

· 药物动力学研究 ·

苦参总生物碱及其磷脂复合物的药动力学研究

杨志欣¹, 汤海霞¹, 邢希旺², 李霞¹, 张丽芬¹, 吕邵娃¹ (1. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 天津科伦药物研究有限公司, 天津 300457)

摘要: 目的 以氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱为指标成分, 研究苦参总生物碱(TA)及苦参总生物碱磷脂复合物(TA-PC)在大鼠体内的药动力学特征。方法 建立超高压液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时定量测定大鼠血浆中4个生物碱的分析方法, 以小檗碱为内标, 乙酸乙酯液-液萃取法提取血浆样品, 在ACQUITY UPLC® HSS T3 C₁₈柱上梯度洗脱分离。乙腈-10 mmol·L⁻¹乙酸铵为流动相体系。在多反应离子监测(MRM)模式下使用电喷雾离子化电离源(ESI)进行正离子方式检测。以DAS 2.0软件处理数据。结果 TA给药后, 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的 $t_{1/2\alpha}$ 分别为13.55、14.45、10.19、12.11 h, $AUC_{0\rightarrow\infty}$ 分别为478.45、715.38、2 415.00、156.63 mg·L⁻¹·h, $MRT_{0\rightarrow\infty}$ 分别为12.05、19.15、12.36、14.10 h; TA-PC给药后, $t_{1/2\alpha}$ 分别为21.53、20.24、14.99、12.77 h, $AUC_{0\rightarrow\infty}$ 分别为771.88、964.48、4 490.05、622.39 mg·L⁻¹·h, $MRT_{0\rightarrow\infty}$ 分别为14.45、22.79、16.35、13.92 h; TA-PC中氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的相对生物利用度分别为161.33%、134.82%、185.94%、397.36%。结论 所建立的方法灵敏、准确、高效, 可用于大鼠体内4个苦参生物碱成分的药动力学研究, 制成TA-PC后能够显著提高TA大鼠体内生物利用度并延长体内作用时间。

关键词: 苦参; 生物碱; 磷脂复合物; 超高压液相色谱-串联质谱; 药动力学

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)06-0834-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.06.012

Study on Pharmacokinetics of Total Alkaloids of *Sophora flavescens* and Its Phospholipid Complex

YANG Zhixin¹, TANG Haixia¹, XING Xiwang², LI Xia¹, ZHANG Lifan¹, LYU Shaowa¹ (1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040 Heilongjiang, China; 2. Tianjin Kelun Pharmaceutical Research Co., Ltd, Tianjin 300457, China)

Abstract: **Objective** The pharmacokinetic characteristics of total alkaloid (TA) and total alkaloid phospholipid complex (TA-PC) of *Sophora flavescens* in rats were studied using oxymatrine (OMT), oxysophocarpine (OSC), matrine (MT) and sophocarpine (SC) as index components. **Methods** In this study, a method for simultaneous determination of four alkaloids in rats' (SD) plasma by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established. Berberine was used as the internal standard (Ber). Plasma samples were extracted by ethyl acetate liquid-liquid extraction and separated by gradient elution on ACQUITY UPLC® HSST3 C₁₈ column. An acetonitrile (A)-ammonium acetate (10 mmol·L⁻¹) (B) forms the mobile phase system. The positive ion mode detection was carried out using electrospray ionization source in multi-reactive ion monitoring mode. DAS2.0 software was used to process the obtained data. **Results** After administration of TA, the $T_{1/2\alpha}$ of OMT, OSC, MT and SC were 13.55 h, 14.45 h, 10.19 h and 12.11 h, respectively; and the $AUC_{0\rightarrow\infty}$ values were 478.45,

收稿日期: 2021-01-03

作者简介: 杨志欣, 女, 博士, 研究方向: 新剂型与新药开发。Email: zhixin.y@163.com。通信作者: 吕邵娃, 女, 教授, 研究方向: 新药开发与研究。Email: lswa5599@hotmail.com。

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(H2016057, H2017066); 黑龙江中医药大学“优秀创新人才支持计划”项目(2012, 2018)。

715.38, 2 415.00 and 156.63 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$, respectively; $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ were 12.05 h, 19.15 h, 12.36 h and 14.10 h. After TA-PC administration, the $T_{1/2\alpha}$ of 21.53 h, 20.24 h, 14.99 h and 12.77 h; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ values were 771.88, 964.48, 4 490.05 and 622.39 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$; $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ were 14.45 h, 22.79 h, 16.35 h and 13.92 h, respectively. The relative bioavailability of OMT, OSC, MT and SC in TA-PC was 161.33%、134.82%、185.94%、397.36%, respectively.

Conclusion The established method was effectively used to study the pharmacokinetics of four components of *Sophora flavescens* in rats. TA-PC can significantly improve the bioavailability of TA in rats.

Keywords: *Sophora flavescens* Ait; alkaloid; phospholipid complex; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pharmacokinetics

苦参总生物碱(Total alkaloids from *Sophora flavescens*, TA)是豆科植物苦参(*Sophora flavescens* Ait.)不同部位提取、分离出来的一类特征性成分^[1-2],具抗肿瘤^[3-6]、抗心律失常^[7]、抗病毒^[8]、抗菌、抗炎^[9]等多种药理作用。TA脂溶性小^[10],其主要成分氧化苦参碱(Oxymatrine, OMT)、苦参碱(Matrine, MT)在大鼠体内的绝对生物利用度分别为9.31%、47.4%^[11-12],槐果碱(Sophocarpine, SC)和氧化槐果碱(Oxidized sophorin, OSC)在体内消除快^[13-14],提示如何延长TA在体内的作用时间且提高其生物利用度成为首要解决的问题。基于此,本课题组前期制备了TA的磷脂复合物(Phospholipid complex, PC),拟通过改善溶解性影响其体内吸收特性。结果表明,苦参总生物碱磷脂复合物水中溶解度下降,油水分配系数明显增加^[15]。为进一步探讨其体内过程,本实验建立了同时测定大鼠体内4个苦参生物碱的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析方法,探究苦参总生物碱磷脂复合物(Total alkaloid phospholipid complex of *Sophora flavescens*, TA-PC)在大鼠体内药动学行为并计算其生物利用度,为TA-PC的深入研究提供实验数据。

1 材料

1.1 仪器 CQUITYTM TQD 超高效液相色谱仪串联三重四级杆质谱仪、色谱工作站 ACQUITYTM UPLC 系统(美国 Waters 公司); AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); WH-1 微型涡旋混合器(上海沪西分析仪器厂有限公司);微量移液器(北京卓信伟业科技有限公司); Forma -80 °C 低温冰箱(美国 Thermo 公司); BF-2000 氮吹仪(北京八方世纪科技有限公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与试剂 TA(本实验室自制,质量分数 > 80%);氧化苦参碱(OMT)、氧化槐果碱(OSC)、苦

参碱(MT)、槐果碱(SC)(成都普瑞法科技开发有限公司,纯度均大于 98%,批号分别为:PRF19022805、PRF7050922、PRF19041106、PRF7051921);小檗碱(成都德思特生物技术有限公司,纯度 $\geq 98\%$,批号:DST170103-009);甲醇、乙腈(美国 Fisher 公司,色谱纯,批号分别为:191024、191114);乙酸铵(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:F1901035);屈臣氏蒸馏水(中国屈臣氏集团,批号:20190319)。

1.3 动物 SD 大鼠 12 只,SPF 级,体质量(250 $\pm$ 10)g,雌雄各半,黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供,动物许可证号:SYXK(黑)2019-007。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

2.1.1 UPLC 色谱条件 ACQUITY UPLC[®] HSS T3 C₁₈ 色谱柱 column(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm);流动相为乙腈(A)-10 mmol $\cdot$ L⁻¹ 乙酸铵(B),梯度洗脱:0~3 min (30% A), 3~3.2 min (60%~30% A), 3.2~4.0 min (30% A);体积流量:0.2 mL $\cdot$ min⁻¹;进样量:5 μL ;运行时间为 4 min;柱温:35 °C。

2.1.2 MS/MS 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),毛细管电压 3.5 kV,鞘气温度 350 °C,鞘气体积流量 10 L $\cdot$ min⁻¹,气体温度 325 °C,气体体积流量为 8 L $\cdot$ min⁻¹;氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、小檗碱的锥孔电压分别为 50、50、55、55、50 V;正离子方式检测;多反应离子监测(MRM)模式扫描, m/z 265 $\rightarrow$ 247、205(氧化苦参碱); m/z 263 $\rightarrow$ 245、203(氧化槐果碱); m/z 249 $\rightarrow$ 148 和 249 $\rightarrow$ 176(苦参碱); m/z 247 $\rightarrow$ 136 和 247 $\rightarrow$ 179(槐果碱); m/z 337 $\rightarrow$ 293 和 337 $\rightarrow$ 279(小檗碱)。采用 Masslynx[™] 4.1 软件收集并处理数据,二级质谱图见图 1,驻留时间、碰撞能量、离子质荷比见表 1。

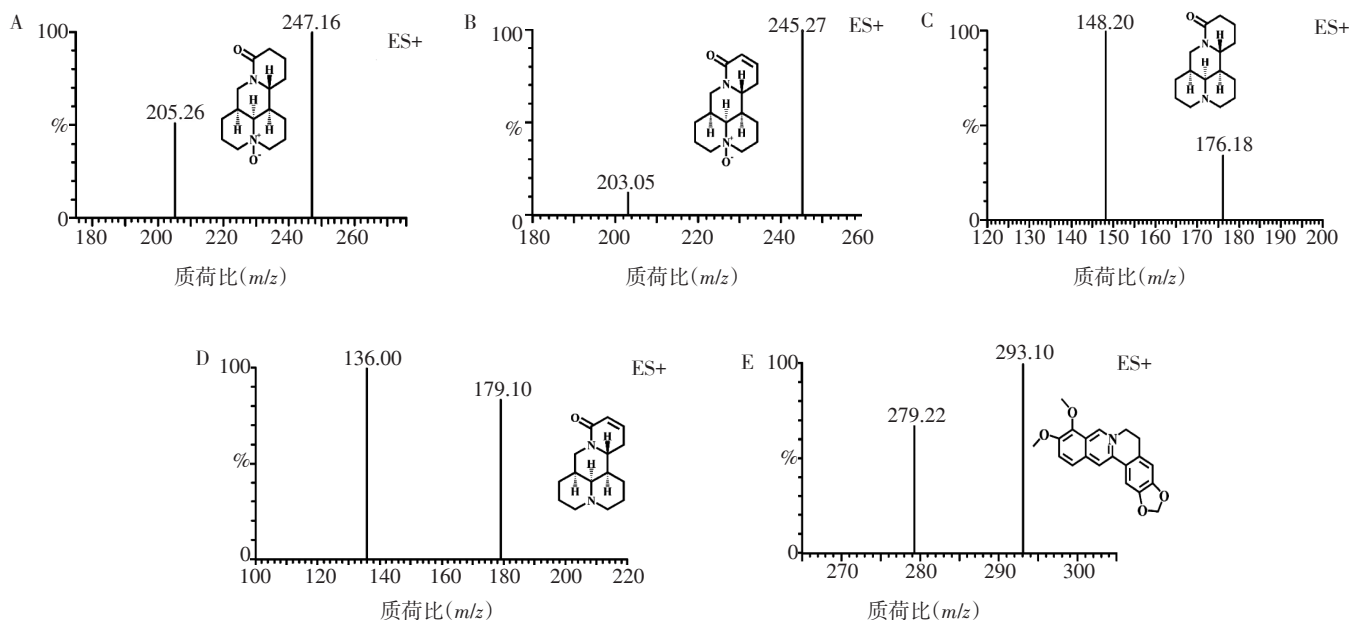


图1 氧化苦参碱(A)、氧化槐果碱(B)、苦参碱(C)、槐果碱(D)和内标(E)的质谱图和化学结构图

Figure 1 The mass spectrum and chemical structure of OMT (A), OSC (B), MT (C), SC (D) and IS (E)

表1 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱和小檗碱的质谱参数

Table 1 The mass spectrometric parameters of OMT, OSC, MT, SC and Ber

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留 时间/s	锥孔 电压/V	碰撞 能量/V
氧化苦参碱	265.190 0	205.260 0	0.030	50	30
氧化槐果碱	263.170 0	203.050 0	0.030	50	30
苦参碱	249.190 0	148.200 0	0.030	55	30
槐果碱	247.180 0	179.100 0	0.030	55	25
小檗碱	337.130 0	279.220 0	0.030	50	40

2.2 血浆样品处理 精密取 100 μL 血浆样品及 10 μL 内标(小檗碱)溶液($500 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)于 2 mL 离心管, 涡旋混合 3 min, 再加 1 mL 二氯甲烷, 涡旋混合 3 min。以 $12\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液 800 μL 置于 2 mL 离心管中, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 氮气流吹干; 残余物用 80 μL 甲醇溶解, 涡旋混合 3 min, 以 $12\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min(离心半径 4 cm), 即得。按 2.1.1 项下色谱条件进样 5 μL , 以 UPLC-MS/MS 分析, 记录峰面积。

2.3 溶液的制备

2.3.1 TA 灌胃供试液的制备 称取 TA 适量, 精密称定为 300.03 mg, 溶于 10 mL 生理盐水中, 涡旋 3 min, 超声助溶, 制成浓度为 $30.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 TA 溶液。

2.3.2 TA-PC 灌胃供试液的制备 称取 TA-PC 适量, 精密称定为 420.00 mg(含 TA 300.00 mg), 以 10 mL

生理盐水涡旋 3 min, 超声分散, 即得 TA-PC 灌胃供试液。

2.3.3 对照品溶液的制备 称取氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱对照品适量, 分别精密称定为 10.02、10.04、10.05、10.01 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解定容至刻度, 得到浓度均为 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的母液。分别精密量取母液适量于量瓶中, 加甲醇稀释, 定容至刻度, 均配成浓度分别为 5 000、2 000、1 000、500、100、10、1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液。密封, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

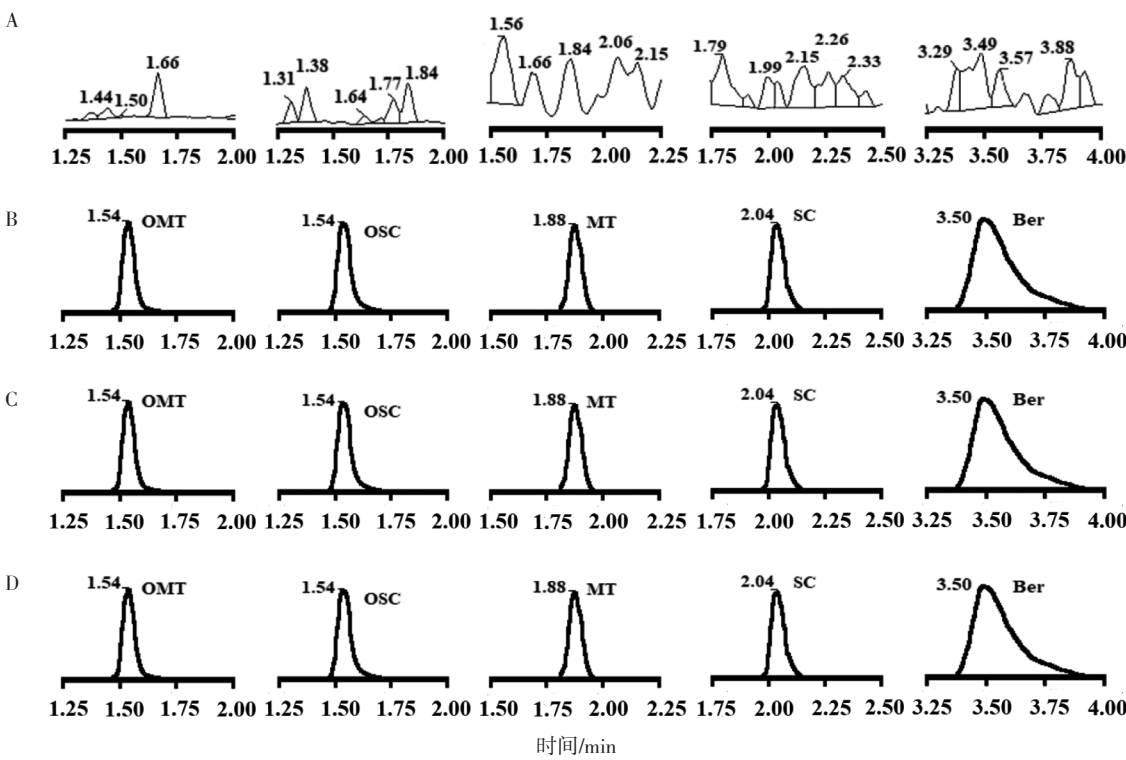
2.3.4 小檗碱(内标)溶液的制备 称取小檗碱对照品适量, 精密称定 10.00 mg 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配成浓度为 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的小檗碱母液。精密量取母液适量, 甲醇稀释制成浓度 $500 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液。密封, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 分别取空白血浆, 空白血浆分别加氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱对照品溶液及内标小檗碱, 大鼠灌胃 TA 及 TA-PC 供试液后的血浆样本(灌胃给药 1 h 的采血)。其中, 空白血浆加氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱是在定量下限(lower limit of quantification, LLOQ)即浓度为 $1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水平检测。按“2.2”项下方法处理后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样 5 μL , 以 UPLC-MS/MS 分析, 记录峰面积。结果色谱中氧化苦参

碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、小檗碱的保留时间分别为 1.54、1.54、1.88、2.04、3.50 min。结果各组分峰形良好，完全分离，血浆杂质不干扰 TA

中 4 个成分与内标小檗碱的含量测定，表明本法具有较高的专属性。见图 2。



注：A. 空白血浆样品；B. 空白血浆加入氧化苦参碱(OMT)、氧化槐果碱(OSC)、苦参碱(MT)、槐果碱(SC)和小檗碱(Ber)样品；C. 口服灌胃 TA 溶液 1 h 后的 OMT、OSC、MT、SC 和 Ber 血浆样品；D. 口服灌胃 TA-PC 1 h 后的 OMT、OSC、MT、SC 和 Ber 血浆样品

图 2 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱和小檗碱的血浆样品色谱图

Figure 2 Plasma chromatograms of OMT, OSC, MT, SC and Ber

2.4.2 标准曲线与最低检测限 精密吸取“2.3.3”项下系列标准溶液，按照“2.1.1”项下色谱条件测定氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、小檗碱的峰面积。以氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的浓度(X)为横坐标，氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的峰面积/小檗碱峰面积比值(Y)为纵坐标绘制标准曲线，采用加权(1/x²)最小二乘回归法，得出线性回归方程斜率(k)、截距(b)和相关系数(r)。标准曲线方程、线性范围见表 2。在标准曲线最低浓度的基础上分别稀释 2 倍、5 倍、10 倍，按照“2.2”项下处理样品，测定最低检测限(lower limit of detection, LLOD)，结果见表 2。

2.4.3 精密度与准确度 取空白血浆 100 μL，分别添加低、中、高 3 个质量浓度的氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱对照品溶液(5、200、400 ng·mL⁻¹)作为质控样品；按照“2.2”项下方法操作。每个浓度水平测定 6 份样品，连续测定 6 d。以相对标准偏差(RSD)表示精密度；以相对误差

表 2 4 个苦参生物碱的标准曲线与最低检测限
Table 2 Standard working curves and minimum detection limits of 4 alkaloids from *S. flavescens*

对照品	标准曲线	r	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)	最低检测限/ (ng·mL ⁻¹)
氧化苦参碱	Y=0.017 5X+0.154 1	0.998 7	1~5 000	0.01
氧化槐果碱	Y=0.012 9X+0.892 5	0.997 4	1~5 000	0.01
苦参碱	Y=0.039 6X+1.010 6	0.993 3	1~5 000	0.01
槐果碱	Y=0.126 8X+0.450 9	0.998 5	1~5 000	0.01

(RE)表示准确度。结果见表 3。结果提示精密度与准确度符合实验要求。

2.4.4 提取回收率 取空白血浆 100 μL 于离心管中，分别添加低、中、高 3 个质量浓度的氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱对照品溶液(5、200、400 ng·mL⁻¹)质控样品进行分析，计算含量，并与相应浓度的未经处理的对照品溶液比较，计算提取回收率。结果见表 3。4 个苦参生物碱成分的提取回收率均在 90%以上，表明提取方法符合要求。

2.4.5 稳定性考察 取质控样品(5、200、400 ng·mL⁻¹)分别考察血浆样品在室温下放置 4 h、血浆样品提取液在 4 ℃自动进样器中放置 24 h、反复冻融 3 次、血浆样品放置在-20 ℃冰箱 21 d。按“2.1.1”项下进样分析,结果见表 4。4 个苦参生物碱成分在上述条件下均稳定,在分析测试过程中未产生明显的浓度变化,符合实验要求。

2.5 药代动力学研究

2.5.1 给药方案与血样采集 取健康 SD 大鼠 12 只,随机分成 2 组,给药前禁食 12 h,自由饮水。分别口服灌胃给药 TA 和 TA-PC 供试液(给药剂量 TA 均为 40 mg·kg⁻¹),分别于给药后 0.083、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10、12、24、48、72 h 眼底静脉丛取血(约 0.3 mL);置于涂有肝素的 1.5 mL 离心管中,以 5 000 r·min⁻¹离心 10 min,取大鼠血浆 100 μL。

表 4 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的稳定性试验($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 4 Stability tests of OMT, OSC, MT and SC under different conditions($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

成分	样品浓度/ (ng·mL ⁻¹)	室温, 4 h		4 ℃, 24 h		反复冻融 3 次		-20 ℃, 21 d	
		测得浓度/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测得浓度/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测得浓度/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测得浓度/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/%
氧化苦参碱	400	399.1 ± 9.5	1.15	399.4 ± 8.3	1.32	398.1 ± 10.2	1.51	398.3 ± 9.4	1.56
	200	195.7 ± 5.8	1.78	196.2 ± 5.4	1.48	194.3 ± 9.6	3.39	194.5 ± 8.9	2.76
	5	4.7 ± 0.7	4.73	4.8 ± 0.5	4.62	4.6 ± 0.8	4.91	4.6 ± 0.9	4.47
氧化槐果碱	400	398.3 ± 8.7	1.23	399.1 ± 8.2	1.28	397.6 ± 9.2	1.55	398.1 ± 8.9	1.08
	200	194.5 ± 6.3	1.71	195.2 ± 5.6	1.33	193.7 ± 9.8	3.01	194.2 ± 9.5	2.79
	5	4.8 ± 0.8	4.13	4.8 ± 0.6	4.44	4.5 ± 0.9	4.62	4.6 ± 0.8	5.11
苦参碱	400	399.4 ± 9.3	1.26	398.8 ± 7.9	1.21	397.8 ± 9.9	1.83	398.1 ± 9.2	1.42
	200	197.2 ± 6.2	1.91	196.2 ± 6.1	1.74	195.1 ± 8.7	2.44	196.1 ± 8.7	2.87
	5	4.7 ± 0.6	4.53	4.8 ± 0.6	4.44	4.5 ± 0.8	4.38	4.6 ± 0.7	4.71
槐果碱	400	398.6 ± 7.6	1.37	399.4 ± 7.2	1.14	396.8 ± 8.9	1.25	397.8 ± 7.9	1.30
	200	197.3 ± 4.8	1.70	196.4 ± 4.7	1.66	194.5 ± 4.9	1.58	195.1 ± 6.4	2.18
	5	4.7 ± 0.6	4.65	4.8 ± 0.4	4.53	4.5 ± 0.8	3.78	4.6 ± 0.6	4.74

2.5.2 药代动力参数 取不同时间点血浆样品,按照“2.2”项下处理,进样分析并记录氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、小檗碱的峰面积,计算各组分的血药浓度,分别绘制 TA 和 TA-PC 给药后氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱平均血药浓度-时间(Concentration-time, $C-t$)曲线,见图 3~图 6。以 DAS 2.0 软件拟合 $C-t$ 曲线和药动学参数,将 TA 和 TA-PC 中 4 个苦参生物碱成分的平均血药浓度分别按一室、二室、三室模型进行模拟,获得决定系数(R^2)最大和 AIC 最小作为判断标准,确定 TA 和 TA-PC 中各成分在大鼠体内的药-时过程均符合二室开放模型(权重 $1/C^2$),药

表 3 4 个苦参生物碱的精密性、准确度及提取回收率结果

Table 3 The precision, accuracy and extraction recovery results of 4 alkaloids from *S. flavescens*

成分	浓度/ (ng·mL ⁻¹)	精密性/%		准确度/%		提取回收率/%
		日内	日间	日内	日间	
氧化苦参碱	400	2.4	3.5	-0.5	-0.5	109.09 ± 4.05
	200	2.7	2.3	-1.7	-3.6	93.57 ± 1.61
	5	3.9	4.6	1.2	0.2	90.37 ± 1.46
氧化槐果碱	400	1.8	1.2	-1.1	-1.4	101.47 ± 1.07
	200	3.8	6.3	1.5	-3.8	96.66 ± 2.19
	5	5.6	6.7	-2.8	-6.4	91.32 ± 1.78
苦参碱	400	2.8	3.2	-0.7	0.4	103.62 ± 3.45
	200	2.9	3.5	-0.5	0.1	96.35 ± 2.10
	5	1.5	3.0	0.2	-0.7	94.32 ± 1.97
槐果碱	400	2.0	2.6	-1.2	-1.9	105.00 ± 4.89
	200	2.7	4.4	-4.7	-6.0	94.72 ± 1.63
	5	4.9	5.6	-5.6	1.3	90.18 ± 1.66

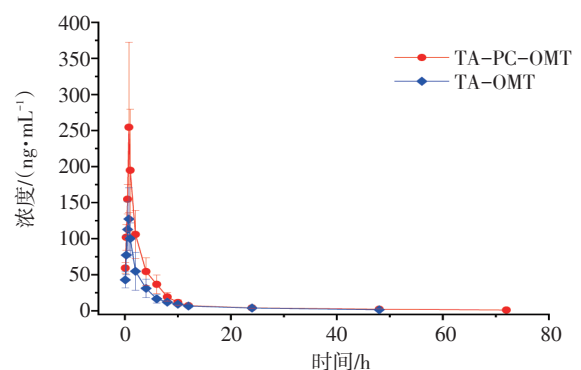


图 3 大鼠口服灌胃给药苦参总生物碱(TA)和 TA-PC 后氧化苦参碱(OMT)的 $C-t$ 曲线

Figure 3 OMT $C-t$ curves after oral administration of TA, TA-PC in rat

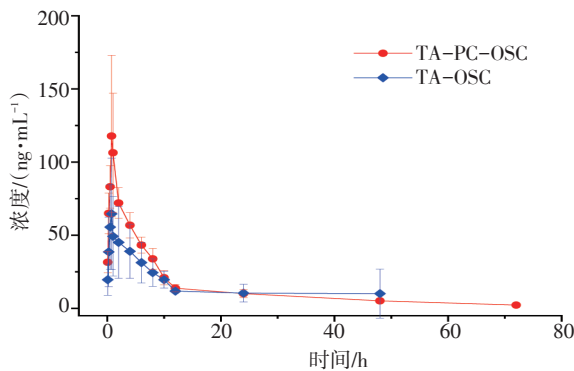


图 4 大鼠口服灌胃给药苦参总生物碱(TA)和 TA-PC 后氧化槐果碱(OSC)的 $C-t$ 曲线

Figure 4 OSC $C-t$ curves after oral administration of TA, TA-PC in rat

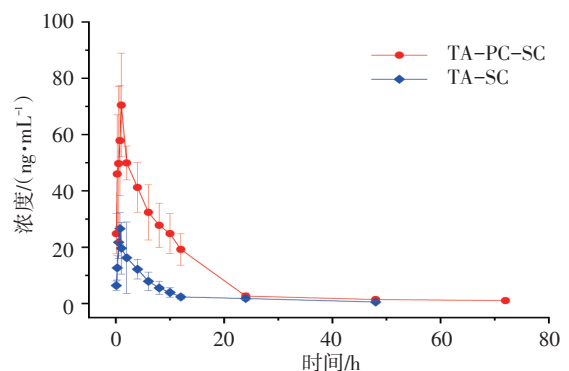


图 6 大鼠口服灌胃给药苦参总生物碱(TA)和 TA-PC 后槐果碱(SC)的 $C-t$ 曲线

Figure 6 SC $C-t$ curves after oral administration of TA, TA-PC in rat

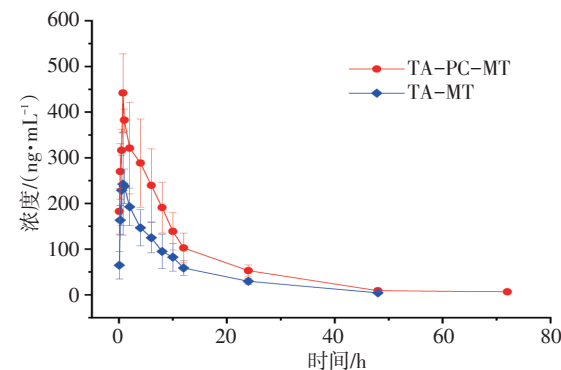


图 5 大鼠口服灌胃给药苦参总生物碱(TA)和 TA-PC 后苦参碱(MT)的 $C-t$ 曲线

Figure 5 MT $C-t$ curves after oral administration of TA, TA-PC in rat

物动力学参数见表 5。根据相对生物利用度(F)= $(AUC_{0 \rightarrow \infty} \text{磷脂复合物}) / (AUC_{0 \rightarrow \infty} \text{原药}) \times 100\%$, 计算得到氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的 F 值分别是 161.33%、134.82%、185.94%、397.36%。提示 TA-PC 能够显著提高 TA 大鼠体内生物利用度。

3 讨论

本研究建立了 UPLC-MS/MS 同时测定苦参总生物碱(TA)中 4 个生物碱的分析方法, 发现色谱条件对各成分的峰型、保留时间及响应值有较大影响。分别对乙腈-0.1%甲酸水(含 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵)、乙腈-水(含 0.1%甲酸)、乙腈-醋酸铵($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、0.1%甲酸乙腈-0.1%甲酸水(含 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵)等 4 种流动相体系进行比较, 结果乙腈-醋酸铵($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)系统色谱峰峰型较好。

大鼠口服灌胃 TA 及 TA-PC 后, 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的血药浓度均呈现先增加后降低趋势。与 TA 比较, TA-PC 灌胃后氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的相对生物利用度分别为 161.33%、134.82%、185.94%、397.36%, 提示磷脂复合物提高了指标成分体内的吸收总量, 相对生物利用度显著提高。大鼠口服灌胃 TA 后, 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的 $t_{1/2\alpha}$ 分别为 13.55、14.45、10.19、12.11 h; $MRT_{(0 \rightarrow \infty)}$ 分别为 12.05、19.15、12.36、14.10 h; 口服灌胃

表 5 苦参总生物碱(TA)溶液和 TA-PC 中氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱和槐果碱的药动力学参数($\text{Weight}=1/C^2$, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 Statistical parameters of OMT, OSC, MT and SC main atrioventricular model in TA solution and TA-PC($\text{Weight}=1/C^2$, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

待测成分	剂型	$t_{1/2}/\text{h}$	$t_{\max}/\text{h}$	$C_{\max}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$AUC_{(0 \rightarrow t)}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h})$	$AUC_{(0 \rightarrow \infty)}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h})$	$MRT_{(0 \rightarrow t)}/\text{h}$	$MRT_{(0 \rightarrow \infty)}/\text{h}$
氧化苦参碱	TA	13.55 ± 1.48	0.75 ± 0.22	139.00 ± 39.45	452.92 ± 79.07	478.45 ± 83.89	8.55 ± 1.51	12.05 ± 2.14
	TA-PC	21.53 ± 5.74	0.83 ± 0.13	273.08 ± 108.55	739.33 ± 132.80	771.88 ± 132.80	10.00 ± 1.32	14.45 ± 2.61
氧化槐果碱	TA	14.45 ± 2.38	0.63 ± 0.14	78.93 ± 25.14	639.79 ± 96.54	715.38 ± 130.65	12.84 ± 0.41	19.15 ± 1.00
	TA-PC	20.24 ± 4.87	0.88 ± 0.14	127.13 ± 56.55	900.29 ± 172.27	964.48 ± 191.38	16.74 ± 0.58	22.79 ± 3.33
苦参碱	TA	10.19 ± 1.67	0.63 ± 0.14	301.70 ± 37.99	$2\ 335.18 \pm 504.81$	$2\ 415.00 \pm 516.13$	11.02 ± 0.40	12.36 ± 0.75
	TA-PC	14.99 ± 3.62	0.88 ± 0.14	460.78 ± 24.57	$4\ 348.11 \pm 849.19$	$4\ 490.05 \pm 823.41$	13.44 ± 1.60	16.35 ± 2.89
槐果碱	TA	12.11 ± 2.44	0.58 ± 0.13	28.95 ± 9.45	148.11 ± 41.95	156.63 ± 44.35	10.65 ± 1.97	14.10 ± 3.45
	TA-PC	12.77 ± 3.21	0.83 ± 0.13	75.61 ± 19.25	606.91 ± 112.46	622.39 ± 109.20	11.30 ± 1.32	13.92 ± 2.22

TA-PC 后, 相应成分的 $t_{1/2\alpha}$ 分别为 21.53 h、20.24 h、14.99 h、12.77 h, $MRT_{(0-\infty)}$ 分别为 14.45 h、22.79 h、16.35 h、13.92 h。结果提示制成磷脂复合物后, 药物成分总体从体内的消除速度均明显减慢, 体内的停留时间延长。值得注意的是, 槐果碱尽管在制成磷脂复合物后亦能延长体内存留时间(由 12.11 h 延长至 12.77 h), 但并不明显。有研究^[16-18]表明, 氧化槐果碱为氧化型的生物碱, 槐果碱为还原型生物碱, 二者在体内外可能存在相互转化现象, 推测槐果碱延长体内作用时间不明显可能是在体内一定条件下发生了某种转化。该转化的条件、机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] HE X, FANG J, HUANG L, et al. *Sophora flavescens* Ait.: Traditional usage, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine[J]. *Ethnopharmacol*, 2015, 22: 10-29.
- [2] 黄晓斌, 汪欢, 陈志鹏, 等. Box-Behnken 响应面法优化苦参黄酮超声提取工艺[J]. *中药材*, 2019, 42(10): 2352-2356.
- [3] ZHANG X, HOU G, LIU A, et al. Matrine inhibits the development and progression of ovarian cancer by repressing cancer associated phosphorylation signaling pathways[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10): 770.
- [4] 陈晓红, 王海琳, 吴慧芳, 等. 苦参碱对宫颈癌SiHa细胞中自噬基因Beclin1和LC3 II 表达的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(13): 1845-1849.
- [5] 刘平, 陈晓杰. 苦参碱上调LncRNA BDNF-AS抑制宫颈鳞癌细胞增殖的机制研究[J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1593-1599.
- [6] 鲍娇琳, 陆金健, 陈修平, 等. 苦参碱与氧化苦参碱抗肿瘤作用及其机制的研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2012, 23(3): 369-373.
- [7] ZHOU Y H, WU Y, DENG L, et al. The alkaloid matrine of the root of *Sophora flavescens* prevents arrhythmogenic effect of ouabain[J]. *Phytomedicine*, 2014, 21: 931-935.
- [8] 丁志远, 陈新梅, 段章好, 等. 氧化苦参碱磷脂复合物的制备、表征和体外抗乙型肝炎病毒研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(8): 974-978.
- [9] 张丽华, 陈燕, 彭雨舒, 等. 中药苦参水提取物抑制Th17细胞分化的研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(3): 251-256.
- [10] 张晓雯, 李凌宇, 尚海, 等. 苦参碱及其类似物的结构修饰研究进展[J]. *中草药*, 2019, 50(23): 5892-5900.
- [11] 刘苏, 秦晶, 陆伟根, 等. 氧化苦参碱在大鼠体内药代动力学特征[J]. *中成药*, 2011, 33(6): 962-965.
- [12] 刘瑞林, 辛顺妹. 苦参碱的利胆作用与药代动力学的关系[J]. *中成药*, 1996, 18(8): 25-26.
- [13] 冯春玲, 余怪柏, 刘冬敏, 等. 槐果碱和槐定碱的药动学研究[J]. *中国新药杂志*, 2009, 18(8): 759-762.
- [14] 张明发, 沈雅琴. 槐果碱和氧化槐果碱的药动学研究进展[J]. *抗感染药学*, 2020, 17(4): 463-467.
- [15] 杨志欣, 王海威, 张文君, 等. 星点设计-效应面优化苦参总生物碱组分磷脂复合物研究[J]. *中药材*, 2018, 41(3): 660-664.
- [16] 冷晓红, 郭鸿雁, 陈海燕. 苦豆子提取过程中氧化苦参碱与苦参碱、氧化槐果碱与槐果碱的相互转化[J]. *中国现代应用药学*, 2015, 32(6): 688-691.
- [17] 宋小妹, 考玉萍. 洁身洗剂中苦参化学成分转化研究[J]. *西北药学杂志*, 2000, 15(6): 257-259.
- [18] 王明雷, 周秋丽, 王本祥. 氧化苦参碱肠内菌代谢及吸收入血活性成分的研究[J]. *中国中药杂志*, 2001, 26(4): 56-58.

(编辑: 梁进权)