

基于 UPLC-MS/MS 探究何首乌中顺式与反式二苯乙烯苷在大鼠体内的药动学差异

王 超^{1,2}, 吴小林³, 任 妍^{1,2}, 张晓萌^{1,2}, 姚翠丽^{1,2}, 李 泽³, 付志飞³

1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381

2. 中医国家临床医学研究中心, 天津 300381

3. 天津中医药大学 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 301617

摘要: **目的** 建立定量测定大鼠血浆中顺式二苯乙烯苷 [*cis*-2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷 (TSG)] 与反式二苯乙烯苷 (*trans*-TSG) 血药浓度的 UPLC-MS/MS 方法, 系统探究 2 种异构体在大鼠体内的药动学差异。 **方法** 将 40 只雄性 SD 大鼠随机分为 4 组 (每组 10 只), 即 *cis*-TSG ig 给药组、*cis*-TSG 尾 iv 给药组、*trans*-TSG ig 给药组、*trans*-TSG 尾 iv 给药组。ig 组给药剂量为 100 mg·kg⁻¹, 尾 iv 组给药剂量为 10 mg·kg⁻¹; 于给药前 (0 h) 及给药后 0.030、0.083、0.160、0.250、0.330、0.500、1.000、2.000、4.000、6.000、8.000、10.000、12.000、24.000 h, 通过眼静脉丛采集血样。以虎杖苷为内标, 测定上述 2 个成分在不同时间点的血药浓度; 利用 DAS 1.0 软件计算药动学参数, 分析其药动学行为差异。 **结果** 所建立的 UPLC-MS/MS 方法在专属性、稳定性、准确度与精密度方面均符合体内药物浓度测定的技术要求, 且无明显基质效应、提取回收率稳定。药动学结果显示: ①给药途径对暴露水平影响显著: 2 种成分经 iv 给药后的血药浓度-时间曲线下面积 (AUC)、达峰浓度 (C_{max}) 均显著高于 ig 给药, 且达峰时间 (t_{max}) 更短, 提示 iv 给药可使药物直接、快速进入体循环; ②异构体间暴露差异显著: 无论是 iv 还是 ig 给药, *cis*-TSG 的 AUC、C_{max} 均显著高于 *trans*-TSG ($P < 0.05$), *cis*-TSG 的消除半衰期 (t_{1/2}) 长于 *trans*-TSG [iv (7.03 h vs 2.63 h)、ig (16.90 h vs 8.46 h)], 提示 2 种异构体在吸收、代谢或分布过程中存在本质差异; ③口服生物利用度较低: *cis*-TSG 与 *trans*-TSG 的口服绝对生物利用度分别为 28.46%、27.35%。 **结论** *cis*-TSG 与 *trans*-TSG 在大鼠体内的药动学行为存在显著差异, 主要体现为 *cis*-TSG 的体内暴露水平更高、消除更缓慢; 且 2 种成分的口服生物利用度均较低。

关键词: 何首乌; 顺式二苯乙烯苷; 反式二苯乙烯苷; 药动学; UPLC-MS/MS

中图分类号: R969.1; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)02-0595-08

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.02.018

Pharmacokinetics differences between *cis*- and *trans*-2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glucosides in *Polygonum multiflorum* in rat plasma by UPLC-MS/MS

WANG Chao^{1,2}, WU Xiaolin³, REN Yan^{1,2}, ZHANG Xiaomeng^{1,2}, YAO Cuili^{1,2}, LI Ze³, FU Zhifei³

1. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

3. Tianjin Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Chemistry and Analysis, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To establish a UPLC-MS/MS method for the quantitative determination of [*cis*-2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -D-glucosides(TSG)]and *trans*-TSG in rat plasma and systematically investigate the differences in pharmacokinetic parameters of the two isomers in rats. **Methods** Forty male SD rats were randomly divided into four groups (10 rats per group), namely the *cis*-TSG ig administration group, the *cis*-TSG tail iv administration group, the *trans*-TSG ig administration group, and the *trans*-TSG tail iv administration group. The ig administration dose was 100 mg·kg⁻¹, and the tail iv administration dose was 10 mg·kg⁻¹. Blood samples were collected from the orbital venous plexus at 0 h before administration and at 0.030, 0.083, 0.160, 0.250, 0.330, 0.500, 1.000, 2.000, 4.000, 6.000, 8.000, 10.000, 12.000, and 24.000 h after administration. Polydatin was used as the internal standard to

收稿日期: 2025-11-19

基金项目: 天津市教委重点项目 (2024ZD001)

作者简介: 王 超 (1985—), 男, 主要从事医学检验相关研究。E-mail: langzhongyue1@163.com

determine the blood drug concentrations of the two components at different time points. The pharmacokinetic parameters were calculated using DAS 1.0 software, and the differences in pharmacokinetic behavior were analyzed. **Results** The established UPLC-MS/MS method met the technical requirements for the determination of drug concentrations *in vivo* in terms of specificity, stability, accuracy, and precision, and there was no significant matrix effect and the extraction recovery rate was stable. The pharmacokinetic results showed that: ① The administration route significantly affected the exposure level: the area under the blood concentration-time curve (AUC) and peak concentration (C_{\max}) of the two components after iv administration were significantly higher than those after ig administration, and the peak time (t_{\max}) was shorter, indicating that iv administration could directly and rapidly enter the systemic circulation; ② There were significant differences in exposure between the isomers: regardless of iv or ig administration, the AUC and C_{\max} of *cis*-TSG were significantly higher than those of *trans*-TSG ($P < 0.05$), and the elimination half-life ($t_{1/2}$) of *cis*-TSG was longer than that of *trans*-TSG [iv (7.03 h vs 2.63 h), ig (16.90 h vs 8.46 h)], suggesting that there were essential differences in the absorption, metabolism, or distribution processes of the two isomers; ③ The oral bioavailability was low: the absolute oral bioavailability of *cis*-TSG and *trans*-TSG was 28.46% and 27.35%, respectively. **Conclusion** There were significant differences in the pharmacokinetic behavior of *cis*-TSG and *trans*-TSG in rats, mainly manifested as higher *in vivo* exposure levels and slower elimination of *cis*-TSG. The oral bioavailability of both components was low.

Key words: *Polygonum multiflorum* Thunb.; *cis*-TSG; *trans*-TSG; pharmacokinetics; UPLC-MS/MS

何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 为蓼科植物,其药用部位为块根,在中医药领域应用广泛。二苯乙烯类化合物是何首乌的主要有效成分,且含量占比较高^[1]。《中国药典》2025 年版明确规定,何首乌中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷 (TSG) 的含量不得低于 1.0%^[2]。文献报道显示,何首乌具有多种药理活性,其核心活性成分 TSG 可通过激活核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 信号通路、清除自由基及调节相关酶活性等多种途径发挥抗氧化作用^[3]。

然而, TSG 存在顺式与反式 2 种构型,反式二苯乙烯苷 (*trans*-TSG) 可经光异构作用转化为顺式二苯乙烯苷 (*cis*-TSG)^[4]。林艳等^[5]采用 L02 细胞对何首乌主要成分进行毒性评估,结果表明 *cis*-TSG 是其主要肝损伤风险成分,这也体现了何首乌“效-毒同源”的特性^[6]。鉴于 *cis*-TSG 与 *trans*-TSG 可相互转化,且二者在体内的安全性存在显著差异,探究二者是否具有不同的药动学特征具有重要意义,可为深入研究何首乌的药效物质基础及药效、毒性作用机制提供支撑。

药动学能够定量分析药物在生物体内的吸收、分布、代谢及排泄过程,进而揭示药物在体内的动态变化规律^[7]。以往研究多聚焦于中药制剂或提取物中 *trans*-/*cis*-TSG 的药动学参数,较少针对单一成分开展系统研究^[8];而制剂中的其他成分可能会改变 *trans*-/*cis*-TSG 在体内的代谢与分布特征,从而干扰其整体药动学行为^[9]。因此,本研究通过 iv 和 ig 2 种给药途径,考察 *cis*-TSG 与 *trans*-TSG 的

药动学参数及生物利用度差异,旨在为何首乌的新药开发与临床合理应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Acquity H-Class UPLC-Xevo TQ-S 超高效液相色谱系统-质谱系统联用仪,美国沃特世公司; XW-80A 涡旋混合器,上海沪西分析仪器厂; 5804R 冷冻台式高速离心机,德国艾本德生命科学公司; BP121S 万分之一天平,德国赛多利斯公司。

1.2 药品与试剂

cis-TSG 为实验室自制 (质量分数 > 95%); *trans*-TSG (质量分数 $\geq 95\%$, 批号 RDD-E02202103029), 购自成都瑞芬思德丹生物科技有限公司; 虎杖苷 (质量分数 $\geq 95\%$, 批号 J02HB186709) 购于上海源叶生物科技有限公司; 色谱级甲醇、乙腈购于美国费希尔公司; 屈臣氏水购于中国香港屈臣氏有限公司; 肝素钠购于津生物化学制药有限公司; 色谱甲酸购于美国 ACS 恩科化学公司。

1.3 动物

40 只雄性 SD 大鼠, 体质量 (200 ± 20) g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 动物生产许可证号 SCXK(京)2024-0003。实验动物在温度 23 ~ 25 °C、相对湿度 50% ~ 60%、光照 12 h/黑暗 12 h 条件下, 严格按照天津中医药大学动物中心管理规范饲养, 自由饮食、饮水。本实验严格遵循天津中医药大学实验动物伦理委员会的规章和制度, 伦理委员会批号 TCM-LAEC2023177h3507。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 ACQUITY UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱。流动相为 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 0~6.5 min, 95%→60% A; 6.5~7.0 min, 60% A; 7.0~7.1 min, 60%→95% A; 7.1~8.0 min, 95% A。柱温 35 ℃, 体积流量 0.3 mL·min⁻¹, 进样器温度 4 ℃, 进样量 2 μL。

2.2 质谱条件

采用 ESI 离子源, 多反应监测 (MRM) 模式, 负离子模式对大鼠血浆中的目标化合物进行检测。毛细管电压设定为 2.5 kV; 锥孔电压设定为 30 V; 去溶剂化温度设定为 650 ℃, 体积流量为 800 L·h⁻¹。各待测成分及内标的质谱参数如表 1 所示。使用 Masslynx 4.1 和 TargetLynx 软件对实验数据进行采集和分析。

表 1 2 个成分及内标的质谱参数

Table 1 Mass parameters of two components and internal standard

成分	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压/V	碰撞能量/V
<i>trans</i> -TSG	404.84	243.07	50	22
<i>cis</i> -TSG	404.84	243.07	50	20
虎杖苷 (内标)	388.84	227.08	52	18

2.3 对照品及内标溶液的制备

2.3.1 对照品储备液的制备 分别取 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 配制成质量浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的对照品储备液, -20 ℃ 保存备用。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 精密吸取 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 对照品储备液适量, 以甲醇为稀释剂制备混合对照品溶液, 依据给药方式的不同分别设定系列浓度梯度, 其中 ig 给药 *cis*-TSG 组质量浓度依次为 4、8、20、40、80、200、400、1 000、2 000 ng·mL⁻¹; 尾 iv 给药 *cis*-TSG 组质量浓度依次为 40、80、200、400、1 000、2 000、5 000、10 000、20 000 ng·mL⁻¹; ig 给药 *trans*-TSG 组质量浓度依次为 2、4、10、20、40、100、200、400、1 000 ng·mL⁻¹; 尾 iv 给药 *trans*-TSG 组质量浓度依次为 20、40、100、200、400、1 000、2 000、5 000、10 000 ng·mL⁻¹。

2.3.3 内标溶液的制备 取虎杖苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 配制成质量浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的内标储备液, 4 ℃ 储存。

2.4 给药与血浆样品采集

40 只大鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 实验开始前所有大鼠禁食 12 h, 期间可以自由饮水。ig 给药 *cis*-TSG 组和 *trans*-TSG 组, 给药剂量设定为 100 mg·kg⁻¹[10]。为探究药物在体内的动态变化, 采集大鼠血液样本。在给药前以及给药后的 0.030、0.083、0.160、0.250、0.330、0.500、1.000、2.000、4.000、6.000、8.000、10.000、12.000、24.000 h, 通过大鼠眼静脉丛采集约 0.5 mL 的血液样本, 并将样本转移到

预先含有 20 μL 肝素钠的 1.5 mL 棕色离心管中。在 4 ℃, 7 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液得到血浆样品, 取 100 μL 的血浆样本, 将其存放于 -80 ℃ 保存备用。通过尾 iv 的方式, 分别对尾 iv *cis*-TSG 组和 *trans*-TSG 组进行给药, 尾 iv 的给药剂量设定为 10 mg·kg⁻¹[11]。采集血液样本的方法与前述相同。

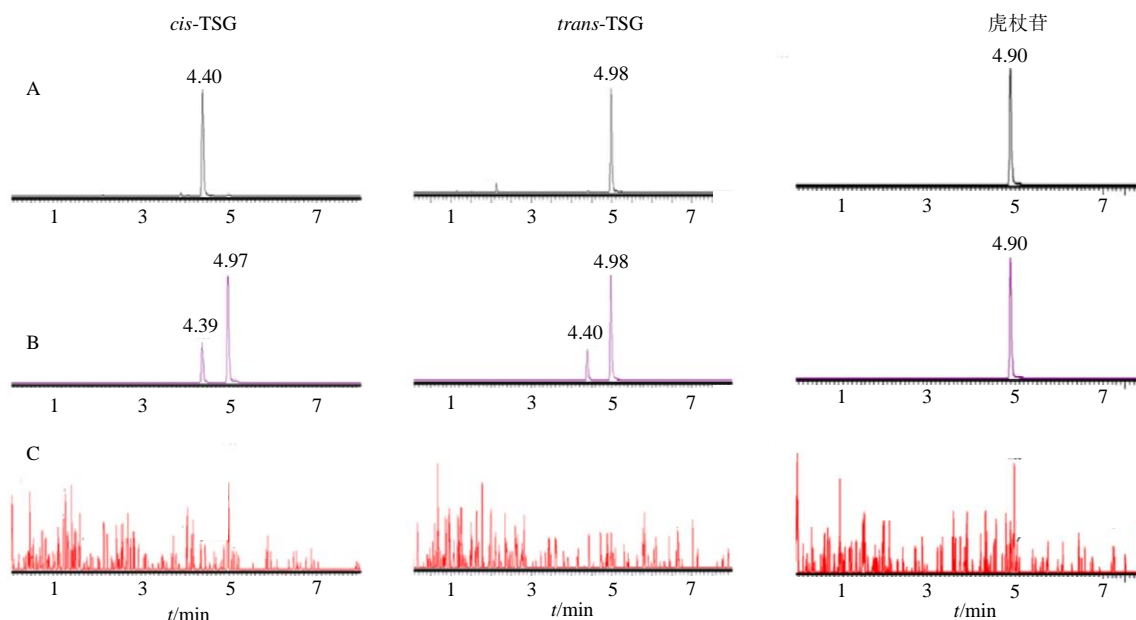
2.5 血浆样品的处理

精密吸取 100 μL 血浆样品置于 1.5 mL 棕色离心管中, 加入 10 μL 内标溶液 (500 ng·mL⁻¹) 和 400 μL 冰甲醇, 涡旋震荡 5 min, 在 4 ℃、14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 将上清液转移到新的 1.5 mL 棕色离心管中, 氮气吹干后, 加入 100 μL 的 50% 甲醇-水混合溶液将样品进行复溶, 并再次涡旋混合 5 min, 在 4 ℃, 14 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液分析。

2.6 方法学验证

2.6.1 专属性考察 取大鼠空白血浆、空白血浆+混合对照品溶液 (*cis*-TSG 和 *trans*-TSG 的质量浓度均为 500 ng·mL⁻¹)、给药 0.083 h 后的含药血浆适量, 按照“2.5”项下方法处理, 在“2.1”“2.2”条件下进样测定。结果显示 (图 1), 在该分析条件下, *cis*-TSG、*trans*-TSG 出峰时间分别为 4.39、4.98 min, 虎杖苷的出峰时间为 4.90 min, 目标分析物与内标物之间不存在交叉干扰, 同时血浆中的内源性成分也未对分析结果造成干扰, 表明该方法专属性良好。

2.6.2 线性关系考察 取“2.3.2”项下的混合对照品溶液 10 μL, 分别与 100 μL 的空白血浆混合, 并添加 390 μL 的冰甲醇以及 10 μL 的内标溶液, 其



A-给药 0.083 h 后的血浆样品; B-加入混合对照品溶液的血浆样品; C-空白血浆样品。

A-plasma after 0.083 h of administration; B-plasma with mixed standards; C-blank plasma.

图 1 大鼠血浆中 2 个成分及内标 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of two components and internal standard in rat plasma

余处理方式与“2.5”项一致。以各成分质量浓度为横坐标,各成分峰面积与内标化合物峰面积比值为纵坐标,运用加权最小二乘法,权重系数为 $1/\chi^2$ 进行线性

回归,得到各个待测物的线性回归方程,最低定量下限的信噪比 (S/N) ≥ 10 。4 个待测成分的线性范围、回归方程、定量限及相关系数 (r) 见表 2。

表 2 *cis*-TSG、*trans*-TSG 的线性回归方程、相关系数和线性范围

Table 2 Linear regression equations, correlation coefficients and linear ranges of *cis*-TSG and *trans*-TSG

组别	给药方式	回归方程	r	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	定量下限/(ng·mL ⁻¹)
<i>cis</i> -TSG	ig	$Y=0.857\ 854\ X+7.458\ 78$	0.998 5	4~2 000	4
	尾 iv	$Y=0.080\ 387\ 3\ X+4.341\ 58$	0.992 9	40~20 000	40
<i>trans</i> -TSG	ig	$Y=1.754\ 33\ X+1.938\ 13$	0.995 2	2~1 000	2
	尾 iv	$Y=1.506\ 61\ X+26.474$	0.991 2	20~10 000	20

2.6.3 精密度和准确度考察 取大鼠空白血浆 100 μ L,加入 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 的低、中、高 3 个质量浓度的混合对照品溶液 10 μ L、390 μ L 冰甲醇以及 10 μ L 的内标溶液,其余处理方式与“2.5”项一致,配制 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 低、中、高质量浓度的质控样本溶液,每个质量浓度平行制备 6 份,通过测定 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 以及内标物的色谱峰面积比值,利用预先建立的标准曲线计算其在血浆中的质量浓度。在此基础上,连续测定 3 批(分 3 d 进行),对日间精密度和准确度进行考察。各组的准确度与精密度见表 3,所有质量浓度水平下的精密度 RSD 均低于 15%,准确度均在 98%~

107%,表明该检测方法在大鼠血浆中的准确度和精密度良好,满足药动力学研究的分析要求。

2.6.4 提取回收率和基质效应考察 取空白血浆 100 μ L,加入低、中、高质量浓度的 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 混合对照品溶液 10 μ L、390 μ L 的冰甲醇以及 10 μ L 的内标溶液,平行制备 6 份,其余处理方式与“2.5”项一致,取上清液,按“2.1”“2.2”项下方法进样分析,测定各成分峰面积,记为 A;取空白血浆 100 μ L,按“2.5”项下方法处理后,取上清液分别加入低、中、高质量浓度的混合对照品溶液,涡旋混匀,平行制备 6 份,按“2.1”“2.2”项下条件进样分析,测定各成分峰面积,记为 B;在不添

表 3 大鼠血浆中 2 种成分的精密度和准确度

Table 3 Precision and accuracy of two components in plasma of rats

成分	给药方式	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内精密度/(n=6)			日间精密度/(n=18)		
			实测质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/%	准确度/%	实测质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/%	准确度/%
<i>cis</i> -TSG	ig	8	8.22	4.05	102.70	8.14	6.58	101.80
		80	78.37	3.13	97.95	79.81	3.41	99.76
		1 600	1 629.00	2.11	101.81	1 620.22	2.17	101.26
<i>trans</i> -TSG		4	4.22	5.83	105.41	4.28	5.97	106.94
		40	40.38	4.82	100.60	41.13	5.43	102.71
		800	805.67	2.31	100.70	807.24	3.19	100.89
<i>cis</i> -TSG	尾 iv	80	79.65	3.17	99.56	80.95	3.41	101.18
		1 000	1 004.35	2.46	100.43	1 028.98	3.62	102.89
		16 000	15 907.32	2.11	99.42	15 821.32	2.15	98.88
<i>trans</i> -TSG		40	39.93	4.43	99.83	42.08	5.60	105.20
		400	400.13	4.32	100.03	395.63	4.73	98.90
		8 000	8 005.22	3.07	100.05	8 058.97	3.74	100.73

加血浆基质的情况下,制备高、中、低 3 个质量浓度的对照品溶液各 100 μL,平行 6 份,按“2.5”项下方法处理,取上清液,按“2.1”“2.2”项下条件进样分析,测定各成分峰面积,记为 *C*。计算提取回收率(*A/B*)和基质效应(*B/C*),结果见表 4,低、中、高 3 个质量浓度下,*cis*-TSG 和 *trans*-TSG 的提取回收率均在 90%~105%且 RSD<15%,表明提取效率稳定、重复性良好;基质效应均在 85%~115%内且 RSD<15%,提示无显著基质效应,说明血浆基质残留组分对目标物的离子抑制或增强作用微弱;内标的提取回收率和基质效应均符合方法验证要求,可有效补偿提取损失与潜在基质干扰,保障定量结果的准确性。

2.6.5 稳定性考察 取 100 μL 空白血浆,并将其配制成含有低、中、高 3 种质量浓度水平的 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 的血浆样品,每种质量浓度水平的样品制备 3 份,考察不同储存条件下(室温放置 4 h、-80 ℃ 3 次冻融循环、4 ℃自动进样器中放置 24 h)样品的稳定性,结果见表 5,在所有储存条件下,各组 RSD 均低于 15%,这表明 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 在血浆样本中的稳定性良好。

2.7 药动学研究

按“2.4”项下方法通过 ig 和尾 iv 2 种给药途径给药、收集样品,按“2.5”项下方法处理,按“2.1”

“2.2”项下条件检测所得数据利用 Graph Pad Prism 9.0 绘制血浆中药物浓度-时间曲线,使用 DAS 1.0 软件模型计算药动力学参数,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。平均血药浓度-时间曲线见图 2,药动力学参数见表 6。大鼠尾 iv *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 后,平均消除半衰期(*t*_{1/2})分别为 7.03、2.63 h,在 0~24 h,计算得到的血药浓度曲线下面积(AUC)分别为 4 254.40、717.37 ng·h·mL⁻¹;相比之下,ig 给药后,*cis*-TSG 和 *trans*-TSG 的 *t*_{1/2} 分别为 16.90、8.46 h,在 0~24 h,AUC 值分别为 1 210.96、196.22 ng·h·mL⁻¹;通过对比 2 种给药途径的 AUC 值,计算得出 *cis*-TSG 和 *trans*-TSG 的绝对生物利用度分别为 28.46%和 27.35%。将 4 组药动力学参数采用 SPSS 25.0 软件进行 *t* 检验分析,*P*<0.05 表示具有统计学意义。结果显示,与尾 iv 相比,2 种成分 ig 给药后的 *C*_{max} 和 AUC 均显著降低,证明其口服生物利用度有限。在 ig 给药条件下,*cis*-TSG 的 *C*_{max}、AUC 和 *t*_{1/2} 均显著高于 *trans*-TSG,表明其口服吸收更佳且在体内停留时间更长。iv 后,*cis*-TSG 的暴露量同样显著高于 *trans*-TSG,提示 2 者在体内的分布或清除机制存在本质差异。

3 讨论

本研究建立了 UPLC-MS/MS 法用于测定大鼠血浆中 *cis*-TSG 与 *trans*-TSG 的质量浓度,并基于

表 4 提取回收率和基质效应结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Results of recovery and matrix effect ($\bar{x} \pm s, n=6$)

成分	给药方式	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	提取回收率/%	基质效应/%
<i>cis</i> -TSG	ig	8	96.81±1.69	98.13±3.40
		80	100.22±6.47	93.81±4.05
		1 600	96.63±4.23	96.52±5.08
	iv	80	96.12±1.90	92.55±3.93
		1 000	97.23±3.55	95.86±5.13
		16 000	92.51±4.22	98.66±5.48
<i>trans</i> -TSG	ig	4	91.55±3.43	93.73±5.11
		40	93.13±5.08	92.87±5.77
		800	92.55±1.72	89.91±2.92
	iv	40	95.31±1.79	92.18±6.04
		400	96.22±3.17	97.73±3.77
		8 000	98.31±2.52	96.91±5.41

表 5 大鼠血浆中 2 种成分的稳定性 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Stability of two components in plasma of rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

成分	给药方式	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	室温放置 4 h		4 °C 放置 24 h		-80 °C 冻融 3 次	
			实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%
<i>cis</i> -TSG	ig	8	8.71±0.36	108.75	8.31±0.57	103.75	8.63±0.31	107.50
		80	81.92±2.52	102.38	82.62±4.58	103.25	83.42±3.03	104.25
		1 600	1 643.51±83.16	102.72	1 598.73±58.35	99.92	1 624.55±79.11	101.53
	iv	80	78.92±4.31	98.63	82.79±5.58	103.38	79.27±3.68	99.00
		1 000	1 013.21±32.63	101.32	1 009.26±23.72	100.92	1 016.42±31.00	101.64
		16 000	16 158.61±381.34	100.99	15 857.68±52.80	99.11	15 635.84±414.35	97.72
<i>trans</i> -TSG	ig	4	4.52±0.13	112.50	4.25±0.15	105.00	4.19±0.27	102.50
		40	39.67±1.29	99.00	41.37±1.35	103.25	42.36±2.52	105.75
		800	807.69±19.79	100.95	835.63±13.79	104.45	796.88±20.32	99.60
	iv	40	42.53±1.05	106.25	39.55±1.10	98.75	42.39±2.05	105.75
		400	404.56±15.05	101.13	403.14±15.48	100.78	417.73±19.97	104.43
		8 000	8 097.38±167.61	101.22	7 894.52±256.57	98.68	7 843.51±247.07	98.04

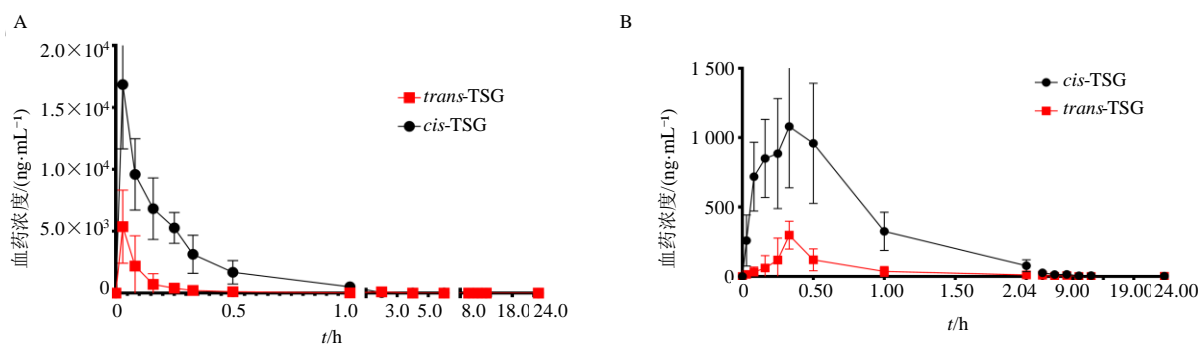


图 2 iv (A) 及 ig (B) 给药 *cis*-TSG、*trans*-TSG 的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Plasma concentration time curves of iv (A) and ig (B) *cis*-TSG and *trans*-TSG ($\bar{x} \pm s, n=10$)

表 6 *cis*-TSG、*trans*-TSG 的药动学参数
Table 6 Pharmacokinetic parameters of *cis*, *trans*-TSG

参数	单位	<i>cis</i> -TSG		<i>trans</i> -TSG	
		ig	iv	ig	iv
t_{\max}	h	0.373±0.103	0.030±0.010	0.330±0.069	0.030±0.010
C_{\max}	ng·mL ⁻¹	1 233.183±308.413 ^{*#}	18 429.900±4 362.745 [#]	298.500±99.991 [*]	5 369.550±2 897.012
AUC _{0~t}	h·μg·L ⁻¹	1 210.956±425.115 ^{*#}	4 254.404±1 237.558 [#]	196.222±101.053 [*]	717.378±642.284
AUC _{0~∞}	h·μg·L ⁻¹	1 275.328±493.79 ^{*#}	4 258.962±1 237.526 [#]	197.631±99.824 [*]	717.378±642.284
$t_{1/2}$	h	16.895±0.528 [#]	7.031±5.759 [#]	8.462±0.032	2.628±2.145

与 iv 比较: * $P<0.05$; 与 *trans*-TSG 组比较: # $P<0.05$ 。* $P<0.05$ vs iv group; # $P<0.05$ vs *trans*-TSG group.

该方法开展了系统的药动学研究。首先,方法学验证结果显示,*cis*-TSG、*trans*-TSG 及内标虎杖苷可实现基线分离,各成分保留时间存在显著差异,无相互干扰;进一步考察证实该方法具有良好的稳定性、较高的精密度和灵敏度,完全满足大鼠体内药物浓度的检测要求^[12]。

药动学研究结果表明,2 种异构体的药动学行为均呈现显著的给药途径相关性,且 2 者间存在明显差异。对于 *cis*-TSG,尾 iv 给药组达峰时间(t_{\max})显著短于口服给药组,更快速达到最大血药浓度(C_{\max}),符合静脉给药直接进入体循环的生理直观认知;由 0~24 h 游离血药浓度-时间曲线下面积(AUC_{0~24})计算可知,iv 给药的体内暴露量约为 ig 给药的 3.5 倍。而 ig 给药组的 $t_{1/2}$ 显著延长,提示药物在体内滞留时间更长,推测可能与吸收过程耦合及组织分布延缓相关。

对于 *trans*-TSG,其 t_{\max} 变化趋势与 *cis*-TSG 一致,且 iv 给药组可形成显著更高的血药浓度峰值;同样,iv 给药的体内暴露量显著增加^[13],且 iv 给药后药物清除与分布速率更快,ig 给药组则表现出更长的半衰期。总体而言,相较于 ig 给药,iv 给药可使 2 种异构体的 C_{\max} 显著升高、AUC_{0~∞} 与 AUC_{0~24} 显著增加、 t_{\max} 明显缩短,证实 iv 给药可绕过胃肠道吸收阶段,使药物快速进入体循环,从而实现更高的体内暴露。iv 给药条件下,*cis*-TSG 的 AUC_{0~∞} 显著高于 *trans*-TSG,且 2 者在 C_{\max} 、AUC 等关键参数上差异显著,提示 2 种异构体在体内代谢、分布及结合特性可能存在本质差异。

ig 给药条件下,*cis*-TSG 的体内暴露水平(AUC 与 C_{\max}) 同样显著高于 *trans*-TSG,表明口服吸收过程及代谢途径对 2 种异构体的影响存在差异。此外,*cis*-TSG 与 *trans*-TSG 的口服生物利用度均较

低,推测其原因可能与分子结构中含多个羟基导致极性增强相关:极性增强不仅会降低其在肠道内的吸收能力,还可能促进其在体内快速发生葡萄糖醛酸化等Ⅱ相代谢反应^[14-16]。

已有研究表明,长期使用粗加工或大剂量何首乌易引发肝损伤,其风险可能与成分的体内暴露特性密切相关^[17-18];值得关注的是,何首乌关键活性成分 TSG 的生物利用度较低且呈显著给药途径依赖性(如静脉给药后血浆药物水平显著高于口服)^[14]。本研究进一步证实,*trans*-TSG 与 *cis*-TSG 在大鼠体内的 t_{\max} 、 $t_{1/2}$ 、AUC 等关键药动学参数上存在显著差异,其中 *cis*-TSG 相对更高的体内暴露水平与更长的体内滞留时间,提示其可能与何首乌潜在的肝毒性风险关联更为密切,这为阐明何首乌肝毒性的物质基础提供了机制层面的解释。同时,该结果也为优化何首乌炮制工艺(如通过工艺调控 2 种异构体的比例)以降低用药风险提供了科学依据。

综上,本研究明确了 *cis*-TSG 与 *trans*-TSG 在大鼠体内的药动学特性差异,不仅为何首乌的合理用药、风险防控提供了直接的实验依据,同时对深入理解何首乌中活性成分与风险成分的体内生物利用度及代谢过程具有重要的理论意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Teka T, Wang L M, Gao J, et al. *Polygonum multiflorum*: Recent updates on newly isolated compounds, potential hepatotoxic compounds and their mechanisms [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113864.
- [2] 中国药典 [S].一部. 2025.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2025.
- [3] Wu T Y, Lin J N, Luo Z Y, et al. 2, 3, 4', 5-

- tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -*D*-glucoside (THSG) activates the Nrf2 antioxidant pathway and attenuates oxidative stress-induced cell death in mouse cochlear UB/OC-2 cells [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 465.
- [4] Kim H K, Choi Y H, Choi J S, et al. A new stilbene glucoside gallate from the roots of *Polygonum multiflorum* [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(10): 1225-1229.
- [5] 林艳, 肖榕, 尹林子, 等. 基于粗糙集理论构建 “谱毒” 关系研究何首乌特异质肝毒性物质基础 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(3): 509-517.
- Lin Y, Xiao R, Yin L Z, et al. Developing spectrum-toxicity relationship with rough set theory for hepatotoxicity material basis of *Polygonum multiflorum* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2019, 44(3): 509-517.
- [6] 商佳, 郑彬茹, 陶倩倩, 等. 含蒽醌、二苯乙烯苷类中药效-毒转换物质基础及作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(19): 6482-6496.
- Shang J, Zheng B R, Tao Q Q, et al. Research progress on substance basis and mechanism of traditional Chinese medicines containing anthraquinone and stilbene glycosides in effect-toxicity conversion [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(19): 6482-6496.
- [7] Liu L, Li P H, Qiao L J, et al. Effects of astragaloside IV on the pharmacokinetics of puerarin in rats [J]. *Xenobiotica*, 2019, 49(10): 1173-1177.
- [8] Lü G Y, Gu H, Chen S H, et al. Pharmacokinetic profile of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -*D*-glucoside in mice after oral administration of *Polygonum multiflorum* extract [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2012, 38(2): 248-255.
- [9] Wang L L, Sang M M, Liu E W, et al. Rapid profiling and pharmacokinetic studies of major compounds in crude extract from *Polygonum multiflorum* by UHPLC-Q-TOF-MS and UPLC-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 140: 45-61.
- [10] 孙江浩, 袁志芳, 王春英, 等. 何首乌中二苯乙烯苷在大鼠体内的药动学 [J]. *中草药*, 2005, 36(3): 405-408.
- Sun J H, Yuan Z F, Wang C Y, et al. Pharmacokinetics of stilbene glycoside from *Polygonum multiflorum* in rats *in vivo* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2005, 36(3): 405-408.
- [11] 孙江浩. 二苯乙烯苷的药代动力学及其代谢物研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2004.
- Sun J H. Pharmacokinetics and metabolites of styrene-side [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2004.
- [12] 覃钱, 韩彩瑶, 冯果, 等. 基于 UPLC-MS/MS 探究新绿原酸在大鼠血液中的药代动力学 [J]. *贵州中医药大学学报*, 2025, 47(3): 54-58.
- Qin Q, Han C Y, Feng G, et al. Pharmacokinetics of neochlorogenic acid in rat blood based on UPLC-MS/MS [J]. *J Guizhou Univ Tradit Chin Med*, 2025, 47(3): 54-58.
- [13] Wang B, Shen J Q, Zhou Q, et al. Effects of naringenin on the pharmacokinetics of tofacitinib in rats [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 225-230.
- [14] Zhao Y Y, Zhang L, Feng Y L, et al. Pharmacokinetics of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -*D*-glucoside in rat using ultra-performance LC-quadrupole TOF-MS [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(5): 863-871.
- [15] Wang C, Dai S, Gong L H, et al. A review of pharmacology, toxicity and pharmacokinetics of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -*D*-glucoside [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 791214.
- [16] Li D, Yang M B, Zuo Z. Overview of pharmacokinetics and liver toxicities of *Radix Polygoni multiflori* [J]. *Toxins*, 2020, 12(11): 729.
- [17] Ma N H, Zhang Y, Sun L Y, et al. Comparative studies on multi-component pharmacokinetics of *Polygonum multiflorum* Thumb. extract after oral administration in different rat models [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 655332.
- [18] 王一俊, 王丽明, 刘霁虹, 等. 基于 CiteSpace 的何首乌炮制历史沿革及现代研究进展分析 [J]. *中草药*, 2024, 55(17): 6089-6106.
- Wang Y J, Wang L M, Liu J H, et al. Analysis of historical evolution and modern research progress of *Polygonum multiflorum* processing based on CiteSpace [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(17): 6089-6106.

[责任编辑 孙英杰]