# 大鼠血浆中白鲜碱和栾酮的 UPLC-MS/MS 法测定及其药动学

沈秀微，李盈慧，吴淑娟，陈　帆
（温州医科大学附属第三医院，浙江温州 325200）

**摘要**：建立了超高效液相色谱 - 串联质谱（UPLC-MS/MS）法测定大鼠血浆中白鲜碱（**1**）和栾酮（**2**）的含量。采用 UPLC HSS T3 色谱柱（2.1 mm×50 mm，1.8 μm），以乙腈为流动相 A，水（含 0.1％甲酸）为流动相 B，梯度洗脱。采用正离子模式检测，多反应监测模式进行定量分析，以咪达唑仑作为内标。结果显示，**1** 和 **2** 在 2 ～ 2 000 ng/mL 内线性关系良好，提取回收率大于 79.5％，精密度均小于 15％，准确度为 87.3％～ 109.8％。以大鼠为模型进行药代动力学试验。当灌胃给药 2 mg/kg 或舌下静脉给药 0.1 mg/kg 时，**1** 的 $c_{max}$ 分别为（1 382.4±129.6）、（382.6±118.9）ng/mL，$t_{1/2}$ 分别为（1.5±0.2）、（2.3±0.5）h；**2** 的 $c_{max}$ 分别为（57.5±2.2）、（742.6±109.7）ng/mL，$t_{1/2}$ 分别为（2.7±1.0）、（2.1±0.5）h。**1** 和 **2** 的生物利用度分别为 68.1％和 7.6％。该方法可为临床用药提供参考。

**关键词**：白鲜碱；栾酮；UPLC-MS/MS；生物利用度；药代动力学
**中图分类号**：R917；R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2025）09-1192-05
**引用**：沈秀微，李盈慧，吴淑娟，等．大鼠血浆中白鲜碱和栾酮的 UPLC-MS/MS 法测定及其药动学［J］．中国医药工业杂志，2025, **56**(9)：1192-1196．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.09.010

# Determination of Dictamnine and Fraxinellone in Rat Plasma by UPLC-MS/MS and Their Pharmacokinetics

SHEN Xiuwei, LI Yinghui, WU Shujuan, CHEN Fan
(*The Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325200*)

**ABSTRACT**: An ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was established for the determination of dictamnine (**1**) and fraxinellone (**2**) in rat plasma. A UPLC HSS T3 chromatographic column (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm) was used, and the analysis was carried out in the gradient elution mode with acetonitrile as mobile phase A and water (containing 0.1% of formic acid) as mobile phase B. Positive ion mode detection and multiple reaction monitoring mode were used for quantitative analysis, with midazolam as the internal standard. The results showed good linearity for **1** and **2** in the range of 2 - 2 000 ng/mL. The extraction recovery rates of **1** and **2** were above 79.5%, the precisions were less than 15%, and the accuracies were 87.3% - 109.8%. In pharmacokinetic studies in rats, after gavage administration (2 mg/kg) or sublingual administration (0.1 mg/kg), the $c_{max}$ of **1** were (1 382.4±129.6) and (382.6±118.9) ng/mL, with $t_{1/2}$ of (1.5±0.2) and (2.3±0.5) h, respectively; the $c_{max}$ of **2** were (57.5±2.2) and (742.6±109.7) ng/mL, with $t_{1/2}$ of (2.7±1.0) and (2.1±0.5) h, respectively. The bioavailability values of **1** and **2** were 68.1 % and 7.6%, respectively. This established method provides a reference for its clinical use.

**Key Words**: dictamnine; fraxinellone; UPLC-MS/MS; bioavailability; pharmacokinetics

白鲜皮为芸香科白鲜属植物白鲜（*Dictamnus dasycarpus* Turcz.）的干燥根皮，味苦、寒，归脾、胃、膀胱经，主产于黑龙江、吉林、辽宁、宁夏和甘肃等地[1−2]。因其具有清热燥湿、祛风解毒之功效，临床常用于治疗湿热疮毒、黄水淋漓、湿疹、风疹、疥癣疮癞、风湿热痹和黄疸尿赤[3]。近年来，有研究[2]表明白鲜皮具有广泛的药理作用，如抗肿

**收稿日期**：2024-12-17
**基金项目**：温州市中医药课题（Z2023006）
**作者简介**：沈秀微，硕士，副主任药师，从事药理学研究。

瘤、抗寄生虫、抗菌、抗 HIV、抗血小板聚集、抗过敏、抗炎、抗生育、抗氧化、神经保护、血管松弛、诱变和抗诱变等。白鲜皮的主要有效成分为白鲜碱（dictamnine，**1**）和楮酮（fraxinellone，**2**）[4]。**1** 具有强心、抗血小板聚集、松弛血管、抗真菌、抗炎和抗肿瘤等活性[5—7]；**2** 具有抑制恶性肿瘤和抗炎等作用[8—9]。

目前，高速逆流色谱和高效液相色谱结合二极管阵列检测器是检测 **1** 和 **2** 的常规分析方法[10]。但这 2 种分析方法在选择性及灵敏度上存在明显局限。超高效液相色谱 - 串联质谱（ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry，UPLC-MS/MS）法将液相色谱的分离能力和质谱提供化合物结构信息的功能结合在一起，具有选择性强、灵敏度高的优势。目前已有采用 UPLC-MS/MS 法检测 **1** 和 **2** 的含量并进行药代动力学研究的报道[11—13]。本研究采用 UPLC-MS/MS 法检测灌胃和舌下静脉给药后大鼠血浆中的 **1** 和 **2**，并计算 **1** 和 **2** 在大鼠体内的药代动力学参数及生物利用度，以期为其临床用药提供参考。

## 1 仪器与试药

XEVO TQ-S micro 型三重四极杆串联质谱仪（美国 Waters 公司）；ME55/02 型分析天平（瑞士梅特勒 - 托利多公司）；采用 Masslynx 4.1 软件（Waters Corp.）进行数据采集。

**1** 和 **2**［曼斯特（成都）生物科技有限公司，含量均≥ 98%，批号分别为 MUST-20110302、MUST-21062908］；咪达唑仑（内标，中国食品药品检定研究院，含量≥ 98%，批号 171250-200401）；乙腈和甲醇均为色谱纯，水为超纯水。

24 只雄性 SD 大鼠，体质量 220 ～ 250 g，温州医科大学动物试验中心提供；饲养在自然光循环、温度 22 ℃的条件下。本试验通过温州医科大学实验动物委员会批准，实验动物伦理申请编号为 13103，伦理批号为 xmsq2023-0633。空白大鼠血浆来自温州医科大学动物试验中心（大鼠尾静脉采血）。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱和质谱条件

色谱条件：色谱柱 UPLC HSS T3 柱（2.1 mm× 50 mm，1.8 μm）；流动相 A 为乙腈，B 为水（含 0.1% 甲酸），梯度洗脱（0—2 min，A 10%—90%；2—2.5 min，A 90%；2.5—2.7 min，A 90%—10%；2.7—4 min，A 10%）；柱温 40 ℃；流速 0.3 mL/min；进样量 2 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾电离源（ESI），正离子模式检测，多反应监测模式；锥孔气 氮气（50 L/h）；去溶剂化气体 氮气（993 L/h）；毛细管电压 3.12 kV；离子源温度 150 ℃；去溶剂化温度 500 ℃。**1**、**2** 及内标质谱检测数据如表 1 所示。

**表 1 1、2 及内标的质谱检测参数**

Tab.1 Parameters of **1**, **2** and the Internal Standard

| 检测离子 | 母离子 *m/z* | 子离子 *m/z* | 锥孔电压 /V | 碰撞电压 /V |
|---|---|---|---|---|
| **1** | 200.1 | 185.1 | 30 | 25 |
| **2** | 233.1 | 159.1 | 26 | 25 |
| 内标 | 326.2 | 291.4 | 30 | 32 |

### 2.2 溶液配制

贮备液：分别精密称取 **1**、**2** 和内标，置不同量瓶中，用甲醇溶解，分别配制成 500 μg/mL 的 **1**、**2** 和内标贮备液。取适量 **1** 及 **2** 贮备液，用甲醇逐级稀释，得到 **1** 和 **2** 的系列标准工作溶液（20、50、100、200、500、1 000、2 000、5 000、10 000 ng/mL）。取适量内标贮备液，用甲醇稀释成 500 ng/mL 的内标工作溶液。以上贮备液及工作溶液均在 4 ℃贮存。

标准曲线样品和质量控制样品：向大鼠空白血浆中加入适量的 **1** 和 **2** 工作溶液，制成 **1** 和 **2** 质量浓度均为 2、5、10、20、50、100、200、500、1 000、2 000 ng/mL 的标准曲线样品溶液。以相同方法制备 3 种质量浓度（3、180 和 1 800 ng/mL）的质量控制样品。

### 2.3 样品处理

取血浆样品 100 μL，置 1.5 mL EP 管中，加入内标工作液 10 μL、甲醇 10 μL 和乙腈 200 μL，涡旋混合 1 min，于 4 ℃离心（11 063×*g*）10 min。取上清液 100 μL 于进样瓶的内衬管中，按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析。

### 2.4 专属性试验

分别取空白大鼠血浆、空白大鼠血浆加定量下限（lower limit of quantification，LLOQ）（本试验中为 2 ng/mL）**1** 和 **2** 的样品，以及空白大鼠血浆加 **1** 和 **2**（均为 10 ng/mL）的样品，按“**2.3**”项下方法进

行样品处理，再按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析，结果如图 1 所示。**1**、**2** 和内标的保留时间分别为 2.5、2.9、2.0 min，在 **1**、**2** 和内标的保留时间处没有观察到内源性成分干扰。

**2.5**　线性试验

取标准曲线样品，按“**2.3**”项下方法进行样品处理，再按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析，以 **1** 或 **2** 的质量浓度（*c*）为横坐标、**1** 或 **2** 峰面积与内标峰面积的比值（*R*）为纵坐标，进行线性回归。结果显示，大鼠血浆中的 **1** 和 **2** 在 2 ～ 2 000 ng/mL 线性关系良好，**1** 的回归方程为 *R*=0.003 3*c* - 0.002 9（*r*=0.999 0）；**2** 的回归方程为 *R*=0.000 35*c*+0.000 30（*r*=0.999 3）。

**2.6**　检测限和定量限

取大鼠血浆中添加 **1**（2 或 0.8 ng/mL）和 **2**（2 或 0.8 ng/mL）的样品，按“**2.3**”项下方法进行样品处理，再按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析。结果显示，血浆样品（**1** 和 **2** 均为 2 ng/mL）中 **1** 和 **2** 的准确度分别为 85.6%、87.3%，精密度分别为 13.7%、12.5%，**1** 和 **2** 的 LLOQ 均为 2 ng/mL，满足样品定量测定要求。血浆样品（**1** 和 **2** 均为 0.8 ng/mL）的分析结果显示，以信噪比为 3 计算，方法检出限为 0.8 ng/mL。

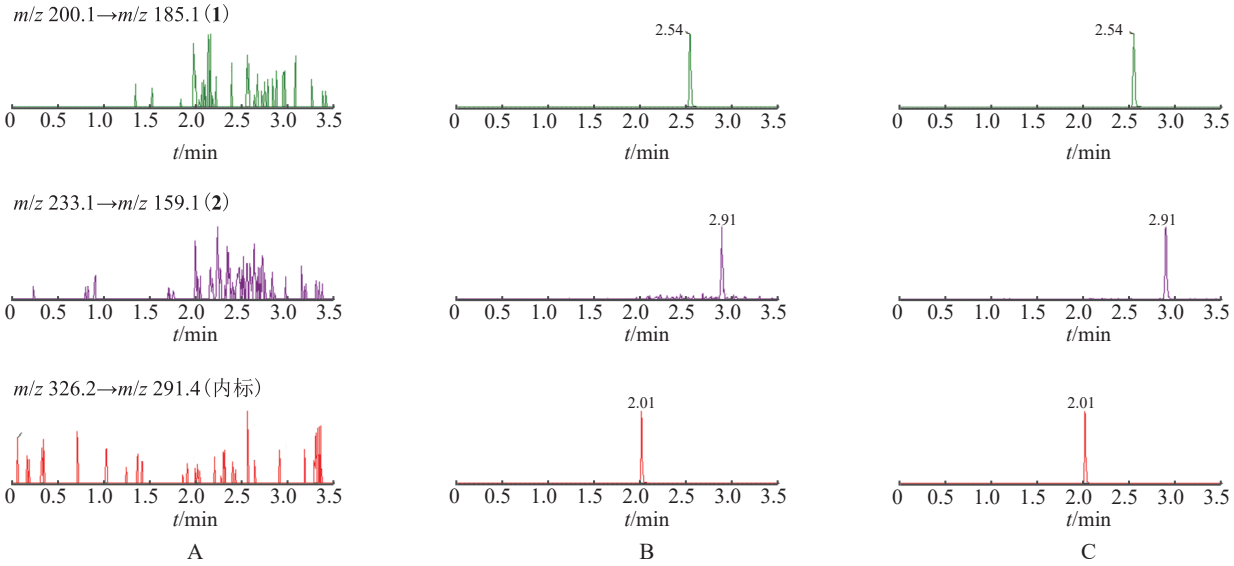
**2.7**　精密度、准确度、回收率和基质效应

取 **1** 和 **2** 的质量控制样品（3、180 和 1 800 ng/mL），按“**2.3**”项下方法进行样品处理，再按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析，于不同日测定 3 个分析批，计算精密度与准确度。

另取 **1** 和 **2** 的质量控制样品（3、180 和 1 800 ng/mL），按“**2.3**”项下方法进行样品处理；空白大鼠血浆按“**2.3**”项下方法处理后取上清液，在上清液中添加相应质量浓度的 **1** 和 **2**。分别按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析，计算二者比值，计算提取回收率。

空白大鼠血浆按“**2.3**”项下方法处理后取上清液，在上清液中添加 **1** 和 **2**（3、180 或 1 800 ng/mL）；在乙腈 -0.1% 甲酸水溶液（体积比 1 ∶ 1）中添加 **1** 和 **2**（3、180 或 1 800 ng/mL）。分别按“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析，计算二者比值，计算基质效应。

结果显示，**1** 的日内精密度为 5.8% ～ 14.2%，日间精密度为 5.0% ～ 11.1%，均小于 15%；日内准确度为 96% ～ 109.8%，日间准确度为 87.3% ～ 101.1%，回收率均大于 90.5%，基质效应为 94.0% ～ 106.6%。**2** 的日内精密度为 5.0% ～ 14.7%，日间精密度为 7.9% ～ 12.3%，均小于 15%；日内准确度为




A—空白大鼠血浆；B—空白大鼠血浆添加 LLOQ（2 ng/mL）分析物和内标；C—空白大鼠血浆添加 **1**、**2**（10 ng/mL）和内标。

**图 1　典型色谱图**

Fig.1　Typical Chromatograms

92.3%～105.1%，日间准确度为90.1%～109.2%，提取回收率均大于79.5%，基质效应为92.9%～102.2%。

上述结果说明本法的精密度和准确度较高。

**2.8** 稳定性试验

取**1**和**2**的质量控制样品（3、180和1 800 ng/mL），经样品预处理后于自动进样器中放置2 h、25 ℃放置24 h、经历3次冷冻-解冻循环、－20 ℃下存放30 d以考察稳定性。结果显示，**1**和**2**的准确度为85%～113%，RSD<14%（$n$=3），说明**1**和**2**的稳定性良好。

**2.9** 药代动力学研究

雄性SD大鼠共24只，取12只，分成2组，每组6只，分别通过舌下静脉给予（sublingual administration，sl）**1** 0.1 mg/kg和灌胃给予（gavage administration，ig）2 mg/kg。另12只SD大鼠，分成2组，每组6只，分别通过舌下静脉给予（sl）**2** 1 mg/kg和灌胃给药（ig）5 mg/kg。在给药后5 min和0.5、1、2、3、4、6、8、12 h时尾静脉取血0.3 mL，收集于肝素化试管中，离心（11 063×$g$）10 min。取上层血清100 μL转移至新的1.5 mL EP管中，保存于－80 ℃冰箱中。将检测所得的数据输入药代动力学软件（DAS 2.0版）计算药代动力学参数并进行统计学分析。

大鼠舌下静脉及灌胃给予**1**或**2**后的血浆药-时曲线如图2所示，药代动力学参数如表2所示。经计算，**1**和**2**生物利用度分别为68.1%和7.6%。

## 3 讨论

**3.1** 质谱条件的选择

为选择**1**、**2**和内标的最佳质谱条件，将离子模式分别设置成正、负离子模式。结果显示，在ESI正离子的多反应离子监测下，**1**、**2**和内标的响应值更高。因此选择ESI正离子的多反应离子监测模式

**表2 大鼠舌下静脉和灌胃给予1或2后的药动学参数（$\bar{x}\pm s$，$n$=6）**

Tab.2 Pharmacokinetic Parameters of **1** or **2** in Rats after Sublingual or Gavage Administration（$\bar{x}\pm s$, $n$=6）

| 物质 | 组别 | $AUC_{0\to t}$/(ng·mL$^{-1}$·h) | $AUC_{0\to\infty}$/(ng·mL$^{-1}$·h) | $t_{1/2}$/h | $t_{max}$/h | $c_{max}$/(ng·mL$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | sl | 198.1±34.1 | 199.8±35.2 | 2.3±0.5 | — | 382.6 ±118.9 |
| | ig | 2 699.2±278.1 | 2 710.1 ±277.7 | 1.5±0.2 | 0.6±0.3 | 1 382.4±129.6 |
| **2** | sl | 489.5±23.9 | 496.2±23.1 | 2.1±0.5 | — | 742.6±109.7 |
| | ig | 184.8±21.5 | 194.9±25.0 | 2.7±1.0 | 0.8±0.3 | 57.5±2.2 |

注：“—”表示没有检测数据。

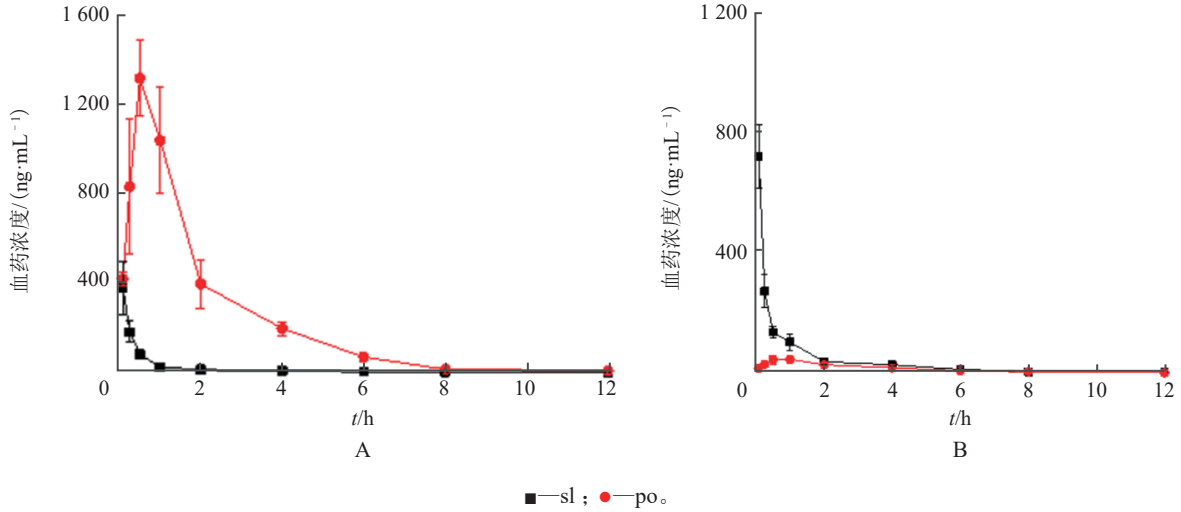



**图2 大鼠舌下静脉和灌胃给予1（A）和2（B）后的药-时曲线图（$n$=6）**

Fig.2 Plasma Concentration-time Curves of **1**（A）and **2**（B）in Rats after Sublingual and Gavage Administration（$n$=6）

进行分析。此外，对锥孔电压、碰撞电压、离子源温度、去溶剂化温度和锥孔气流量等进行优化，提高了各分析物的响应值。

**3.2** 色谱条件的选择

选定色谱柱为UPLC HSS T3柱（2.1 mm×50 mm，1.8 μm），对流动相进行筛选。结果显示，选用乙腈-水为流动相时，各分析物保留时间适宜。为改善色谱峰峰形和响应，根据分析物的化学性质，考虑添加甲酸作为改性剂，结果显示加入体积分数为0.1%的甲酸时分析物具有良好的峰形和灵敏度。因此最终确定流动相为乙腈-水（含0.1%甲酸），梯度洗脱。

**3.3** 内标的选择

在选择内标时，考虑到**1**和**2**的同系物均不易获得，故尝试使用相对分子质量和结构较为相近的咪达唑仑。经验证表明，咪达唑仑与**1**和**2**的质谱行为相近，保留时间合适且峰形较好，故选用。

**3.4** 药代动力学及生物利用度

**1**灌胃给药后迅速达峰，$c_{max}$为（1 382.4±129.6）ng/mL，$t_{1/2}$为（1.5±0.2）h；舌下静脉给药后，$c_{max}$为（382.6±118.9）ng/mL，$t_{1/2}$为（2.3±0.5）h。计算得**1**的生物利用度68.1%。**1**灌胃给药$c_{max}$明显高于舌下静脉给药$c_{max}$，考虑可能与不同途径的给药剂量不同及**1**相对较高的生物利用度有关。**2**灌胃吸收后也迅速达峰，$c_{max}$为（57.5±2.2）ng/mL，$t_{1/2}$为（2.7±1.0）h；舌下静脉给药后，$c_{max}$为（742.6±109.7）ng/mL，$t_{1/2}$为（2.1±0.5）h，生物利用度为7.6%。结合**1**和**2**在大鼠体内的药代动力学参数及生物利用度数据，推荐**1**和**2**同时给药时选择舌下静脉给药途径。

**参考文献：**


[1] 刘新月，陈乐乐，孙　鹏，等．白鲜皮化学成分、药理作用和毒性研究进展及质量标志物预测分析［J］．中国新药杂志，2023, **32**: 799-805.

[2] LV M Y, XU P, TIAN Y, *et al*. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Dictamnus*（Rutaceae）［J］. *J Ethnopharmacol*, 2015, **171**: 247-263.

[3] 中国科学院中国植物志编辑委员会．中国植物志［M］．北京：科学出版社，2001.

[4] LIN Y L, WANG D J, LIN X J, *et al*. Extraction and isolation of dictamnine, obacunone and fraxinellone from *Dictamnus dasycarpus* Turcz. by supercritical fluid extraction and high-speed counter-current chromatography［J］. *Quim Nova*, 2012, **35**: 337-340.

[5] 刘登宇，高　璐，吴建美，等．基于高通量测序技术探究白鲜碱对红色毛癣菌体外抑菌作用［J］．药物评价研究，2021, **44**: 2563-2570.

[6] 沈金花，韩淑慧，时顺波．白鲜碱对气管平滑肌的舒张作用及机理研究［J］．中南民族大学学报（自然科学版），2020, **39**: 24-28.

[7] YU J J, ZHANG L J, PENG J, *et al*. Dictamnine, a novel c-Met inhibitor, suppresses the proliferation of lung cancer cells by downregulating the PI3K/AKT/mTOR and MAPK signaling pathways［J］. *Biochem Pharmacol*, 2022, **195**: 114864.

[8] XING Y, MI C L, WANG Z, *et al*. Fraxinellone has anticancer activity *in vivo* by inhibiting programmed cell death-ligand 1 expression by reducing hypoxia-inducible factor-1α and STAT3［J］. *Pharmacol Res*, 2018, **135**: 166-180.

[9] SEUNG J, LEE J, BAEK S, *et al*. Fraxinellone attenuates rheumatoid inflammation in mice［J］. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(3): 829.

[10] JIANG Y, LI S P, CHANG H T, *et al*. Pressurized liquid extraction followed by high-performance liquid chromatography for determination of seven active compounds in *Cortex Dictamni*［J］. *J Chromatogr A*, 2006, **1108**(2): 268-272.

[11] CHEN M, SHEN X, YANG X, *et al*. A methodology for quantitation of dictamnine and fraxinellone and its application to study pharmacokinetics and bioavailability in rats via oral and intravenous administration［J］. *J Chromatogr Sci*, 2023, **61**(5): 471-479.

[12] CUI K, SUN S, WANG P, *et al*. A novel UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of 10 effective constituents in the *Jixingshizhen* preparation［J］. *Biomed Chromatogr*, 2017, **31**(4): e3854.

[13] WANG P, SUN J, GAO E, *et al*. Simultaneous determination of limonin, dictamnine, obacunone and fraxinellone in rat plasma by a validated UHPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of *Cortex Dictamni* extract［J］. *J Chromatogr B*, 2013, **928**: 44-51.