.54±2.71
Cl/(mL·h^{-1}·kg^{-1})	45.93±5.07	32.52±4.49	6.31±1.30	5.08±0.86
V/(mL·kg^{-1})	575.73±95.00	553.36±144.58	127.94±28.21	103.99±7.02

46.42) h·ng·mL^{-1}] 均显著高于对照组（P<0.01）；对照组和试验组的 Cl 也有显著差异（P<0.01）。此外，血药浓度 - 时间曲线图显示，在 4 h 处有第 2 个吸收峰。

无论是对照组还是试验组，颈舒颗粒给药后大鼠体内 **3** 的血药浓度均高于其他 2 种待测物。其中，**3** 的 $AUC_{0\to t}$[(1 344.32±122.52) h·ng·mL^{-1}] 是 **2**[(255.41±38.59) h·ng·mL^{-1}] 的近 5 倍。试验组 **3** 的 t_{max}、$t_{1/2}$、Cl 与对照组相比，无显著差异。但 $AUC_{0\to t}$[(1 344.32±122.52) h·ng·mL^{-1}]、$AUC_{0\to\infty}$[(1 929.12±314.53) h·ng·mL^{-1}]、c_{max}[(123.60±8.56) ng/mL] 均显著高于对照组（P<0.01）。与 **2** 相似的是，在 4 h 处也观察到第二个吸收峰。

3　讨论

根据分析物的结构和极性，前期研究 [16] 考察了多种电离模式，如 [M－H]$^-$、[M+HCOO]$^-$ 和 [M+Cl]$^-$。结果显示，**1**、**2** 和 **3** 在正、负 ESI 模式下都能被电离，且负极模式下的离子丰度较低。此外，[M+Na]$^+$ 比 [M+H]$^+$ 稳定、干扰少、响应值高 [17]。

尽管 2.4 g/kg 的剂量与患者临床剂量相当，但根据前期研究 [12] 结果，CSM 模型大鼠以 4.8 g/kg 剂量连续给药 7 d 后，治疗效果更好。此外，颈舒颗粒中皂苷含量非常丰富，在颈舒颗粒（批号 20160101）中 **1**、**2** 和 **3** 的平均含量分别为 0.383、2.246 和 1.995 mg/g，相当于大鼠给药时 **1**、**2** 和 **3** 的剂量分别为 1.84、10.78 和 9.58 mg/kg[11]。

随后，将通过验证的方法应用于 CSM 大鼠 **1**、**2** 和 **3** 的药代动力学研究。结果显示，**1**、**2** 和 **3** 在 CSM 大鼠体内暴露量均增加，病理状态可改变这 3 个化合物的药代动力学特征，可能为解释颈舒颗粒的药理作用提供依据。与 **2** 和 **3** 相比，**1** 的体内暴露量较低，可能的原因是 **1** 膜透性较差，生物利用度（9.29%）较低 [18]。同时，肠道细菌通过“**1** → **2** →

人参皂苷 F_1 → 20(*S*)-原人参皂苷醇→脱氢 20(*S*)-原人参皂苷醇”的代谢过程可使 **1** 发生代谢转化，这可能是 **1** 血药浓度低的另一个原因[19—21]。参考之前的研究[12]，**1** 和 **3** 是颈舒颗粒治疗 CSM 的有效成分，但药代动力学结果显示 **1** 在模型大鼠体内药物含量浓度较低。因此，需针对 **1** 开发更灵敏、LLOQ 更低的检测方法，进一步研究其对颈舒颗粒的治疗机制和疗效。

对照组和试验组大鼠中，**2** 的 c_{max}、t_{max} 和 V 无显著差异，此情况提示两组大鼠对 **2** 吸收和分布过程可能相似。但药代动力学结果显示，**2** 在大鼠血浆中浓度较高，两组间 AUC 有统计学差异。因此，试验组大鼠 Cl 的减小可能是 **2** AUC 升高和 $t_{1/2}$ 延长的原因。已有研究[22]确定 **2** 具有包括抗炎作用在内的多种生物学功能。因此，颈舒颗粒中 **2** 在 CSM 治疗中的作用不容忽视，其机制有待进一步研究。

试验组大鼠体内 **3** 的 AUC 和 c_{max} 升高的原因尚不明确，其他药代动力学参数与对照组无显著差异。WANG 等[5]研究显示，**3** 可通过抑制细胞自噬来实现对脊髓损伤的保护作用。因此，推测 **3** 可能是颈舒颗粒发挥药理作用的关键物质，具体机制有待进一步研究验证。有研究[23—24]报道，在三七给药后约 0.2 h，**1** 和 **3** 在大鼠体内被迅速吸收，而 **3** 的吸收速率相对较慢，t_{max} 为 (2.71±1.47) h。在本研究中，**1** 和 **3** 也出现了类似的现象，但 **3** 的 t_{max}(0.5 h) 远小于 2 h，这说明可能是药物配伍时的相互作用促进了 **3** 的快速吸收。

在中药药代动力学研究中，药效成分的血药浓度出现双峰是很常见的，因为可能存在肠肝再循环、胃排空延迟、分配到组织后再吸收等情况[25—26]。本研究在 4 h 左右观察到 **2**、**3** 的再吸收峰。

ZHENG 等[27]研究显示，颈舒颗粒可阻止致痛小胶质细胞的作用，并干扰 STAT3-小胶质细胞通路以减轻神经性疼痛。此外，GUO 等[28]报道口服给药 4 h 后 **1** 和 **3** 在大鼠脑组织中达到峰值浓度。目前，对于阐明颈舒颗粒的细胞、分子作用机制的临床前研究仍不完善。因此，建立颈舒颗粒中 **1** 和 **3** 的体内药代动力学检测方法，对研究其作用机制具有重要的研究意义。

参考文献：

[1] PESCATORI L, TROPEANO M P, VISOCCHI M, *et al*. Cervical spondylotic myelopathy: when and why the cervical corpectomy [J]. *World Neurosurg*, 2020, **140**: 548-555.

[2] XU J H, ZHOU X N, XU C, *et al*. Clinical study on improving postoperative symptoms of cervical spondylotic myelopathy by *Qishe* pill [J]. *Medicine* (Baltimore), 2020, **99**(36): e21994.

[3] IYER A, AZAD T D, THARIN S. Cervical spondylotic myelopathy [J]. *Clin Spine Surg*, 2016, **29**(10): 408-414.

[4] SANGONDIMATH G, MALLEPALLY A R, MARATHE N, *et al*. Degenerative cervical myelopathy: recent updates and future directions [J]. *J Clin Orthop Trauma*, 2020, **11**(5): 822-829.

[5] WANG P, LIN C W, WU S Y, *et al*. Inhibition of autophagy is involved in the protective effects of ginsenoside Rb_1 on spinal cord injury [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, **38**(3): 679-690.

[6] LU Y B, YANG J J, WANG X X, *et al*. Research progress in use of traditional Chinese medicine for treatment of spinal cord injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, **127**: 110136.

[7] WANG Y H, ZHANG L, PAN G D, *et al*. Traditional Chinese medicine comprehensive therapy for the improvement of motor function in spinal cord injury patients [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, **36**(5): 618-624.

[8] HU J H, CHEN F, QIU G X, *et al*. *Jingshu Keli* for treating cervical spondylotic radiculopathy: the first multicenter, randomized, controlled clinical trial [J]. *J Orthop Translat*, 2020, **27**: 44-56.

[9] 任树军, 杨春雨, 杜海月, 等. 浮针配合颈舒颗粒治疗颈源性眩晕临床研究[J]. 中国中医急症, 2021, **30**(5): 813-815.

[10] XIE W J, MENG X B, ZHAI Y D, *et al*. *Panax notoginseng* saponins: a review of its mechanisms of antidepressant or anxiolytic effects and network analysis on phytochemistry and pharmacology [J]. *Molecules*, 2018, **23**(4): 940.

[11] 律立红, 陈 瑞, 许 杉, 等. HPLC法同时测定颈舒颗粒中7种化学成分[J]. 中国新药杂志, 2020, **29**(5): 575-581.

[12] YAN R, CHEN R, WANG J, *et al*. *Jingshu Keli* and its

components notoginsenoside R_1 and ginsenoside Rb_1 alleviate the symptoms of cervical myelopathy through Kir3.1 mediated mechanisms [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2019, **18**(8): 631-642.

[13] LI T Y, CHU Y, YAN K J, *et al*. Simultaneous determination of tanshinol, protocatechuic aldehyde, protocatechuic acid, notoginsenoside R_1, ginsenoside Rg_1 and Rb_1 in rat plasma by LC-MS/MS and its application [J]. *Biomed Chromatogr*, 2017, **31**(6): e3889.

[14] LI X Y, SUN J G, WANG G J, *et al*. Simultaneous determination of *Panax* notoginsenoside R_1, ginsenoside Rg_1, Rd, Re and Rb_1 in rat plasma by HPLC/ESI/MS: platform for the pharmacokinetic evaluation of total panax notoginsenoside, a typical kind of multiple constituent traditional Chinese medicine [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, **21**(7): 735-746.

[15] DHILLON R S, PARKER J, SYED Y A, *et al*. Axonal plasticity underpins the functional recovery following surgical decompression in a rat model of cervical spondylotic myelopathy [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2016, **4**(1): 89.

[16] XIA C H, WANG G J, SUN J G, *et al*. Simultaneous determination of ginsenoside Rg_1, Re, Rd, Rb_1 and ophiopogonin D in rat plasma by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometric method and its application to pharmacokinetic study of 'SHENMAI' injection [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, **862**(1/2): 72-78.

[17] SONG M, ZHANG S Y, XU X Y, *et al*. Simultaneous determination of three *Panax notoginseng* saponins at sub-nanograms by LC-MS/MS in dog plasma for pharmacokinetics of compound Danshen tablets [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2010, **878**(32): 3331-3337.

[18] LI X Y, WANG G J, SUN J G, *et al*. Pharmacokinetic and absolute bioavailability study of total *Panax* notoginsenoside, a typical multiple constituent traditional Chinese medicine (TCM) in rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, **30**(5): 847-851.

[19] RUAN J Q, LEONG W I, YAN R, *et al*. Characterization of metabolism and *in vitro* permeability study of notoginsenoside R_1 from *Radix notoginseng* [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, **58**(9): 5770-5776.

[20] LIU H, YANG J Q, YANG W Q, *et al*. Focus on notoginsenoside R_1 in metabolism and prevention against human diseases [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, **14**: 551-565.

[21] ZHOU L J, XING R, XIE L, *et al*. Development and validation of an UFLC-MS/MS assay for the absolute quantitation of nine notoginsenosides in rat plasma: application to the pharmacokinetic study of *Panax notoginseng* extract [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, **995**/**996**: 46-53.

[22] YI Y S. Roles of ginsenosides in inflammasome activation [J]. *J Ginseng Res*, 2019, **43**(2): 172-178.

[23] DENG G F, WANG D L, MENG M X, *et al*. Simultaneous determination of notoginsenoside R_1, ginsenoside Rg_1, Re, Rb_1 and icariin in rat plasma by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, **877**(22): 2113-2122.

[24] XU Q F, FANG X L, CHEN D F. Pharmacokinetics and bioavailability of ginsenoside Rb_1 and Rg_1 from *Panax notoginseng* in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, **84**(2/3): 187-192.

[25] LONG W, ZHANG S C, WEN L, *et al*. *In vivo* distribution and pharmacokinetics of multiple active components from *Danshen* and *Sanqi* and their combination via inner ear administration [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, **156**: 199-208.

[26] PANG H H, LI M Y, WANG Y, *et al*. Effect of compatible herbs on the pharmacokinetics of effective components of *Panax notoginseng* in *Fufang Xueshuantong* Capsule [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2017, **18**(4): 343-352.

[27] ZHENG N Y, LIU X D, ZHANG R, *et al*. *Jingshu Keli* attenuates cervical spinal nerve ligation-induced allodynia in rats through inhibition of spinal microglia and STAT3 activation [J]. *Spine J*, 2018, **18**(11): 2112-2118.

[28] GUO Q L, LI P Y, WANG Z, *et al*. Brain distribution pharmacokinetics and integrated pharmacokinetics of *Panax* notoginsenoside R_1, ginsenosides Rg_1, Rb_1, Re and Rd in rats after intranasal administration of *Panax notoginseng* saponins assessed by UPLC/MS/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, **969**: 264-271.