

石斛碱在小鼠体内的组织分布

鲁艳柳, 刘浩, 曾瑶, 黄思, 王建秋, 徐亚沙, 何芋岐*, 陆远富*

(遵义医学院基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州遵义 563003)

[摘要] 目的:通过 UPLC-MS 检测小鼠主要脏器中石斛碱的含量,探讨石斛碱在小鼠体内的分布特征。方法:建立组织样品中石斛碱的分析方法,小鼠灌胃给予石斛碱(剂量 $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),分别于 0, 30, 60, 120 min 收集小鼠心、肝、脾、肺、肾、脑和肠组织,样品处理后采用 Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统分析, Hypersil Gold C_{18} 色谱柱 ($2.1 \text{ mm}\times 150 \text{ mm}, 1.9 \mu\text{m}$), 流动相 0.1% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱,流速 $0.3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 可加热电喷雾离子源(HESI)正离子模式检测石斛碱含量,选取盐酸伪麻黄碱为内标。结果:小鼠各组织样品中内源性物质对石斛碱含量测定无干扰,方法学考察符合要求。石斛碱在小鼠心、肝、脾、肺、肾、脑和肠组织中均有分布,30 min 均已达峰值,此时肝脏样本中石斛碱质量浓度最高 (1241.69 ± 78.64) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。60 min 时各组织样本中石斛碱含量已显著降低,此时空肠组织样本中石斛碱质量浓度最高 (166.15 ± 10.80) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。120 min 时各组织样本中石斛碱含量进一步降低,此时以回肠组织样本中石斛碱质量浓度最高 (118.25 ± 8.51) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结论:石斛碱在小鼠体内的组织分布较为广泛,其中肠组织和肝脏中药物浓度较高。在脑组织中的分布情况提示石斛碱能够透过血脑屏障,为阐述其具有神经药理作用提供了实验依据。

[关键词] 金钗石斛; 石斛碱; 组织分布; 盐酸伪麻黄碱; 方法学考察; 肝脏; 超高效液相色谱-串联质谱法

[中图分类号] R22; R969.1; R285.5; R284; R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)18-0134-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181708

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180615.1311.005.html>

[网络出版时间] 2018-06-15 16:17

Tissue Distribution of Dendrobine in Mice

LU Yan-liu, LIU Hao, ZENG Yao, HUANG Si, WANG Jian-qiu, XU Ya-sha, HE Yu-qi*, LU Yuan-fu*

(Key Laboratory of Basic Pharmacology and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine, Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish UPLC-MS analysis method for the determination of dendrobine in the main organs of C57BL/6J mice, and explore the tissue distribution characteristics of dendrobine *in vivo*. **Method:** At 0, 30, 60, 120 min after gavage, the main organs (heart, liver, spleen, lung, kidney, brain and intestine) were collected and precipitated by acetonitrile, and the supernatant was detected with UPLC-MS. The chromatography separation was performed on a Hypersil Gold C_{18} column ($2.1 \text{ mm}\times 150 \text{ mm}, 1.9 \mu\text{m}$) with acetonitrile-0.1% formic acid in water for gradient elution. Heated electrospray ionization source (HESI) was applied and operated in the positive ion mode. Meanwhile, pseudoephedrine hydrochloride was used as the internal standard for determining. **Result:** The endogenous substances in the tissues of mice had no interference for the assay of dendrobine, and the methodological study met the requirements. Dendrobine could distribute in heart, liver, spleen, lung, kidney, brain and intestine tissue of mice, and its content reached the peak of content at

[收稿日期] 20180122(021)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81660685);贵州省科技重大专项(黔科合重大专项字[2015]6010);贵州省科学技术基金项目(黔科合JZ字[2015]2010号);贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教合KY字[2015]373号);遵义医学院优秀青年人才项目(15zy-004)

[第一作者] 鲁艳柳, 博士, 副教授, 从事药物代谢与毒理学研究, Tel:0851-28642303, E-mail: Yanliu.lu@foxmail.com

[通信作者] * 何芋岐, 博士, 教授, 从事药物分析与系统生物学研究, Tel:0851-28642303, E-mail: HyqJeff@hotmail.com;

* 陆远富, 博士, 教授, 从事药物代谢与毒理学研究, Tel:0851-28642303, E-mail: luyuanfu2000@163.com

30 min after gavage, and then decreased significantly with time. The distributions of dendrobine at different time points after administration were distinct. Dendrobine was mainly distributed in liver tissue at 30 min ($1\ 241.69 \pm 78.64$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, and in jejunum and ileum at 60, 120 min (166.15 ± 10.80) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and (118.25 ± 8.51) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** Dendrobine is widely distributed in mice, and its concentration in intestinal tissue and liver is high. The distribution in brain suggests that dendrobine can penetrate the blood-brain barrier, and this study can provide a basis for elucidating its neuropharmacological action.

[Key words] *Dendrobium nobile*; dendrobine; tissue distribution; pseudoephedrine hydrochloride; methodological investigation; live; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

金钗石斛是 2015 年版《中国药典》中明确规定的药用石斛的植物来源,具有滋阴清热、益胃生津、润肺止咳、明目强身等功效,在《神农本草经》中列为上品,用于补益,素有“千金草”之称^[1],临床效用较好、市场需求较大。现代药理学研究表明生物碱类成分是金钗石斛的主要活性成分,具有止痛、解热、降低心率和血压、减慢呼吸、缓解巴比妥引起的中毒等作用^[2],还具有降血糖^[3]、抗白内障^[4]、抗肿瘤^[5]、降低细胞凋亡^[6]、抗氧化^[7]和抗衰老痴呆^[8]等作用。

石斛碱是金钗石斛总生物碱中最主要的特征性成分^[1,9]。目前对石斛碱的研究报道主要集中在药效方面,而较少研究其药物代谢动力学。在课题组前期研究石斛碱体外代谢的基础上^[10],本实验将进行其体内代谢的研究。中药在临床上多数通过口服给药,药效物质吸收进入机体后,将通过体循环分布至机体的各组织脏器,不同的药效物质具有不同的分布特征,这种特征将会影响其药理作用、体内的蓄积以及毒副作用^[11]。本实验通过灌胃给予石斛碱,采用 UPLC-MS 技术,建立测定小鼠各主要组织脏器中石斛碱含量的方法,探讨其组织分布特征,为石斛碱的进一步研究与开发提供参考。

1 材料

Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统和 UltiMate 3000 型超高效液相色谱系统(美国 Thermo Fisher 公司),Genius 1022 型液氮发生器(英国 Peak 公司),Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司),XS205 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),XW-80A 型漩涡混合仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司),Microfuge 20R 型高速离心机(美国贝克曼库尔特有限公司),STW-FT24 型制冰机(日本三洋公司)。石斛碱(北京华迈科生物技术有限责任公司,批号 D990100,纯度 $\geq 99.0\%$),盐酸伪麻黄碱(中国食品药品检定研究院,批号 171237-201208,纯度 $\geq 99.9\%$),乙腈、甲醇、甲酸均为质谱

级,其他试剂均为分析纯。

雄性健康 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 40 只,体重 18 ~ 22 g,饲养温度 21 ~ 22 $^{\circ}\text{C}$,湿度 56% ~ 65%,明暗交替时间 12 h/12 h,由第三军医大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(渝)2012-0005。本实验符合遵义医学院实验动物伦理委员会的伦理学标准。

2 方法与结果

2.1 UPLC-MS 的分析条件 色谱条件为采用 Hypersil Gold C₁₈ 色谱柱(2.1 mm \times 150 mm, 1.9 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 0.5 min, 5% B; 0.5 ~ 15 min, 5% ~ 95% B; 15 ~ 17 min, 95% B),流速 0.3 mL \cdot min⁻¹,柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,进样量 5 μL 。质谱条件为采用可加热电喷雾离子源(HESI)离子化方式,雾化温度 300 $^{\circ}\text{C}$,离子传输管温度 350 $^{\circ}\text{C}$,鞘气流速 35 arb,辅助气流速 15 arb,喷雾电压 3.5 kV;碰撞电压 30, 40, 50 eV;检测范围 m/z 100 ~ 1 500,扫描模式为全扫描/正离子模式,分辨率 70 000 半最大值全波(FWHM)。

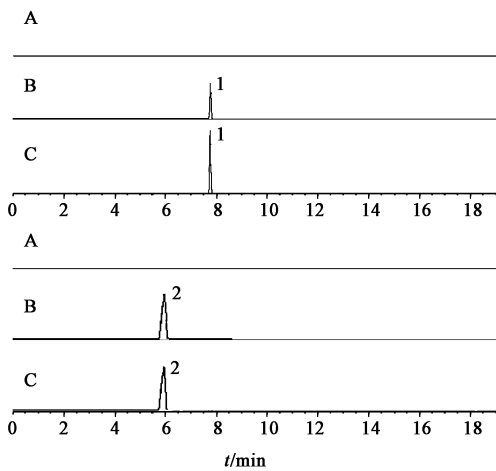
2.2 动物实验 40 只小鼠随机分为 4 组,每组 10 只,实验前禁食 12 h,自由饮水。按剂量 60 mg \cdot kg⁻¹ 灌胃给予石斛碱(用 0.5% 羧甲基纤维素钠助悬),分别于 0, 30, 60, 120 min 处死,立即收集心、肝、脾、肺、肾、脑、十二指肠、空肠和回肠,用生理盐水清洗,滤纸吸干残液,液氮速冻后置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

2.3 工作液的配制 精密称取石斛碱对照品 15.52 mg,置于 10 mL 量瓶中,加乙腈溶解并定容至刻度,混匀,即得对照品储备液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。使用前以乙腈稀释,得石斛碱质量浓度分别为 15.52, 7.76, 1.552, 0.776, 0.155 2, 0.051 7 mg \cdot L⁻¹ 的对照品工作液。精密称取盐酸伪麻黄碱(IS)对照品 10.01 mg,置于 10 mL 量瓶中,加乙腈稀释至刻度,混匀,即得内标储备液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用;使用前用乙腈稀释,得盐酸伪麻黄碱质量浓度为 0.4 mg \cdot L⁻¹ 的内标工作液。

2.4 标准组织样品的制备及组织样品的前处理

精密称取各空白组织样本约 100 mg, 置于玻璃匀浆器中, 加入等量生理盐水, 匀浆, 取组织液 100 μL , 加入不同质量浓度的石斛碱对照品工作液 20 μL , 涡旋 30 s, 依次加入内标工作液 20 μL 和乙腈 300 μL , 涡旋 30 s, 得石斛碱质量浓度分别为 705.45, 352.73, 70.55, 35.27, 7.05, 2.35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准组织样品, 离心 (4 $^{\circ}\text{C}$, 13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min, 下同), 吸取上清液 50 μL , 待进样分析。其中以质量浓度 705.45, 70.55, 7.05 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为高、中、低质量浓度质控组织样品, 质量浓度 2.35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为定量下限 (LLOQ) 标准组织样品, 均平行制备 5 份。精密称取各组织样本约 100 mg, 置于玻璃匀浆器中, 加入等量生理盐水, 匀浆, 取组织匀浆 100 μL , 加入乙腈 20 μL , 涡旋 30 s, 依次加入内标工作液 20 μL 和乙腈 300 μL , 涡旋 30 s, 离心, 吸取上清液 50 μL , 待进样分析。

2.5 方法特异性的考察 按 2.4 项下方法, 制得各标准组织样品, 各空白组织样品 (不含内标化合物) 和各组织样品, 按 2.1 项下条件分析, 石斛碱的保留时间 7.76 min。以肝脏样本为例, 图 1 是石斛碱选择离子图, 比较色谱图发现, 该方法特异性良好。在其他各组织中结果相同, 内源性物质均不会干扰石斛碱的测定。



A. 空白肝组织样品; B. 标准肝组织样品; C. 灌胃 30 min 后肝脏组织样品; 1. 石斛碱; 2. 盐酸伪麻黄碱

图 1 小鼠肝组织样品中石斛碱的 UPLC-MS 选择离子
Fig. 1 UPLC-MS selective ion chromatograms of dendrobine in liver tissue samples of mice

2.6 线性和定量下限的考察 按 2.4 项下方法制得标准组织样品, 按 2.1 项下条件分析, 采用加权最小二乘法, 以石斛碱与内标的峰面积之比 (Y) 对应

石斛碱质量浓度 (X) 进行曲线回归, 见表 1。结果表明石斛碱质量浓度在 2.35 ~ 705.45 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与峰面积的比值呈良好线性关系。石斛碱在各组织中 LLOQ 均为 2.35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 信噪比 (S/N) > 10。

表 1 石斛碱在不同组织中的标准曲线

Table 1 Standard curves of dendrobine in different tissues

组织	标准曲线	r
心	$Y = 1.26 \times 10^6 + 696\ 246X$	0.996 7
肝	$Y = 1.38 \times 10^6 + 621\ 649X$	0.997 1
脾	$Y = 1.22 \times 10^6 + 591\ 188X$	0.998 3
肺	$Y = 1.19 \times 10^6 + 750\ 330X$	0.996 8
肾	$Y = 1.25 \times 10^6 + 483\ 642X$	0.995 1
脑	$Y = 1.67 \times 10^6 + 730\ 437X$	0.998 8
十二指肠	$Y = 1.32 \times 10^6 + 550\ 781X$	0.996 4
空肠	$Y = 1.28 \times 10^6 + 566\ 322X$	0.997 2
回肠	$Y = 1.35 \times 10^6 + 535\ 239X$	0.994 6

2.7 基质效应和提取回收率的考察 取空白组织匀浆 100 μL , 加入乙腈 300 μL , 涡旋 30 s, 离心后取上清液 200 μL , 分别加入低、中、高质量浓度的石斛碱对照品工作液 (石斛碱质量浓度分别为 15.52, 1.552, 0.1552 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 10 μL 和内标工作液 10 μL , 涡旋 30 s, 离心, 取上清液 50 μL 待进样分析, 石斛碱的峰面积记作 A_1 。取水 100 μL , 按上述步骤处理后进样分析, 所得石斛碱的峰面积记作 A_2 。按石斛碱基质效应 = $A_1/A_2 \times 100\%$ 进行计算, 结果见表 2。按 2.4 项下方法制得高、中、低质量浓度质控组织样品, 记录石斛碱的峰面积为 A_3 , 按石斛碱提取回收率 = $A_3/A_1 \times 100\%$ 进行计算, 结果见表 2。

2.8 精密度和准确度的考察 按 2.4 项下方法制得高、中、低质量浓度质控组织样品, 按 2.1 项下条件分析, 考察日内和日间的精密度和准确度, 结果 RSD 均 < 15%, 见表 3, 表明仪器精密度良好, 该方法符合要求。

2.9 稳定性的考察 按 2.4 项下方法配制高、中、低质量浓度的质控组织样品, 分别考察 15 $^{\circ}\text{C}$ 放置 24 h, -70 $^{\circ}\text{C}$ 保存并反复冻融 3 次以及 -70 $^{\circ}\text{C}$ 保存 15 d 后样品的稳定性, 见表 4。结果表明在上述保存条件下, 样品均能达到稳定性的要求。

2.10 石斛碱组织分布研究 按 2.4 项下方法制备各组织样品, 以 2.1 项下条件分析, 计算组织样品中石斛碱含量, 不同时间点数据情况见表 5。结果发现小鼠灌胃给予石斛碱后, 在心、肝、脾、肺、肾、脑、肠组织均有分布, 且在 30 min 时均达到最大值。

表 2 石斛碱在各组织中的基质效应和提取回收率考察 (n=5)

Table 2 Matrix effects and extraction recoveries of dendrobine in different tissues (n=5)

%

组织	石斛碱质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	基质效应		提取回收率		组织	石斛碱质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	基质效应		提取回收率	
		平均值	RSD	平均值	RSD			平均值	RSD	平均值	RSD
心	705.45	103.1	5.2	93.5	5.7	脑	705.45	98.9	4.5	86.1	4.9
	70.55	95.9	1.9	90.6	3.5		70.55	94.6	5.1	90.3	5.5
	7.05	91.9	2.7	97.7	4.0		7.05	108.7	2.6	88.7	7.2
肝	705.45	96.4	4.9	91.1	6.8	十二指肠	705.45	95.0	6.4	90.3	5.6
	70.55	101.1	3.3	88.1	5.9		70.55	96.6	7.5	91.2	9.1
	7.05	95.6	6.8	96.3	7.4		7.05	92.3	7.2	94.8	8.3
脾	705.45	99.9	5.5	90.1	7.3	空肠	705.45	97.9	3.8	87.5	4.4
	70.55	93.1	3.9	95.8	5.8		70.55	101.9	5.6	85.8	6.7
	7.05	106.5	4.3	86.4	6.3		7.05	94.0	2.0	92.5	6.4
肺	705.45	101.0	5.3	97.9	8.2	回肠	705.45	98.9	4.8	87.9	5.2
	70.55	94.2	4.6	91.3	7.9		70.55	103.1	5.9	94.4	8.9
	7.05	97.9	8.2	89.7	9.6		7.05	95.8	2.5	91.3	7.8
肾	705.45	102.2	3.3	94.4	5.1						
	70.55	91.2	6.9	96.6	7.3						
	7.05	93.3	3.7	92.6	4.1						

表 3 石斛碱在不同组织中的精密度和准确度考察 (n=5)

Table 3 Precision and accuracy of dendrobine in different tissues (n=5)

组织	石斛碱质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	日内			日间		
		测定值 ($\bar{x} \pm s$) / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	精密度 RSD/%	准确度 /%	测定值 ($\bar{x} \pm s$) / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	精密度 RSD/%	准确度 /%
心	705.45	700.51 ± 18.91	2.7	99.3	707.57 ± 50.24	7.1	100.3
	70.55	63.42 ± 4.12	6.5	89.9	63.85 ± 2.17	3.4	90.5
	7.05	6.53 ± 0.52	7.9	92.6	6.56 ± 0.18	2.7	93.1
肝	705.45	636.32 ± 46.45	7.3	90.2	632.08 ± 39.82	6.3	89.6
	70.55	64.69 ± 2.98	4.6	91.7	64.41 ± 5.15	8.0	91.3
	7.05	6.66 ± 0.49	7.4	94.5	6.75 ± 0.44	6.5	95.7
脾	705.45	655.36 ± 33.42	5.1	92.9	652.54 ± 47.64	7.3	92.5
	70.55	64.27 ± 2.89	4.5	91.1	65.75 ± 3.62	5.5	93.2
	7.05	6.68 ± 0.26	3.9	94.8	6.75 ± 0.19	2.8	95.7
肺	705.45	714.62 ± 47.88	6.7	101.3	725.20 ± 55.12	7.6	102.8
	70.55	62.51 ± 4.50	7.2	88.6	63.07 ± 2.33	3.7	89.4
	7.05	6.38 ± 0.18	2.8	90.5	6.23 ± 0.47	7.6	88.3
肾	705.45	701.22 ± 49.79	7.1	99.4	707.57 ± 58.02	8.2	100.3
	70.55	63.57 ± 4.45	7.0	90.1	62.93 ± 2.83	4.5	89.2
	7.05	6.27 ± 0.40	6.3	89.0	6.46 ± 0.14	2.1	91.7
脑	705.45	619.39 ± 46.45	7.5	87.8	625.03 ± 38.75	6.2	88.6
	70.55	62.58 ± 2.88	4.6	88.7	62.86 ± 2.07	3.3	89.1
	7.05	7.00 ± 0.27	3.9	99.3	7.14 ± 0.53	7.4	101.3
十二指肠	705.45	623.62 ± 45.52	7.3	88.4	615.15 ± 36.29	5.9	87.2
	70.55	63.99 ± 4.22	6.6	90.7	63.21 ± 2.91	4.6	89.6
	7.05	6.35 ± 0.18	2.9	90.1	6.42 ± 0.52	8.1	91.1
空肠	705.45	622.21 ± 40.44	6.5	88.2	618.68 ± 35.88	5.8	87.7
	70.55	63.57 ± 4.58	7.2	90.1	65.33 ± 2.81	4.3	92.6
	7.05	6.32 ± 0.42	6.7	89.6	6.40 ± 0.49	7.7	90.8
回肠	705.45	631.38 ± 22.73	3.6	89.5	644.08 ± 47.02	7.3	91.3
	70.55	70.69 ± 5.80	8.2	100.2	69.99 ± 3.15	4.5	99.2
	7.05	6.39 ± 0.47	7.3	90.6	6.59 ± 0.18	2.8	93.5

表 4 石斛碱在不同组织中的稳定性考察 (n = 5)

Table 4 Stability of dendrobine in different tissues (n = 5) %

组织	石斛碱 质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	15 °C 放置 24 h		-70 °C 保存并 反复冻融 3 次		-70 °C 保存 15 d	
		RSD	准确度	RSD	准确度	RSD	准确度
心	705.45	2.9	98.5	3.1	96.3	2.3	92.4
	70.55	6.3	89.0	5.9	87.2	4.5	85.2
	7.05	7.2	91.7	8.7	90.8	7.1	89.8
肝	705.45	7.5	89.3	7.2	88.4	6.3	87.5
	70.55	6.4	90.8	4.5	89.9	5.7	89.0
	7.05	8.1	88.1	7.3	92.6	3.8	91.7
脾	705.45	4.8	92.0	5.0	91.1	4.6	90.1
	70.55	5.4	90.2	4.8	89.3	4.0	88.4
	7.05	3.7	93.9	4.7	89.2	6.3	92.0
肺	705.45	5.5	100.3	6.7	98.3	2.7	86.4
	70.55	7.1	87.7	7.6	86.8	7.0	89.0
	7.05	3.6	89.6	2.7	88.7	4.2	91.8
肾	705.45	6.9	98.4	7.1	93.3	6.9	96.4
	70.55	7.7	92.9	6.9	88.9	7.3	86.8
	7.05	6.0	88.1	6.2	87.2	5.8	86.4
脑	705.45	7.4	88.9	5.5	86.1	4.5	93.6
	70.55	6.4	87.8	4.5	86.9	7.9	86.1
	7.05	5.8	98.3	3.8	97.3	6.2	96.4
十二指肠	705.45	7.6	87.5	7.2	86.6	5.3	85.8
	70.55	5.9	89.8	6.5	87.4	4.3	88.0
	7.05	6.4	89.2	2.8	88.3	7.7	99.3
空肠	705.45	3.9	87.3	6.4	97.4	8.1	85.6
	70.55	6.6	89.2	7.1	87.8	5.6	87.4
	7.05	7.2	88.7	6.6	88.3	3.5	86.9
回肠	705.45	3.6	88.6	5.8	87.7	7.9	86.8
	70.55	5.3	99.2	8.0	98.2	7.0	97.2
	7.05	4.1	89.7	7.2	88.8	6.5	87.9

表 5 石斛碱在各组织中不同时间点的质量浓度 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Concentrations of dendrobine in different tissues of mice at different time points ($\bar{x} \pm s, n = 10$) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

组织	30 min	60 min	120 min
心	222.21 ± 13.11	36.68 ± 2.67	6.99 ± 0.48
肝	1 241.69 ± 78.64	154.68 ± 8.66	53.96 ± 3.08
脾	438.58 ± 21.20	73.49 ± 3.97	60.10 ± 3.81
肺	236.25 ± 13.39	74.66 ± 4.33	25.18 ± 1.40
肾	531.97 ± 35.82	100.24 ± 6.21	69.90 ± 3.77
脑	182.04 ± 8.37	23.76 ± 1.23	2.29 ± 0.13
十二指肠	504.23 ± 27.73	134.65 ± 7.05	96.90 ± 5.26
空肠	436.55 ± 29.25	166.15 ± 10.80	77.11 ± 5.24
回肠	746.44 ± 52.25	154.89 ± 11.77	118.25 ± 8.51

3 讨论

由实验结果可知,灌胃给予小鼠石斛碱 (60 mg·kg⁻¹) 30 min 后,药物已快速分布至各主要组织,且已达峰值。相对其他组织,此时石斛碱在肝脏的分布最多,而随着时间延长药物质量分数迅速下降,提示石斛碱可能主要在肝脏代谢。值得注意的是,虽然石斛碱在脑组织中含量较低,但有明显分布,提示石斛碱能够透过血脑屏障,为解释其具有抗老年痴呆、保护神经元损伤^[12]等神经药理作用提供了实验依据。石斛碱在肠组织分布较多,且随着时间延长分布相对增加,60 min 后石斛碱在小肠组织(十二指肠、回肠和空肠)中分布最多。研究药物在机体组织中的分布特征是药代动力学的重要研究内容之一,通过了解药物在组织器官的分布情况,有利于确定药物的靶点,揭示其发挥生物活性的作用机制,以评价其药效活性。这对于开展药物毒理学研究、新药安全性评价等方面具有重要意义^[13-14]。本文研究了口服给药后石斛碱在小鼠主要脏器的分布情况,后续将进一步研究不同给药剂量、不同给药途径时,石斛碱的分布及药物代谢动力学特征,以阐明其在体内的动态变化和代谢情况,为金钗石斛有效成分石斛碱的进一步开发与利用提供实验依据。

[参考文献]

- [1] 张晓敏,孙志蓉,陈龙,等. 金钗石斛的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31 (7): 895-899.
- [2] 王亚芸,任建武. 石斛碱的研究进展[J]. 山东农业大

在给药后不同时间点石斛碱的组织分布情况不同,给药 30 min 后,各组织石斛碱质量浓度排序为肝 > 回肠 > 肾 > 十二指肠 > 脾 > 空肠 > 肺 > 心 > 脑; 给药 60 min 后,各组织石斛碱质量浓度排序为空肠 > 回肠 > 肝 > 十二指肠 > 肾 > 肺 > 脾 > 心 > 脑; 给药 120 min 后,各组织中石斛碱质量浓度排序为回肠 > 十二指肠 > 空肠 > 肾 > 脾 > 肝 > 肺 > 心 > 脑。

- 学学报:自然科学版,2015,46(1):152-158.
- [3] 陶凤,金徽,杨贵忠,等. 金钗石斛水提物对糖尿病大鼠肾组织非酶糖基化及氧化的影响[J]. 山东大学学报:医学版,2012,50(10):11-15,22.
- [4] 白金丽,温淑香. 金钗石斛提取物抗白内障的体外实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(9):57-59.
- [5] 刘名昆,李国庆. 石斛提取物抗肿瘤作用研究进展[J]. 现代医药卫生,2015,31(23):3571-3574.
- [6] YANG S, GONG Q H, WU Q, et al. Alkaloids enriched extract from *Dendrobium nobile* Lindl. attenuates tau protein hyperphosphorylation and apoptosis induced by lipopolysaccharide in rat brain [J]. Phytomedicine, 2014,21(5):712-716.
- [7] 宾捷,胡余明,尹进,等. 金钗石斛对老龄小鼠抗氧化作用的实验研究[J]. 实用预防医学,2010,17(6):1063-1064.
- [8] 姚寅. 金钗石斛生物碱对老年痴呆症的保护作用和机制的研究进展[J]. 医药前沿,2013,2(4):47-48.
- [9] 汪代芳,俞桂新,赵宁毅,等. 金钗石斛茎的化学成分研究[J]. 中草药,2012,43(8):1492-1495.
- [10] 鲁艳柳,黄思,汪敏,等. UPLC/LTQ-Orbitrap-MS 技术鉴定石斛碱在人肝微粒体中的代谢产物[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(4):72-77.
- [11] 胡岚岚. 生物样本中钩藤碱的浓度测定及其动物体内药代动力学和组织分布研究[D]. 上海:第三军医大学,2013.
- [12] LI L S, LU Y L, NIE J, et al. *Dendrobium nobile* Lindl alkaloid, a novel autophagy inducer, protects against axonal degeneration induced by $A\beta_{25-35}$ in hippocampus neurons *in vitro* [J]. CNS Neurosci Ther, 2017, 23(4):329-340.
- [13] 叶喜德,许小强,张建康,等. 葡萄内酯在大鼠体内的组织分布[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(24):69-72.
- [14] 冯果,吴增光,何新,等. UPLC-MS/MS 分析瓜蒌子中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在大鼠体内的组织分布情况[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(21):86-92.

[责任编辑 刘德文]