

· 药物代谢 ·

辛芍组方中5个指标成分在大鼠体内的组织分布情况

周孟, 胡贺佳, 李梅, 李莹, 薛寸, 李月婷, 胡杰, 黄勇, 王广成, 郑林,
李勇军, 王爱民, 席晓岚*, 巩仔鹏*

(贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 药用植物功效与利用国家重点实验室,
民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 药学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:研究大鼠灌胃辛芍组方后其5个指标成分在体内的组织分布情况。方法:建立同时测定大鼠组织中灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元、芍药苷、芍药内酯苷的UPLC-MS/MS,将辛芍组方灌胃给予SD大鼠(剂量 $25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),分别于给药后20,90 min和12,24 h取其主要脏器和组织,采用UPLC-MS/MS测定各个时间点下5个指标成分在脏器和组织中的分布情况。结果:大鼠灌胃辛芍组方后,5个指标成分可广泛分布于大鼠各组织器官中。对于灯盏甲素,其质量浓度20 min时在肺和心中达到峰值,分别为 $48.2,59.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;90 min时在脑和小肠中达到峰值,分别为 $138.7,292.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;12 h时在肾和肌肉中达到峰值,为 $517.3,56.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;24 h时在肝脏中达到峰值,为 $352.9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对于灯盏乙素,其质量浓度20 min时在心中达到峰值,为 $38.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;90 min时在肺、脑、小肠和肾中达到峰值,分别为 $30.6,220.0,1\ 644.2,859.9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;12 h时在肌肉中达到峰值,为 $86.9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;24 h时在肝脏中达到峰值,为 $344.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对于灯盏乙素苷元,其质量浓度90 min时在脑、小肠和肌肉中达到峰值,分别为 $875.4,52\ 468.0,5\ 114.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;12 h时在肺、心和肾中达到峰值,分别为 $609.7,1\ 718.6,1\ 736.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;24 h时在肝脏中达到峰值,为 $1\ 366.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对于芍药苷,其质量浓度20 min时在肺、肝、肾和肌肉中达到峰值,分别为 $10\ 634.1,13\ 889.0,16\ 672.0,7\ 750.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;在90 min时,在心、小肠和脑中达到峰值,分别为 $6\ 851.1,870\ 563.9,7\ 474.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对于芍药内酯苷,其质量浓度20 min时在肝和肾中达到峰值,分别为 $15\ 249.7,56\ 817.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,在90 min时,在肺、心、脑、小肠和肌肉中达到峰值,分别为 $4\ 211.5,4\ 425.3,4\ 631.3,631\ 871.5,5\ 673.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结论:大鼠灌胃辛芍组方后,5个指标成分可迅速、广泛地分布在各组织器官中,但5个指标成分在各组织脏器中的达峰时间和分布存在一定差异,在肾脏和小肠中的分布最高,其次为肝和肌肉,同时在脑组织中也有分布,并且随着给药时间的延长,灯盏甲素、灯盏乙素和灯盏乙素苷元可能在大鼠的肝脏中会发生蓄积。

[关键词] 辛芍组方; 灯盏乙素; 灯盏甲素; 芍药苷; 组织分布

[中图分类号] R22;R969.1;R284;R945;R285;O657.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)19-0092-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181904

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180712.0945.011.html>

[网络出版时间] 2018-07-12 10:55

Tissue Distribution of Five Components from Xinsao Formula in Rats

ZHOU Meng, HU He-jia, LI Mei, LI Ying, XUE Cun, LI Yue-ting, HU Jie, HUANG Yong,
WANG Guang-cheng, ZHENG Lin, LI Yong-jun, WANG Ai-min, XI Xiao-lan*, GONG Zi-peng*

(Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics in Guizhou Province, State Key Laboratory of

Functions and Applications of Medicinal Plants, Engineering Research Center for Development and

[收稿日期] 20180418(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260636);贵州省优秀青年科技人才培养项目(黔科合平台人才[2017]5601号);贵阳市科研创新团队项目(筑科合同[2017]30-29号);贵州省科技厅科技创新人才团队建设项目(黔科合平台人才[2016]5613);贵州省高层次创新型人才培养计划项目(黔科合平台人才[2016]5677)

[第一作者] 周孟,博士,副教授,硕士生导师,从事中药药效物质基础研究,Tel:0851-86908468,E-mail:qingfeng476281051@163.com

[通信作者] *席晓岚,教授,硕士生导师,从事中药新药研发及质量控制研究,Tel:0851-86908468,E-mail:970088464@qq.com;

*巩仔鹏,博士,教授,硕士生导师,从事中药药代动力学及其PK-PD结合模型研究,Tel:0851-86908468,E-mail:gzp4012607@126.com

Application of Ethnic Medicine and Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] Objective: To study on the tissue distribution of five components from Xinshao formula in rats after administered intragastrically. **Method:** UPLC-MS/MS for the simultaneous determination of apigenin-7-*O*-glucuronide, scutellarin, scutellarin aglycone, paeoniflorin and albiflorin in rat tissues was established. Rats were administered intragastrically Xinshao formula at a dose of 25 g·kg⁻¹, and main tissues and organs were collected from rats at 20, 90 min and 12, 24 h after administration. After pretreatment, the concentrations of apigenin-7-*O*-glucuronide, scutellarin, scutellarin aglycone, paeoniflorin and albiflorin in each organ of each time point were determined. **Result:** After being administered Xinshao formula, five components could be widely distributed in tissues and organs of rats. For apigenin-7-*O*-glucuronide, its concentration peaked in the lung and heart at 20 min with 48.2, 59.8 μg·L⁻¹; peaked in the brain and small intestine at 90 min with 138.7, 292.7 μg·L⁻¹; peaked in kidney and muscle at 12 h with 517.3, 56.5 μg·L⁻¹; peaked in the liver at 24 h with 352.9 μg·L⁻¹. For scutellarin, its concentration peaked in the heart at 20 min with 38.3 μg·L⁻¹; peaked in the lung, brain, small intestine and kidney at 90 min with 30.6, 220.0, 1 644.2, 859.5 μg·L⁻¹; peaked in the muscle at 12 h with 86.9 μg·L⁻¹ and in the liver at 24 h with 344.8 μg·L⁻¹. For scutellarin aglycone, its concentration peaked in the brain, small intestine and muscle at 90 min with 875.4, 52 468.0, 5 114.7 μg·L⁻¹; peaked in lung, heart and kidney at 12 h with 609.7, 1 718.6, 1 736.5 μg·L⁻¹ and peaked in the liver at 24 h with 1 366.5 μg·L⁻¹. For paeoniflorin, its concentration reached peaks in the lung, liver, kidney and muscle at 20 min with 10 634.1, 13 889.0, 16 672.0, 7 750.4 μg·L⁻¹; and reached in the heart, small intestine and brain at 90 min with 6 851.1, 870 563.9, 7 474.0 μg·L⁻¹. For albiflorin, its concentration peaked in the liver and kidney at 20 min with 15 249.7, 56 817.0 μg·L⁻¹; peaked in the lung, heart, brain, small intestine and muscle at 90 min with 4 211.5, 4 425.3, 4 631.3, 631 871.5, 5 673.6 μg·L⁻¹. **Conclusion:** After the rats administered intragastrically Xinshao formula, its five components could be widely and quickly distributed in various tissues and organs; however, there are differences in the peak time and distribution of these five components. The five representative components have the highest distribution in the kidney and small intestine, followed by the liver and muscle tissues, but also in the brain. Moreover, apigenin-7-*O*-glucuronide, scutellarin, scutellarin aglycone may accumulate in the rat liver when the time of drug administered is extended.

[Key words] Xinshao formula; scutellarin; apigenin-7-*O*-glucuronide; paeoniflorin; tissue distribution

辛芍组方是用于治疗中风的民间验方,由灯盏细辛和赤芍 2 味药配伍组成,具有活血化瘀、通经活络的功效,在贵州省少数民族地区常用于治疗中风偏瘫,疗效确切。本课题组前期对辛芍组方的药理作用、化学成分和组方合理性进行了系统研究^[1-5],发现其可增强病灶组织抗氧化能力、增加脑血流量,且抗脑缺血再灌注损伤作用明显;同时明确其有效组分中的化合物主要有灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元、芍药苷、芍药内酯苷等,且建立了基于多指标成分的组分质量控制方法以及辛芍组方中代表成分的药代动力学-药效动力学结合模型^[6-7]。但关于辛芍组方代表成分的体内分布研究尚未见报道。

众所周知,药效与药物的体内分布情况密切相关,只有药物分布到达作用部位且达到有效浓度才能发挥药效。因此,研究药物在体内的组织分布特

点对新药研发具有重要意义^[8-10]。本实验在建立 UPLC-MS/MS 同时测定大鼠组织中灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元、芍药苷和芍药内酯苷含量的基础上,研究大鼠灌胃辛芍组方后这 5 个代表成分在大鼠体内的组织分布,探讨该复方在大鼠体内的分布特征,为辛芍组方的后续研究与开发提供实验依据。

1 材料

ACQUITY UPLC 型超高效液相色谱-Xevo TQ-S 型质谱联用仪(美国 Waters 公司),ZH-2 型涡旋混合器(天津药典标准仪器厂),TGL-16G 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂),Allegra 64R 型低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司),MTN-2800D 型氮吹浓缩装置(天津奥特塞恩斯仪器有限公司),EL204 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限

公司], FSH-2A型可调高速匀浆机(金坛普瑞斯机械有限公司)。

灯盏乙素苷元对照品(上海顺勃生物工程技术有限公司,批号201206,纯度 $\geq 97\%$),灯盏乙素、灯盏甲素、芍药苷、芍药内酯苷对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号分别为1377-091112, D07-130912, S08-130912, S37-100126,纯度均 $\geq 98\%$),葛根素对照品(中国食品药品检定研究院,批号0752-9605,纯度 $\geq 98\%$),辛芍组方冻干粉针(由贵州省药物制剂重点实验室提供,批号20130527),甲酸、乙腈、甲醇为色谱纯,水为屈臣氏蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

健康SD大鼠,雌雄兼用,体质量(230 ± 20)g,由重庆腾鑫生物技术有限公司提供,合格证号SCXK(渝)2012-0008。经贵州医科大学实验动物伦理委员会批准,动物伦理委员会批准编号1602003。

2 方法

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的配制 分别精密称取适量的灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元、芍药苷、芍药内酯苷对照品,分别加甲醇定容至10 mL,得质量浓度分别为1.058, 0.950, 0.788, 1.072, 1.005 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液。分别精密量取上述5种储备液适量,用甲醇按梯度稀释至所需浓度,得系列混合对照品溶液。置冰箱 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,备用。

2.1.2 内标溶液的配制 精密称取适量葛根素,加甲醇定容至100 mL,得20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 储备液。取该内标储备液1 mL至10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,制成2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内标溶液,置冰箱 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,备用。

2.2 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μm),柱温 $45\text{ }^\circ\text{C}$,流动相0.1%甲酸乙腈溶液(A)-0.1%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~3 min, 5%~30% A; 3~4 min, 30%~90% A; 4~5 min, 90%~5% A),流速0.35 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量1 μL ,分析时间5 min。

2.3 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式,毛细管电压3 kV,离子源温度 $120\text{ }^\circ\text{C}$,去溶剂气(氮气)流速650 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$,去溶剂气温度设定 $350\text{ }^\circ\text{C}$,碰撞气(氩气)流速0.16 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,扫描方式为多反应离子监测模式,检测离子对为灯盏甲素 m/z 447~271.1,灯盏乙素 m/z 463.1~287.1,灯盏乙素苷元 m/z 286.9~122.9,芍药苷 m/z 525.2~121,芍药内酯苷 m/z 481.3~105,葛根素 m/z 417~

297.1,锥孔电压分别35,40,50,35,35,40 V,碰撞能量分别为30,25,40,30,25,30 eV。

2.4 组织样品的处理 称取各组织样品1.0 g,研磨,用生理盐水制成50%匀浆。以不给药的相应组织匀浆作为空白对照。组织匀浆旋涡混合1 min,超声10 min后于8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,分离上层液,取大鼠组织匀浆上层液置于10 mL离心管中,依次加入2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内标溶液100 μL ,1%甲酸水溶液200 μL 和甲醇3 mL,旋涡混合1 min,超声10 min,1万 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液置于离心管中, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下吹干,残渣用初始流动相150 μL 复溶,取上清液进行UPLC-MS/MS分析。

2.5 组织分布试验 健康SD大鼠25只,随机分为空白组和给药组(4组),每组5只大鼠。给药前禁食12 h,自由饮水。按生药量换算灌胃给予辛芍组方(25 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。根据前期大鼠药代动力学预实验结果分别选取20,90 min和12,24 h作为吸收相、分布相、平衡相和消除相,分别于给药后20,90 min和12,24 h取血后处死,迅速取出心、肝、肺、小肠、肾、脑和肌肉组织,加生理盐水洗去组织表面血迹及内容物,用滤纸沾干,装入自封袋中, $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

3 结果

3.1 分析方法的确证

3.1.1 专属性 分别取5份大鼠空白组织匀浆液400 μL ,除不加内标外,其余按2.4项下方法操作,结果芍药苷、芍药内酯苷、灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元及内标葛根素的相对保留时间分别为1.75, 1.91, 1.96, 1.99, 2.17, 1.40 min,说明组织匀浆液中内源性物质不干扰待测成分的测定。

3.1.2 标准曲线的制备和最低检测限 分别取5份大鼠空白组心、肝、脑、肺、小肠、肾、肌肉匀浆液400 μL ,依次加入含有5个指标成分的混合对照品溶液100 μL ,配成系列药物质量浓度的组织匀浆液,其余按2.4项下方法操作。以待测物的峰面积与内标峰面积之比为纵坐标,各成分质量浓度为横坐标,利用加权最小二乘法进行线性回归,权重系数为 $1/X$,结果见表1,2。

3.1.3 准确度和精密度 按3.1.2项下方法分别配制含有灯盏甲素等5个指标成分的大鼠各组织匀浆液低(含灯盏甲素206.6 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,灯盏乙素苷元4 925.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,灯盏乙素742.2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,芍药苷3 350.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,芍药内酯苷6 281.3 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),中(含灯盏甲素826.6 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,灯盏乙素

表 1 辛芍组方中 5 个指标成分在肺、心、肝组织匀浆液中的线性关系考察

Table 1 Investigation of linear relationship of five ingredients from Xinshao formula in lung, heart and liver homogenate

成分	线性方程	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	最低检测限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
芍药苷	$Y=0.0808X+0.0511$	0.999	523.4~214400.0	33.9
芍药内酯苷	$Y=0.6426X+0.2143$	0.999	392.6~100500.0	52.3
灯盏甲素	$Y=1.5286X-0.0197$	0.999	22.9~6612.5	18.2
灯盏乙素	$Y=1.0897X-0.0067$	0.997	20.8~23750.0	20.8
灯盏乙素苷元	$Y=0.2973X+0.0094$	0.991	76.9~315200.0	76.9

表 2 辛芍组方中 5 个指标成分在小肠、脑、肾、肌肉组织匀浆液中的线性关系考察

Table 2 Investigation of linear relationship of five ingredients from Xinshao formula in small intestine, brain, kidney and muscle tissue homogenate

成分	线性方程	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	最低检测限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
芍药苷	$Y=0.0766X+0.1175$	0.999	523.4~214400.0	33.9
芍药内酯苷	$Y=0.7218X-0.2002$	0.999	392.6~100500.0	52.3
灯盏甲素	$Y=1.7049X+0.0937$	0.998	22.9~6612.5	18.2
灯盏乙素	$Y=1.1652X+0.0081$	0.996	20.8~23750.0	20.8
灯盏乙素苷元	$Y=1.1652X+0.0081$	0.996	76.9~315200.0	76.9

2968.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 灯盏乙素苷元 39.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 芍药苷 26.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 芍药内酯苷 25125.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 高(含灯盏甲素 3306.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 灯盏乙素 11875.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 灯盏乙素苷元 157600.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 芍药苷 107200.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 芍药内酯苷 100500.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 3 个质量浓度的质控(QC)样品, 每个质量浓度平行 6 份, 连续测定 3 d, 与标准曲线同时进行。根据当日标准曲线计算 QC 样品中各成分的质量浓度, 评价该方法的准确度与日内、日间精密度。结果表明 5 个指标成分准确度 75.4%~116.8%, 日内和日间精密度 RSD 均 <20.0%, 提示该方法准确、可靠、重复性好。

3.1.4 提取回收率和基质效应 取大鼠空白小肠组织匀浆液 400 μL , 按 3.1.3 项下方法分别配制低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品, 每个样品平行 5 份, 按 2.4 项下方法操作。另取空白组织匀浆液 400 μL , 除不加混合标准溶液与内标外, 其余按 2.4 项下方法操作, 向获得的上清液中加入相应低、中、高质量浓度的混合对照品溶液和内标, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下吹干, 残留物加初始流动相 150 μL 使溶解; 另取上述低、中、高质量浓度的混合对照品溶液与内标, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下吹干, 残留物加初始流动相 150 μL 使溶解。内标以同样方法进行考察, 见表 3。结果表明各指标成分提取回收率良好, 无明显的基质效应。除此之外, 内标的提取回收率和基质效应分别为 111.0%

和 95.3%。

表 3 辛芍组方中 5 个指标成分在小肠匀浆液中的提取回收率和基质效应($n=5$)

Table 3 Recoveries and matrix effects of five ingredients from Xinshao formula in small intestinal homogenate($n=5$) %

成分	质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	提取回收率		基质效应	
		数值($\bar{x}\pm s$)	RSD	数值($\bar{x}\pm s$)	RSD
灯盏甲素	206.6	77.8 \pm 7.5	9.7	91.1 \pm 6.7	7.4
	826.6	87.1 \pm 12.2	14.0	104.2 \pm 14.6	14.0
	3306.3	88.9 \pm 7.8	8.7	88.6 \pm 3.4	3.8
灯盏乙素	742.2	74.4 \pm 12.3	16.5	84.1 \pm 6.8	8.1
	2968.8	98.9 \pm 8.3	8.4	104.3 \pm 12.3	11.8
	11875.0	90.1 \pm 8.9	9.9	87.5 \pm 1.7	2.0
灯盏乙素苷元	4925.0	100.4 \pm 8.8	8.8	93.2 \pm 4.1	4.4
	39400.0	94.0 \pm 13.8	14.7	94.3 \pm 6.9	7.3
	157600.0	84.8 \pm 8.6	10.2	92.0 \pm 13.3	14.5
芍药苷	3350.0	80.7 \pm 14.8	18.3	98.9 \pm 14.3	14.5
	26800.0	70.9 \pm 10.4	14.7	95.8 \pm 5.5	5.8
	107200.0	80.0 \pm 7.4	9.3	86.2 \pm 8.4	9.8
芍药内酯苷	6281.3	83.1 \pm 6.0	7.3	85.5 \pm 7.1	8.3
	25125.0	93.8 \pm 11.8	12.6	89.3 \pm 8.4	9.4
	100500.0	87.0 \pm 6.9	7.9	84.2 \pm 7.4	8.8

3.1.5 稳定性考察 按 3.1.3 项下方法分别配制

低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品,样品处理后置于自动进样器中,在 0,7 h 分别进样,以考察处理后小肠组织匀浆液样品在自动进样器条件下的稳定性,每个质量浓度平行 6 份。同法配制低、中、高 3 个质量浓度 QC 样品,分别在室温(约 20 ℃)下放置

6 h,4 ℃ 下冷藏 8 h,冻融循环 3 次,经处理后进样测定,以考察组织中各指标成分在室温、冷藏、反复冻融条件下的稳定性,每个质量浓度平行 6 份,见表 4。结果表明含有 5 个指标成分的大鼠小肠组织匀浆液样品在各放置条件下均较稳定。

表 4 辛芍组方中 5 个指标成分在小肠匀浆液中的稳定性($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Stability of five ingredients from Xinshao formula in small intestinal homogenate($\bar{x} \pm s, n = 5$)							$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
成分	质量浓度	进样器 0 h	进样器 7 h	室温 6 h	冷藏 8 h	冻融 3 次	
灯盏甲素	206.6	203.7 ± 10.4	203.7 ± 13.6	209.5 ± 4.8	202.4 ± 6.6	201.6 ± 6.3	
	826.6	829.1 ± 25.8	812.5 ± 20.9	819.5 ± 21.4	812.3 ± 31.0	817.1 ± 48.9	
	3 306.3	3 121.8 ± 312.3	3 281.1 ± 242.2	3 114.1 ± 157.2	3 232.3 ± 202.4	3 263.3 ± 25.6	
灯盏乙素	742.2	734.7 ± 10.8	731.4 ± 13.0	732.7 ± 21.5	734.8 ± 24.3	732.7 ± 11.4	
	2 968.8	2 864.3 ± 7.6	2 786.3 ± 13.4	2 859.2 ± 23.0	2 855.8 ± 33.9	3 005.4 ± 40.4	
	11 875.0	11 513.9 ± 152.6	11 446.4 ± 118.4	11 750.9 ± 69.2	11 565.5 ± 232.5	11 651.9 ± 236.0	
灯盏乙素苷元	4 925.0	4 855.6 ± 26.6	4 855.4 ± 39.0	4 849.3 ± 22.8	4 853.1 ± 36.2	4 853.4 ± 12.3	
	39 400.0	39 229.9 ± 118.0	39 381.7 ± 114.2	39 415.7 ± 113.2	39 405.9 ± 329.9	39 482.7 ± 132.4	
	157 600.0	156 881.8 ± 395.2	156 977.1 ± 223.0	156 141.2 ± 239.8	156 148.5 ± 234.7	156 149.1 ± 315.2	
芍药苷	3 350.0	3 227.8 ± 27.1	3 236.6 ± 20.0	3 211.0 ± 26.6	3 217.3 ± 31.7	3 211.2 ± 29.4	
	26 800.0	26 453.5 ± 111.3	26 539.5 ± 54.8	26 199.8 ± 26.5	26 051.0 ± 583.1	26 094.5 ± 153.0	
	107 200.0	106 801.7 ± 783.0	106 265.4 ± 719.9	106 310.1 ± 228.0	106 623.8 ± 1 272.6	106 180.5 ± 421.0	
芍药内酯苷	6 281.3	6 134.3 ± 19.4	6 133.7 ± 12.7	6 129.9 ± 28.6	6 125.2 ± 26.2	6 126.8 ± 14.9	
	25 125.0	24 921.3 ± 149.4	24 939.5 ± 111.4	25 157.3 ± 172.3	24 938.0 ± 91.0	25 022.0 ± 139.0	
	100 500.0	99 970.0 ± 697.4	99 911.7 ± 472.1	99 932.2 ± 182.7	100 840.8 ± 576.3	100 803.8 ± 294.0	

3.2 组织分布试验 大鼠按 25 g·kg⁻¹灌胃给予辛芍组方后,5 个指标成分在大鼠组织和器官中不同时间点(20,90 min 和 12,24 h)的质量浓度见表 5。

不同时间点下 5 个指标成分在大鼠各组织器官中的含量排列顺序为①灯盏甲素:在 20 min 时,肾 > 小肠 > 肝 > 心 > 肌肉 > 脑 > 肺;在 90 min 时,小肠 > 肾 > 脑 > 肝 > 心 > 肺 > 肌肉;在 12 h 时,肾 > 肝 > 小肠 > 肌肉 > 脑 > 肺 > 心;在 24 h 时,肾 > 肝 > 小肠 > 肺 > 心 > 肌肉 > 脑。②灯盏乙素:在 20 min 时,小肠 > 肾 > 脑 > 肝 > 心 > 肌肉 > 肺;在 90 min 时,小肠 > 肾 > 脑 > 肝 > 肌肉 > 心 > 肺;在 12 h 时,小肠 > 肾 > 肝 > 脑 > 肌肉 > 肺 > 心;在 24 h 时,小肠 > 肝 > 肾 > 脑 > 肺 > 心 > 肌肉。③灯盏乙素苷元:在 20 min 时,小肠 > 肌肉 > 心 > 肾 > 肝 > 肺 > 脑;在 90 min 时,小肠 > 肌肉 > 心 > 肝 > 肾 > 脑 > 肺;在 12 h 时,小肠 > 肌肉 > 肾 > 心 > 肝 > 肺 > 脑;在 24 h 时,小肠 > 肝 > 心 > 肾 > 肺 > 脑 > 肌肉。④芍药苷:在 20 min 时,小肠 > 肾 >

肝 > 肺 > 肌肉 > 心 > 脑;在 90 min 时,小肠 > 肾 > 肺 > 肌肉 > 脑 > 心 > 肝;在 12 h 时,小肠 > 肌肉 > 肾 > 肝 > 脑 > 肺 > 心;在 24 h 时,肌肉 > 肾 > 小肠 > 肝 > 脑 > 心 > 肺。⑤芍药内酯苷:在 20 min 时,小肠 > 肾 > 肝 > 肌肉 > 肺 > 心 > 脑;在 90 min 时,小肠 > 肾 > 肌肉 > 脑 > 心 > 肺 > 肝;在 12 h 时,肌肉 > 小肠 > 肾 > 脑 > 肝 > 心 > 肺;在 24 h 时,肝 > 肾 > 小肠 > 脑 > 肌肉 > 心 > 肺。说明大鼠灌胃给予辛芍组方后,5 个指标成分在体内分布具有不均衡的特征,在血流充沛组织的分布相对较多,在肾脏和小肠中的分布最高,其次为肝和肌肉,同时在脑组织中也有一定的分布,这与药效学研究发现辛芍组方对缺血性脑中风具有较好的保护作用可能相关。此外,在大鼠灌胃辛芍组方 24 h 后,灯盏甲素、灯盏乙素和灯盏乙素苷元在大鼠的肝脏组织中的质量浓度依然很高,提示随着给药时间的延长,灯盏甲素、灯盏乙素和灯盏乙素苷元可能在大鼠的肝脏中会发生蓄积。

4 讨论

针对目前关于辛芍组方中指标成分在体内分布

表 5 各组织器官中辛芍组方的 5 个指标成分在不同时间点下的质量浓度 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Concentrations of five ingredients from Xinshao formula in tissues and organs under different time points ($\bar{x} \pm s, n = 5$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组织器官	成分	20 min	90 min	12 h	24 h
肺	灯盏甲素	48.2 ± 2.4	36.2 ± 1.3	38.8 ± 8.5	40.4 ± 1.3
	灯盏乙素	23.3 ± 1.5	30.6 ± 12.5	27.3 ± 13.9	24.8 ± 7.4
	灯盏乙素苷元	375.4 ± 21.3	575.0 ± 32.9	609.7 ± 35.8	387.7 ± 12.6
	芍药苷	10 634.1 ± 1 193.2	10 572.2 ± 802.5	762.0 ± 38.8	-
	芍药内酯苷	3 348.4 ± 351.7	4 211.5 ± 479.8	588.2 ± 19.1	435.3 ± 81.5
心	灯盏甲素	59.8 ± 5.6	52.6 ± 2.5	32.1 ± 9.8	36.7 ± 3.3
	灯盏乙素	38.3 ± 4.3	36.7 ± 9.5	24.8 ± 2.6	22.4 ± 2.8
	灯盏乙素苷元	1 319.4 ± 209.6	1 577.3 ± 115.8	1 718.6 ± 168.9	619.8 ± 55.8
	芍药苷	1 760.3 ± 16.8	6 851.1 ± 49.5	155.5 ± 55.6	77.1 ± 31.6
	芍药内酯苷	1 335.4 ± 73.0	4 425.3 ± 271.6	701.8 ± 36.0	594.6 ± 19.3
肝	灯盏甲素	113.0 ± 10.9	67.0 ± 17.8	280.9 ± 14.4	352.9 ± 2.5
	灯盏乙素	58.8 ± 5.3	216.8 ± 37.3	196.1 ± 71.5	344.8 ± 37.8
	灯盏乙素苷元	993.2 ± 12.3	1 309.3 ± 69.3	1 321.7 ± 61.4	1 366.5 ± 81.4
	芍药苷	13 889.0 ± 1 708.8	4 932.8 ± 908.2	2 750.4 ± 23.7	130.8 ± 51.9
	芍药内酯苷	15 249.7 ± 151.5	3 207.1 ± 187.0	1 007.0 ± 58.3	5 657.9 ± 905.3
小肠	灯盏甲素	232.7 ± 18.5	292.7 ± 11.0	226.8 ± 84.3	151.1 ± 13.7
	灯盏乙素	1 173.4 ± 973.0	1 644.2 ± 118.3	1 337.1 ± 59.9	624.7 ± 59.5
	灯盏乙素苷元	40 837.5 ± 393.7	52 468.0 ± 466.8	21 597.7 ± 198.4	5 192.1 ± 388.4
	芍药苷	425 823.8 ± 2 159.8	870 563.9 ± 4 732.3	11 219.9 ± 7 360.6	2 226.5 ± 377.4
	芍药内酯苷	295 478.7 ± 2 325.1	631 871.5 ± 3 907.5	3 919.2 ± 395.4	1 089.2 ± 104.6
脑	灯盏甲素	48.7 ± 2.7	138.7 ± 12.5	39.9 ± 10.3	28.2 ± 5.3
	灯盏乙素	98.2 ± 6.9	220.0 ± 20.1	130.0 ± 39.6	51.7 ± 9.1
	灯盏乙素苷元	307.0 ± 206.3	875.4 ± 70.5	481.9 ± 10.8	254.3 ± 11.5
	芍药苷	1 013.6 ± 121.6	7 474.0 ± 682.3	2 185.2 ± 401.3	85.4 ± 45.9
	芍药内酯苷	1 144.6 ± 644.6	4 631.3 ± 328.3	1 761.2 ± 203.9	681.4 ± 29.4
肾	灯盏甲素	405.4 ± 28.6	239.7 ± 18.1	517.3 ± 88.3	405.2 ± 21.5
	灯盏乙素	258.2 ± 13.4	859.9 ± 76.4	678.2 ± 34.6	160.3 ± 87.4
	灯盏乙素苷元	1 082.9 ± 83.8	1 039.1 ± 37.4	1 736.5 ± 53.5	525.6 ± 15.6
	芍药苷	16 672.0 ± 5 839.1	16 073.3 ± 521.1	3 278.5 ± 55.8	2 729.8 ± 274.9
	芍药内酯苷	56 817.0 ± 495.6	52 252.5 ± 4 316.3	3 318.4 ± 231.9	3 759.4 ± 4 880.0
肌肉	灯盏甲素	49.1 ± 14.2	30.6 ± 1.8	56.5 ± 2.5	31.4 ± 3.9
	灯盏乙素	27.3 ± 2.4	39.2 ± 22.3	86.9 ± 53.3	21.1 ± 1.1
	灯盏乙素苷元	3 575.3 ± 212.3	5 114.7 ± 618.4	3 498.8 ± 33.20	143.3 ± 21.0
	芍药苷	7 750.4 ± 99.2	7 641.9 ± 103.5	7 531.8 ± 799.4	4 751.0 ± 21.4
	芍药内酯苷	5 221.5 ± 645.5	5 673.6 ± 514.8	5 259.7 ± 593.5	618.2 ± 228.3

研究的不足,本研究建立了 UPLC-MS/MS 同时测定大鼠心、肝、脑、肺、肾、小肠、肌肉 7 个组织器官中灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元、芍药苷、芍药内酯苷 5 个指标成分含量的分析方法,并将建立的方法

成功应用于大鼠灌胃口服辛芍组方后的组织分布试验,结果表明该方法准确、专属、灵敏。

大鼠灌胃给予辛芍组方后,5 个指标成分能较迅速广泛的分布在各组织器官中,但主要分布在肾、

小肠和肝等血流量丰富的组织中,在肌肉组织中也有一定的分布;同时在脑组织中也有较高的分布,特别是诸如灯盏乙素、灯盏甲素等潜在脑保护作用化合物,随着给药时间延长,在脑组织中的质量浓度先增加然后逐渐降低,这与药效学研究发现辛芍组方对缺血性脑中风具有保护作用的结果相呼应。灯盏甲素、灯盏乙素、灯盏乙素苷元、芍药苷、芍药内酯苷5个指标成分均是辛芍组方中有一定代表性的成分,结果发现这5个指标成分在大鼠体内的主要分布器官具有一定相似性,同时又存在一定的差异,这在一定程度上体现了中药多成分、多作用机制、多靶点的特征,有利于更为全面地了解辛芍组方中代表性成分的体内过程,为该复方的进一步研究开发和临床应用提供依据。然而,本研究的局限之处在于时间点的选择上,采样最长时间仅设置到24 h,而此时大鼠灌胃辛芍组方后,灯盏甲素、灯盏乙素和灯盏乙素苷元在大鼠的肝脏组织中的质量浓度依然很高,无法预测药物后续的变化趋势。下一步将针对肝脏,采用微透析活体取样的方法研究辛芍组方长时间给药后的药物浓度,以期明确该复方的代表性成分是否会对肝脏产生蓄积毒性,为辛芍组方的临床合理使用提供参考。

[参考文献]

[1] 董永喜,王霞,董莉,等.辛芍组方对缺血再灌注损伤后神经细胞氧化应激及NF- κ B信号通路的影响[J].山东医药,2016,56(42):5-8.

[2] 董永喜,董莉,付思红,等.辛芍组方对氧糖剥夺损伤的神经PC12细胞凋亡的影响及其机制研究[J].中国药房,2016,27(28):3907-3910.

[3] 陆苑,张洁,兰燕宇,等.灯盏细辛-赤芍组方配比及给药途径的脑保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(21):175-178.

[4] 刘宗炎,董莉,董永喜,等.灯盏细辛与赤芍配伍组方对H₂O₂致PC12细胞损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(5):180-183.

[5] 王永林,黄勇,兰燕宇,等.注射用辛芍冻干粉针药味配伍作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(7):38-40.

[6] 郑林,牟景丽,黄勇,等.UPLC-MS/MS法同时测定注射用辛芍中7种指标成分的含量[J].中国新药杂志,2014,23(1):105-109.

[7] 巩仔鹏,胡建春,李梅,等.基于大鼠脑缺血再灌注损伤模型建立辛芍组方中灯盏乙素和芍药苷的PK-PD结合模型[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(1):74-78.

[8] 王晓彤,何凡,孙小玲,等.五味子有效成分在大鼠体内组织分布研究[J].中药药理与临床,2017,33(5):20-23.

[9] 宋帅,梁德东,任孟月,等.麻黄-杏仁药对有效成分在大鼠体内组织分布的定量分析[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(12):92-97.

[10] 张宜凡,张艺竹,陈焯,等.葛根芩连汤中黄芩活性成分在大鼠体内的组织分布[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(19):177-182.

[责任编辑 刘德文]