

# UPLC-MS/MS法测定大鼠血浆中决明子特有蒽醌类成分及其药动学研究

王莹<sup>1\*</sup>, 马金刚<sup>2</sup>, 王青<sup>1</sup>, 张伟东<sup>1</sup>, 王鹏远<sup>1</sup>, 顾宜<sup>1</sup>, 王晓娟<sup>1#</sup>(1.第四军医大学口腔医院药剂科, 西安 710032; 2.兰州军区联勤部药品仪器检验所, 兰州 730050)

中图分类号 R285;R969 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)43-4053-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.43.07

**摘要** 目的:建立大鼠血浆中决明子特有蒽醌类成分的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析方法,并对其在大鼠体内药动学进行研究。方法:大鼠ig决明子浸膏(5 g/kg)后,分别于0、5、10、20、30、45 min和1、2、3、4、6、8、12、24 h取血样,以UPLC-MS/MS法测定血浆中橙黄决明素、黄决明素、决明素和1-去甲基决明素的质量浓度。色谱柱为Agilent Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-30 mmol/L乙酸铵水溶液(梯度洗脱),流速为0.4 ml/min,柱温为30 ℃;质谱采用多反应监测(MRM),用于定量分析的离子对依次为: $m/z$  343.0→298.1(橙黄决明素)、 $m/z$  359.0→286.0(黄决明素)、 $m/z$  329.0→271.1(决明素)、 $m/z$  343.0→242.0(1-去甲基决明素)和 $m/z$  239.0→211.0(1,8-二羟基蒽醌)。结果:橙黄决明素、黄决明素、决明素、1-去甲基决明素回归方程分别为 $y=0.034x-0.019$ ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=0.034x+0.139$ ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=0.009x+0.136$ ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=0.066x+0.380$ ( $r=0.999\ 9$ )。橙黄决明素质量浓度在3.24~1 296 ng/ml、黄决明素质量浓度在0.77~618 ng/ml、决明素质量浓度在34.55~1 818 ng/ml、1-去甲基决明素质量浓度在1.86~1 485 ng/ml范围内与其峰面积和内标峰面积比值呈良好线性关系。橙黄决明素、黄决明素、决明素、1-去甲基决明素的药动学参数 $t_{1/2}$ 分别为(9.28±0.12)、(8.69±0.57)、(8.28±0.51)、(7.01±0.62)h, $c_{max}$ 分别为(210.28±4.16)、(46.18±1.91)、(119.30±9.74)、(109.28±3.09) μg/L,AUC<sub>(0-∞)</sub>分别为(1668.17±62.18)、(265.30±44.39)、(357.81±15.11)、(540.92±19.57) μg/(L·h)。结论:所建立的大鼠体内决明子蒽醌类成分的测定方法灵敏度高、专一性好,可用于决明子蒽醌类成分的体内药动学研究。

**关键词** 决明子;药动学;超高效液相色谱-串联质谱法;蒽醌类成分

## Determination of Cassiae Semen Specific Anthraquinones in Rats Plasma by UPLC-MS/MS and Pharmacokinetics Study

WANG Ying<sup>1</sup>, MA Jin-gang<sup>2</sup>, WANG Qing<sup>1</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>1</sup>, WANG Peng-yuan<sup>1</sup>, GU Yi<sup>1</sup>, WANG Xiao-juan<sup>1</sup>  
(1.Dept. of Pharmacy, Hospital of Stomatology Fourth Military Medical University, Xi'an 710032; 2.Institute for Drug and Instrument Control of Lanzhou Military Command, Lanzhou 730050)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish UPLC-MS/MS method for the determination of Cassiae Semen specific anthraquinones in rats plasma, and to study its pharmacokinetics in rat. METHODS: 6 rats were given Cassiae Semen extract 5 g/kg intragastrically. The blood samples were collected at 0, 5, 10, 20, 30 and 45 min and on 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 and 24 h, respectively. UPLC-MS/MS was adopted to determine the concentrations of aurantio-obtusin, chrysoobtusin, obtusin and 1-desmethylobtusin in plasma. Agilent Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub> column was adopted with mobile phase consisted of acetonitrile-30 mmol/L ammonium acetate (gradient elution) at the flow rate of 0.4 ml/min; the column temperature was 30 ℃. Multi-reaction monitoring (MRM) was performed using the transitions  $m/z$  343.0→298.1,  $m/z$  359.0→286.0,  $m/z$  329.0→271.1,  $m/z$  343.0→242.0 and  $m/z$  239.0→211.0 to quantify aurantio-obtusin, chrysoobtusin, obtusin, 1-desmethylobtusin and 1,8-dihydroxy anthraquinone, respectively. RESULTS: The regression equations of aurantio-obtusin, chrysoobtusin, obtusin, 1-desmethylobtusin were  $y=0.034x-0.019$ ( $r=0.999\ 9$ ),  $y=0.034x+0.139$ ( $r=0.999\ 9$ ),  $y=0.009x+0.136$ ( $r=0.999\ 9$ ) and  $y=0.066x+0.380$ ( $r=0.999\ 9$ ), respectively. The linear ranges of them were 3.24-1296 ng/mL, 0.77-618 ng/ml, 34.55-1818 ng/ml and 1.86-1 485 ng/ml, respectively. Pharmacokinetic parameters of them were as follows:  $t_{1/2}$ : (9.28±0.12) h, (8.69±0.57) h, (8.28±0.51) h, (7.01±0.62) h;  $c_{max}$ : (210.28±4.16) μg/L, (46.18±1.91) μg/L, (119.30±9.74) μg/L, (109.28±3.09) μg/L; AUC<sub>(0-∞)</sub>: (1668.17±62.18) μg/(L·h), (265.30±44.39) μg/(L·h), (357.81±15.11) μg/(L·h), (540.92±19.57) μg/(L·h). CONCLUSIONS: Established method is sensitive, specific and suitable for the pharmacokinetics study of Cassiae Semen.

**KEY WORDS** Cassiae Semen; Pharmacokinetics; UPLC-MS/MS; Anthraquinones

决明子又名草决明,为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L.

\* 硕士研究生。研究方向:中药分析技术。电话:029-83253889。

E-mail:wangying 880913@126.com

# 通信作者:主任药师,硕士研究生导师。研究方向:天然药物化

学与中药新制剂。E-mail:wxjyh231@fmmu.edu.cn

或小决明 *C. tora* L.的干燥成熟种子,全国大部分地区都有栽培,主产安徽、广西、浙江和四川等地。其味甘、苦、咸,性微寒,归肝、肾、大肠经,具有清肝明目、润肠通便之功效<sup>[1]</sup>。多年来国内外学者在决明子的化学成分方面做了大量研究,结果表明,决明子中含蒽醌类、萘啶吡喃酮类、脂肪酸类、氨基酸和

无机元素等,蒽醌类为其主要活性成分,具有抗菌消炎、抗病毒、抗癌、保肝利胆等药理活性<sup>[2]</sup>。对于决明子蒽醌类成分在体内代谢的研究,国内、外文献也有报道<sup>[3-11]</sup>,主要是对决明子苷B、大黄酸、大黄酚、大黄素和芦荟大黄素这5个有效成分进行研究,一般测定1~2个指标成分来反映决明子的体内过程,对决明子特有成分的体内过程尚未见报道。笔者以蒽醌类化合物为指标成分,建立同时测定橙黄决明素、黄决明素、决明素和1-去甲基决明素4个决明子的特有成分在大鼠血浆中的血药浓度,阐述药动学过程,以此为指标的药动学研究更科学全面地反映了决明子在大鼠体内的吸收过程,为临床上合理应用该中药提供理论基础和科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

6460型三重四极杆串联质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)与MassHunter(VersionB.04.10)工作软件,均购自美国Agilent公司;1290 Infinity型超高效液相色谱系统,含G4220A型二元泵、G1314E VWD型检测器、G1316C型柱温箱、G4226A型自动进样器,均购自美国Agilent公司。

### 1.2 药材

决明子购自湖北荆州,经陕西中医学院雷国莲教授鉴定为豆科植物决明 *C. obtusifolia* L. 的干燥成熟种子。

### 1.3 药品与试剂

决明子浸膏(笔者自制,其中橙黄决明素、黄决明素、决明素、1-去甲基决明素的含量分别为3.18、0.77、0.82、0.65 mg/g);橙黄决明素、黄决明素、决明素、1-去甲基决明素对照品(西安昊轩生物科技有限公司,批号分别为20121023、20120907、20120624、20120629,纯度均>98%);1,8-二羟基蒽醌对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号:0829-9702);乙腈、甲醇(色谱纯,美国Fisher公司);水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

### 1.4 动物

清洁级SD大鼠6只,♂,体质量(300±15)g,由第四军医大学实验动物中心提供[动物使用许可证号:SCXK(军)2009027]。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm);流动相:乙腈-30 mmol/L 乙酸铵水溶液梯度洗脱;进样体积:5 μl;流速:0.4 ml/min;柱温:30 ℃。流动相梯度洗脱程度见表1。

表1 流动相梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution of mobile phase

| t, min | 乙腈, % | 30 mmol/L 乙酸铵水溶液, % |
|--------|-------|---------------------|
| 0      | 18    | 82                  |
| 5      | 23    | 77                  |
| 6      | 33    | 67                  |
| 15     | 60    | 40                  |
| 18     | 80    | 20                  |

### 2.2 质谱条件

离子源:ESI;扫描方式:多反应监测(MRM);喷雾气压:45 psi;雾化器温度:350 ℃;毛细管电压:正离子4 kV,负离子3.5 kV;气流速度:10 L/min。扫描时间为18 min。定量离子与

质谱参数见表2。

表2 定量离子与质谱参数

Tab 2 Quantitative ion and MS parameters

| 对照品           | 离子模式 | 母离子, m/z | 子离子, m/z | 碎裂电压, V | 碰撞能量, eV |
|---------------|------|----------|----------|---------|----------|
| 决明素           | [-H] | 343.0    | 298.1    | 130     | 29       |
| 黄决明素          | [+H] | 359.0    | 286.0    | 130     | 33       |
| 橙黄决明素         | [-H] | 329.0    | 271.1    | 115     | 27       |
| 1-去甲基决明素      | [-H] | 343.0    | 242.0    | 130     | 35       |
| 1,8-二羟基蒽醌(IS) | [-H] | 239.0    | 211.0    | 150     | 25       |

## 2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取橙黄决明素、黄决明素、决明素、1-去甲基决明素适量,用甲醇溶解并定容至25 ml量瓶中,制备成质量浓度分别为129.6、61.8、181.8、148.5 μg/L的混合对照品溶液,即为混合对照品母液,4 ℃贮藏,备用。精密移取混合对照品母液1 ml至100 ml量瓶中,用甲醇定容至刻度,混匀,记为混合对照品系列溶液①,再分别精密移取混合对照品系列液① 10、5、2.5、1.25、0.25、0.125、0.025 ml于10 ml量瓶中,用甲醇定容至刻度,分别混匀,得混合对照品系列溶液②~⑧,4 ℃贮藏,备用。

2.3.2 内标溶液的制备 精密称取1,8-二羟基蒽醌对照品适量,用甲醇溶解并定容至10 ml量瓶中,得内标贮备液。精密量取内标贮备液适量,用甲醇制备成1.080 μg/L的内标溶液,4 ℃贮藏,备用。

2.3.3 质控样品的制备 分别取不同质量浓度的混合对照品系列溶液10 μl与内标液10 μl,置于100 μl空白血浆,得高、中、低质量浓度的质控样品,即橙黄决明素(1 296、324、32.4 ng/ml)、黄决明素(618、154.5、15.45 ng/ml)、决明素(1 818、454.5、45.45 ng/ml)、1-去甲基决明素(1 485、371.25、37.125 ng/ml),-20 ℃贮藏,备用。

## 2.4 血浆样品的处理

精密吸取大鼠血浆样品100 μl,加入内标10 μl涡旋混合1 min,再加入100 μl甲醇涡旋混合0.5 min,再加入300 μl乙腈涡旋混合0.5 min,以离心半径为8 cm、12 000 r/min离心10 min,取300 μl上清液35 ℃氮气吹干,100 μl甲醇复溶,涡旋混合0.5 min,以离心半径为8 cm、12 000 r/min离心10 min,取上清液5 μl进样。

## 2.5 方法学考察

2.5.1 方法专属性 分别取0.2 ml空白血浆、0.2 ml空白血浆+分析物对照品+内标、0.2 ml给药后大鼠血浆样品,按“2.4”项下方法处理样品后,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件进样测定。结果表明,血浆中所含的内源性物质不干扰被测物和内标的测定,且二者峰形良好。色谱见图1。

2.5.2 标准曲线的制备 按“2.3”项下方法制备混合对照品系列液②~⑧,分别加入100 μl空白血浆,按“2.4”项下方法处理,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件进样测定。以各对应指标成分的质量浓度(x)为横坐标,指标成分和内标峰面积比(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程和相关系数。回归方程与线性范围见表3。

2.5.3 准确度与精密度试验 按“2.3”项下方法制备高、中、低质量浓度的标准质控样品各5份,按“2.4”项下方法处理,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件测定日内精密(5次)、日间精密(5 d)、准确度(5次)。结果显示,高、中、低质量浓度的标准质控样品日内、日间精密RSD≤10%,准确度在92.70%~103.82%之间,表明该试验方法符合目前生物样品分析方法指

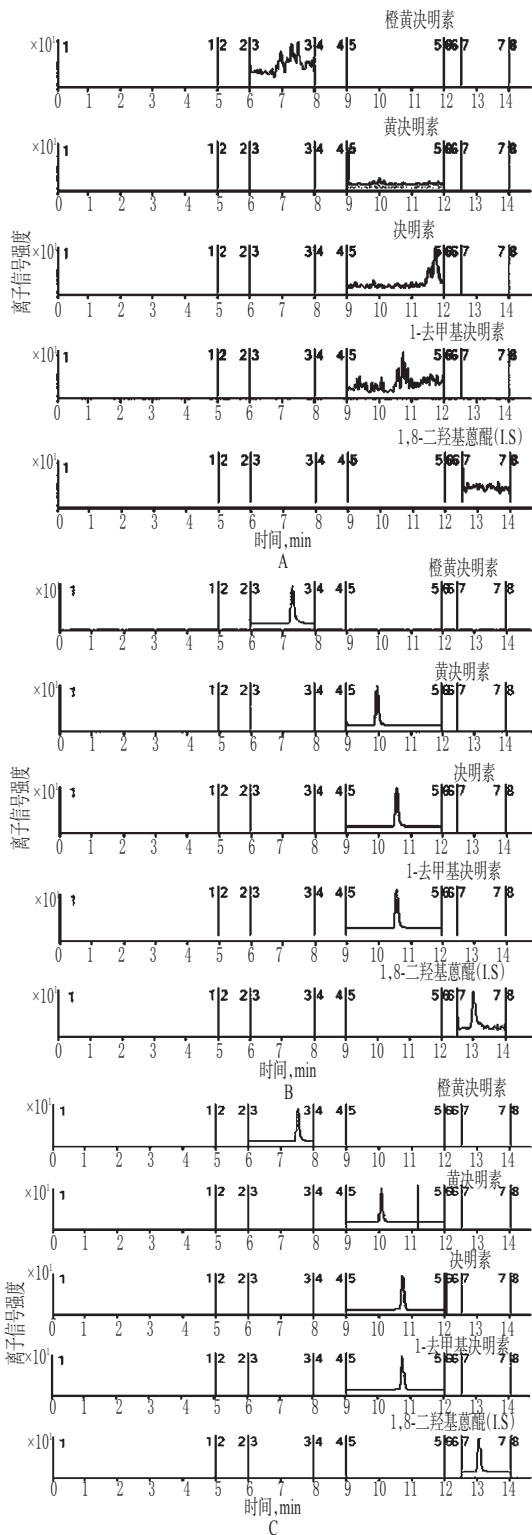


图1 液相色谱-串联质谱图

A. 空白血浆; B. 空白血浆+对照品+内标; C. 血浆样品

Fig 1 LC-MS/MS chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma+reference substance+IS; C. plasma sample

导原则中的有关规定<sup>[12]</sup>。准确度与精密度的试验结果见表4。

2.5.4 提取回收率试验 按“2.3”项下方法制备高、中、低质量浓度的标准质控样品各6份,按“2.4”项下方法处理,按“2.1”

表3 标准曲线与线性范围

Tab 3 Calibration curves and linear range

| 对照品      | 回归方程             | r       | 线性范围,ng/ml | 定量限,ng/ml | 检出限,ng/ml |
|----------|------------------|---------|------------|-----------|-----------|
| 橙黄决明素    | $y=0.034x-0.019$ | 0.999 9 | 3.24~1 296 | 3.24      | 1.62      |
| 黄决明素     | $y=0.034x+0.139$ | 0.999 9 | 0.77~618   | 0.77      | 0.15      |
| 决明素      | $y=0.009x+0.136$ | 0.999 9 | 4.55~1 818 | 4.55      | 2.27      |
| 1-去甲基决明素 | $y=0.066x+0.380$ | 0.999 9 | 1.86~1 485 | 1.86      | 0.37      |

表4 准确度与精密度的试验结果(n=5)

Tab 4 Results of Accuracy and Precision (n=5)

| 化合物      | 理论质量浓度,ng/ml | 日内精密度        |        |        | 日间精密度        |        |        |
|----------|--------------|--------------|--------|--------|--------------|--------|--------|
|          |              | 实测质量浓度,ng/ml | RSD, % | 准确度, % | 实测质量浓度,ng/ml | RSD, % | 准确度, % |
| 橙黄决明素    | 1 296.00     | 1 236.99     | 3.40   | 95.45  | 1 269.06     | 2.69   | 97.92  |
|          | 324.00       | 302.43       | 5.70   | 93.34  | 306.08       | 6.46   | 94.47  |
|          | 32.40        | 31.12        | 7.48   | 96.05  | 33.18        | 7.61   | 102.39 |
| 黄决明素     | 618.00       | 599.73       | 3.14   | 97.04  | 603.47       | 4.35   | 97.65  |
|          | 154.50       | 160.40       | 3.02   | 103.82 | 152.01       | 4.57   | 98.39  |
|          | 15.45        | 14.32        | 6.59   | 92.70  | 15.02        | 6.51   | 97.22  |
| 决明素      | 1 818.00     | 1 711.73     | 2.42   | 94.15  | 1 765.32     | 3.20   | 97.10  |
|          | 454.50       | 463.40       | 4.09   | 101.96 | 447.29       | 5.73   | 98.41  |
|          | 45.45        | 42.60        | 4.75   | 93.73  | 44.93        | 9.35   | 98.85  |
| 1-去甲基决明素 | 1 485.00     | 1 392.31     | 2.53   | 93.76  | 1 384.53     | 3.47   | 93.23  |
|          | 371.25       | 380.49       | 3.00   | 102.49 | 362.96       | 3.05   | 97.77  |
|          | 37.13        | 36.35        | 6.20   | 97.90  | 37.61        | 5.05   | 101.30 |

“2.2”项下色谱、质谱条件测定。测得峰面积后与同质量浓度对照品溶液直接进样所得峰面积进行比较,计算提取回收率。结果表明,高、中、低质量浓度的质控样品有着一致的回收率。提取回收率试验结果见表5。

表5 提取回收率试验结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 5 Results of extraction recovery tests ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 化合物      | 理论质量浓度,ng/ml | 实测质量浓度,ng/ml    | 回收率, %       | RSD, % |
|----------|--------------|-----------------|--------------|--------|
| 橙黄决明素    | 1296         | 1221.18 ± 14.26 | 94.23 ± 1.10 | 1.17   |
|          | 324          | 286.49 ± 8.32   | 88.42 ± 2.57 | 2.91   |
|          | 32.4         | 30.96 ± 0.63    | 95.56 ± 1.95 | 2.04   |
| 黄决明素     | 618          | 583.69 ± 15.13  | 94.45 ± 2.45 | 2.59   |
|          | 154.5        | 137.68 ± 1.74   | 89.12 ± 1.12 | 1.26   |
|          | 15.45        | 13.31 ± 0.39    | 86.17 ± 2.53 | 2.93   |
| 决明素      | 1818         | 1664.35 ± 18.65 | 91.55 ± 1.03 | 1.12   |
|          | 454.5        | 434.65 ± 8.54   | 95.63 ± 1.88 | 1.97   |
|          | 45.45        | 42.48 ± 1.22    | 93.47 ± 2.68 | 2.86   |
| 1-去甲基决明素 | 1485         | 1348.05 ± 27.68 | 90.78 ± 1.86 | 2.05   |
|          | 371.25       | 354.13 ± 6.05   | 95.39 ± 1.63 | 1.71   |
|          | 37.125       | 33.48 ± 0.86    | 90.18 ± 2.32 | 2.57   |

2.5.5 稳定性试验 取“2.3”项下高、中、低质量浓度的标准质控样品各5份,置于室温保存(25℃)24 h后测定,考察血浆样品的短期稳定性;取“2.3”项下高、中、低质量浓度的标准质控样品各5份,冷冻贮藏于-20℃,30 d后测定,考察血浆样品的长期稳定性;取“2.3”项下高、中、低质量浓度的标准质控样品各5份,冷冻贮藏于-20℃,在室温中充分解冻,然后再次冷冻,每次间隔24 h,重复3个冻融周期后测定,考察血浆样品的3周期冻融稳定性。结果显示,被测物在上述贮藏条件下测得实际值均在理论值的88.96%~102.46%范围波动,RSD<8.81%,表明4种成分在血浆样品中稳定性良好。

2.5.6 基质效应试验 取6份不同来源的大鼠空白血浆100 μl,经液-液萃取处理后,加入内标和不同质量浓度的混合对照品溶液,制得高、中、低质量浓度的血浆样品(质量浓度与“2.3.3”

项下相同),内标1,8-二羟基蒽醌为108 ng/ml。另取流动相100  $\mu$ l代替空白血浆,按“2.3”项下方法处理,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件测定,测得的相应峰面积相比评价基质效应。结果显示,比值均在92.98%~101.72%之间,RSD<8.49%,表明大鼠血浆生物基质不影响样品测定。

## 2.6 药动学研究

取 $\delta$ SD大鼠6只,ig给药(5 g/kg),早晚各1次,连续3 d,末次给药前12 h禁食不禁水。ig决明子浸膏,末次给药后分别于0、5、10、20、30、45 min和1、2、3、4、6、8、12、24 h自大鼠眼底静脉丛取血0.5 ml,置肝素化的EP管中,以离心半径为8 cm、3 000 r/min离心10 min,移取上层血浆,应用建立的UPLC-MS/MS方法,测定大鼠血浆药物浓度。4种待测组分的 $t_{max}$ <0.5 h,表明其肠道吸收迅速,可以快速进入体循环;橙黄决明素的AUC<sub>(0-4)</sub>和 $t_{1/2}$ 均最大,说明其生物利用度最高且消除较慢。浓度-时间曲线见图2;药动学参数见表6。

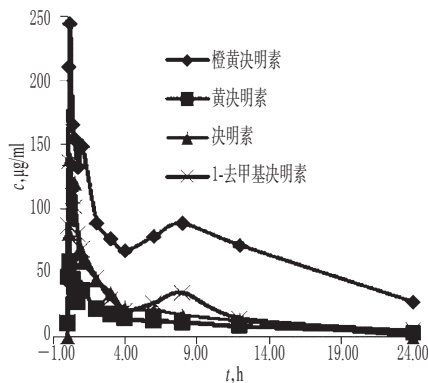


图2 浓度-时间曲线(n=6)

Fig 2 concentration-time curves (n=6)

表6 药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 6 Pharmacokinetics parameters( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 参数                   | 单位            | 橙黄决明素               | 黄决明素               | 决明素                | 1-去甲基决明素           |
|----------------------|---------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| $t_{1/2}$            | h             | 9.28 $\pm$ 0.12     | 8.69 $\pm$ 0.57    | 8.28 $\pm$ 0.51    | 7.01 $\pm$ 0.62    |
| $c_{max}$            | $\mu$ g/L     | 210.28 $\pm$ 4.16   | 46.18 $\pm$ 1.91   | 119.30 $\pm$ 9.74  | 109.28 $\pm$ 3.09  |
| $t_{max}$            | h             | 0.08 $\pm$ 0.04     | 0.08 $\pm$ 0.04    | 0.50 $\pm$ 0.07    | 0.33 $\pm$ 0.09    |
| AUC <sub>(0-t)</sub> | $\mu$ g/(L·h) | 1668.17 $\pm$ 62.18 | 265.30 $\pm$ 44.39 | 357.81 $\pm$ 15.11 | 540.92 $\pm$ 19.57 |
| MRT <sub>(0-t)</sub> | h             | 8.91 $\pm$ 0.77     | 7.27 $\pm$ 0.23    | 3.88 $\pm$ 0.3     | 6.70 $\pm$ 0.6     |
| VL/F                 | L/kg          | 25.22 $\pm$ 1.64    | 38.10 $\pm$ 0.85   | 23.38 $\pm$ 1.38   | 13.48 $\pm$ 1.27   |
| CL/F                 | L/(h·kg)      | 1.88 $\pm$ 0.27     | 3.04 $\pm$ 0.06    | 1.96 $\pm$ 0.28    | 1.33 $\pm$ 0.14    |

## 3 讨论

本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法同时测定大鼠ig决明子浸膏后血浆中4种蒽醌类成分的含量,以1,8-二羟基蒽醌为内标,同时采用正负离子检测模式检测。样品预处理采用了甲醇、乙腈沉淀蛋白方法,操作方法简便且其回收率符合要求。研究证明,本方法具有良好的精密度和准确度,符合生物样品分析方法要求,有较高的灵敏度和专属性。

本研究考察了与4个待测物的结构较为相似的若干化合物。结果表明,1,8-二羟基蒽醌的保留时间以及在血浆中的回收率与4个被测物较为接近,符合内标物的选取原则。且文献报道中蒽醌类化合物测定的内标物质多为1,8-二羟基蒽醌<sup>[13-15]</sup>,故选择1,8-二羟基蒽醌为本研究的内标物。

关于决明子的体内研究,国内、外文献均有报道,主要是集中某个蒽醌类成分的研究,目前还没有关于决明子多个成

分特别是多个特有成分体内研究的报道。笔者研究了决明子4个特有成分的大鼠体内药动学过程,验证了本研究所建方法在非临床药动学研究中的适用性,为其非临床药动学和毒理学等安全性研究提供了可靠的分析方法,为决明子应用研究提供了有力支持。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 135.
- [2] 郝延军, 桑育黎, 赵余庆. 决明子的研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(9): 858.
- [3] 刘松青, 代青, 张良明. 高效液相色谱法测定兔血浆中决明子苷B浓度[J]. 中国药房, 2003, 14(9): 527.
- [4] Tang WF, Yu Q, Wan MH, et al. Simultaneous determination and pharmacokinetic studies of aloe emodin and chrysophanol in rats after oral administration of Da-Cheng-Qi decoction by high performance liquid chromatography[J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, 21(7): 701.
- [5] Layek B, Kumar T S, Kumar R. Development and validation of a sensitive LC-MS/MS method with electrospray ionization for quantitation of rhein in human plasma application to a pharmacokinetic study[J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 22(6): 616.
- [6] Lee JH, Kim JM. Pharmacokinetic analysis of the rhein in *Rheum undulatum* L.[J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84(1): 5.
- [7] Maity TK, Mandal SC. Metabolism of 1, 8-dihydroxy-3-hydroxy methyl anthraquinone (aloe-emodin) isolated from the leaves of *Cassia tora* in albino Rats[J]. *Phytother Res*, 2001, 15(5): 459.
- [8] Zaffaroni M, Mucignat C, Peere T, et al. High-performance liquid chromatographic assay for the determination of Aloe Emodin in mouse plasma[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 796(1): 113.
- [9] Shia CS, Tsai SY, Lin JC, et al. Steady-state pharmacokinetics and tissue distribution of anthraquinones of *Rheum Rhizoma* in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(3): 1 388.
- [10] Liu W, Zheng ZJ, Liu X, et al. Sensitive and robust UPLC-MS/MS method to determine the gender-dependent pharmacokinetics in rats of emodin and its glucuronide[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 54(5): 1 157.
- [11] Peng J, Song ZF, Ma C. Emodin studies on pharmacokinetics and distribution in rat liver after *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. extract administration[J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med*, 2008, 10(1): 64.
- [12] Pace-Aseiak CR, Hahn S, Diamandis EP, et al. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease[J]. *Clin Chim Acta*, 1995, 235(2): 207.
- [13] 方芳, 王伽伯, 赵艳玲, 等. 生熟大黄总提取物灌胃给药后游离蒽醌在SD大鼠组织中的分布差异研究[J]. 药学学报, 2011, 46(3): 350.

# 血脉通胶囊与卡马西平联用对癫痫模型小鼠的保护作用

焦 洋<sup>1\*</sup>, 魏立明<sup>2</sup>, 邱 雯<sup>2#</sup> (1. 兰州大学第二临床医学院, 兰州 730000; 2. 兰州大学第二医院药学部, 兰州 730030)

中图分类号 R285;R742.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)43-4057-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.43.08

**摘要** 目的: 研究血脉通胶囊与卡马西平(CBZ)联用对癫痫模型小鼠的保护作用。方法: 第1、3、5、8、10天腹腔注射戊四唑(PTZ, 45 mg/kg), 第12天腹腔注射PTZ(75 mg/kg)以复制小鼠癫痫模型。实验分为模型(等容生理盐水)组、CBZ(120 mg/kg)组、联合用药(CBZ 120 mg/kg+血脉通胶囊500 mg/kg)组。除第12天外, 每次腹腔注射PTZ前30 min灌胃给药。计算小鼠轻、重度发作率和死亡率, 记录小鼠癫痫轻度发作潜伏期、重度发作持续时间、发作等级, 并观察脑组织病理切片。结果: 与模型组比较, CBZ组与联合用药组小鼠重度发生率、死亡率显著降低, 轻度发作潜伏期显著延长, 重度发作持续时间显著缩短, 发作等级显著降低( $P<0.01$ ), 小鼠脑组织的损伤明显减轻。与CBZ组比较, 联合用药组以上指标均显著改善( $P<0.05$ )。结论: 血脉通胶囊和CBZ联用对小鼠PTZ慢性点燃有明显的抑制作用。

**关键词** 血脉通胶囊; 戊四唑; 癫痫; 卡马西平

## Protective Effects of Xuemaitong Capsules Combined with Carbamazepine on Epilepsy Model Mice

JIAO Yang<sup>1</sup>, WEI Li-ming<sup>2</sup>, QIU Wen<sup>2</sup> (1. The Second Clinical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Dept. of Pharmacy, The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the protective effects of Xuemaitong capsules combined with carbamazepine (CBZ) on epilepsy model mice. METHODS: Mice were given intraperitoneal injection of pentylenetetrazole (PTZ, 45 mg/kg) on 1st, 3rd, 5th, 8th and 10th day, and then given intraperitoneal injection of PTZ (75 mg/kg) on 12th day to induce epilepsy kindling model. Model mice were divided into model group (constant volume normal saline), CBZ group (120 mg/kg) and drug combination group (CBZ 120 mg/kg+Xuemaitong capsules 500 mg/kg). They were given relevant medicines intragastrically 30 min before modeling except 12th day. The mild attack rate, the severe attack rate, death rate were calculated. The latent period of mild attack, the duration of severe attack, attack level were recorded, and pathological section of cerebral tissue was observed. RESULTS: Compared with model group, the severe attack rate and death rate were decreased significantly, the latent period of mild attack was prolonged significantly, the duration of severe attack was shortened significantly, attack level was decreased significantly ( $P<0.01$ ). The damage of cerebral tissue was reduced significantly in CBZ group and drug combination group. Compared with CBZ group, the index were better in drug combination group ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: CBZ combined with Xuemaitong capsules can inhibit PTZ-kindling seizures in mice.

**KEY WORDS** Xuemaitong capsules; Pentylenetetrazol; Epilepsy; Carbamazepine

癫痫是大脑神经元突发性异常放电, 导致大脑短暂功能障碍的慢性疾病, 是发作性意识丧失的主要原因<sup>[1]</sup>。目前, 抗癫痫药物(AEDs)约有20余种, 约2/3的患者通过已知的AEDs治疗可获得良好的效果, 但仍有约1/3的癫痫患者症状无法控制, 从而发展成为顽固性癫痫或难治性癫痫(Intractable epilepsy, IE or Refractory epilepsy, RE)。RE是目前临床上的难题之一, 其主要原因可能是血脑屏障(Blood-brain barrier,

BBB)上存在的多药转运体(Multidrug transporters)构成了一道屏障<sup>[2]</sup>。P糖蛋白(P-gp)是首先被发现的多药转运体, 其由MDR基因编码, 大部分AEDs都是它的底物药物, 如卡马西平(CBZ)、苯巴比妥等<sup>[3-4]</sup>。多药转运体P-gp高表达时, 可以借助主动能量依赖转运过程, 阻止AEDs进入脑组织, 或将已进入BBB的药物泵回血液中, 从而降低脑组织中AEDs的量, 使AEDs无法有效发挥治疗效果<sup>[3]</sup>。若尝试使用P-gp抑制剂与

[14] 王平, 缪舒益, 孟宪丽, 等. 反相离子对色谱法同时测定大鼠血浆中五种大黄蒽醌的方法学研究[J]. 中药药理与临

\* 本科生。研究方向: 临床药学。电话: 0931-8942753。E-mail: 245928852@qq.com

# 通信作者: 副教授。研究方向: 临床药学。E-mail: 119231570@qq.com

床, 2009, 25(5): 47.

[15] Tang W, Wan M, Zhu Z, et al. Simultaneous determination of eight major bioactive compounds in Dachengqi Tang (DT) by high-performance liquid chromatography [J]. *Chin Med*, 2008, 3(5): 1.

(收稿日期: 2012-11-09 修回日期: 2013-03-05)