LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中的常春藤皂苷 C 和 α- 常春藤皂苷及药代动力学评价

范承腾[1,2,3]，金志文[4]，陈　卿[4]，陈志霖[4]，徐智儒[1,2,3]*

（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203；3. 上海市生物物质成药性评价专业技术服务中心，上海 200437；4. 浙江康恩贝中药有限公司，浙江丽水 323400）

摘要：建立了同时测定大鼠血浆中常春藤皂苷 C（**1**）和 α- 常春藤皂苷（**2**）含量的 LC-MS/MS 法，并应用于大鼠体内药代动力学研究。采用 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm），以 0.1％甲酸溶液和乙腈组成流动相，梯度洗脱，流速 0.3 mL/min，柱温 30 ℃；质谱检测时采用电喷雾离子源，正离子模式，多反应监测。结果显示，**1** 在 2 ～ 200 ng/mL、**2** 在 1 ～ 100 ng/mL 时线性关系良好。大鼠分别灌胃给予洋常春藤叶提取物溶液、**1** 和 **2** 混合药液，以及静脉注射 **1** 和 **2** 混合药液后，**1** 的主要药代动力学参数为：c_{max} 分别为（26.20±13.50）、（38.00±12.60）和（4 304.00±439.00）ng/mL，$t_{1/2}$ 分别为（1.70±0.70）、（1.90±0.60）和（1.20±0.30）h。**2** 经灌胃给药后血药浓度接近定量下限，静脉注射给药后 c_{max} 为（2 188.00±389.00）ng/mL，$t_{1/2}$ 为（1.00±0.30）h。**1** 的绝对生物利用度为 0.4％。结果表明，上述 2 种皂苷可为洋常春藤叶提取物的临床应用提供参考。

关键词：洋常春藤叶提取物；常春藤皂苷 C；α- 常春藤皂苷；LC-MS/MS；药代动力学

中图分类号：R971；R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2026）08-0922-07

引用：范承腾, 金志文, 陈卿, 等. LC-MS/MS法测定大鼠血浆中的常春藤皂苷C和α-常春藤皂苷及药代动力学评价[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(8): 922-928. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.08.006

Determination of Hederacoside C and α-Hederin in Rat Plasma by LC-MS/MS and Pharmacokinetic Evaluation

FAN Chengteng[1,2,3], JIN Zhiwen[4], CHEN Qing[4], CHEN Zhilin[4], XU Zhiru[1,2,3]*

(*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. National Key Lab. of Lead Druggability, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203; 3. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Druggability Evaluation, Shanghai 200437; 4. Zhejiang Conba Chinese Medicine Co., Ltd., Lishui 323400*)

ABSTRACT: A LC-MS/MS method was established for the simultaneous determination of hederacoside C (**1**) and α-hederin (**2**) in rat plasma, and it was successfully applied to a pharmacokinetic study of *Hedera helix* leaf extract and a mixed solution of compounds **1** and **2** in rats. Chromatographic separation was performed on an ACQUITY UPLC BEH C_{18} column (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile with gradient elution at a flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was maintained at 30 ℃. Detection was carried out using an electrospray ionization source in positive ion mode with multiple reaction monitoring. The results showed good linearity for **1** in the range of 2 – 200 ng/mL and for **2** in the range of 1 – 100 ng/mL. After oral administration of *Hedera helix* leaf extract or the mixed solution of **1** and **2**, as well as intravenous injection of the mixed solution of **1** and **2**, the main pharmacokinetic parameters of **1** in rats were as follows: the c_{max} values were (26.20±13.50), (38.00±12.60) and (4 304.00±439.00) ng/mL, and the $t_{1/2}$ values were (1.70±0.70), (1.90±0.60) and (1.20±0.30) h, respectively. The plasma concentration of **2** was close to the lower limit of quantification after oral administration, while the c_{max} and $t_{1/2}$ values were (2 188.00±389.00) ng/mL and (1.00±0.30) h after intravenous administration, respectively. The absolute bioavailability of **1** was 0.4%. These results indicated that the two saponin components could provide a reference for the clinical application of *Hedera helix* leaf extract.

Key Words: *Hedera helix* leaf extract; hederacoside C; α-hederin; LC-MS/MS; pharmacokinetics

洋常春藤（*Hedera helix* L.）为五加科常春藤属多年生常绿攀缘植物，其干燥叶提取物具有解痉、支气管扩张、抗菌、抗利什曼原虫、抗诱变等药理活性，临床上常用于缓解呼吸道感染及COPD、支气管炎引起的咳嗽/痰多[1-2]。文献[3]报道，上述洋常春藤叶提取物的药理作用主要与其所含的三萜皂苷类成分相关，而常春藤皂苷C（hederacoside C，**1**）和*α*-常春藤皂苷（*α*-hederin，**2**）是其中的主要活性成分。**1**可抑制金黄色葡萄球菌诱发的乳腺炎[4]，保护软骨[5]，缓解结肠炎[6]。**2**具有广谱抗肿瘤活性，可调节氧化应激通路，阻断肿瘤相关信号的级联反应，诱导细胞凋亡[7]，还可减少促炎因子的产生和释放[8]。在呼吸道疾病治疗中，**2**还能增强Ⅱ型肺泡细胞和人气道平滑肌细胞中β_2-肾上腺素能受体的反应性[9]。

目前生物样本中**1**和**2**的检测方法主要有HPLC法和UPLC-MS/MS法[10]，但这些方法基质干扰大、灵敏度较差。本研究旨在建立一种快速、方便、准确的LC-MS/MS法，用于检测大鼠血浆中的**1**和**2**，并基于该法开展大鼠体内药代动力学评价，以期为洋常春藤叶提取物的临床研究提供依据。

1 仪器与试药

ACQUITY UPLC Ⅰ-Class型超高效液相色谱仪和Xevo TQ-S型三重四极杆串联质谱仪（美国Waters公司）；CP225D型分析天平（德国Sartorius公司）；MS105DU型分析天平（瑞士Mettler-Toledo公司）；MD200型氮吹仪（江苏盛蓝仪器制造有限公司）；ZN-30L型氮气发生器（上海安谱科学仪器有限公司）。

洋常春藤叶提取物（含**1** 0.359 mg/mg，**2** 0.184 mg/mg，批号220502）和**1**对照品（浙江省食品药品检验研究院标化，含量89.2%，批号ZJ0004-202109）均购自浙江康恩贝中药有限公司；**2**对照品（中国食品药品检定研究院，97.0%，批号111880-201703）；甘草酸钠[内标（internal standard，IS），四川省维克奇生物科技有限公司，98.71%，批号wkq22011005]；甲醇、乙腈为色谱级，甲酸为质谱级，氯化钠、无水乙醇、PEG 400为分析纯。

SPF级SD大鼠18只，6～8周龄，雌雄各半，体质量（220±20）g，购自上海斯莱克实验动物有限公司和浙江维通利华实验动物技术有限公司，生产许可证号分别为SCXK（沪）2022-0004和SCXK（浙）2019-0001。所有动物均饲养于上海医药工业研究院有限公司药理评价研究中心实验动物中心，实验动物使用许可证号为SYXK（沪）2019-0027。本次动物实验由上海医药工业研究院动物伦理委员会批准，审批号2022f020。

2 方法与结果

2.1 色谱质谱条件

色谱条件：色谱柱 ACQUITY UPLC BEH C_{18}柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）；流动相 A为0.1%甲酸溶液，B为乙腈，梯度洗脱（0—6.0 min，B 10%—70%；6.0—6.1 min，B 70%—98%；6.1—8.5 min，B 98%；8.5—8.6 min，B 98%—10%；8.6—10 min，B 10%）；流速 0.3 mL/min；柱温 30 ℃；进样器温度 10 ℃；进样量10 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子源，正离子模式；离子源温度120 ℃；雾化气体温度350 ℃；毛细管电压3.5 kV。采用多反应监测模式，待测物**1**、**2**及IS的质谱检测参数如表1所示。使用UNIFY 1.7.1.022软件进行数据采集和处理。

表1 待测物及IS的质谱检测参数

Tab.1 Mass Spectrometry Detection Parameters of the Analytes and IS

物质名称	母离子（*m/z*）	子离子（*m/z*）	锥孔电压/V	碰撞电压/eV
1	1 221.64	455.10	17	32
2	751.47	455.17	16	14
IS	823.26	453.2	47	28

2.2 溶液配制

混合工作溶液：精密称取**1**和**2**对照品适量，按含量折算后，分别用50%甲醇溶液和甲醇溶解并稀释至1 mg/mL，再用75%甲醇溶液稀释成**1**质量浓度为20、50、100、250、500、1 000、2 000 ng/mL，**2**质量浓度为10、25、50、125、250、500、1 000 ng/mL的混合工作溶液。

混合质控（quality control，QC）溶液：将上述含**1** 40、300、1 600 ng/mL和**2** 20、150、800 ng/mL的混合工作溶液，作为低、中、高质量浓度的混合

收稿日期：2026-03-10
作者简介：范承腾，硕士研究生，专业方向：药物代谢动力学。
通信作者：徐智儒，研究员，从事药物代谢动力学及新药开发的研究。

QC 溶液。

IS 溶液：精密称取 IS 适量，按含量折算后，用 50%甲醇溶液溶解并稀释至 500 ng/mL，即得。

1 和 **2** 混合药液：分别称取 **1** 和 **2** 对照品适量，各用无水乙醇溶解，加入 PEG 400，混匀，加入 0.9% 氯化钠溶液，使 $V_{无水乙醇}$ ∶ $V_{PEG\,400}$ ∶ $V_{0.9\%氯化钠溶液}$=45 ∶ 5 ∶ 50，得到 0.72 mg/mL 的 **1** 溶液，以及 0.34 mg/mL 的 **2** 溶液；将 **1** 溶液和 **2** 溶液混匀（体积比 1 ∶ 1），得到 **1**（0.36 mg/mL）和 **2**（0.17 mg/mL）的混合药液，用于静脉注射给药和经口灌胃给药。

洋常春藤叶提取物溶液：称取适量洋常春藤叶提取物，加入蒸馏水溶解、混匀，制成提取物质量浓度为 2.4 mg/mL 的溶液。

大鼠空白血浆：取未给药大鼠进行腹主动脉采血，4 ℃离心（6 150×*g*）10 min 后取血浆，于 －20 ℃保存。

标准曲线样品：取大鼠空白血浆 100 μL，加入不同质量浓度的混合工作溶液 10 μL，制备 **1** 质量浓度为 2、5、10、25、50、100、200 ng/mL，**2** 质量浓度为 1、2.5、5、12.5、25、50、100 ng/mL 的血浆标准曲线样品。其中，**1** 和 **2** 的定量下限（lower limit of quantification，LLOQ）样品质量浓度分别为 2、1 ng/mL；定量上限（upper limit of quantification，ULOQ）样品质量浓度分别为 200、100 ng/mL。

QC 样品：取大鼠空白血浆 100 μL，分别加入不同质量浓度的混合 QC 溶液 10 μL，制得系列血浆 QC 样品，其中 **1** 的低、中、高质量浓度分别为 4、30、160 ng/mL，**2** 的低、中、高质量浓度分别为 2、15、80 ng/mL。

溶血血浆 QC 样品：取大鼠溶血血浆（大鼠空白血浆加入 2%空白全血）100 μL，分别加入不同质量浓度的混合 QC 溶液 10 μL，同“QC 样品”方法配制系列溶血血浆 QC 样品。

质量浓度高于 ULOQ 样品：精密称定 **1** 和 **2**，配制 **1** 和 **2** 质量浓度均为 5 或 50 μg/mL 的混合溶液，取上述溶液 10 μL，加至大鼠空白血浆 100 μL 中，制成 **1** 和 **2** 的质量浓度为 500 或 5 000 ng/mL 的样品；随后用大鼠空白血浆将 **1** 和 **2** 质量浓度为 500 ng/mL 的样品稀释 10 倍，得 **1** 和 **2** 质量浓度为 50 ng/mL 的质量浓度高于 ULOQ 样品；将 **1** 和 **2** 质量浓度为 5 000 ng/mL 样品分别稀释 100 和 200 倍，得 **1** 和 **2** 质量浓度为 50、25 ng/mL 的质量浓度高于 ULOQ 样品。

2.3 样品处理

取大鼠空白血浆 100 μL，加入水 10 μL 及 IS 溶液 5 μL，涡旋混匀 10 s；边涡旋边加入沉淀剂（$V_{甲醇}$ ∶ $V_{乙腈}$=1 ∶ 1）300 μL 进行蛋白沉淀。4 ℃离心（16 249×*g*）10 min，吸取上清液 300 μL，置另一 1.5 mL 离心管中，40 ℃氮气吹干；残余物用复溶液（$V_{水}$ ∶ $V_{甲醇}$ ∶ $V_{乙腈}$=65 ∶ 17.5 ∶ 17.5）100 μL 复溶，旋涡混匀 30 s，4 ℃离心（16 249×*g*）5 min，取上清液，待测。

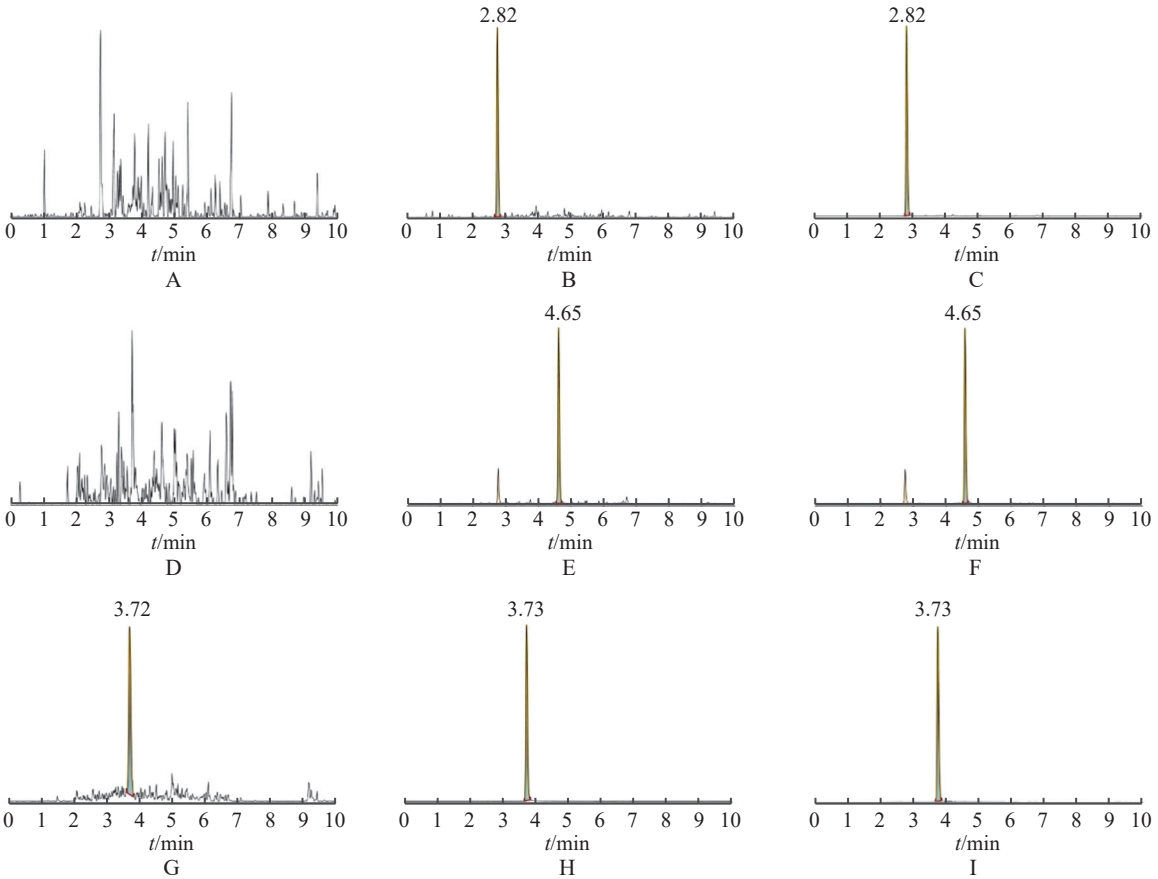
2.4 方法学验证

2.4.1 选择性试验

取“**2.2**”项下 6 份不同来源的大鼠空白血浆，不加 IS 溶液，其余步骤按“**2.3**”项下方法处理。取“**2.2**”项下标准曲线样品中的 LLOQ 样品，按“**2.3**”项下方法处理。取大鼠经灌胃给予 **1** 和 **2** 混合药液后 30 min 时的血浆样品，按“**2.3**”项下方法处理。上述 3 种血样按“**2.1**”项下条件进样分析，结果可见 **1**、**2** 和 IS 的保留时间处无内源性成分干扰（图 1）。

2.4.2 基质效应和提取回收率

取“**2.2**”项下 6 份不同来源的大鼠空白血浆和溶血血浆，不加 IS 溶液，其余步骤同“**2.3**”项，在 2 种所得上清液中分别加入 **1** 和 **2** 混合溶液（**1** 的质量浓度为 4、160 ng/mL，**2** 的质量浓度为 2、80 ng/mL）及 IS 溶液（质量浓度 25 ng/mL）；另在 75%甲醇溶液中添加相同浓度的 **1**、**2** 和 IS 溶液。分别按“**2.1**”项下条件进样分析，记录色谱图，以峰面积比值为基质因子（matrix factor，MF），再将 **1** 或 **2** 的基质因子除以 IS 的基质因子，即得经内标归一化的基质因子（internal standardnormalized matrix factor，MFi）。结果表明，低、高质量浓度大鼠空白血浆样品中 **1** 的 MFi 分别为 129.6%、113.2%，RSD（n=6）为 5.5%、4.1%；**2** 的 MFi 分别为 83.9%、85.2%，RSD（n=6）为 10.0%、5.0%。此外，低、高质量浓度大鼠溶血血浆样品中 **1** 和 **2** 的 RSD（n=6）也小于



A—大鼠空白血浆（检测的 **1** 通道）；B—LLOQ 样品中的 **1**；C—大鼠灌胃给予 **1** 和 **2** 混合药液 30 min 后血浆中的 **1**；D—大鼠空白血浆（检测的 **2** 通道）；E—LLOQ 样品中的 **2**；F—大鼠口灌胃给予 **1** 和 **2** 混合药液 30 min 后血浆中的 **2**；G—大鼠空白血浆（检测的 IS 通道）；H—LLOQ 样品中的 IS；I—大鼠灌胃给予 **1** 和 **2** 混合药液 30 min 后血浆中的 IS。

图 1　典型色谱图

Fig.1　Typical Chromatograms

15%，均值偏差在 ±15% 以内。

取“**2.2**”项下低、高质量浓度的 QC 样品各 6 份，按“**2.3**”项下方法处理后按“**2.1**”项下方法进样分析（该样品为提取样品）；另取 6 份不同来源的大鼠空白血浆，不加 IS 溶液，其余步骤同“**2.3**”项，在所得上清液中加入与低、高质量浓度的 QC 样品等质量浓度的 **1** 和 **2** 混合溶液（**1** 的质量浓度为 4、160 ng/mL，**2** 的质量浓度为 2、80 ng/mL）和质量浓度为 25 ng/mL 的 IS 溶液（该样品为未提取样品）。按“**2.1**”项下方法检测。对比提取样品中 **1** 和 **2** 同未提取样品中 **1** 和 **2** 的峰面积均值，计算 **1** 和 **2** 的提取回收率。结果表明，低、高质量浓度 QC 样品中 **1** 的提取回收率为 86.7%、79.9%，RSD（n=6）为 11.5 %、5.2 %；**2** 则为 82.0 %、80.0%，RSD（n=6）为 4.5%、4.2%。上述结果表明此法提取回收率良好。

2.4.3　线性试验

取“**2.2**”项下标准曲线样品，按“**2.3**”项下方法处理，再按“**2.1**”项下方法进样分析。分别以 **1**、**2** 的质量浓度为横坐标（c），**1**、**2** 分别与 IS 的峰面积比值为纵坐标（y），用加权最小二乘法进行回归计算。结果表明，**1** 的血浆浓度在 2 ～ 200 ng/mL 时线性良好，回归方程为 y=2.36×10^{-3}c+5.12×10^{-4}（R^2=0.996）；**2** 的血浆浓度在 1 ～ 100 ng/mL 时线性良好，回归方程为 y=6.28×10^{-3}c+2.35×10^{-4}（R^2=0.996）。

2.4.4 残留效应

取“**2.2**”项下大鼠空白血浆，按“**2.3**”项下方法处理，在每个分析批次内，紧随标准曲线中ULOQ样品之后，按“**2.1**”项下条件进样分析，评估残留效应。结果表明，**1**和**2**的残留均未超过20%，IS残留未超过5%，残留效应符合方法学要求。

2.4.5 准确度和精密度试验

取“**2.2**”项下标准曲线样品中的LLOQ样品和低、中、高质量浓度的QC样品各6份，按“**2.3**”项下方法处理，按“**2.1**”项下方法进样分析。结果表明，LLOQ样品中**1**和**2**的批内及批间RSD（n=6）在20%内，准确度为80%～120%；QC样品中**1**和**2**的批内及批间RSD%（n=6）在15%内，准确度为85%～115%，表明此法准确度和精密度良好。

2.4.6 稳定性试验

考察低、高质量浓度的QC样品（n=6）在进行样品处理前室温放置5 h、样品处理后室温放置3 h、样品处理前 -20 ℃至室温冻融循环3次和样品处理前长期冻存（-80～-60 ℃）67 d的稳定性。所有样品按“**2.3**”项下方法处理后，按“**2.1**”项下方法进样分析。结果表明，低、高质量浓度QC样品中的**1**和**2**在上述各条件下的RSD（n=6）均小于15%，均值偏差均在±15%内，表明此法稳定性良好。

2.4.7 稀释效应

取“**2.2**”项下质量浓度高于ULOQ样品，按“**2.3**”项下方法处理后按“**2.1**”项下方法进样分析。用测定值乘以稀释倍数后的质量浓度与配制质量浓度作对比。结果表明，浓度高于ULOQ样品乘以稀释倍数计算得到的质量浓度均值准确度为85%～115%，RSD（n=6）≤15%，说明浓度高于ULOQ样品可进行10、100、200倍稀释。

2.5 药代动力学研究

将18只SD大鼠分为3组，每组6只，雌雄各半，给药信息如表2所示。各组动物给药前禁食12 h以上、不禁水，给药后禁食、禁水，约2 h给水一次，4 h饲喂一次。于给药前及给药后5、15、30 min和1、2、3、4、6、8、12 h在大鼠眼眶采血0.2 mL，在1 h内离心（6 150×g）7 min，分离血浆，按“**2.3**”项下方法处理血浆样品，按“**2.1**”项下方法进样分析。采用Maspectra 1.5.2.14软件的非房室分析（noncompartmental analysis，NCA）计算药代动力学参数。

结果显示，经灌胃给予洋常春藤叶提取物溶液及**1**和**2**混合药液后，大鼠体内**1**的绝对生物利用度为0.4%。洋常春藤叶提取物溶液治疗组中**1**的c_{max}和$AUC_{0\to t}$有性别差异（P<0.05），雌性大鼠的c_{max}和$AUC_{0\to t}$均值是雄性大鼠的2.6和2.1倍；**1**和**2**混合药液组中**1**的主要药代动力学参数无性别差异（P>0.05）。大鼠灌胃给予提取物溶液或**1**和**2**混合药液后，测得**2**的血药浓度均在LLOQ附近，因此未计算药代动力学参数；静注给予**1**和**2**混合药液后，**2**的主要药代动力学参数无性别差异（P>0.05）。**1**和**2**的主要药代动力学参数如表3所示，不同性别大鼠主要药代动力学参数如表4所示，性别差异的t检验结果如表5所示，平均药-时曲线图如图2所示。

表2　试验分组与给药方案

Tab.2　Test Grouping and Administration Protocol

组别	给药途径	给药剂量/(mg·kg^{-1})			给药体积/(mL·kg^{-1})
		提取物	**1**	**2**	
洋常春藤叶提取物溶液治疗组	灌胃	10.50	3.77	1.93	4.38
1和**2**混合药液治疗组	灌胃	—	3.60	1.70	10.00
1和**2**混合药液治疗组	静注	—	0.90	0.42	2.50

表3　大鼠给药后1和2的主要药代动力学参数[1)]（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab.3　Pharmacokinetic Parameters of **1** and **2** in Rats after Administration（$\bar{x}\pm s$, n=6）

组别	给药途径	$t_{1/2}$/h	t_{max}/h	c_{max}/(ng·mL^{-1})	$AUC_{0\to t}$/(ng·mL^{-1}·h)
洋常春藤叶提取物溶液治疗组	灌胃	1.70±0.70	0.90±0.90	26.20±13.50	78.30±35.70
1和**2**混合药液治疗组	灌胃	1.90±0.60	0.60±0.20	38.00±12.60	81.50±18.70
1和**2**混合药液治疗组	静注	1.20±0.30 (1.00±0.30)	0.08 (0.11±0.07)	4 304.00±439.00 (2 188.00±389.00)	5 693.00±599.00 (1 099.00±779.00)

注：[1)] 表中括号外为**1**的药动学数据；括号内为**2**的药动学数据。

表 4 雄性 / 雌性大鼠给药后 1 和 2 的主要药动学参数 [1)]

Tab.4 Pharmacokinetic Parameters of Male/Female Rats after Administration of **1** and **2**

组别	给药途径	性别	$t_{1/2}$/h	t_{max}/h	c_{max}/(ng·mL^{-1})	$AUC_{0\to t}$/(ng·mL^{-1}·h)
洋常春藤叶提取物溶液治疗组	灌胃	雄	—	2.00	17.30	50.90
			1.40	0.30	12.50	47.00
			2.30	0.50	13.40	55.10
		雌	2.70	0.30	32.10	86.80
			1.10	2.00	39.20	141.00
			1.20	0.30	42.80	88.90
1 和 **2** 混合药液治疗组	灌胃	雄	2.50	0.50	16.10	53.30
			1.40	1.00	31.30	90.00
			1.40	0.50	39.60	90.20
		雌	1.90	0.50	51.00	70.20
			1.40	0.50	46.30	78.20
			2.70	0.50	43.40	107.00
1 和 **2** 混合药液治疗组	静注	雄	1.10(0.82)	0.080(0.250)	3 809.00(2 076.00)	5 896.00(2 673.00)
			1.20(1.40)	0.080(0.080)	4 080.00(1 870.00)	6 496.00(655.00)
			1.10(0.72)	0.080(0.080)	4 972.00(1 963.00)	5 864.00(761.00)
		雌	1.20(1.00)	0.08(0.08)	4 167.00(2 059.00)	5 934.00(708.00)
			1.80(0.90)	0.080(0.080)	4 703.00(2 905.00)	4 905.00(975.00)
			1.10(1.40)	0.080(0.080)	4 092.00(2 316.00)	5 063.00(824.00)

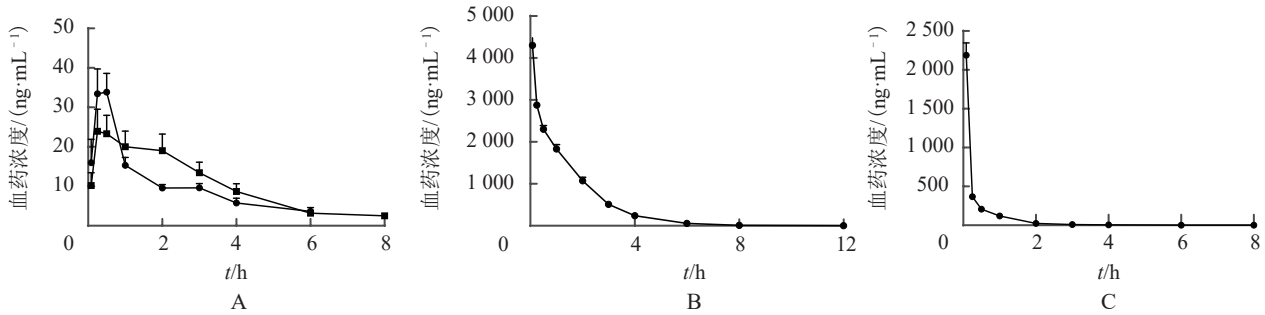
注：[1)] 表中括号内数据为 **2** 的药动学参数计算结果。

表 5 雄性 / 雌性大鼠给药后性别差异的 *t* 检验结果 [1)]

Tab.5 Gender Difference *t*-Test Results of Male/Female Rats after Administration

组别	未配对 *t* 检验结果（*P* 值）			
	$t_{1/2}$	t_{max}	c_{max}	$AUC_{0\to t}$
洋常春藤叶提取物溶液治疗组	0.820	0.940	0.002	0.038
1 和 **2** 混合药液治疗组	0.680	0.370	0.068	0.680
1 和 **2** 混合药液治疗组	0.350(0.670)	—(0.370)	0.940(0.140)	0.110(0.470)

注：[1)] 表中括号内数据为 **2** 的药动学参数检验结果。



A—灌胃给予洋常春藤叶提取物溶液（■）或 **1** 和 **2** 混合药液（●）后大鼠体内的 **1**；B—静脉注射 **1** 和 **2** 混合药液后大鼠体内的 **1**；C—静脉注射 **1** 和 **2** 混合药液后大鼠体内的 **2**。

图 2 大鼠血浆中的平均药 - 时曲线（*n*=6）

Fig.2 Mean Concentration-time Curves in Rat Plasma(*n*=6)

3 讨论

本研究建立并验证了一种灵敏、快速、可靠的LC-MS/MS方法，可同时测定大鼠血浆中**1**和**2**的含量。所建方法检测灵敏度良好，大鼠血浆中**1**和**2**的LLOQ分别为2、1 ng/mL，较文献[10]报道的方法灵敏度更高，且色谱运行时间更短，适用于大批量生物样本的快速分析。本研究根据待测物的结构与性质，对比考察了咪达唑仑与甘草酸钠作为IS的效果。结果表明，与小分子化合物咪达唑仑相比，三萜皂苷类化合物甘草酸钠的基质效应更小，色谱行为与**1**、**2**更匹配，因此最终选用甘草酸钠作为内标。

生物样品常见的前处理方法包括蛋白沉淀、液液萃取和固相萃取等[11]。液液萃取法虽净化效果较好，但操作烦琐，耗时较长，且有机溶剂消耗量大。蛋白沉淀法中沉淀剂的种类与配比对蛋白沉淀效率及待测物回收率影响较为显著。本研究优化了蛋白沉淀条件，选用甲醇和乙腈（体积比1∶1）为沉淀剂，沉淀剂与血浆体积比为3∶1时蛋白沉淀完全，且**1**和**2**的提取回收率分别达到79.9%和80.0%以上。此外，本研究在蛋白沉淀后增加了氮气吹干复溶的步骤，以水、甲醇和乙腈（体积比65.0∶17.5∶17.5）复溶，在保证较高提取回收率的同时，显著提升检测灵敏度并有效降低基质效应。

药代动力学结果显示，**1**和**2**口服吸收差、生物利用度极低。二者的低生物利用度主要与其理化性质及体内代谢特征相关[12]。一方面，皂苷类成分相对分子质量大，兼具亲水的糖链与疏水的皂苷元结构，导致生物膜通透性差；另一方面，皂苷类成分在肠道菌群作用下易发生水解、脱糖等反应。此外，洋常春藤叶提取物溶液治疗组的c_{max}及$AUC_{0\to t}$低于**1**和**2**混合药液组，可能与提取物中基质阻滞、多成分吸收竞争、肠道排泌增强及皂苷胶束形成等因素有关，这些因素共同作用抑制了**1**和**2**的口服吸收。

综上所述，在洋常春藤叶提取物的制剂研发中，可通过优化制剂处方或改变给药途径，促进活性成分直接进入体循环，减少三萜皂苷类活性成分在肠道及肝脏中的代谢过程，以提升体内生物利用度。本研究可为洋常春藤叶提取物的临床前研究及临床合理用药提供药代动力学数据。

参考文献：

[1] Baharara H, Moghadam A T, Sahebkar A, *et al*. The effects of ivy (*Hedera helix*) on respiratory problems and cough in humans: a review [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, **1328**: 361-76.

[2] Sierocinski E, Holzinger F, Chenot J F. Ivy leaf (*Hedera helix*) for acute upper respiratory tract infections: an updated systematic review [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2021, **77**(8): 1113-1122.

[3] Dong M Y, Li J J, Yang D L, *et al*. Biosynthesis and pharmacological activities of flavonoids, triterpene saponins and polysaccharides derived from *Astragalus membranaceus* [J]. *Molecules*, 2023, **28**(13): 5018.

[4] Akhtar M, Shaukat A, Zahoor A, *et al*. Hederacoside-C inhibition of staphylococcus aureus-induced mastitis via TLR2 & TLR4 and their downstream signaling NF-κB and MAPKs pathways *in vivo* and *in vitro* [J]. *Inflammation*, 2020, **43**(2): 579-594.

[5] Xu H C, Wu B, Ma Y M, *et al*. Hederacoside-C protects against AGEs-induced ECM degradation in mice chondrocytes [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, **84**: 106579.

[6] Zha Z X, Lin Y, Wang K X, *et al*. Hederacoside C ameliorates colitis via restoring impaired intestinal barrier through moderating S100A9/MAPK and neutrophil recruitment inactivation [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2023, **44**(1): 105-119.

[7] 倪晓晨, 姜晓敏, 于世龙, 等. α-常春藤皂苷抗肿瘤活性研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, **42**(3): 60-63.

[8] Zhang G J, Feng Y N, Huang L, *et al*. Recent progress in health benefits of hederagenin and its glycosides [J]. *Molecules*, 2025, **30**(16): 3393.

[9] Čolić M, Tomić S, Bekić M, *et al*. Ivy leaf dry extract EA 575® is a potent immunomodulator acting on dendritic cells [J]. *Pharmaceutics*, 2025, **17**(6): 773.

[10] 卢薇薇, 苏丹, 彭秘, 等. UPLC-MS/MS法同时测定小绿叶止咳糖浆中8种成分的含量[J]. 中成药, 2024, **46**(3): 735-9.

[11] Sevgen S, Kara G, Kir A S, *et al*. A critical review of bioanalytical and clinical applications of solid phase microextraction [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2025, **252**: 116487.

[12] Ma Y H, Zhao Y X, Luo M X, *et al*. Advancements and challenges in pharmacokinetic and pharmacodynamic research on the traditional Chinese medicine saponins: a comprehensive review [J]. *Front Pharmacol*, 2024, **15**: 1393409.