

· 药物代谢 ·

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

冯果^{1,2*}, 吴增光³, 何新³, 李玮¹, 李横⁴, 郑传奇¹, 刘青¹, 陈莹莹¹

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550025; 2. 国家苗药工程技术研究中心, 贵阳 550025;
3. 天津中医药大学, 天津 300193; 4. 贵州仁德绿色产业开发有限公司, 贵阳 550001)

[摘要] 目的:探讨瓜蒌子的有效成分 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇口服给药后在大鼠体内的组织分布情况。方法:取健康 SD 雄性大鼠,灌胃给药后分别于时间点 0.5, 1, 3, 6 h 取大鼠的胃、心、肝、脾、肺、肾组织,将组织匀浆及预处理。采用 ZORBAX C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 3.5 μm),流动相含 0.1% 甲酸的 10 mmol·L⁻¹ 乙酸铵溶液(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~0.01 min, 50% A; 0.01~1.0 min, 50%~2% A; 1.0~4.0 min, 2% A; 4.0~4.1 min, 2%~50% A; 4.1~5.0 min, 50% A),流速 0.5 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,选择电喷雾离子化三重四级杆串联质谱,以多反应监测(MRM)方式进行正离子模式检测,用于定量分析二级碎片离子分别为 *m/z* 684.7~527.6(3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇)和 *m/z* 472.4~436.4(特非那定)。结果:大鼠灌胃给药 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇后,在肺组织中 0.5 h 时药物质量分数达峰值,在心、肝、脾、肾中 1.0 h 时药物质量分数达峰值,而胃中在 3.0 h 时药物质量分数达峰值。胃和肺中药物分布较大,在胃中 3.0 h 时药物质量分数达最大值(405.8±114.8) ng·g⁻¹;药物在肺中的分布速度最快,0.5 h 时即可达到峰值(338.8±85.5) ng·g⁻¹,在心、肝、脾和肾脏的分布较低,6 h 时各脏器的药物质量分数已显著降低。结论:大鼠灌胃给予 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇后,能分布到各脏器组织,其中在胃和肺分布的浓度较高,且在 3 h 后仍能保持较高水平,而在心、肝、脾、肾分布浓度相对较低,这可能与该成分本身性质和作用特点有关。

[关键词] 瓜蒌子; 3, 29-二苯甲酰基栝楼仁三醇; 特非那定; 组织分布; 方法学

[中图分类号] R969.1; R945; R284; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)21-0086-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017210086

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1012.010.html>

[网络出版时间] 2017-08-09 10:12

Tissue Distribution of 3, 29-Dibenzoyl Rarounitriol from Trichosanthis Semen in Rats by UPLC-MS/MS

FENG Guo^{1,2*}, WU Zeng-guang³, HE Xin³, LI Wei¹, LI Heng⁴, ZHENG Chuan-qi¹,
LIU Qing¹, CHEN Ying-ying¹

(1. Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. National Engineering Research Center of Miao's Medicines, Guiyang 550025, China; 3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 4. Guizhou Rende Green Industry Development Co. Ltd., Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the tissue distribution of 3, 29-dibenzoyl rarounitriol from Trichosanthis Semen in rats after oral administration. **Method:** The stomach, heart, liver, spleen, lung and

[收稿日期] 20170402(005)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合中药字[2013]5049号);贵州省教育厅产学研基地项目(黔教合KY字[2013]123号);国家中医药管理局中药部门公共卫生服务项目([2015]136);贵州省高校工程技术研究中心建设项目(黔教合KY字[2012]021号)

[通讯作者] *冯果,博士,副教授,从事中药新制剂新技术及中药药物代谢动力学研究, Tel:13885184463, E-mail:453989352@qq.com

kidney in healthy male SD rats were taken at 0.5, 1, 3, 6 h after intragastric administration, tissue homogenates and pretreatment were performed. ZORBAX C₁₈ column (2.1 mm × 50 mm, 3.5 μm) was adopted with mobile phase of 10 mmol·L⁻¹ ammonium acetate (containing 0.1% formic acid) -methanol for gradient elution, flow rate was 0.5 mL·min⁻¹, the injection volume of 10 μL. A triple quadrupole tandem mass spectrometry equipped with electrospray ionization source was used as detector and operated by multiple reaction monitoring (MRM) positive ion mode of the transitions *m/z* 684.7-527.6, *m/z* 472.4-436.4 for 3, 29-dibenzoyl rarounitriol and terfenadine, respectively. **Result:** After intragastric administration of 3, 29-dibenzoyl rarounitriol in rats, peak concentration in the lung reached at 0.5 h, that in the heart, liver, spleen and kidney reached at 1.0 h, but that in the stomach at 3.0 h. The distribution of drug in the stomach and lung is large, its concentration in the stomach at 3.0 h was (405.8 ± 114.8) ng·g⁻¹; but the drug distributed fastest in the lung, it can reached a high concentration of (338.8 ± 85.5) ng·g⁻¹ at 0.5 h, distribution of 3, 29-dibenzoyl rarounitriol in the heart, liver, spleen and kidney was low, the drug concentration in each organ were significantly reduced at 6.0 h. **Conclusion:** After intragastric administration of 3, 29-dibenzoyl rarounitriol, it can be distributed to each organ tissue, which has high concentration in the stomach and lung, and this drug can still maintain a high level after 3 h, but its concentrations in the heart, liver, spleen and kidney are relatively low, which may be related to the nature characteristics and the acting features of itself.

[**Key words**] Trichosanthis Semen; 3, 29-dibenzoyl rarounitriol; terfenadine; tissue distribution; methodology

瓜蒌子为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* 或双边栝楼 *T. rosthornii* 的干燥成熟种子,味甘,性寒,归肺、胃、大肠经,具有润肺化痰、滑肠通便的功效,用于治疗燥咳痰黏、肠燥便秘^[1],临床常用于治疗乳痈、肺痈、肺热咳嗽、痰浊黄稠、胸痹心痛、结胸痞满、肠痈肿痛、大便秘结等证。现代药理研究表明瓜蒌子具有消炎、抗肿瘤等功效,对肺癌、胃癌、胰腺癌、乳腺癌等疗效显著^[2-4]。3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇是瓜蒌子的主要有效成分,此类化合物在动物体的血浆中比较难溶,通常灌胃给药后血浆中的原型药物含量较低。目前对瓜蒌子中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的研究主要集中在含量测定方面^[5-7],而对其在体内的组织分布研究尚未见报道。因此,本实验采用 UPLC-MS/MS 研究 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇口服灌胃给药后,在大鼠各组织中的含量和分布情况等,为瓜蒌子及 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的体内研究、组织分布和临床应用提供实验依据。

1 材料

API 4000 型三重四极杆串联型质谱(美国 Applied Biosystem 公司),LC-20AD 型超高效液相色谱仪(日本岛津公司,配有 CBM-20A 型系统控制器,CTO-20A 型柱温箱,LC-20AD 型二元溶剂输送泵,SIL-20AC 型自动进样器),XP6 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),Sorvall RC-6 Plus 型离心机

(美国 Thermo 公司),MTN-2800D 型氮吹仪(北京华瑞博远科技发展有限公司),XH-C 型涡旋混合器(江苏金怡仪器科技有限公司)。

3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇(上海哈灵生物科技有限公司,批号 873001-54-8,纯度 ≥ 98.0%),特非那定(内标物,美国 Sigma 公司,批号 10291-0005,纯度 ≥ 98.0%),甲酸、甲基叔丁基醚(北京迈瑞达科技有限公司),二甲基亚砜(DMSO,美国 Tedia 公司,批号 806077),甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF 级 SD 大鼠,雄性,体重(200 ± 20) g,购自湖南长沙市天勤生物技术有限公司,合格证号 SCXK(湘)2014-0011。大鼠于室内保持 12 h 光照,12 h 避光循环饲养,给予标准饲料和饮用水,且控制室内温度(25.0 ± 1.0) °C,相对湿度(50.0 ± 10.0)%。本实验所涉及的动物实验均符合中国实验动物福利伦理审查指南的要求。

2 方法与结果

2.1 组织分布试验

2.1.1 药物配制与给药 取 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇,加适量 DMSO 使溶解,加 1.0% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制 3.0 g·L⁻¹ 混悬液,大鼠灌胃给药剂量 60 mg·kg⁻¹,灌胃体积 20 mL·kg⁻¹。

2.1.2 组织样品的采集 健康雄性 SD 大鼠 25 只,适应饲养 1 周后,于给药前随机取 1 只,取胃、心、

肝、脾、肺、肾组织作空白对照。剩下 24 只大鼠分为 4 组,每组 6 只,分别按 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给予 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的 1.0% CMC-Na 混悬液,大鼠给药前均禁食 12 h,全程不禁水,给药后分别于 0.5,1.0,3.0,6.0 h 腹腔注射 3.0% 戊巴比妥钠(每 100 g 大鼠注射 0.2 mL)麻醉,腹主动脉取血至动物死亡。分别取大鼠的胃、心、肝、脾、肺、肾组织,用 4°C 生理盐水冲洗,滤纸吸干,称量后置于 -80°C 冰箱冻存备用。

2.1.3 样品组织的匀浆处理 分别根据每只大鼠胃、心、肝、脾、肺、肾组织的质量,加入 3 倍量生理盐水,匀浆处理,匀浆液于 -80°C 储存。

2.2 溶液的配制 精密称取 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇对照品适量,加 DMSO 溶解并配成 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 贮备液;精密量取该贮备液适量,加甲醇稀释,得质量浓度分别为 2 000,1 000,500,200,100,50,20,10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液,置于 4°C 储存。精密称取特非那定对照品适量,加甲醇溶解并稀释成质量浓度 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的贮备液;临用时用甲醇-乙腈(1:1)混合液稀释成 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 工作浓度,作为内标溶液,置于 4°C 储存。

2.3 组织样品处理 取胃、心、肝、脾、肺、肾空白组织液各 100 μL ,加入甲醇 5 μL ,加入甲醇-乙腈(1:1)液 200 μL ,涡旋 2 min,离心($8\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min,下同),取上清液 100 μL 于进样瓶中,制成胃、心、肝、脾、肺、肾组织空白样品液。取各组织样品液 100 μL ,加入 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 特非那定的甲醇-乙腈(1:1)溶液 200 μL ,涡旋混合 2 min,离心,取上清液 100 μL 于进样瓶中,制成胃、心、肝、脾、肺、肾组织样品液。分别取以上样品上清液 10 μL 进行 UPLC-MS/MS 测定。

2.4 质控样品的制备 取胃、心、肝、脾、肺、肾空白组织液各 50 μL ,分别加入质控溶液 5 μL ,加入 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 特非那定甲醇-乙腈(1:1)溶液 200 μL ,涡旋混合 2 min,离心,取上清液进行 UPLC-MS/MS 测定。

2.5 检测条件

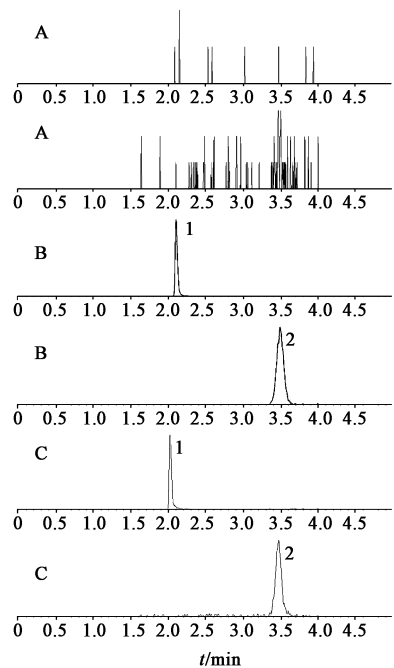
2.5.1 色谱条件 ZORBAX C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm,3.5 μm),流动相含 0.1% 甲酸的 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~0.01 min,50% A;0.01~1.0 min,50%~2% A;1.0~4.0 min,2% A;4.0~4.1 min,2%~50% A;4.1~5.0 min,50% A),流速 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样针润洗液为 0.1% 甲酸-甲醇(1:1),进样量 10 μL ,进样器温度

4°C ,柱温为室温。

2.5.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),正离子模式,喷射电压设定 5 kV,干燥气(N_2)流速设定 $20 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,离子源温度 550°C ,扫描方式为多反应离子监测模式(MRM),检测离子对为 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇 m/z 684.7~527.6,特非那定(terfenadine,IS) m/z 472.4~436.4,去簇电压分别为 80,130 V,碰撞能量分别为 22,50 eV,碰撞池出口电压均为 15 V。

2.6 方法学验证

2.6.1 专属性试验 取大鼠空白组织液、空白组织液+3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇对照品+内标物质特非那定、大鼠给药后各组织样品液,按 2.5 项下条件进样测定,结果表明组织液中内源性物质不干扰指标成分的检测,见图 1。



A. 空白组织样品;B. 空白组织样品+对照品+内标;C. 供试品;1. 特非那定(内标);2. 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇

图 1 大鼠灌胃给予 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇 3 h 后胃组织样品的 UPLC-MS

Fig. 1 UPLC-MS chromatograms of rat stomach sample after intragastric administration of 3,29-dibenzoyl rarounitriol for 3 h

2.6.2 标准曲线和定量下限 取各组织液 50 μL ,加入甲醇 5 μL ,加入 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 特非那定甲醇-乙腈(1:1)溶液 200 μL ,涡旋混合 2 min,配制各组织样品溶液中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇质量浓度分别为 0.1,0.2,0.5,2.0,5.0,20,50,200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列溶液,按上述方法进行处理和检测,以 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在各组织中的质量浓度为横坐

标,3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇和特非那定的峰面积比值为纵坐标,利用最小二乘法进行线性回归,见表 1。结果表明 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在 0.5~200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与峰面积比值的线性关系良好,当质量浓度为 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,检测信号很弱,故将定量下限设定 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 1 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在不同组织中的标准曲线
Table 1 Standard curves of 3,29-dibenzoyl rarounitriol in different tissues

组织	回归方程	r
胃	$Y = 2.49 \times 10^{-3}X - 9.43 \times 10^{-3}$	0.996 5
心	$Y = 2.27 \times 10^{-3}X + 1.39 \times 10^{-3}$	0.998 6
肝	$Y = 1.33 \times 10^{-3}X + 4.08 \times 10^{-3}$	0.997 5
肺	$Y = 1.61 \times 10^{-3}X + 1.58 \times 10^{-3}$	0.996 5
肾	$Y = 1.01 \times 10^{-3}X + 5.03 \times 10^{-3}$	0.996 3

表 2 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在不同组织中的精密度和准确度试验(n=6)

Table 2 Precision and accuracy test of 3,29-dibenzoyl rarounitriol in different tissues(n=6)

组织	质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	日内			日间		
		测得值($\bar{x} \pm s$)/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	RE/%	测得值($\bar{x} \pm s$)/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	RE/%
胃	5	5.08 ± 0.13	1.9	1.6	4.78 ± 0.24	2.6	-4.4
	50	51.82 ± 6.22	5.4	3.6	49.01 ± 5.57	4.6	-2.0
	200	230.30 ± 25.18	8.3	6.1	186.27 ± 24.20	6.4	-2.8
心	5	5.24 ± 0.25	2.6	4.8	5.04 ± 0.28	4.5	0.8
	50	53.23 ± 5.36	4.8	6.5	47.75 ± 7.68	6.6	-4.5
	200	186.37 ± 18.52	6.3	-2.7	178.52 ± 21.51	6.7	-4.3
肝	5	4.92 ± 0.34	4.4	-1.6	4.77 ± 0.45	6.4	-4.6
	50	53.05 ± 3.90	3.3	6.1	49.24 ± 7.78	6.5	-1.5
	200	216.42 ± 8.25	5.3	8.2	195.74 ± 12.94	8.8	-2.1
脾	5	4.82 ± 0.28	3.1	-3.6	4.79 ± 0.33	4.5	-4.2
	50	47.39 ± 5.52	5.0	-5.2	48.77 ± 7.21	7.1	2.5
	200	192.90 ± 8.13	4.0	-3.6	195.38 ± 14.26	7.9	-2.3
肺	5	5.26 ± 0.30	4.3	5.2	5.22 ± 0.33	5.0	4.4
	50	52.05 ± 4.14	4.2	4.1	52.40 ± 6.07	6.1	4.8
	200	208.82 ± 12.06	6.9	4.4	210.85 ± 11.65	7.5	5.4
肾	5	4.84 ± 0.22	2.3	-3.2	4.90 ± 0.29	3.8	-2.0
	50	47.85 ± 5.17	4.7	-4.3	47.75 ± 5.25	4.6	-4.5
	200	190.54 ± 14.59	8.8	-4.7	193.81 ± 11.61	6.5	-3.1

取上清液 100 μL 于进样瓶中,按 2.5 项下条件进行测定,记录 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的峰面积 A_2 。计算提取回收率(A_2/A_1)。另分别取不同质量浓度的 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇对照品溶液,加

2.6.3 准确度与精密度试验 取 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇质量浓度分别为 5,50,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的组织样品溶液,按上述方法进行处理,并分别在 1 d 内和连续 3 d 内进样测定,见表 2。结果各组织的日内精密度 RSD 1.9%~8.8%,准确度的相对误差(RE) -5.2%~8.2%;各组织的日间精密度 RSD 2.6%~8.8%,准确度的 RE -4.6%~5.4%;均符合生物样品分析要求。

2.6.4 提取回收率和基质效应 取 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇质量浓度分别为 5,50,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的组织样品溶液($n=6$),按上述方法进行处理,按 2.5 项下条件进行测定,记录 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的峰面积 A_1 。另取空白组织液 50 μL ,分别加入 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇质量浓度为 5,50,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的质控样品溶液,加入 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 特非那定甲醇-乙腈(1:1)溶液 200 μL ,涡旋混合 2 min,

入内标溶液,配制 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇质量浓度为 5,50,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,按 2.5 项下条件进行测定,记录对照品的峰面积 A_3 ,计算基质效应(A_2/A_3)。结果不同质量浓度的质控样品在不同

组织液中的平均提取回收率 95.60% ~ 111.95%, RSD 均 ≤ 11.0%; 内标物质特非那定在不同组织液的平均回收率 91.42% ~ 111.18%, RSD ≤ 6.7%。不同质量浓度的质控样品在不同组织液中的平均基质效应 93.80% ~ 108.10%, RSD ≤ 10.1%。内标物质特

非那定在不同组织液中的平均基质效应 97.17% ~ 104.29%, RSD ≤ 5.1%。质控样品和内标物质特非那定在不同组织液中的平均提取回收率均较好,其基质基本不干扰 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇和内标物质的检测,符合生物样品分析方法的要求,见表 3。

表 3 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在不同组织中的提取回收率和基质效应 (n=6)

Table 3 Extraction recovery and matrix effect of 3,29-dibenzoyl rarounitriol in different tissues (n=6)

%

成分	组织	质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	提取回收率		基质效应	
			回收率 ($\bar{x} \pm s$)	RSD	基质效应 ($\bar{x} \pm s$)	RSD
3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇	胃	5	97.53 ± 10.20	11.0	104.71 ± 9.36	10.1
		50	105.51 ± 0.69	0.9	107.63 ± 1.16	1.5
		200	111.95 ± 3.13	2.1	103.95 ± 4.78	4.9
	心	5	106.46 ± 4.91	5.7	106.60 ± 5.30	5.5
		50	97.14 ± 6.46	6.7	100.60 ± 2.68	2.9
		200	95.68 ± 5.29	5.8	96.37 ± 5.88	5.9
	肝	5	96.45 ± 5.44	5.7	105.05 ± 5.23	5.2
		50	102.12 ± 4.46	5.4	107.73 ± 4.10	4.2
		200	98.08 ± 5.38	5.9	101.43 ± 6.63	6.4
	脾	5	98.56 ± 7.77	7.9	103.24 ± 6.10	6.4
		50	103.07 ± 3.55	3.8	94.66 ± 6.18	6.3
		200	95.78 ± 4.89	5.0	101.15 ± 4.47	4.8
肺	5	102.50 ± 5.12	5.1	93.80 ± 4.85	4.9	
	50	97.55 ± 4.78	4.8	106.74 ± 8.09	8.2	
	200	98.21 ± 6.38	6.8	96.14 ± 5.58	5.7	
肾	5	103.07 ± 6.77	6.8	97.89 ± 6.42	6.5	
	50	95.60 ± 6.90	7.2	108.10 ± 4.33	4.5	
	200	104.56 ± 7.57	7.6	94.26 ± 6.48	6.6	
特非那定	胃	50	91.42 ± 6.58	6.7	102.92 ± 2.50	2.6
	心	50	92.15 ± 4.81	4.9	97.17 ± 4.95	5.1
	肝	50	103.02 ± 3.76	3.8	104.29 ± 0.85	1.0
	脾	50	110.33 ± 6.07	6.2	104.22 ± 0.82	0.7
	肺	50	111.18 ± 4.55	4.6	101.19 ± 1.28	1.3
肾	50	94.07 ± 4.43	4.5	103.05 ± 2.44	2.5	

2.6.5 稳定性试验 分别取 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇质量浓度分别为 5,50,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的各组织液为质控样品,按上述方法进行处理,分别于 4,12,24 h 取样,按 2.5 项下条件进样测定,结果 RSD 均 < 10.0%,表明样品中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在 24 h 内稳定。同法将各组织 3 种质量浓度的质控样品置于 -20 °C 冰箱中保存,分别于第 1,5,14 天解冻,按 2.5 项下条件进样测定,结果 RSD 均 < 10.0%,表明样品在 -20 °C 条件下 14 d 内稳定性较

好,见表 4。

2.7 组织分布研究 各组织中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的质量分数采用公式 $C_t = C_s V_s / P$ 计算^[8],式中 C_t 代表组织中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的质量分数, C_s 表示组织液中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的质量浓度, V_s 表示组织液的体积, P 表示组织的质量。见表 5。结果发现 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在不同组织中分布差异较大,大鼠按剂量 60 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药时,0.5 h 后各组织中 3,29-二

表 4 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在不同组织中的稳定性试验 ($n=6$)
Table 4 Stability of 3,29-dibenzoyl rarounitriol in different tissues ($n=6$)

组织	质量浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	12 h			24 h		
		测得值 ($\bar{x} \pm s$) $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	RE/%	测得值 ($\bar{x} \pm s$) $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	RE/%
胃	5	5.11 ± 0.14	2.1	2.2	4.91 ± 0.38	5.6	-1.8
	50	52.02 ± 5.92	5.3	4.0	50.16 ± 4.49	5.4	0.3
	200	211.05 ± 14.87	8.3	5.5	204.38 ± 13.06	7.6	2.2
心	5	5.09 ± 0.17	2.2	1.8	4.87 ± 0.26	4.5	-2.6
	50	50.90 ± 5.45	4.8	1.8	50.15 ± 4.65	4.2	0.3
	200	208.50 ± 15.60	7.9	4.3	200.88 ± 9.20	5.3	0.4
肝	5	5.10 ± 0.43	4.2	2.0	4.79 ± 0.40	4.0	-4.2
	50	51.81 ± 7.36	6.5	3.6	48.96 ± 4.12	3.9	-0.9
	200	211.51 ± 16.66	8.7	5.8	202.32 ± 11.08	6.1	1.2
脾	5	4.97 ± 0.43	4.5	-0.6	4.85 ± 0.26	3.3	-3.0
	50	52.12 ± 4.16	3.3	4.2	50.02 ± 5.22	4.4	0.04
	200	212.01 ± 15.10	7.9	6.0	190.14 ± 17.02	8.9	-4.9
肺	5	4.89 ± 0.53	6.6	-2.2	4.70 ± 0.53	6.1	-6.0
	50	53.50 ± 3.35	3.1	7.0	46.08 ± 8.30	9.3	-8.2
	200	207.52 ± 13.61	6.2	3.8	177.51 ± 15.17	8.4	-11.2
肾	5	4.98 ± 0.26	2.0	-0.4	4.68 ± 0.57	7.3	-6.4
	50	49.24 ± 4.35	4.4	-0.9	47.63 ± 6.66	7.1	-4.7
	200	201.51 ± 5.63	2.3	0.8	178.50 ± 17.68	9.6	-10.7

组织	质量浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	3 次冻融			-20 °C 保存 14 d		
		测得值 ($\bar{x} \pm s$) $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	RE/%	测得值 ($\bar{x} \pm s$) $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	RE/%
胃	5	5.03 ± 0.55	6.5	0.6	5.15 ± 0.23	3.1	3.0
	50	49.06 ± 7.23	6.8	-0.9	47.50 ± 4.37	4.5	-5.0
	200	178.53 ± 16.20	8.4	-10.7	177.33 ± 12.56	7.2	-11.3
心	5	4.80 ± 0.65	8.2	-4.0	4.81 ± 0.44	4.6	-3.8
	50	46.57 ± 5.24	6.3	-6.9	49.50 ± 7.01	7.3	-1.0
	200	182.84 ± 14.32	7.2	-8.6	201.03 ± 14.55	7.9	0.5
肝	5	5.04 ± 0.72	9.6	0.8	5.07 ± 0.63	8.7	1.4
	50	50.77 ± 7.56	7.8	1.5	50.02 ± 7.87	9.0	0.04
	200	191.44 ± 13.35	6.6	-4.3	178.33 ± 15.89	9.4	-10.8
脾	5	4.79 ± 0.59	7.0	-4.2	5.04 ± 0.65	8.8	0.8
	50	48.62 ± 5.74	4.8	-2.8	47.43 ± 5.31	5.5	-8.5
	200	187.90 ± 10.30	6.0	-6.1	185.47 ± 11.63	6.7	-7.3
肺	5	4.76 ± 0.42	5.0	-4.8	4.83 ± 0.18	1.9	-3.4
	50	50.27 ± 3.03	1.8	0.5	48.25 ± 5.35	5.7	-3.5
	200	201.40 ± 12.89	7.3	0.7	192.47 ± 14.60	7.6	-3.8
肾	5	4.69 ± 0.28	2.2	-6.2	5.12 ± 0.45	5.6	2.4
	50	48.32 ± 7.34	8.2	-8.7	47.97 ± 4.61	4.9	-4.1
	200	184.56 ± 11.66	5.7	-7.7	179.64 ± 12.39	7.3	-10.2

苯甲酰基栝楼仁三醇的质量分数排序为肺 > 胃 > 肾 > 心 > 肝 > 脾; 给药 1.0 h 后各组织的药物质量分数排序为胃 > 肺 > 肾 > 肝 > 心 > 脾; 给药 3.0 h 后各组织的药物质量分数排序为胃 > 肺 > 肾 > 肝 > 心 > 脾; 给药 6.0 h 后各组织的药物质量分数排序为胃 > 肺 > 肾 > 肝 > 心 > 脾。

表 5 灌胃后 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在大鼠不同组织中的质量分数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Concentrations of 3,29-dibenzoyl rarounitriol in different tissues of rats after intragastric administration ($\bar{x} \pm s, n=6$) $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$

组织	0.5 h	1.0 h	3.0 h	6.0 h
胃	84.6 ± 28.6	280.8 ± 66.1	405.8 ± 114.8	210.6 ± 46.9
心	36.4 ± 15.6	72.8 ± 32.8	40.2 ± 22.6	8.9 ± 3.7
肝	34.7 ± 12.6	88.6 ± 35.9	58.2 ± 35.3	16.8 ± 6.4
脾	5.6 ± 1.8	26.3 ± 10.1	18.0 ± 11.4	8.5 ± 4.7
肺	338.8 ± 85.5	278.5 ± 82.0	244.1 ± 52.5	183.3 ± 58.6
肾	55.8 ± 22.6	180.2 ± 60.3	156.5 ± 50.8	88.3 ± 30.7

3 讨论

本实验采用 UPLC-MS/MS 研究大鼠口服给予 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇后的组织分布情况, 结果表明大鼠灌胃给药后, 主要分布在胃和肺组织, 0.5 h 时各组织的药物质量分数排序为肺 > 胃 > 肾 > 心 > 肝 > 脾, 其他时间药物质量分数排序均为胃 > 肺 > 肾 > 肝 > 心 > 脾。3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇在不同组织的分布速度也不一样, 在肺组织中 0.5 h 能达质量分数峰值, 心、肝、脾、肾在 1.0 h 达质量分数峰值, 而胃在 3.0 h 达质量分数峰值。说明肺组织的分布速度较快, 在 0.5 h 就能达到比较高的浓度, 随着时间的延长, 肺组织中仍能保持一定的药物浓度。3.0 h 后, 除了在胃组织中药物质量分数增大以外, 其他组织中药物浓度在 1.0 h 后逐渐降低, 提示没有长期积累的作用。

3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇可能对肺和胃组织具有一定的亲和力, 在肺和胃的质量浓度明显高于其他组织, 其特点和瓜蒌的归经作用相一致, 肺、胃也是其作用的靶器官, 为肺和胃脏系统疾病的治疗作用提供了物质基础。在心脏、肝脏和脾脏的药

物浓度相对较低, 表明血流和器官灌注在 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的分布过程中没有起到关键性作用, 这与 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇溶解性比较小的性质相吻合。然而, 由于药物在体内分布复杂、影响因素众多, 本研究仅从 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇口服给药后在大鼠主要脏器的分布情况进行研究, 存在一定的局限性, 后续将从不同给药途径并结合 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的主要药效作用对其进行药物代谢动力学研究, 以阐明其在体内的动态变化和代谢情况, 为瓜蒌子有效成分 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的进一步开发与利用提供基础数据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 113.

[2] Mondal A. A novel extraction of trichosanthin from *Trichosanthes kirilowii* roots using three-phase partitioning and its *in vitro* anticancer activity[J]. *Pharm Biol*, 2014, 52(6): 677-680.

[3] Minh C V, Nhiem N X, Yen H T, et al. Chemical constituents of *Trichosanthes kirilowii* and their cytotoxic activities [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(8): 1443-1448.

[4] 刘金娜, 温春秀, 刘铭, 等. 瓜蒌的化学成分和药理活性研究进展[J]. *中药材*, 2013, 36(5): 843-848.

[5] 张荣超, 辛杰, 郭庆梅, 等. 不同产区瓜蒌子有效成分含量测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(18): 71-73.

[6] 程雪梅, 吴弢, 俞桂新, 等. RP-HPLC 法测定瓜蒌子中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇含量[J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(4): 377-380.

[7] 杨晓颖. 气相色谱法(GC)测定瓜蒌子中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的含量[J]. *当代医学*, 2012, 18(24): 26-27.

[8] YAN F, SUN M, HANG T, et al. A rapid and sensitive UPLC-MS/MS method for determination of HZ08 in rat plasma and tissues: application to a pharmacokinetic study of liposome injections[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 102: 246-252.

[责任编辑 刘德文]