

## 酸枣仁化学成分体内过程及其质量标志物研究思路探讨

闫艳<sup>1</sup>, 张敏<sup>1,3</sup>, 崔小芳<sup>2</sup>, 张福生<sup>1</sup>, 高晓霞<sup>1</sup>, 郭旭东<sup>4</sup>, 杜晨晖<sup>2\*</sup>, 秦雪梅<sup>1\*</sup>

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006
2. 山西中医药大学中药学院, 山西 太原 030619
3. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006
4. 天津中学, 天津 300100

**摘要:** 酸枣仁是公认的大宗中药品种之一, 具有养心安神、补肝、敛汗生津之功效, 是中医治疗失眠的首选药物。目前, 酸枣仁化学成分研究较为清晰, 其主要化学成分为黄酮类、皂苷类、生物碱类和三萜酸类等, 结构丰富多样。酸枣仁化学成分的多样性决定了其生物学活性和药理作用的多样性, 同时导致其药动学复杂的特性。通过对国内外文献分析与总结, 梳理了酸枣仁化学成分(黄酮类、皂苷类)的药动学参数、吸收情况、组织分布特征和代谢研究成果(肠道菌群代谢转化、肝微粒体代谢转化、体内代谢转化), 以期从体内过程的角度进行深度发掘和分析, 为酸枣仁药效物质发现提供新的研究方向, 同时为酸枣仁质量标志物的筛选和确定提供参考。

**关键词:** 酸枣仁; 药动学; 代谢; 药效物质; 质量标志物

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)02-0299-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.005

## Discussion on research ideas for process *in vivo* of chemical compositions from *Ziziphi Spinosae Semen* and its quality marker

YAN Yan<sup>1</sup>, ZHANG Min<sup>1,3</sup>, CUI Xiao-fang<sup>2</sup>, ZHANG Fu-sheng<sup>1</sup>, GAO Xiao-xia<sup>1</sup>, GUO Xu-dong<sup>4</sup>, DU Chen-hui<sup>2</sup>, QIN Xue-mei<sup>1</sup>

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China
2. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China
3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China
4. Tianjin High School, Tianjin 300100, China

**Abstract:** *Ziziphi Spinosae Semen* (ZSS), one of the major traditional Chinese medicine varieties, has been used as a sedative medicine in China for thousands of years. The classical application of ZSS is nourishing heart and tranquilizing mind, tonifying the liver, arresting the sweat and promoting the production of the body fluid. Up to now, extensive chemical studies have also been conducted, suggesting the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, and triterpene acids. Given the chemical diversity of ZSS, it is generally considered that the biological activity and pharmacological effect were accomplished by an array of phytochemicals. Due to complicated chemical composition of ZSS, compounds can be absorbed into circulation and then converted into even more metabolites. This review summarizes the recent advances in pharmacokinetics, absorption, and distribution, as well as biotransformation and/or metabolism of chemical compounds from ZSS, which might greatly contribute to supply the research target and scientific basis in clarifying the effective substance basis and the quality marker (Q-marker) of ZSS.

**Key words:** *Ziziphi Spinosae Semen*; pharmacokinetics; metabolism; effective and active compounds; quality marker (Q-marker)

收稿日期: 2018-09-13

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81603289); 国家自然科学基金青年基金项目(81603251); 山西省科技攻关计划-振东专项(2014ZD0306, 2016ZD0105, 2016ZD0104); 山西省基础研究计划项目自然科学基金项目(2015011105); 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室(201605D111004); 山西省研究生联合培养基地人才培养项目(2017JD01)

作者简介: 闫艳, 博士, 讲师, 研究方向为中药体内过程研究及中药质量控制。Tel: (0351)7018379 E-mail: yanyan520@sxu.edu.cn

\*通信作者 杜晨晖, 副教授, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (0351)3179979 E-mail: 13653412562@163.com  
秦雪梅, 教授, 研究方向为中医药代谢组学。Tel: (0351)7018379 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

酸枣仁 *Ziziphi Spinosae Semen* 为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子<sup>[1]</sup>。始载于《神农本草经》：“酸枣，主心腹寒热，邪结气聚，四肢酸疼，湿痹。久服安五藏，轻身延年”，列为上品。《名医别录》中首次明确提出其治疗失眠的作用，曰：“酸枣：无毒。主治烦心不得眠”。现代药理研究表明，酸枣仁具有改善睡眠、抗焦虑、抗氧化及心肌保护等广泛的药理作用<sup>[2-5]</sup>。酸枣仁作为临床上治疗失眠的首选药物<sup>[6]</sup>，使用频率高达 67.3%，远超其他常用安神类中药<sup>[7]</sup>。

迄今国内外学者已从酸枣仁中分离鉴定出 131 种化合物，主要分为皂苷类、黄酮类、生物碱类、脂肪酸类和其他类。其中皂苷类成分包括达玛烷型三萜皂苷类化合物 20 种、五环三萜类 14 种、黄酮类 34 种、生物碱类 18 种、脂肪酸 41 种、酚类 4 种<sup>[8-10]</sup>。可见，酸枣仁化学成分较清晰，结构复杂多样，而化学成分的多样性决定了其生物学活性和药理学作用的多样性，同时也会显著影响酸枣仁化学成分的药动学特性，即化学成分在体内的吸收、分布、代谢、排泄等过程。伴随酸枣仁体内化学成分研究的不断深入及中药分析技术的飞速发展，众多学者在酸枣仁化学成分的药动学及代谢研究领域做出了有益的探索。本文总结和综述酸枣仁化学成分药动学及代谢研究进展，以期从体内过程的角度进行深度发掘和分析，为酸枣仁药效物质发现提供新的研究方向，同时为酸枣仁质量标志物的筛选和确定提供科学参考。

## 1 药动学研究

### 1.1 黄酮类成分药动学研究

黄酮类化合物是酸枣仁发挥镇静催眠作用的一类重要成分<sup>[11]</sup>。酸枣仁多以芹菜素为母核形成黄酮碳苷类化合物。国内学者 Li 等<sup>[12]</sup>率先展开了黄酮类成分药动学研究。首次采用 HPLC-UV 法，以磺胺甲唑为内标，给予大鼠 ig 酸枣仁 95% 乙醇提取物 (20 g/kg)，对血浆中的斯皮诺素进行药动学研究。采用一室模型计算，其最大血药浓度 ( $C_{max}$ ) 为 (224±82)  $\mu\text{g/L}$ ，达峰时间 ( $t_{max}$ ) 为 (5.5±0.6) h，半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 为 (5.8±0.9) h。随后 Li 等<sup>[13]</sup>采用 HPLC-DAD 研究了正常大鼠 iv 斯皮诺素 (20 mg/kg) 的药动学行为。采用二室模型计算参数， $C_{max}$  为 (252.7±6.1)  $\mu\text{g/mL}$ 。随着分析技术和仪器的飞速发展，该课题组<sup>[14]</sup>建立了 LC-MS/MS 测定大鼠血浆中斯皮诺素

浓度的方法，并应用于大鼠 ig 斯皮诺素 (20 mg/kg) 的药动学研究。其  $C_{max}$  为 (132.2±10.6)  $\text{ng/mL}$ ， $t_{max}$  为 (5.33±0.58) h，并计算其绝对生物利用度为 2.2%。鲍康德等<sup>[15]</sup>采用 SPE-HPLC-DAD 法研究了正常大鼠 ig 酸枣仁总黄酮提取物 (180 mg/kg) 后，斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素的药动学行为。结果表明，斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素  $t_{max}$  分别为 6、4 h， $C_{max}$  分别为 86.23、59.98  $\mu\text{g/L}$ 。由此可见，与 6'''-阿魏酰斯皮诺素相比，斯皮诺素在体内吸收慢，同时清除速度较缓慢。Qiao 等<sup>[16]</sup>建立了 LC-MS/MS 同时测定正常大鼠血浆和组织中斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素浓度的方法。正常大鼠分别 iv 斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素单体 (5 mg/kg) 后，两者表现出相同的动力学趋势，均在 0.75 h 快速减少。此外，6'''-阿魏酰斯皮诺素  $C_{max}$  值明显低于斯皮诺素，与 ig 给予酸枣仁黄酮提取物的结果一致，这可能与阿魏酰基致脂溶性增加有关。而斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素的  $t_{1/2}$  分别为 (1.39±0.11) h 和 (2.25±0.52) h，说明 6'''-阿魏酰斯皮诺素较斯皮诺素消除速度慢。Zhao 等<sup>[17]</sup>对正常大鼠 iv 6'''-对香豆酰斯皮诺素 (4 mg/kg) 的药动学进行考察，该化合物在 0.17 h 达峰， $C_{max}$  为 1.71  $\mu\text{g/mL}$ ，并且在 3 h 内迅速减少至 0.04  $\mu\text{g/mL}$ ，其  $t_{1/2}$  为 (1.86±0.15) h。

Ma 等<sup>[18]</sup>采用在体微透析串联 LC-MS 方法分析了斯皮诺素和 P-糖蛋白 (P-gp) 抑制剂环孢菌素 A (CsA) 在大鼠血液、脑透析液和胆汁中的相互作用。结果表明，斯皮诺素和 CsA 共同 iv 时，斯皮诺素血药浓度-时间曲线下面积 (AUC) 从 205.70  $\text{min}\cdot\text{mg/L}$  增加到 673.51  $\text{min}\cdot\text{mg/L}$ ，胆汁 AUC 从  $7.77\times 10^4$   $\text{min}\cdot\text{mg/L}$  增加到  $1.25\times 10^5$   $\text{min}\cdot\text{mg/L}$ ，脑组织 AUC 从 2.09  $\text{min}\cdot\text{mg/L}$  增加到 5.58  $\text{min}\cdot\text{mg/L}$ 。斯皮诺素在脑内浓度的增加主要是由于 CsA 抑制了血脑屏障上 P-gp 的表达所致。另外，斯皮诺素与 CsA 共同 iv 后，胆汁中斯皮诺素浓度在 0~40 min 持续降低。表明 CsA 可以抑制肝细胞上 P-gp 外排转运体，减少了斯皮诺素由肝细胞进入胆汁。该研究结果表明干预 P-gp 可以显著影响斯皮诺素的药动学行为。

### 1.2 酸枣仁皂苷类成分药动学研究

酸枣仁皂苷是酸枣仁中另一大类化学成分，其中属于四环三萜达玛烷型的酸枣仁皂苷 A、B (JuA、B) 含量最高，且是发挥镇静安神作用的主要活性

成分。有关酸枣仁皂苷的药动学研究起步较晚，可能与其在酸枣仁中含量较低不易获得有关。王超等<sup>[19]</sup>按 40 mg/kg JuA 分别 iv 和 ig 给予正常大鼠后，采用 LC-MS/MS 分析了 JuA 在大鼠体内动力学特征。JuA ig 给药后， $t_{max}$  为 3 h， $C_{max}$  为 37.31 ng/mL；而 iv 给药后， $t_{max}$  为 0.167 h， $C_{max}$  为 1 161.10 ng/mL。iv 给药后的  $C_{max}$  是 ig 给药的 40 倍。JuA 的生物利用度仅为 1.32%。Liu 等<sup>[20]</sup>采用 LC-MS/MS 法考察了正常大鼠 ig 给予 30 mg/kg JuA 的药动学行为。采用非房室模型计算，大鼠血浆  $C_{max}$  平均值为  $(252.4 \pm 39.7)$  ng/mL， $t_{max}$  平均值为  $(2 \pm 0)$  h。Zheng 等<sup>[21]</sup>建立了 LC-MS/MS 测定大鼠血浆中酸枣仁皂苷 B (JuB) 的方法。JuB (15 mg/kg) iv 给药后， $C_{max}$  为  $(475.51 \pm 106.21)$   $\mu$ g/L；相反，ig 给药后，JuB 的  $C_{max}$   $(1.81 \pm 0.48)$   $\mu$ g/L 较低，是 iv 给药的 1/263，且  $t_{max}$  延长， $AUC_{0 \sim t}$  减少，而消除速率 (CL) 增加。通过计算其绝对生物利用度为 3.6%。结果表明 ig 给药后 JuB 主要分布在组织中，在体内代谢速度较 iv 给药快。

基于以上分析，酸枣仁黄酮类和皂苷类化合物药动学研究对象主要集中在斯皮诺素、6'''-阿魏酰斯皮诺素、6'''-对香豆酰斯皮诺素、JuA 和 JuB 几个单体化合物。斯皮诺素、6'''-阿魏酰斯皮诺素

和 6'''-对香豆酰斯皮诺素在体内的暴露程度和药动学行为有很大区别。6'''-阿魏酰斯皮诺素和 6'''-对香豆酰斯皮诺素消除均慢于斯皮诺素，说明阿魏酰基和香豆酰基等非极性取代基团可能对斯皮诺素衍生物的药动学行为产生明显的影响。斯皮诺素、JuA 和 JuB 的生物利用度均较低。其中 JuB 生物利用度略高于 JuA，可能与 JuB 分子结构上比 JuA 少一个葡萄糖更容易吸收有关。Chen 等<sup>[22-23]</sup>利用吸收、分布、代谢、排泄、毒性 (adsorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity, ADMET) 性质预测和三维定量构效关系研究表明，酸枣仁皂苷类成分可能不是通过其原型，而是通过其代谢产物发挥改善睡眠的药理作用。由此推测斯皮诺素、JuA 和 JuB 生物利用度较低的原因，可能是这些成分在体内发生代谢转化，最终以代谢产物形式发挥药理作用。酸枣仁黄酮类和皂苷类成分的药动学特点见表 1。

## 2 吸收

口服是中药最常见的给药方式，药物的吸收是产生体内活性的先决条件，是整个体内过程的源头和起点，因此对中药口服吸收效果的评价分析具有重要意义。目前研究药物吸收的实验方法主要包括整体或者离体 2 种类型。章新晶<sup>[25]</sup>采用 Caco-2 单层

表 1 酸枣仁黄酮类和皂苷类成分的药动学特点 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Pharmacokinetic characteristic of flavonoids and spanonins in *Ziziphi Spinosae Semen* ( $\bar{x} \pm s$ )

成分	给药方式	剂量	$C_{max}$	$t_{max}/h$	$t_{1/2}/h$	CL	$AUC_{0 \sim t}$
斯皮诺素 <sup>[12]</sup>	ig	20 g·kg <sup>-1</sup>	$(224 \pm 82)$ $\mu$ g·L <sup>-1</sup>	5.5±0.6	5.8±0.9	—	—
斯皮诺素 <sup>[13-14]</sup>	iv	20 mg·kg <sup>-1</sup>	—	—	$(6.66 \pm 0.576)_a / (51.5 \pm 11.7)_b$ min	$(1.42 \pm 0.201)$ L·min <sup>-1</sup>	$(2.83 \pm 0.412)$ min·ng·mL <sup>-1</sup>
	ig	20 mg·kg <sup>-1</sup>	$(132.2 \pm 10.6)$ ng·mL <sup>-1</sup>	5.33±0.58	4.89±0.37	—	$(1.02 \pm 0.09)$ h· $\mu$ g·L <sup>-1</sup>
斯皮诺素 <sup>[15]</sup>	ig	180 mg·kg <sup>-1</sup>	86.32 mg·L <sup>-1</sup>	5.95	5.34	$0.06$ L·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	269.02 h·mg·mL <sup>-1</sup>
6'''-阿魏酰斯皮诺素 <sup>[15]</sup>	ig	180 mg·kg <sup>-1</sup>	59.98 mg·L <sup>-1</sup>	4.03	5.38	$0.45$ L·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	188.74 h·mg·mL <sup>-1</sup>
6'''-阿魏酰斯皮诺素 <sup>[16]</sup>	iv	5 mg·kg <sup>-1</sup>	$(4\ 060.58 \pm 321.24)$ mg·L <sup>-1</sup>	0.075	2.25±0.52	—	$(2\ 669.50 \pm 149.79)$ h·ng·mL <sup>-1</sup>
斯皮诺素 <sup>[16]</sup>	Iv	5 mg·kg <sup>-1</sup>	$(5\ 250.23 \pm 322.88)$ mg·L <sup>-1</sup>	0.075	1.39±0.11	—	$(3\ 374.96 \pm 172.12)$ h·ng·mL <sup>-1</sup>
6'''-香豆素斯皮诺素 <sup>[17]</sup>	iv	4 mg·kg <sup>-1</sup>	1.71 $\mu$ g·mL <sup>-1</sup>	0.17	1.86±0.15	—	$(0.63 \pm 0.06)$ h· $\mu$ g·mL <sup>-1</sup>
酸枣仁皂苷 A <sup>[19-20,24]</sup>	iv	40 mg·kg <sup>-1</sup>	1 161.10 ng·L <sup>-1</sup>	0.167	3.465	—	215.21 h·ng·mL <sup>-1</sup>
	ig	40 mg·kg <sup>-1</sup>	37.31 ng·L <sup>-1</sup>	3	9.365	—	4 389.32 h·ng·mL <sup>-1</sup>
	ig	30 mg·kg <sup>-1</sup>	$(252.4 \pm 39.7)$ ng·mL <sup>-1</sup>	2.0±0	6.7±0.9	$(13.95 \pm 2.47)$ L·h <sup>-1</sup>	$(1\ 989.6 \pm 421.7)$ h·ng·mL <sup>-1</sup>
	ig	20 mg·kg <sup>-1</sup>	42.84 ng·mL <sup>-1</sup>	2.0	1.35	—	206.02 h·ng·mL <sup>-1</sup>
	iv	4 mg·kg <sup>-1</sup>	853.97 ng·mL <sup>-1</sup>	0.17	2.55	—	2 839 h·ng·mL <sup>-1</sup>
酸枣仁皂苷 B <sup>[22]</sup>	iv	1.5 mg·kg <sup>-1</sup>	$(475.51 \pm 106.21)$ $\mu$ g·L <sup>-1</sup>	0.08±0.00	$(0.35 \pm 0.09)_a / (4.92 \pm 5.92)_b$	$(0.68 \pm 0.14)$ L·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	$(2\ 254.70 \pm 409.36)$ h· $\mu$ g·L <sup>-1</sup>
	ig	15 mg·kg <sup>-1</sup>	$(1.81 \pm 0.48)$ $\mu$ g·L <sup>-1</sup>	0.46±0.17	2.61±0.88	$(351.93 \pm 358.73)$ L·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	$(64.20 \pm 41.20)$ h· $\mu$ g·L <sup>-1</sup>

$\alpha$ - $t_{1/2a}$   $\beta$ - $t_{1/2b}$

细胞模型对 JuA 进行细胞摄取和转运实验, 表明其摄取存在时间依赖性, 其细胞摄取机制可能是被动转运与主动转运共同参与的过程。张婷等<sup>[26]</sup>建立了大鼠胃肠道吸收模型, 采用在体原位灌注的方法, 研究斯皮诺素在大鼠胃肠道的吸收。结果表明斯皮诺素在胃肠道各部分均有吸收, 在胃中的吸收最好, 吸收能力按胃、十二指肠、结肠、空肠和回肠的顺序依次下降; 其在肠道内的吸收为一级动力学过程, 吸收机制为被动扩散, 且不受药物浓度和 pH 的影响。目前, 酸枣仁化学成分吸收只局限于对 JuA 和斯皮诺素单体成分的初步研究。然而, 单一化学成分的吸收并不能真实地反映中药多成分在机体内的吸收特点, 同时容易忽略其他多成分对于吸收的影响, 因此酸枣仁多成分共同吸收机制研究亟待加强。

### 3 分布

基于对药物传输及体内过程的基本认识, 那些吸收入血直至达到靶器官的成分才可能是最终的“效应成分”, 因此, 研究中药化学成分在靶器官的组织分布是阐释其效应成分的重要路径。

#### 3.1 斯皮诺素

Li 等<sup>[13]</sup>首次研究了正常大鼠 iv 斯皮诺素 (20 mg/kg) 后组织分布情况。结果表明, 其在体内分布广泛, 其中以肝中浓度最高, 其次为肾脏、心脏和脾脏; 脑、肺和睾丸分布浓度较低; 在平滑肌和骨骼肌未检测到。此外, 斯皮诺素给药 20 min 后脑中分布量达到峰值, 45 min 后从脑内完全消失, 可见其在脑内蓄积和代谢速度均较快。Zhang 等<sup>[27]</sup>采用 LC-MS/MS 研究了大鼠 iv 给予斯皮诺素 (5 mg/kg) 后脑组织不同区域分布情况。斯皮诺素能迅速透过血脑屏障, 广泛分布于脑组织不同部位。给药 0.25 h 后, 海马和纹状体是斯皮诺素主要分布组织; 4 h 后斯皮诺素在海马、纹状体和小脑的质量分数仍大于 16 ng/g。另外, 斯皮诺素在大脑中的消除率最快, 4 h 时已检测不到。该研究结果进一步说明, 斯皮诺素可透过血脑屏障, 且广泛地分布于脑组织不同部位。

#### 3.2 斯皮诺素衍生物

Qiao 等<sup>[16]</sup>采用 LC-MS/MS 法比较了正常大鼠 iv 给予 6'''-阿魏酰斯皮诺素 (5 mg/kg) 和斯皮诺素 (5 mg/kg) 的组织分布情况。给药 0.5 h 后, 6'''-阿魏酰斯皮诺素在肠道分布质量浓度最高 (2435.75 ± 216.48) ng/mL, 推测其为主要的蓄积脏器; 其浓度分布顺序依次为肠 > 肝 > 脾 > 肾 > 心 > 肺 > 肌肉 > 胃 > 大脑 > 小脑, 提示 6'''-阿魏酰斯皮

诺素分布快速且广泛。斯皮诺素则主要分布在肝脏、肾脏和脾脏, 提示 2 种黄酮在体内分布途径可能不同, 与 Li 等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。另外, 6'''-阿魏酰斯皮诺素在大脑和小脑分布均较少, 且在不到 2 h 即被消除; 而斯皮诺素在小脑内 4 h 后仍可检测到, 在大脑 4 h 即被消除, 提示大脑和小脑是 6'''-阿魏酰斯皮诺素和斯皮诺素的共同靶器官。Zhao 等<sup>[17]</sup>研究了正常大鼠 iv 给予 6'''-对香豆酰斯皮诺素 (4 mg/kg) 后组织分布情况。给药 0.5 h 后, 6'''-对香豆酰斯皮诺素可以快速分布到多个脏器组织, 其中以小肠中质量分数最高 (9.32 ± 1.35) μg/g, 且在 2 h 内迅速下降, 其浓度分布顺序为肠 > 肌肉 > 肺 > 肝 > 胃 > 肾 > 脾 > 心 > 脑 > 小脑。

上述研究表明以单体形式 iv 给药, 斯皮诺素及其衍生物等 3 个黄酮化合物在体内分布非常相似, 广泛分布于心、肝、脾、肺、肾、胃、脑和小肠中, 且均能透过血脑屏障。其中斯皮诺素集中分布于肝脏, 其在脑内持续时间较长, 推测脑可能是斯皮诺素的靶器官。与斯皮诺素的体内分布规律比较, 6'''-阿魏酰斯皮诺素和 6'''-对香豆酰斯皮诺素的非极性取代基团对其体内分布影响明显, 两者表现出相似的组织分布特征, 均主要分布在肠道中, 由此推测上述 2 种斯皮诺素衍生物可能均是以肠道为靶器官发挥作用。

#### 3.3 酸枣仁皂苷

Zhang 等<sup>[28-29]</sup>研究了正常大鼠 iv 给予 JuA (2 mg/kg) 后组织分布情况。给药 0.25 h 后, 其在肠中质量浓度最高 (2 930.20 ± 518.96) ng/mL, 脑组织中分布最少 (144.27 ± 22.31) ng/mL。同时, JuA 在脑内不同区域含量差异显著, 其在海马神经元质量分数 (204 ng/g) 高于大脑 (144.27 ng/g)、嗅球 (9.42 ng/g) 和纹状体 (76.04 ng/g)。已有研究表明, 海马参与情感反应、运动控制等多种重要的行为调控, JuA 在大鼠海马区域的累积分布特点为阐明其治疗失眠机制指明了研究方向。此外, 4 h 后, JuA 在不同脑区域的质量浓度仍有 40 ng/g, 可见, 其在脑内分布持续时间较长。上述研究表明以单体形式静脉给药, JuA 主要分布在肠道内, 且可通过血脑屏障进入脑组织。崔瑛等<sup>[29-30]</sup>以“病证-效应-生物样本分析”方法研究了酸枣仁水煎液 (按生药计 10 g/kg) ig 给予阴虚焦虑型大鼠的体内分布情况。结果表明斯皮诺素和 JuA 在肝、心和脑组织中的首次检测时间最早, AUC<sub>0-7</sub> 较大, 维持时间较长, 说明

酸枣仁对肝、心和脑的选择性较强；提示斯皮诺素和 JuA 可能是酸枣仁改善睡眠的药效物质，同时酸枣仁主要化学成分体内分布规律与中医归经理论认为其归肝、心经一致性较强。

综上，目前酸枣仁化学成分组织分布研究对象集中于斯皮诺素、6''-阿魏酰斯皮诺素、6''-对香豆酰斯皮诺素和 JuA 4 个单体化合物，且多为 iv 给药。以上研究在取得大量宝贵的科学信息的同时，却忽视了不同化合物之间相互作用及对于组织分布的影响。

#### 4 代谢

口服中药在体内的代谢主要包括肠内菌群代谢和肝脏代谢。中药通过消化道必然要经受胃肠道酸碱环境、内源性生物分子、胃肠酶系、肠道微生物及肝脏代谢酶等因素的影响，并发生一系列的代谢或转化反应。

##### 4.1 肠道菌群代谢转化

肠道菌群是人体最庞大、最重要的微生态系统之一。利用人体肠道菌群对中药化学成分在体外进行代谢转化研究，可以更好地模拟中药化学成分在人体肠道内的代谢转化过程，从而阐明中药的药效物质成分及作用机制，肠道菌群已成为阐释中医药发挥其多成分、整体调控作用的重要途径<sup>[31]</sup>。随着“微生物-肠-脑轴”对中枢神经系统疾病调控机制逐渐被明确<sup>[32]</sup>，肠道菌群对酸枣仁化学成分的代谢研

究日益增多。

属于四环三萜类的酸枣仁皂苷类成分结合多个糖分子，相对分子质量较大，脂溶性差，经口服给药途径的生物利用度较低<sup>[22]</sup>；然而现代药理学已经证明酸枣仁皂苷是酸枣仁发挥改善睡眠作用的有效成分，具有起效慢、作用时间长等特点<sup>[33]</sup>。正如大部分人参皂苷并不是以原药形式吸收入血，而是通过肠道菌群代谢形成次生苷或苷元而发挥疗效一样。那么酸枣仁皂苷是否作为前药经口服给药后，被肠道菌群代谢成相应的次生苷或苷元而发挥疗效，需进行深入研究。马桂劫等<sup>[34]</sup>利用大鼠胃内容物对 JuA 进行体外转化。JuA 在大鼠胃内容物环境下，6 h 后降解了 55.63%，并检测到其 3 种降解代谢产物。Zhang 等<sup>[35-36]</sup>研究了大鼠粪便肠道菌群对 JuA 和 JuB 的生物转化作用。结果表明在 4~8 h 内肠道菌群可使 JuA 或 JuB 依次脱去葡萄糖（Glu）、阿拉伯糖（Ara）、木糖（Xyl）和鼠李糖（Rha），最终将酸枣仁皂苷转化成容易吸收的酸枣仁次级皂苷或酸枣仁皂苷元。张群等<sup>[37]</sup>研究结果同样表明肠道菌群可将 JuA 全部转化，转化产物为其次生苷 JuB。综上，基于体外肠道菌群代谢研究表明，酸枣仁皂苷类成分在肠道菌群作用下主要发生糖基水解反应，常见反应规律见图 1。以上研究结果进一步映证了本课题组的假设。

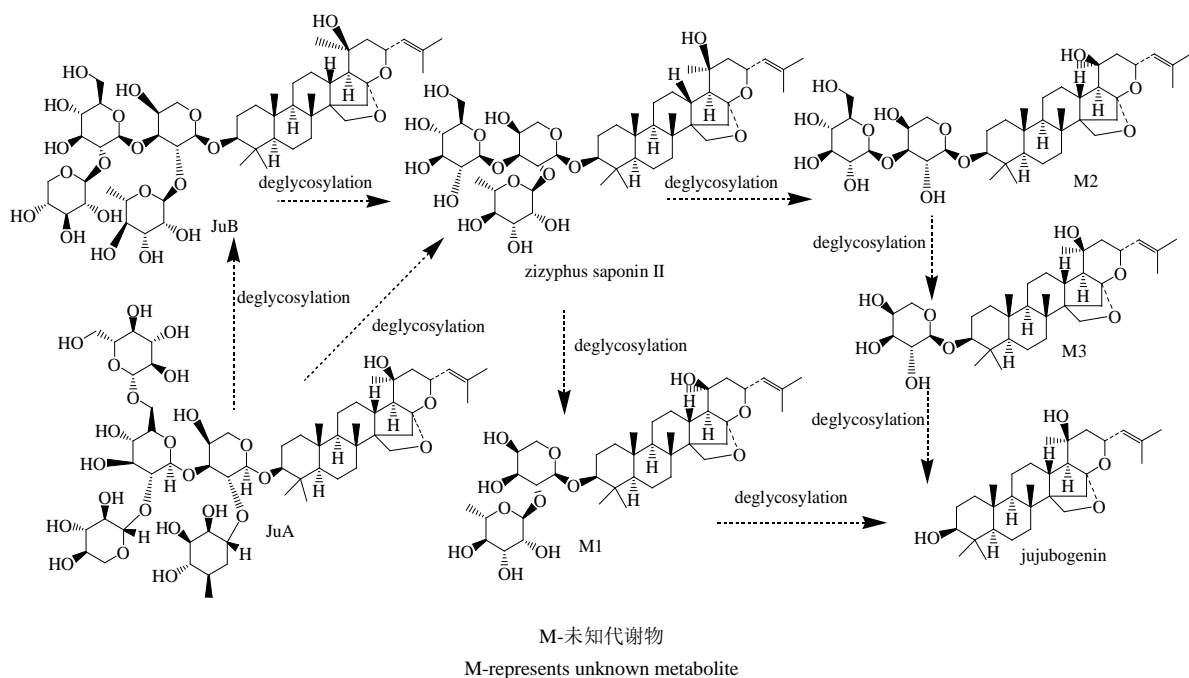


图 1 酸枣仁皂苷类成分肠道菌群代谢规律

Fig. 1 Elucidations for metabolic pathways of saponins in *Ziziphi Spinosa Semen* by intestinal microflora

马桂劫<sup>[38]</sup>利用液体芯片技术研究了肠道与脑的信息交流关系, 研究显示 JuA 一方面会显著调控肠道组织氨基丁酸 (GABA) 受体亚组 mRNAs 的表达, 另一方面会显著影响肠道组织中炎症细胞因子的水平, 提示肠道可能是酸枣仁皂苷类成分作用靶点之一, 该研究结论与酸枣仁皂苷类成分主要分布在肠道内研究结果相吻合。因此, 在考察酸枣仁皂苷体外活性时, 不仅要考虑原型药物的作用, 还要考虑其在体内代谢情况, 代谢物是否有活性及其活性强弱。酸枣仁皂苷经过肠道菌群生物转化后, 作用于肠道从而发挥改善睡眠作用这一假设值得深入研究。

以芹菜素为苷元的 6 位碳苷斯皮诺素及其衍生物的转化也是研究的热点之一。Zhang 等<sup>[39]</sup>利用 LC-MS/MS 技术对斯皮诺素的肠道菌群转化情况进行了初步研究。作为酸枣仁中含量最高的黄酮类化合物, 斯皮诺素与大鼠粪便共孵育 8 h 后, 超过 60% 会水解脱去 1 个葡萄糖基转化为次级代谢产物当药黄素。Song 等<sup>[40]</sup>研究了大鼠粪便肠道菌群对 6'''-阿魏酰斯皮诺素的体外生物转化作用。在 8~12 h 内, 6'''-阿魏酰斯皮诺素可被肠道菌群分别水解脱去 1 个阿魏酰基和葡萄糖基降解为斯皮诺素和当药黄素, 降解率可达 80% (图 2、表 2)。Jiao 等<sup>[41]</sup>研究发现 6'''-对香豆酰斯皮诺素也可被大鼠肠道菌群快速代谢, 但其代谢产物类型与其底物浓度相关。当 6'''-对香豆酰斯皮诺素质量浓度为 3  $\mu\text{g/mL}$  或 15  $\mu\text{g/mL}$  时, 其代谢产物主要为当药黄素; 当底物质量浓度为 30  $\mu\text{g/mL}$  时, 其代谢产物主要为斯皮诺素。该研究同时表明斯皮诺素和当药黄素可以有效促进海马神经元中谷氨酸受体 K1、K2 和 K3 的 mRNA 的转录, 具有神经保护作用。

由此可见, 酸枣仁黄酮碳苷类成分斯皮诺素及其衍生物均可被肠道菌群代谢转化为次级苷当药黄素, 这可能是斯皮诺素口服给药生物利用度较低的原因之一。目前酸枣仁中当药黄素 6 位碳苷是否能被肠道菌群代谢水解为苷元芹菜素尚未见报道。但是同以芹菜素为苷元的 8 位碳苷牡荆素可被肠道菌群水解为芹菜素, 且芹菜素进一步可被肠道菌群水解开环<sup>[42]</sup>。因此酸枣仁中斯皮诺素类黄酮碳苷的肠道菌群代谢转化机制值得进一步深入研究。

#### 4.2 肝脏代谢转化

药物在体内代谢的另外一个主要部位是肝脏, 而催化代谢反应的药酶主要存在于肝细胞微粒体。目前, 以肝脏为基础的体外代谢模型已广泛应用于

药物代谢研究中。张巧月<sup>[43]</sup>对斯皮诺素在人肝微粒体中代谢反应进行研究。采用 UHPLC-Q-TOF-MS 共鉴定了 8 种 I 相代谢产物。在 II 相代谢及 I 相和 II 相级联代谢反应的孵育样品中未发现新的代谢产物, 未检测到斯皮诺素葡萄糖醛酸化代谢产物。

#### 4.3 体内代谢转化

尽管酸枣仁化学成分肠道菌群和肝微粒体体外代谢研究已经取得许多重要的科学信息, 但是肠道菌群和肝微粒体体外代谢模型并不能全面模拟药物在体内复杂的代谢过程, 大鼠体内代谢模型是研究中药体内代谢过程重要技术手段之一。Bao 等<sup>[44]</sup>采用 HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> 分析了酸枣仁总黄酮提取物 (斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素质量分数 > 60%) 的化学成分, 并研究了正常大鼠口服酸枣仁总黄酮后血浆、尿液和粪便中的化学成分。结果在血浆、尿液和粪便中共鉴定和推断了 10 个黄酮碳糖类化合物, 包括 2 个原型化合物和 8 个代谢产物。其中 6'''-阿魏酰斯皮诺素、斯皮诺素、当药黄素及葡萄糖醛酸代谢产物在血浆和粪便中均可被检测到, 与张巧月<sup>[43]</sup>的研究结果有一定的区别, 说明肝微粒体体外代谢具有一定的局限性。张雷等<sup>[45]</sup>报道了大鼠 ig 酸枣仁总黄酮提取物后, 在尿液和粪便中主要以原型药斯皮诺素和 6'''-阿魏酰斯皮诺素形式排出, 主要代谢产物为当药黄素, 但代谢产物的含量整体较少。Ren 等<sup>[46]</sup>采用 HPLC/FTICR-MS 法鉴定了大鼠和狗口服酸枣仁 70% 乙醇提物后尿液及粪便中的代谢产物。该研究从大鼠尿液中鉴定了 13 个代谢产物; 狗尿液中鉴定了 8 个代谢产物; 大鼠和狗粪便中鉴定 8 个代谢产物。斯皮诺素是粪便及尿液中含量最高的化合物。黄酮类原型化合物均在 0~24 h 内不断减少, 而当药黄素含量几乎保持不变。本课题组<sup>[47-48]</sup>也深入研究了正常大鼠 ig 给予酸枣仁水提物后血清和尿液中的代谢物, 首次报道酸枣仁特有生物碱酸李碱的体内代谢途径, 其主要发生了肝脏 I 相 N-去甲基反应; 皂苷类主要参与了肠道水解反应; 斯皮诺素及其衍生物在体内主要参与了肝脏 I 相氧化、脱烷基代谢反应, II 相葡萄糖醛酸结合反应及肠道水解反应生成斯皮诺素, 同时斯皮诺素发生糖基水解反应生成当药黄素。由此可见, 当药黄素是斯皮诺素及其衍生物在生物体内最重要的末端代谢产物。具体代谢反应途径见图 2、表 2。

在中药配伍条件下, 中药化学成分之间的相互作用, 会对中药化学成分的代谢规律产生较大影响。

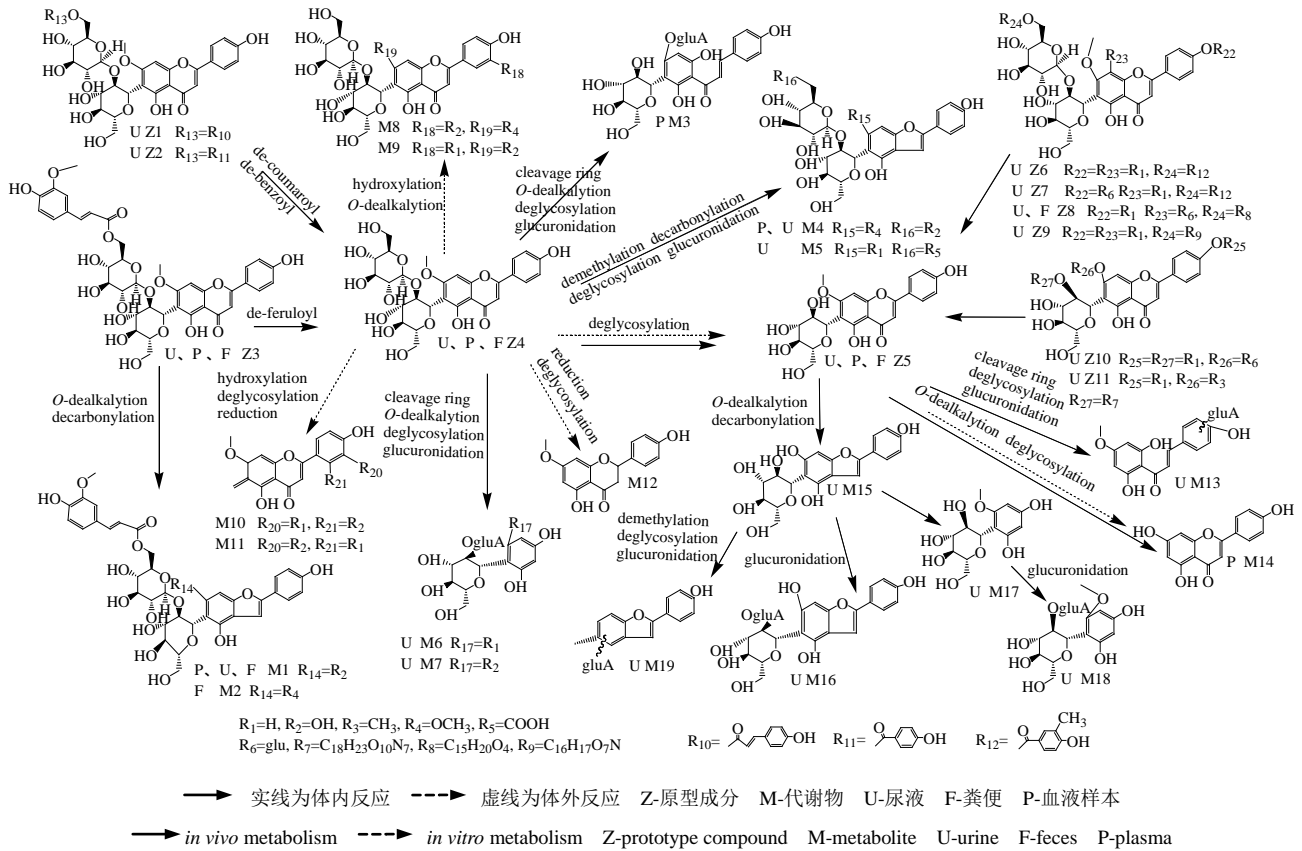


图 2 酸枣仁黄酮类成分的主要代谢规律

Fig. 2 Elucidations for metabolic pathways of flavonoids in *Ziziphi Spinosae Semen*

表 2 酸枣仁黄酮类化合物体内内外代谢产物

Table 2 Metabolites of flavonoids in *Ziziphi Spinosae Semen* *in vivo* and *in vitro*

序号	化合物	序号	化合物
Z1	6''-p-coumaroylspinosin	M5	未知
Z2	6''-p-hydroxyl benzoylspinosin	M6	未知
Z3	6''-feruloylspinosin	M7	未知
Z4	spinosin	M8	未知
Z5	swertisin	M9	未知
Z6	未知	M10	未知
Z7	未知	M11	未知
Z8	未知	M12	未知
Z9	未知	M13	methylapigenin-gluA
Z10	saponarin	M14	apigenin
Z11	未知	M15	未知
M1	未知	M16	swertisin-furane-glycoside-gluA
M2	未知	M17	未知
M3	未知	M18	未知
M4	未知	M19	未知

王羽凝等<sup>[49]</sup>采用 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 方法研究芍药胶囊中酸枣仁中斯皮诺素在抑郁大鼠模型体内的代谢规律,通过分析口服 42.5 g/kg 芍药胶囊大鼠的血液、尿液、粪便和全脑,归纳和总结斯皮诺素的代谢途径。结果显示,血浆、粪便和尿液样品中均未发现斯皮诺素原型成分,而在血浆和尿液样品中发现当药黄素、斯皮诺素的酚酸糖酯代谢产物和斯皮诺素脱羰基代谢产物。表明在与其他中药化学成分的相互作用下,斯皮诺素进入大鼠体内后可被完全代谢,提示中药复方配伍会对酸枣仁化学成分的代谢规律产生较大影响。

本课题组<sup>[47-48]</sup>在研究正常大鼠 ig 给予酸枣仁水提物后血清和尿液的代谢产物过程中,发现酸枣仁皂苷 G (JuG) 在给药 6、12、24 h 尿液中均被检测到,而比 JuG 多一个葡萄糖的酸枣仁皂苷 H (JuH) 仅在 6 h 尿液中被检测到,推测 JuH 在 6 h 后可被完全代谢成 JuG。而 JuA、JuB、JuG 和 JuH 在血液和尿液中均被检测到,说明酸枣仁皂苷类成分在肠道内的水解反应是不完全的,酸枣仁皂苷类成分及其肠道菌群代谢产物均可进入体循环,进而发生体

内代谢反应并发挥其生物学作用,最终经尿液排泄。

综上所述,酸枣仁黄酮类和皂苷类成分在进入胃肠道后,经历了复杂的生物转化过程。以斯皮诺素为母核的黄酮类化合物主要在肠道和肝脏发生代谢反应,在肠道中主要发生水解反应和环裂解反应;而皂苷类成分的代谢器官主要是肠道,主要以肠道菌群的脱糖基水解反应为主;生物碱类发生了 I 相 N-脱烷基反应。

### 5 基于“质-效-代”关联的酸枣仁质量标志物的发现

多数情况下中药有效成分需要吸收入血,通过代谢转化生成活性产物后才能发挥整体药效作用。因此,基于体内过程发现中药的有效成分群是一条确实可行的途径。实质上,酸枣仁中化学成分种类丰富,以斯皮诺素为母核的黄酮碳糖和酸枣仁皂苷在药材中含量较高,但由于其在肠道即被水解使其生物利用度低,代谢消除迅速而难以在体内达到有效浓度。这种药代、药效表面矛盾的现象提示酸枣仁皂苷和黄酮类成分,可能在体内通过广泛的代谢转化后生成活性代谢产物进而发挥改善睡眠作用。由此可见,探究酸枣仁改善睡眠有效成分时,不能只关注体外活性成分而忽视体内代谢问题<sup>[50]</sup>。此外,中药效应物质的阐明是中药质量控制的基础和前提。因此,未来应从质量传递与溯源的角度出发,开展酸枣仁全面、系统的药动学和代谢研究,建立酸枣仁与“质-效-代”关联的质量评价研究模式,从而为阐释酸枣仁的药效物质提供科学依据,为其质量标志物的筛选和确定提供新的研究策略<sup>[51]</sup>。

### 6 总结与展望

中药的药动学及体内代谢研究是阐明中药作用机制的重要途径,也一直是中药现代化研究的难点。酸枣仁是中医治疗失眠的首选药物,临床上酸枣仁广泛用于失眠、焦虑、室性早搏和免疫力低下等疾病的治疗,疗效确切<sup>[52]</sup>。随着酸枣仁植物化学成分的深入研究,其化学成分基本清晰,具有多样性的化学结构。纵观酸枣仁化学成分药动学及代谢研究成果,不难发现许多科学工作者主要专注于黄酮碳苷类和四环三萜皂苷类几个单体成分的研究,取得了可喜的成绩,主要表现在以下几个方面:(1)黄酮碳苷和皂苷类成分作为酸枣仁中主要的化学成分在药材中含量较高,然而在血中暴露量低、生物利用度小于 5%。(2)2 种类型成分均可透过血脑屏障,蓄积量极低,而肠道是上述 2 种化学成分主要分布的器官,提示肠道可能是酸枣仁化学成分发挥改善

睡眠作用的重要靶点之一。大量文献报道,与失眠相关的神经递质,其相应的 5-羟色胺 A1 受体(5-HTA1)和 GABA $\alpha$  受体在肠道分布较多,进一步提示“脑病外治”或“脑病肠治”可能是酸枣仁改善睡眠作用机制研究的重点及方向<sup>[53]</sup>。(3)酸枣仁皂苷和黄酮类成分被肠道菌群通过脱糖基水解反应代谢转化成相应的次级苷或苷元。(4)酸枣仁黄酮类和皂苷类成分在进入胃肠道后,经历了复杂的生物转化过程,肠道水解、肝脏 I 相代谢及 II 相结合反应是主要的反应类型。(5)酸枣仁中含量较高的生物碱类及五环三萜类成分血清药物化学及体内代谢研究鲜见报道。

由此可见,现阶段酸枣仁化学成分的体内过程研究模式基本上套用了化学药物的研究模式,且研究内容和技术略显薄弱。因此,面对多成分与多靶点起效的酸枣仁体内化学成分或药效成分研究时,必须引入新的思路与更加完善的研究方法体系。

### 6.1 秉承经典——基于中药整体观的酸枣仁代谢研究

众所周知,中药治疗疾病是多成分、多靶点起作用,作用模式不同于单组分的化学药物。简单地套用化学药的研究模式,忽视了中医药理论的整体性和配伍特点,不能反映中药代谢的全貌及组分药代的配伍机制。因此,阐明中药的体内代谢过程,必须结合中医药理论和用药特点,保持复杂体系的整体性,兼顾各类化学成分,才有可能全面阐释中药的药效物质<sup>[54]</sup>。

**6.1.1 质变代谢——酸枣仁多成分药物代谢研究** 质变代谢即是中药在体内各种酶的作用下可发生 I 相、II 相代谢反应,导致药物化学结构上的转变<sup>[55]</sup>。酸枣仁单体化学成分代谢研究积累已较丰富,但亟需结合中药多成分同时显效并代谢的特点,提升多成分整体研究。酸枣仁代谢问题应着眼于多成分质变代谢的即时、并行研究,关注多成分整体动态代谢及单成分相互代谢影响。针对酸枣仁临床口服给药的特点,以序贯代谢和多重代谢方法开展酸枣仁多成分代谢研究<sup>[56]</sup>。针对酸枣仁多成分消化道和代谢部位的差异,进行时序并发关联性、多重代谢序列及因果量化关联性探索研究。

**6.1.2 量变代谢——病理模型下酸枣仁多成分药动学研究** 量变代谢即是中药同系成分群,可经肠道菌群发生水解、降解等代谢反应,产生的代谢物是中药中的原有成分,但改变了原中药中各成分的构



成比,体现了中药代谢的特殊性<sup>[53]</sup>。酸枣仁富含黄酮类、皂苷类、生物碱类和三萜酸类等多种结构类型的化学成分,而不同类型成分的药动学特征大相径庭。那么不同结构类型化学成分的量变代谢值得深入研究。已有研究表明酸枣仁中斯皮诺素及其衍生物可被肠道菌群水解产生酸枣仁中原有成分当药黄素。酸枣仁黄酮类成分在体内量变代谢后的构成比需深入研究。另一方面,机体处于病理状态下中药才能体现其药效<sup>[57]</sup>。因此,基于疾病状态(如失眠动物模型),开展酸枣仁量变代谢-多成分药动学研究,阐释酸枣仁化学成分的整体药动学特征更具有实际意义。

## 6.2 共举创新——运用多种技术方法开展酸枣仁药动学及代谢研究

中药作为复杂体系,在以中医理论整体观为指导开展代谢研究的同时,还需要通过多种新技术进行辅助分析,得到尽可能多的信息数据,进行多角度综合辨识。现有研究显示,酸枣仁药动学及代谢产物的鉴定分析基本停滞在传统分析技术水平上。随着 LC/MS 等分析技术的发展,代谢产物鉴定及多成分药动学研究已有较成熟的平台。日新月异的新型数据处理技术为中药体内药物分析带来了更准确与完美的代谢物鉴定的拟合与表征手段。如质量亏损过滤技术,可依据中药的同类成分具有相似的元素组成和质量亏损值,通过限定质量亏损范围,完成同类化合物的快速鉴定,解决了生物样本中基质干扰的问题。该方法已成功应用于中药及中成药体内代谢研究中,如王广基院士课题组成功建立了“质量亏损过滤”中药分析关键技术,并成功解析了麦冬等质变代谢产物<sup>[58]</sup>。离子过滤和中性丢失过滤结合模式,根据母体药物的产物类型或者结合物的常见碎片类型预测代谢物的产物离子和中性丢失,目前已成功应用于中药代谢物的鉴定中,如叶敏教授课题组采用该方法成功分析了甘草和葛根芩连汤中复杂的代谢产物<sup>[59-60]</sup>。此外,背景扣除和同位素过滤也应用于药物代谢物的分析中。毋庸置疑,这些创新的方法将为酸枣仁体内代谢的研究与实践提供更强有力的技术支撑。

### 参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

[2] You Z L, Xia Q, Liang F R, *et al.* Effects on the expression of GABA<sub>A</sub> receptor subunits by jujuboside A treatment in rat hippocampal neurons [J]. *J*

*Ethnopharmacol*, 2010, 128(2): 419-423.

- [3] Liu J, Zhai W M, Yang Y X, *et al.* GABA and 5-HT systems are implicated in the anxiolytic-like effect of spinosin in mice [J]. *Pharmacol Biochem Be*, 2015, 128: 41-49.
- [4] Xie J B, Zhang Y Q, Wang L J, *et al.* Composition of fatty oils from *Semen Ziziphi Spinosae* and its cardiotoxic effect on isolated toad hearts [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(5): 479-483.
- [5] Alreza S M, Bajpai V K, Kang S C. Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from *Zizyphus jujuba* [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(9): 2374-2380.
- [6] 叶琳. 酸枣仁效用与临床应用分析 [J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(7): 74-75.
- [7] 朱红霞, 胡学军. 中药治疗失眠的现代用药规律研究 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(4): 775-776.
- [8] 马进杰, 刘萍, 马百平. 酸枣仁化学成分及其镇静催眠作用研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(3): 206-211.
- [9] 耿欣, 李廷利. 酸枣仁主要化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药学报, 2016, 44(5): 84-86.
- [10] Kim J H. Chemical compounds in the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* [J]. *Koren Herb Med Inf*, 2016, 4(1): 13-28.
- [11] 宋伟, 唐生安, 曹冰雁, 等. 酸枣仁黄酮部位不同配伍的解郁安神作用及谱-效相关性分析 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1123-1131.
- [12] Li Y J, Liang X M, Xiao H B, *et al.* Pharmacokinetic study on spinosin in rat plasma after oral administration of Suanzaoren extract at a single dose [J]. *Acta Pharm Sin*, 2003, 38(6): 448-450.
- [13] Li Y J, Dai Y H, Yu Y L, *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of spinosin after intravenous administration in rats [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2007, 127(8): 1231-1235.
- [14] Li Y J, Yao M, Cheng S. Quantitative determination of spinosin in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2008, 48(4): 1169-1173.
- [15] 鲍康德, 赵继红, 齐炼文. SPE-HPLC-DAD 同时测定大鼠血浆中斯皮诺素和 6''-阿魏酰斯皮诺素的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(7): 707-711.
- [16] Qiao L D, Liu Y, Chen X Y, *et al.* A HPLC-MS/MS method for determination of 6''-feruloylspinosin in rat plasma and tissues: Pharmacokinetics and tissue distribution study [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2016, 121: 77-83.

- [17] Zhao X T, Liu J J, Wen Z Y, *et al.* The pharmacokinetics and tissue distribution of coumaroylspinosin in rat: a novel flavone C-glycoside derived from *Zizyphi Spinosi Semen* [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1046: 18-25.
- [18] Ma R H, Yang J, Qi L W, *et al.* *In vivo* microdialysis with LC-MS for analysis of spinosin and its interaction with cyclosporin A in rat brain, blood and bile [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2012, 61(5): 22-29.
- [19] 王 超. 酸枣仁中有效成分的提取及在大鼠体内的吸收研究 [D]. 天津: 天津商业大学, 2011.
- [20] Liu C H, Li Y Y, Zhong Y H, *et al.* An LC-MS/MS method for determination of jujuboside A in rat plasma and its application to pharmacokinetic studies [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 899(7): 21-26.
- [21] Zheng X Y, Yang X X, Le Q Y, *et al.* Development and validation of an UPLC-MS/MS method for determination of jujuboside B in rat plasma and its application in pharmacokinetic and bioavailability studies [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(10): 4049-4054.
- [22] Chen C Y, Chen Y F, Wu C H. What is the effective component in Suanzaoren Decoction for curing insomnia? Discovery by virtual screening and molecular dynamic simulation [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2008, 26(1): 57-64.
- [23] Chen Y C. Chemoinformatics and pharmacoinformatics approach for exploring the GABA-A agonist from Chinese herb Suanzaoren [J]. *J Taiwan Inst Chem E*, 2009, 40(1): 36-47.
- [24] 张 妍, 解军波, 张彦青. HPLC-MS/MS 法测定大鼠血浆中酸枣仁皂苷 A 含量及其药动学研究 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(3): 110-114.
- [25] 章新晶. 酸枣仁皂苷 A 生物吸收的细胞学机制 [D]. 南昌: 南昌大学, 2006.
- [26] 张 婷, 解军波, 刘子艳, 等. 斯皮诺素在体胃肠吸收动力学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 134-139.
- [27] Zhang Y Q, Zhang T, Wang F L, *et al.* Brain tissue distribution of spinosin in rats determined by a new high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass/mass spectrometry method [J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(1): 1-7.
- [28] Zhang Y Q, Ma G J, Xie J B. Tissue distribution of jujuboside A in Sprague-Dawley rats determined by an efficient HPLC-ESI-MS/MS method [J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2015, 38(2): 215-221.
- [29] 崔 瑛, 杨晶晶, 郭敏娟, 等. 基于“病证-效应-生物样本分析”方法的酸枣仁“安神”药性物质及归经的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 569-577.
- [30] 郭敏娟. 酸枣仁对阴虚大鼠焦虑行为的影响及指标成分体内分布观察 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2014.
- [31] Li H K, Zhou M M, Zhao A H, *et al.* Traditional Chinese medicine: Balancing the gut ecosystem [J]. *Phytother Res*, 2009, 23(9): 1332-1335.
- [32] Ridaura V, Belkaid Y. Gut microbiota: The link to your second brain [J]. *Cell*, 2015, 161(2): 193-194.
- [33] Jiang J G, Huang X J, Chen J, *et al.* Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from *Semen Ziziphus Jujube* [J]. *Nat Prod Res*, 2007, 21(4): 310-320.
- [34] 马桂劫, 张 妍, 张明春, 等. HPLC-MS/MS 法研究大鼠胃内容物对酸枣仁皂苷 A 的体外代谢作用 [J]. 食品研究与开发, 2013, 34(19): 1-4.
- [35] Zhang Y Q, Zhang Y, Zhang K S, *et al.* Degradation kinetics of jujuboside B by rat intestinal flora *in vitro* with an RRLC-MS-MS method [J]. *J Chromatogr Sci*, 2014, 52(7): 1-6.
- [36] Zhang Y, Xie J B, Zhang Y Q, *et al.* Degradation kinetics of jujuboside A by rat intestinal flora and identification of the metabolites by HPLC-MS/MS [J]. *Int J F Prop*, 2014, 17(8): 1841-1849.
- [37] 张 群. 酸枣仁总皂苷的提取纯化及酸枣仁皂苷 A 的生物转化研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [38] 马桂劫. 酸枣仁皂苷 A 引起的肠道和主要脏腑之间的信息交流 [D]. 天津: 天津商业大学, 2014.
- [39] Zhang T, Xie J B, Zhang Y Q, *et al.* High performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applied for metabolic study of spinosin by rat intestinal flora [J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2013, 36(10): 1391-1400.
- [40] Song P P, Zhang Y Q, Qiao L D, *et al.* A new HPLC-MS/MS method for investigating degradation kinetics of 6''-feruloylspinosin and identifying its metabolites by rat intestinal bacterial flora *in vitro* [J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2016, 39(15): 724-729.
- [41] Jiao L J, Li Y X, Zhang Y Q, *et al.* Degradation kinetics of 6''-p-coumaroylspinosin and identification of its metabolites by rat intestinal flora [J]. *J Agr Food Chem*, 2017, 65(22): 1-31.
- [42] Vollmer M, Esders S, Farquharson F M, *et al.* Mutual interaction of phenolic compounds and microbiota: metabolism of complex phenolic apigenin C-and kaempferol O-derivatives by human fecal samples [J]. *J Agr Food Chem*, 2018, 66(2): 1-46.
- [43] 张巧月. 基于液质联用技术的酸枣仁多组分分析与体外代谢研究及连翘心质量标准的建立 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [44] Bao K D, Li P, Qi L W, *et al.* Characterization of

- flavonoid metabolites in rat plasma, urine, and feces after oral administration of *Semen Ziziphi Spinosa* extract by HPLC-diode-array detection (DAD) and ion-trap mass spectrometry (MS(n)) [J]. *Chem Pharm Bull*, 2009, 57(2): 144-148.
- [45] 张雷, 向诚, 王邠, 等. 酸枣仁总黄酮在大鼠尿液和粪便中的代谢与排泄 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(3): 340-343.
- [46] Ren Y, Wang P J, Wu C S, *et al.* Identification of the metabolites after oral administration of extract of *Ziziphi Spinosa* Semen to rats or dogs by high-performance liquid chromatography/linear ion trap FTICR hybrid mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(1): 17-26.
- [47] 李强, 杜晨晖, 张敏, 等. 血清化学与网络药理学关联研究酸枣仁的体内效应成分 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1936-1943.
- [48] 闫艳, 李强, 杜晨晖, 等. 基于体内-体外物质组关联分析酸枣仁潜在效应物质 [J]. 药学报, 2017, 52(2): 283-290.
- [49] 王羽凝, 穆丽华, 许璐, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 分析芍药胶囊在大鼠体内的代谢产物 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 77-81.
- [50] 王晶娟, 刘洋, 赵保胜, 等. 中药“质效代关联”研究方法理论的建立 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1507-1510.
- [51] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [52] 胡明亚. 酸枣仁的药理作用及现代临床应用研究 [J]. 中医临床研究, 2012, 4(19): 20.
- [53] Zhang J W, Zhou F, Wu X L, *et al.* Cellular pharmacokinetic mechanisms of adriamycin resistance and its modulation by 20 (S)-ginsenoside Rh2 in MCF-7/Adr cells [J]. *Brit J Pharmacol*, 2012, 165(1): 120-134.
- [54] 乔雪, 果德安, 叶敏. 中药体内代谢研究的思路与方法 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(3): 532-537.
- [55] Xing R, Zhou L, Xie L, *et al.* Development of a systematic approach to rapid classification and identification of notoginsenosides and metabolites in rat feces based on liquid chromatography coupled triple time-of-flight mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 867: 56-66.
- [56] 刘洋, 潘艳丽, 王晶娟, 等. 多成分药物代谢理论及技术方法分析 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1663-1667.
- [57] 杨秀伟. 基于体内过程的中药有效成分和有效效应物质的发现策略 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(5): 365-370.
- [58] Xie T, Liang Y, Hao H P, *et al.* Rapid identification of ophiopogonins and ophiopogonones in *Ophiopogon Japonicus* extract with a practical technique of mass defect filtering based on high resolution mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1227(5): 234-244.
- [59] Xue Q, Qi W, Shuang W, *et al.* Compound to extract to formulation: A knowledge-transmitting approach for metabolites identification of Gegen-Qinlian Decoction, a traditional Chinese medicine formula [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39534.
- [60] Qiao X, Ye M, Xiang C, *et al.* Analytical strategy to reveal the *in vivo* process of multi-component herbal medicine: A pharmacokinetic study of licorice using liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1258(19): 84-93.