

生川乌瓜蒌不同配伍中乌头类生物碱在大鼠体内的药动学研究

许妍妍¹, 郭雪君¹, 李遇伯¹, 张艳军^{2*}

1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193

2. 天津市省部共建现代中药重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 考察生川乌瓜蒌不同配伍比例醇提液中乌头类生物碱在大鼠体内的药动学研究, 比较瓜蒌对其药动学行为的影响。方法 建立灵敏、专属、快速的测定大鼠血浆中 6 种乌头类生物碱的液相色谱-串联质谱方法。大鼠随机分为 3 组, 分别 ig 生川乌与瓜蒌 1:0、6:1、1:6 配伍醇提液, 在不同的时间点采血分析, 经 DAS 2.0 软件计算主要药动学参数。结果 乌头碱、次乌头碱、新乌头碱的药动学参数 $t_{\max}$ 和 $t_{1/2}$ 发生了显著变化, 且变化趋势基本一致, 在生川乌与瓜蒌 6:1 配伍组 $t_{\max}$ 显著减小 ($P<0.05$), 生川乌与瓜蒌 1:6 配伍组 $t_{\max}$ 显著增加 ($P<0.01$ 、 0.001), 且 $t_{1/2}$ 显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), 提示生川乌与瓜蒌不同配伍比例影响了 3 种生物碱的吸收和消除过程。结论 生川乌与瓜蒌配伍影响了乌头类生物碱的药动学过程, 配伍比例是其配伍禁忌的重要条件。

关键词: 生川乌; 瓜蒌; 配伍; 药动学; LC-MS/MS

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2016)03-0273-05

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2016.03.002

Pharmacokinetic studies on aconitum alkaloids from *Aconiti Radix* in different compatibility with *Trichosanthis Fructus* in rats

XU Yan-yan¹, GUO Xue-jun¹, LI Yu-bo¹, ZHANG Yan-jun²

1. College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study pharmacokinetics of aconitum alkaloids from ethanol extracts of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in different compatibility ratios after oral administration to rats, and compare the influence of *Trichosanthis Fructus* on pharmacokinetic characterization of *Aconiti Radix*. **Methods** A sensitive, selective and rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was established for simultaneous determination of the six aconitum alkaloids in rat plasma. Rats were randomly divided to three groups, and were given ethanol extracts of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in different compatibility ratios (1:0, 6:1 and 1:6), respectively. Blood samples were withdrawn at different time points and analyzed. Main pharmacokinetic parameters were calculated using DAS 2.0 Software Package. **Results** Pharmacokinetic parameters including $t_{\max}$ and $t_{1/2}$ of aconitine, hypaconitine, and mesaconitine varied significantly after compatibility, with almost the same variation trend. Compared with *Aconiti Radix* group, $t_{\max}$ of aconitine, hypaconitine, and mesaconitine decreased significantly ($P < 0.05$) in group of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in compatibility ratio of 6:1, while increased significantly ($P < 0.01$, 0.001) in group of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in compatibility ratio of 1:6. $T_{1/2}$ of aconitine, hypaconitine, and mesaconitine decreased significantly ($P < 0.05$, 0.01) in group of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in compatibility ratio of 1:6. The compatibility of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* could affect absorption and elimination of the three aconitum alkaloids. **Conclusion** *Aconiti Radix* in compatibility with *Trichosanthis Fructus* led to pharmacokinetic alteration of the aconitum alkaloids, and compatibility ratio is an important condition for the incompatibility of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus*.

Key words: *Aconiti Radix*; *Trichosanthis Fructus*; compatibility; pharmacokinetics; LC-MS/MS

收稿日期: 2016-01-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2011CB505300, 2011CB505302); 天津市高等学校科技发展基金计划项目 (20140208)

作者简介: 许妍妍, 女, 讲师, 主要从事中药分析与药动学研究。E-mail: xyjtjtc@163.com

*通信作者 张艳军, 博士生导师, 主要从事中药药理学研究。E-mail: zyjsunye@163.com

川乌是毛茛科乌头属乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥块根, 其主要成分是生物碱, 包括双酯型生物碱、单酯型生物碱、醇型生物碱和其他生物碱, 具有镇痛、抗炎、抑瘤等作用^[1]。瓜蒌为葫芦科栝楼属植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 或双边栝楼 *T. rosthornii* Harms 的干燥成熟果实, 其主要成分包括油脂类、甾醇类、黄酮类、三萜类及氨基酸、蛋白质等^[2]。川乌-瓜蒌药对为“十八反”配伍禁忌之一, 历代众多的本草书籍以及《中国药典》均注明其不宜同用。但古今文献及现代研究中不乏川乌与瓜蒌同方配伍应用的实例, 如《普济方》中记载的大黄茛酒和吴茱萸丸^[3]。临床研究表明乌头与瓜蒌配伍治疗心绞痛效果显著^[4]。因此川乌与瓜蒌究竟是否相反仍存在很大的争议, 有待于进一步深入研究。本课题组前期对川乌与瓜蒌反药配伍的急性毒性研究表明生川乌与瓜蒌配伍比例在 4:1~10:1 时相反, 而在 2:1~1:6 则不反^[5], 并提出了基于病症条件的中药配伍禁忌毒效表征研究模式^[6]。LC-MS/MS 具有灵敏度高、选择性强的特点^[7-8], 因此本实验建立 LC-MS/MS 法同时测定大鼠血浆中乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱和苯甲酰新乌头原碱, 并进行生川乌配伍不同比例瓜蒌在大鼠体内的药动学研究, 为阐明川乌与瓜蒌的配伍禁忌机制提供依据。

1 材料和仪器

1.1 药材与试剂

川乌购自中国药材总公司, 经天津中医药大学李天祥教授鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的干燥母根。瓜蒌购自江苏省洪泽县, 由天津中医药大学李天祥教授鉴定为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的干燥成熟果实。

乌头碱 (aconitine, AC, 批号 110720-200410)、次乌头碱 (hypoaconitine, HA, 批号 110798-200805)、新乌头碱 (mesaconitine, MA, 批号 110799-200505)、苯甲酰乌头原碱 (benzoylaconine, BAC, 批号 110797-200405)、苯甲酰次乌头原碱 (benzoylhypoaconine, BHA, 批号 111796-201002)、苯甲酰新乌头原碱 (benzoylmesaconine, BMA, 批号 11795-200901) 对照品质量分数均 $\geq 98\%$, 购自中国食品药品检定研究院, 盐酸丁螺环酮 (批号 101059-201101, 质量分数 $\geq 98\%$) 对照品购自成都瑞芬思生物科技有

限公司。

乙腈、甲酸 (色谱纯, 美国 Sigma 公司), 甲醇 (色谱纯, 美国 Fisher 公司), 氨水 (国药集团化学试剂有限公司), 醋酸铵、醋酸乙酯 (天津市化学试剂批发公司) 为分析纯, 超纯水由 Milli Q 超纯水仪制备。其他试剂均为分析纯。

1.2 实验仪器

API 4000 Qtrap LC-MS/MS 型液质联用仪 (美国 Applied Biosystem 公司), QL-901 型涡旋混合器 (海门市其林贝尔仪器有限公司), XS 205 型电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司), Mikro 220R 台式高速冷冻离心机 (德国 Hettich 公司), 氮吹仪 (美国 Organomation 公司)。

1.3 实验动物

Wistar 大鼠, 雄性, 体质量 200~250 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 动物许可证号 SCXK 京 409-6004。大鼠饲养于天津中医药大学实验动物中心, 其设施符合《中华人民共和国卫生部实验动物环境设施标准》二级标准, 自由饮食、饮水, 适应性饲养 1 周后开始实验。

2 方法与结果

2.1 LC-MS/MS 分析条件

色谱条件: Phenomenex Gemini C₁₈ 色谱柱 (50 mm $\times$ 2.0 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇 (0.1%甲酸) (A)-5 mmol/L 醋酸铵 (B); 体积流量: 0.4 mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 梯度洗脱程序: 0.01~0.15 min, 90%B; 0.15~2.65 min, 90%~20%B; 2.65~4.15 min, 20%~0%B; 4.15~5.45 min, 0%B; 5.45~5.46 min, 0%~90%B; 5.46~7.00 min, 90%B。为了防止内源性物质污染质谱分离物, 弃去 3 min 之前的色谱流出物。

质谱条件: 离子源为 ESI 源, 正离子扫描模式, 喷雾电压 5 kV, 离子源温度 500 $^{\circ}$ C, 离子源气体 1 (N₂) 温度 60 $^{\circ}$ C, 气体 2 (N₂) 温度 55 $^{\circ}$ C, 气帘气 (N₂) 压力 137.9 kPa。采用多反应监测模式, 用于定量的离子反应及碰撞条件见表 1。

2.2 供试品溶液的制备

精确称取生川乌、瓜蒌, 按照质量比 1:0、6:1、1:6 混合均匀, 加 10 倍量 70%乙醇浸泡 30 min 后, 水浴加热回流提取 2 h, 8 层纱布滤过, 滤渣加入 10 倍量 70%乙醇再次提取 1 h, 8 层纱布滤过, 合并两次滤液, 减压回收溶剂, 并浓缩至无醇味, 定容, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

表 1 待测化合物及内标定量检测质谱参数

Table 1 MS/MS parameters for determination of analytes and internal standard

化合物	Q1 mass/u	Q3 mass /u	DP/V	CE/V
AC	646.4	586.4	80	47
HA	632.3	572.3	80	46
MA	616.3	556.3	80	44
BAC	604.2	554.3	100	51
BHA	590.2	540.3	100	50
BMA	574.2	542.3	100	47
内标	386.3	122.3	51	27

2.3 对照品溶液的制备

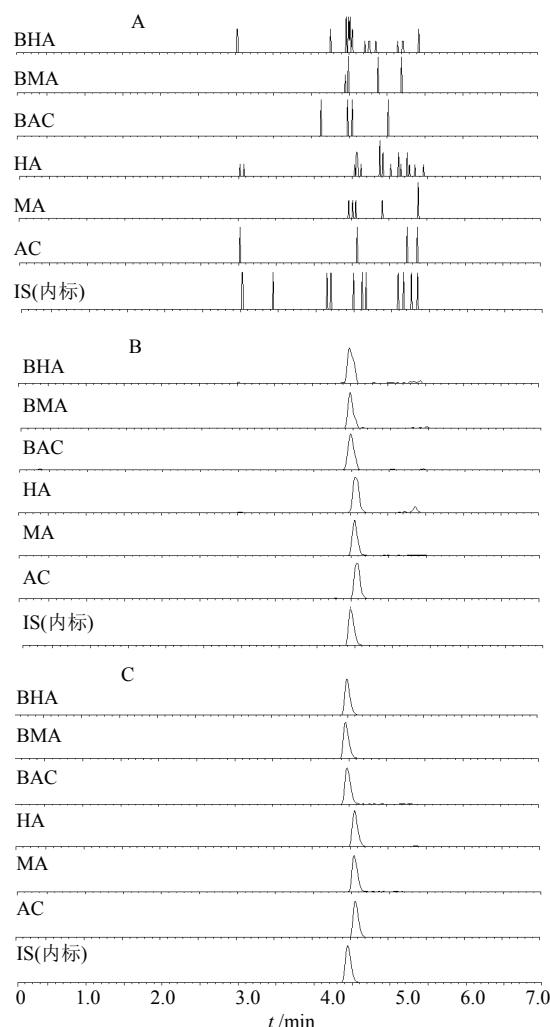
分别精密称取 AC、HA、MA、BAC、BHA、BMA 对照品适量，置 10 mL 量瓶中，加乙腈溶解，并加至刻度，配制 1 mg/mL 对照品储备液。临用前用乙腈将对照品储备液梯度稀释为含 AC、HA、MA、BHA 质量浓度分别为 0.2、0.5、2、5、20、50、100、200 ng/mL 以及 BAC、BMA 质量浓度分别为 0.5、1.25、5、12.5、50、125、250、500 ng/mL 的混合对照品溶液。精密称取内标盐酸丁螺环酮对照品适量，置 10 mL 量瓶中，加乙腈溶解，并加至刻度，临用前用乙腈稀释成质量浓度为 10 ng/mL 的内标溶液。所有溶液均置于 -80 °C 保存备用。

2.4 血浆样品前处理

取大鼠血浆 70 μL，加入乙腈 7 μL，加入 10 ng/mL 内标盐酸丁螺环酮 10 μL，14%浓氨水 10 μL 涡旋振荡 10 s；加入醋酸乙酯 600 μL 涡旋振荡 15 min，4 °C、15 000 r/min 离心 10 min，取上清液于 40 °C 氮气下吹干，100 μL 甲醇 - 水 (1:1) 复溶，涡旋振荡溶解残渣后，4 °C、15 000 r/min 条件下离心 5 min，即得。取上清液 20 μL 进行 LC-MS/MS 定量分析。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验 分别取 6 只大鼠的空白血浆各 70 μL，除不加内标外，其他按“血浆样品前处理”项下方法处理；将定量下限浓度的混合对照品溶液和内标加入大鼠空白血浆，同法处理；取受试大鼠给予生川乌 - 瓜蒌 (6:1) 醇提液后 1 h 的血浆样品，同法处理。取各样品，进样考察分析方法的专属性。结果表明，血浆中内源性物质不干扰 6 种乌头生物碱和内标的测定，方法专属性良好。



A-空白血浆 B-空白血浆加定量下限水平的混合对照品溶液与 IS C-大鼠 ig 生川乌 - 瓜蒌 (6:1) 醇提液 1 h 后的血浆样品
A-blank plasma B-blank plasma spiked with analytes at LLOQ levels and IS C-plasma sample collected at 1 h after ig administration of ethanol extracts of Aconiti Radix and Trichosanthis Fructus (6:1) to rats

图 1 大鼠血浆样品 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of rat plasma sample

2.5.2 标准曲线与定量下限 取大鼠血浆 70 μL，加入系列混合对照品溶液 7 μL，配制成含 AC、HA、MA、BHA 质量浓度分别为 0.02、0.05、0.2、0.5、2、5、10、20 ng/mL 以及 BAC、BMA 质量浓度分别为 0.05、0.125、0.5、1.25、5、12.5、25、50 ng/mL 的血浆样品，其余按“血浆样品前处理”项下方法处理。在 3 d 的方法学验证试验中，每天配制标准曲线进样分析。以血浆中待测物的质量浓度为横坐标，其峰面积与内标物的峰面积比值为纵坐标，采用加权最小二乘法进行线性回归，权重系数 $W=1/x^2$ ，得标准曲线的线性回归方程，见表 2。结果表明 AC、HA、MA、BHA 在 0.02~20.00 ng/mL 线性

关系良好, 定量下限可达 0.02 ng/mL, BAC、BMA 在 0.05~50.00 ng/mL 线性关系良好, 定量下限可达 0.05 ng/mL。

表2 线性回归方程、相关系数及线性范围

Table 2 Calibration curves, correlation coefficients and linear ranges

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)
AC	$Y=0.274\ 8\ X+0.005\ 6$	0.997 0	0.02~20.00
HA	$Y=0.290\ 7\ X+0.013\ 9$	0.994 0	0.02~20.00
MA	$Y=0.284\ 8\ X+0.007\ 7$	0.997 0	0.02~20.00
BAC	$Y=0.086\ 4\ X+0.001\ 7$	0.997 0	0.05~50.00
BHA	$Y=0.259\ 2\ X+0.003\ 8$	0.996 0	0.02~20.00
BMA	$Y=0.083\ 3\ X+0.001\ 2$	0.996	0.05~50.00

2.5.3 精密度与准确度试验 取空白大鼠血浆 70 μL, 配制 AC、HA、MA、BHA 质量浓度分别为 0.050、2.000、16.000 ng/mL, BAC、BMA 质量浓度分别为 0.125、5.000、40.000 ng/mL 的质控 (quality control, QC) 样品各 6 份, 按“血浆样品前处理”

项下方法操作, 1 d 内连续测定 6 次以及每天进样测定 1 次, 连续测定 3 d, 根据当日随行标准曲线的线性回归方程计算 QC 样品中各成分的质量浓度, 分别计算其 RSD 值和 RE 值, 见表 3。结果表明各成分的日内、日间 RSD 值均小于 15%, RE 在 ±15% 之间, 可满足体内药动力学研究的要求。

2.5.4 稳定性试验 取含 AC、HA、MA、BHA 质量浓度分别为 0.050、2.000、16.000 ng/mL, BAC、BMA 质量浓度分别为 0.125、5.000、40.000 ng/mL 的 QC 样品, 分别经过室温放置 6 h、3 次冷冻 (-20 ℃) - 融化 (室温) 循环、-80 ℃冻存 1 个月, 达到考察条件后, 按“血浆样品前处理”项下方法操作, 测定各待测物浓度, 并计算其 RE 值和 RSD 值。同时考察处理后的血浆样品在自动进样器 (4 ℃) 放置 24 h 及对照品储备液 -80 ℃冻存 1 个月的稳定性。结果表明, AC、HA、MA、BAC、BHA、BMA 在不同贮藏条件下均稳定, RE 值为 -13%~9.8%, 在 ±15% 范围内, RSD 值在 0.66%~12%, 均小于 15%。结果见表 4。

表3 准确度和精密度试验结果 (n=6)

Table 3 Results of precision and accuracy (n = 6)

化合物	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	日内 RSD/%	日间 RSD/%	RE/%
AC	0.050	0.05±0.003	5.8	8.6	-0.9
	2.000	1.97±0.09	3.7	9.4	-1.3
	16.000	16.51±0.47	2.3	5.4	3.2
HA	0.050	0.048±0.002	4.6	8.2	-4.9
	2.000	1.97±0.10	4.3	9.2	-1.7
	16.000	16.30±0.52	2.2	7.2	1.9
MA	0.050	0.051±0.002	4.9	1.9	1.8
	2.000	1.91±0.08	1.9	10.6	-4.6
	16.000	16.08±0.64	2.2	9.8	0.5
BAC	0.125	0.126±0.005	3.8	5.5	0.9
	5.000	5.060±0.220	3.9	6.9	1.2
	40.000	41.610±1.490	2.5	7.8	4.0
BHA	0.050	0.052±0.002	4.5	4.4	3.8
	2.000	2.09±0.07	3.2	2.7	4.3
	16.000	16.69±0.46	2.5	4.4	4.3
BMA	0.125	0.122±0.007	4.9	10.8	-2.1
	5.000	5.140±0.210	4.2	3.2	2.7
	40.000	41.420±1.450	2.2	8.2	3.6

表 4 稳定性试验试验结果 (n=3)

Table 4 Results of stability test (n = 3)

成分	加入质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	室温放置 6 h		3 次冷冻 - 融化循环		-80 °C 冻存 1 个月		处理后 4 °C 放置 24 h	
		测得质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测得质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测得质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测得质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%
AC	0.050	0.051	4.1	0.053	10.0	0.044	2.7	0.049	9.7
	2.000	1.810	1.7	1.840	2.7	2.020	2.8	1.940	1.2
	16.000	15.430	1.3	15.600	2.2	14.570	1.7	15.930	2.0
HA	0.050	0.046	6.3	0.048	9.8	0.051	5.7	0.044	5.1
	2.000	1.760	0.7	1.810	3.9	1.900	2.3	1.800	3.4
	16.000	15.030	0.8	15.400	1.3	13.800	0.6	15.030	0.8
MA	0.050	0.049	9.6	0.055	2.6	0.040	7.0	0.049	8.0
	2.000	1.740	1.5	1.740	1.7	1.990	2.2	1.810	2.5
	16.000	14.500	2.0	14.730	3.4	14.030	1.2	14.870	2.4
BAC	0.125	0.129	9.7	0.122	12.7	0.119	2.4	0.123	8.5
	5.000	4.637	2.9	4.613	3.6	5.190	1.8	4.727	1.9
	40.000	38.533	0.8	38.667	2.0	42.300	2.6	38.200	1.8
BHA	0.050	0.049	2.8	0.048	6.2	0.049	8.2	0.051	8.1
	2.000	1.960	2.7	2.010	5.5	2.080	1.6	1.903	4.5
	16.000	15.670	3.2	16.030	4.4	17.470	0.9	15.070	1.7
BMA	0.125	0.115	6.6	0.128	12	0.127	7.7	0.124	9.5
	5.000	4.660	3.2	4.730	0.9	5.160	3.3	4.750	1.8
	40.000	39.000	2.4	39.030	3.0	42.930	1.1	37.430	1.7

2.5.5 回收率和基质效应 取空白大鼠血浆 70 μL, 配制 AC、HA、MA、BHA 质量浓度分别为 0.050、2.000、16.000 ng/mL, BAC、BMA 质量浓度分别为 0.125、5.000、40.000 ng/mL 的 QC 样品, 按“血浆样品前处理”项下方法操作, 进样分析, 所测得的色谱峰面积为 A_1 ; 取大鼠空白血浆 70 μL, 按“血浆样品前处理”项下方法操作, 残留物分别用低、中、高 3 个质量浓度的混合对照品溶液复溶, 进样分析, 所得色谱峰面积为 A_2 。取相应质量浓度的混合对照品溶液, 氮吹后用流动相复溶, 进样分析, 色谱峰面积为 A_3 。 A_1 与 A_2 的比值即为相对回收率, A_2 与 A_3 的比值即为基质效应。每一个质量浓度进行 3 个样本分析。内标的回收率和基质效应按同法计算。见表 5。结果表明提取回收率符合要求, 且本法测定条件下血浆中内源性物质的离子抑制或增强作用可忽略不计, 对待测物和内标的质谱响应没有明显影响。

2.6 药动学参数计算

采用实验室已建立的高效液相色谱法测定生川乌瓜蒌不同比例醇提液中 AC、MA、HA、BAC、BMA、BHA 的质量分数^[9], 折算成给药剂量, 生川

表 5 回收率和基质效应试验结果 (n=3)

Table 5 Results of recovery and matrix effect (n = 3)

化合物	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	回收率/%	基质效应/%
AC	0.050	89.7	108.6
	2.000	91.0	97.8
	16.000	96.2	95.3
HA	0.050	96.3	105.8
	2.000	93.3	92.1
	16.000	94.6	95.7
MA	0.050	86.1	105.1
	2.000	89.9	95.5
	16.000	95.5	96.9
BAC	0.125	85.8	92.9
	5.000	91.7	93.7
	40.000	94.4	96.2
BHA	0.050	86.1	94.4
	2.000	91.4	92.9
	16.000	92.7	97.4
BMA	0.125	85.4	92.1
	5.000	90.9	93.8
	40.000	94.2	98.6
IS(内标)	10.000	88.9	90.6

乌组中分别为 125.2、532.8、667.9、156.1、109.5、155.8 $\mu\text{g/kg}$, 生川乌 - 瓜蒌 (6:1) 组中分别为 87.0、375.6、466.2、133.9、96.8、135.2 $\mu\text{g/kg}$, 生川乌 - 瓜蒌 (1:6) 组中分别为 116.9、453.3、684.5、157.6、106.0、148.7 $\mu\text{g/kg}$ 。可见生川乌瓜蒌不同比例醇提液中双酯型生物碱的质量分数较高。

取健康雄性 Wistar 大鼠, 随机分成 3 组, 每组 6 只, 给药前禁食 12 h, 自由饮水。分别 ig 生川乌与瓜蒌不同比例醇提液, 给药剂量以川乌生药计为 1.85 g/kg, 分别于给药前 (0 h) 和给药后 0.08、0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12 h 由眼眶静脉丛取血测定, 将测定的血药浓度 - 时间数据用 DAS 2.0

软件 (Drug and Statistics, 中国数学药理学会, 孙瑞元等编制) 拟合曲线, 并计算药动学参数。采用非配对 t 检验进行统计分析。

大鼠 ig 生川乌与瓜蒌不同比例醇提液后, 血浆中均可检测到 AC、HA、MA、BAC、BHA、BMA, 但其药动学行为有所不同。单酯型生物碱 BAC、BHA、BMA 在多个采血时间点下血浆药物浓度低于定量下限, 不能完整地绘制药时曲线并计算药动学参数, 原因可能是 BAC、BHA、BMA 在醇提液中含量较低, 给药剂量较小。双酯型生物碱 AC、HA、MA 的血药浓度 - 时间曲线见图 2, 药动学参数见表 6。

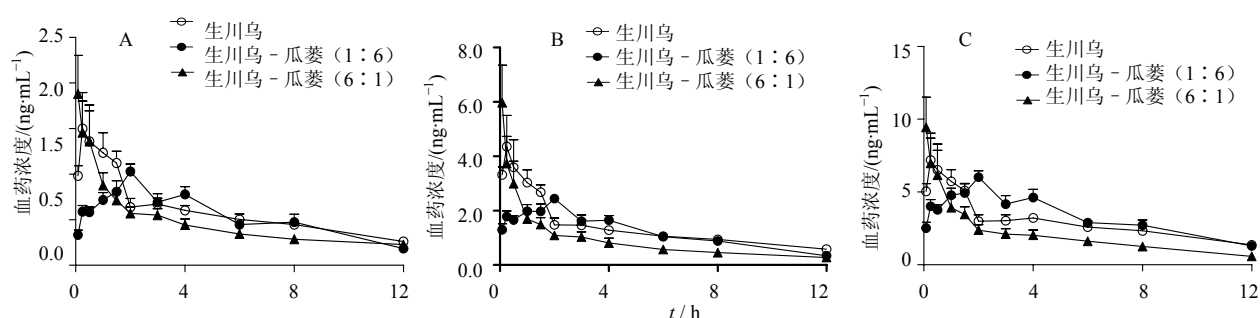


图 2 大鼠 ig 生川乌瓜蒌不同比例醇提液后 AC (A)、HA (B)、MA (C) 的平均血药浓度 - 时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of AC (A), HA (B), and MA (C) after ig administration with ethanol extracts of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in different compatibility ratios ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

表 6 大鼠 ig 生川乌瓜蒌不同比例醇提液后 AC、HA 和 MA 的药动学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 6 Pharmacokinetic parameters of AC, HA, and MA after ig administration of ethanol extracts of *Aconiti Radix* and *Trichosanthis Fructus* in different compatibility ratios ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

化合物	生川乌瓜蒌比例	$AUC_{0 \rightarrow t}/(\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1})$	$C_{\max}/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	$t_{\max}/\text{h}$	$t_{1/2}/\text{h}$
AC	1:0	7.05 ± 1.23	1.67 ± 0.87	0.83 ± 0.59	6.97 ± 1.77
	6:1	5.49 ± 1.31	1.88 ± 1.04	$0.08 \pm 0.00^*$	8.93 ± 2.51
	1:6	6.46 ± 0.84	1.08 ± 0.17	$2.25 \pm 0.88^{**}$	$4.08 \pm 0.68^{**}$
HA	1:0	35.02 ± 5.22	7.99 ± 4.00	0.47 ± 0.41	6.74 ± 1.06
	6:1	$23.75 \pm 6.11^*$	9.44 ± 5.07	$0.08 \pm 0.00^*$	$4.64 \pm 1.66^*$
	1:6	39.57 ± 6.20	6.62 ± 0.96	$2.08 \pm 1.02^{**}$	$4.67 \pm 1.10^{**}$
MA	1:0	16.14 ± 2.64	4.76 ± 2.51	0.47 ± 0.41	8.78 ± 4.29
	6:1	$10.36 \pm 2.72^*$	5.97 ± 3.39	$0.08 \pm 0.00^*$	6.12 ± 1.71
	1:6	14.47 ± 2.31	2.67 ± 0.32	$1.92 \pm 0.20^{***}$	$3.67 \pm 0.94^*$

与生川乌组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs *Aconiti Radix* group

3 讨论

大鼠 ig 生川乌瓜蒌不同比例醇提液后, 双酯型生物碱 AC、MA、HA 在大鼠血浆中的质量浓度顺序为 $\text{HA} > \text{MA} > \text{AC}$, 与其在醇提液中质量浓度顺序 $\text{HA} > \text{MA} > \text{AC}$ 一致。与生川乌组比较, 配伍瓜

蒌后, AC、MA、HA 主要药动学参数均发生了变化。AC、MA、HA 在生川乌 - 瓜蒌 (6:1) 组 $C_{\max}$ 有增加趋势, 生川乌 - 瓜蒌 (1:6) 组 $C_{\max}$ 有降低趋势, 但未见统计学差异。除 AC 在各组的 $AUC_{0 \rightarrow t}$ 无显著变化外, MA、HA 在生川乌 - 瓜蒌 (6:1)

组 $AUC_{0 \rightarrow t}$ 显著降低 ($P < 0.05$), 生川乌 - 瓜蒌 (1 : 6) 组没有显著变化。AC、MA、HA 在 t_{max} 和 $t_{1/2}$ 的变化趋势基本一致, 生川乌 - 瓜蒌 (6 : 1) 组 t_{max} 显著减小 ($P < 0.05$), 生川乌 - 瓜蒌 (1 : 6) 组 t_{max} 显著增加 ($P < 0.01$ 、 0.001), 且 $t_{1/2}$ 显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。

双酯型生物碱 AC、MA、HA 被认为是川乌的药效成分和毒性成分, 有效剂量和中毒剂量接近。药动学参数变化提示生川乌配伍不同比例的瓜蒌影响了 AC、MA、HA 的药动学行为, 使生川乌 - 瓜蒌 (6 : 1) 组吸收加快, 迅速达到 C_{max} , 容易产生毒性, 可能使其相对于生川乌 - 瓜蒌 (6 : 1) 组产生“反”的原因之一, 而生川乌 - 瓜蒌 (1 : 6) 组则吸收减慢且迅速消除, 不易在体内蓄积, 可能是其相对于生川乌 - 瓜蒌 (6 : 1) 组产生“不反”的原因之一。

本实验建立了灵敏、专属性强的大鼠血浆中 AC、HA、MA、BAC、BHA、BMA 6 种乌头类生物碱同时测定的 LC-MS/MS 分析方法。大鼠分别 ig 生川乌瓜蒌不同比例配伍醇提液后, 不同配伍比例对双酯型生物碱 AC、HA 和 MA 的体内过程影响不同, 从药动学差异角度解释了生川乌与瓜蒌“反”与“不反”的配伍比例的条件性, 其机制还有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] Zhu L, Yang X, Zhou J, *et al*. The exposure of highly toxic aconitine does not significantly impact the activity

and expression of cytochrome P450 3A in rats determined by a novel ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method of a specific probe buspirone [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 51: 396-403.

- [2] 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.
- [3] 张 颖, 苗明三. “十八反”文献与临床研究现状、存在问题及研究思路 [J]. 中医学报, 2010, 25(4): 698-703.
- [4] 张国江, 李桂林. 乌头与瓜蒌、半夏同用治疗心绞痛的体会 [J]. 河北中医药学报, 2009, 24(1): 46.
- [5] 张 腾, 庄朋伟, 赖晓艺, 等. “半蒺贝蒺及攻乌”反药配伍组合的急性毒性研究 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2442-2445.
- [6] 庄朋伟, 卢志强, 孙凤姣, 等. 基于病症条件的中药配伍禁忌毒效表征研究思路与方法 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 701-706
- [7] Li L, Liang S, Du F, *et al*. Simultaneous quantification of multiple licorice flavonoids in rat plasma [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18(4): 788-782.
- [8] Liu X, Li H, Wu L, *et al*. Simultaneous quantification of chrysophanol and physcion in rat plasma by ultra fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry and application of the technique to comparative pharmacokinetic studies of Radix et Rhei Rhizoma extract alone and Dahuang Fuzi Decoction [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 980: 88-93.
- [9] 程丽丽, 许妍妍, Nyirimigabo Eric, 等. 一测多评法测定乌头类药材中生物碱 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 528-534.