

## 氢溴酸樟柳碱注射液大鼠组织分布和Beagle犬药动学研究

王峥屹<sup>1</sup>, 杨娟<sup>1,2</sup>, 李勇<sup>1,2\*</sup>, 龙晓芝<sup>1,2</sup>, 万峰<sup>3,4</sup>

1. 四川省医学科学院 四川省人民医院实验动物研究所, 四川 成都 610212

2. 四川省医学科学院 四川省人民医院 药学部, 四川 成都 610072

3. 成都第一制药有限公司, 四川 成都 611930

4. 成都中医药大学 基础医学院, 四川 成都 610075

**摘要:** 目的 研究氢溴酸樟柳碱注射液在大鼠体内的组织分布情况和Beagle犬体内的药动学特征。方法 SD大鼠单次iv氢溴酸樟柳碱注射液5 mg/kg, 于给药后5、30、60、90、180 min处死大鼠, 取血浆、心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠、骨骼肌、脂肪、卵巢、子宫、睾丸。Beagle犬单次iv氢溴酸樟柳碱注射液0.1、0.3、0.9 mg/kg, 给药后5、10、20、30、45 min和1.0、1.5、3.0、5.0、7.0、10.0 h静脉采血。采用高效液相色谱-质谱联用法(LC-MS)测定各时间点血浆及各组织中氢溴酸樟柳碱的浓度, 统计矩法计算氢溴酸樟柳碱在犬体内的药动学参数。结果 大鼠肾、胃氢溴酸樟柳碱峰浓度最高, 分别为(1967.6±569.4)(2316.9±952.6) ng/mL, 其次为血浆、小肠、肺、肝、脾、卵巢、心、子宫、骨骼肌, 而脂肪、睾丸和脑峰浓度最低, 低于200 ng/mL。除胃在30 min达峰外, 其余组织均在5 min达峰, 之后快速下降。Beagle犬iv氢溴酸樟柳碱注射液后, 0.1、0.3、0.9 mg/kg组达峰浓度( $C_{max}$ )分别为(43.3±8.6)、(117.9±40.2)、(348.6±40.0) ng/mL, 药时曲线下面积( $AUC_{0-t}$ )分别为(35.9±6.6)、(159.6±56.6)、(443.3±50.3) ng·h/mL, 半衰期( $t_{1/2}$ )分别为(0.9±0.3)、(1.5±0.9)、(1.1±0.2) h, 清除率( $Cl_z$ )分别为(20.9±5.3)、(17.9±7.6)、(19.4±2.2) ×10<sup>5</sup> L/(h·kg), 表观分布容积( $V_z$ )分别为(24.6±7.0)、(37.0±18.5)、(31.3±4.3) ×10<sup>5</sup> L/kg。结论 氢溴酸樟柳碱在大鼠体内的分布与器官血流量、药物水溶性、生理屏障等因素具有明显相关性; 在犬体内血浆清除率和组织分布程度均较高, 血浆消除较快, 无蓄积性。

**关键词:** 氢溴酸樟柳碱; 大鼠; Beagle犬; 组织分布; 药动学; 高效液相色谱-质谱联用法

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)09-1909-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.09.014

## Studies on tissue distribution of Anisidine Hydrobromide Injection in rats and pharmacokinetics in Beagle dogs

WANG Zengyi<sup>1</sup>, YANG Juan<sup>1,2</sup>, LI Yong<sup>1,2</sup>, LONG Xiaozhi<sup>1,2</sup>, WAN Feng<sup>3,4</sup>

1. Institute of Laboratory Animal Sciences, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610212, China

2. Department of Pharmacy, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China

3. Chengdu First Pharmaceutical Co. Ltd., Chengdu 611930, China

4. Basic Medical College, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China

**Abstract: Objective** To study the tissue distribution of Anisidine Hydrobromide Injection in rats and the pharmacokinetic characteristics in Beagle dogs. **Methods** SD rats were given a single iv injection of Anisidine Hydrobromide Injection at a dose of 5 mg/kg. Rats were sacrificed at different time points, plasma, heart, liver, spleen, lung, kidney, brain, stomach, small intestine, skeletal muscle, fat, ovary, uterus and testis were collected. Beagle dogs were given a single iv injection of Anisidine Hydrobromide Injection at the dose of 0.1, 0.3, and 0.9 mg/kg, 5, 10, 20, 30, 45 min and 1, 1.5, 3, 5, 7, 10 h after administration blood was collected from cephalic vein. The concentration of anisidine hydrobromide in plasma and tissues at each time point was determined by high

收稿日期: 2021-01-23

基金项目: 四川省科技支撑项目(2016sz0027)

第一作者: 王峥屹(1970—),男,研究员,研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: 983927965@qq.com

\*通信作者: 李勇,男,研究员,研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: tennisl@163.com

performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), and statistical moment method was used to calculate the pharmacokinetic parameters of anisidine hydrobromide in dogs. **Results** After a single iv injection of Anisidine Hydrobromide Injection in rats, the peak concentrations in kidney, stomach were the highest, respectively ( $1\ 967.6 \pm 569.4$ ) and ( $2\ 316.9 \pm 952.6$ ) ng/mL, followed by plasma, small intestine, lung, liver, spleen, ovary, heart, uterus and skeletal muscle, while the peak concentrations in fat, testis and brain were the lowest, lower than 200 ng/mL. Except for the stomach, the peak was reached in 30 min, and the other tissues reached the peak in 5 min and then declined rapidly. After iv injection of Anisidine Hydrobromide Injection in Beagle dogs, the  $C_{max}$  of each dose group was ( $43.3 \pm 8.6$ ), ( $117.9 \pm 40.2$ ), and ( $348.6 \pm 40.0$ ) ng/mL.  $AUC_{0-t}$  was ( $35.9 \pm 6.6$ ), ( $159.6 \pm 56.6$ ) and ( $443.3 \pm 50.3$ ) ng·h/mL,  $t_{1/2\alpha}$  was ( $0.9 \pm 0.3$ ), ( $1.5 \pm 0.9$ ), and ( $1.1 \pm 0.2$ ) h,  $Cl_z$  was ( $20.9 \pm 5.3$ ), ( $17.9 \pm 7.6$ ), and ( $19.4 \pm 2.2$ ) $\times 10^5$  L/(h·kg) and  $V_z$  was ( $24.6 \pm 7.0$ ), ( $37.0 \pm 18.5$ ), and ( $31.3 \pm 4.3$ ) $\times 10^5$  L/kg, respectively. **Conclusion** After iv injection of Anisidine Hydrobromide Injection, its distribution in rats had obvious correlation with organ blood flow, drug water solubility, physiological barrier and other factors. The plasma clearance rate and tissue distribution of anisidine hydrobromide in dogs were high, plasma elimination was fast and there was no accumulation.

**Key words:** anisidine hydrobromide; rats; Beagle dogs; tissue distribution; pharmacokinetics; high performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)

氢溴酸樟柳碱是从植物唐古特山莨菪 *Scopolia tangutica* Maxim. 的根中提取出的一种生物碱,该植物在我国青海、西藏等省区分布广泛,资源丰富,青海民间称此植物为樟柳参。氢溴酸樟柳碱为M胆碱受体拮抗剂,其化学结构与东莨菪碱相似<sup>[1]</sup>,具有较强的中枢和外周抗胆碱作用,如解痉、扩瞳、抑制腺体分泌、解除血管痉挛、改善微循环、对抗有机磷中毒等,适用于血管性头痛、视网膜血管痉挛、缺血性视神经病变、急性瘫痪、帕金森病等,亦可用于有机磷酸酯类农药中毒的解毒。由于其作用广泛,治疗价值较高,有必要研究其在动物体内的药动学特征和组织分布情况,因此本研究通过SD大鼠和Beagle犬单次iv给药,考察氢溴酸樟柳碱在动物体内的组织分布情况和药动学特征,为阐明其作用机制,开展进一步的临床研究和指导临床合理用药提供参考。

## 1 材料

### 1.1 药物及主要试剂

氢溴酸樟柳碱注射液,规格2 mL:100 mg,批号161101、191101,由成都第一制药有限公司提供;为无色澄明液体,pH值为3.9~4.0;给药前用0.9%氯化钠注射液在无菌条件下稀释至相应浓度。氢溴酸樟柳碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号100399-200601,干燥后按100%计)。甲醇等试剂均为色谱纯。

### 1.2 动物

SPF级SD大鼠,雌雄各半,36只,体质量:雌性( $166.2 \pm 5.4$ )g,雄性( $195.6 \pm 4.7$ )g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(湘)2019-0004,质量合格证号1107272011002483。

普通级Beagle犬,雄性,18只,体质量( $10.0 \pm 2.5$ )kg,购自四川养麝研究所,实验动物生产许可证号SCXK(川)2014-01,质量合格证号0007440。

### 1.3 主要仪器

Waters Acquity UPLC 色谱-串联 Xevo TQD 质谱仪,配备加热电喷雾离子源(HESI)及Masslynx v4.1 软件系统(美国 Waters 公司);LE204 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);SCIENTZ-48 高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司);TGL-16 冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司);XH-B 型多功能漩涡混合器(江苏康健医疗用品有限公司);Mili-Q Advantage A10 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

精密称取氢溴酸樟柳碱对照品适量,用甲醇溶解稀释后,获得质量浓度约为1.0 mg/mL的储备液。精密吸取氢溴酸樟柳碱储备液,以纯水稀释,获得相应浓度的氢溴酸樟柳碱工作液。分别以大鼠空白肝组织匀浆上清液及大鼠/犬空白血浆稀释工作液,配制氢溴酸樟柳碱标准系列溶液。

精密称取氢溴酸樟柳碱对照品适量,用甲醇溶解稀释后,获得质量浓度约为1.0 mg/mL的质控储备液。精密吸取氢溴酸樟柳碱质控储备液,以纯水稀释,获得各相应浓度的质控工作液。以大鼠空白组织匀浆上清液及犬空白血浆稀释质控工作液,配制各质控样品。

### 2.2 LC-MS 检测条件

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱: Waters Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>(50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7  $\mu$ m);柱温 45  $^{\circ}$ C;流

动相为水-甲醇,体积流量0.4 mL/min,梯度洗脱(表1);进样量1.0  $\mu\text{L}$ 。

表1 梯度洗脱条件  
Table 1 Conditions of gradient elution

t/min	体积流量/( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )	水/%	甲醇/%
0.0	0.4	95	5
0.2	0.4	95	5
3.0	0.4	70	30
3.1	0.4	10	90
4.0	0.4	10	90
6.0	0.4	95	5

**2.2.2 质谱条件** 离子源:加热电喷雾离子源(HESI),正离子模式;喷雾电压3.49 kV;气化室温度55  $^{\circ}\text{C}$ ;加热毛细管温度500  $^{\circ}\text{C}$ ;辅助气( $\text{N}_2$ )压力689.5 kPa;碰撞气压力41.4 kPa;扫描方式:选择反应监测(SRM);扫描时间200 ms;碰撞能量3 eV;用于定量分析的离子反应为  $m/z$  320 $\rightarrow$ 156+138+110(樟柳碱)。

### 2.3 大鼠组织分布实验方法

36只SD大鼠随机分为5组,每组6只,雌雄各半,剩余6只作为对照组。试验前禁食不禁水16 h,尾iv 5 mg/kg 氢溴酸樟柳碱注射液,分别于给药后5、30、60、90、180 min腹主动脉取血约1 mL,处死各组大鼠,取心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、小肠、骨骼肌、脂肪、卵巢、子宫、睾丸。组织使用生理盐水洗净表面浮血,滤纸吸干,-20  $^{\circ}\text{C}$ 冻存待测。

### 2.4 Beagle犬药动学实验方法

18只Beagle犬随机分为3组,每组6只,雄性,低、中、高剂量组分别单次iv给予氢溴酸樟柳碱注射液0.1、0.3、0.9 mg/kg。空白血样采集时间为给药前,低、中和高剂量组血样采集时间点为给药后5、10、20、30、45 min和1.0、1.5、3.0、5.0、7.0、10.0 h,前肢皮下头静脉采血约1 mL。

### 2.5 血浆及组织样本的处理

大鼠腹主动脉/Beagle犬前肢皮下头静脉采血约1 mL,肝素抗凝(1 000 U/mL),4 000 r/min离心10 min,取血浆100  $\mu\text{L}$ 加入300  $\mu\text{L}$ 甲醇,涡漩振荡90 s,14 000 r/min离心10 min,取上清液200  $\mu\text{L}$ ,LC-MS测定。

称取大鼠各待分析样本组织200 mg(卵巢100 mg),加4倍体积生理盐水混合,于组织匀浆机中匀浆,4 000 r/min离心10 min,分离上清液,取100  $\mu\text{L}$ 加入300  $\mu\text{L}$ 甲醇,涡漩振荡90 s,14 000 r/min离

心10 min,取上清液200  $\mu\text{L}$ ,LC-MS测定。

### 2.6 专属性试验

取大鼠空白肝组织匀浆、空白肝组织匀浆加一定浓度的氢溴酸樟柳碱对照品、给药后的肝组织匀浆样品,以及犬空白血浆、空白血浆加一定浓度的氢溴酸樟柳碱对照品、给药后的血浆样品,按“2.5”项下方法操作,进样1.0  $\mu\text{L}$ ,获得色谱图(图1、2),本次试验条件下氢溴酸樟柳碱的保留时间约为1.3 min。结果表明,大鼠空白肝组织匀浆及犬空白血浆样品中内源性物质对待测物氢溴酸樟柳碱干扰不明显。

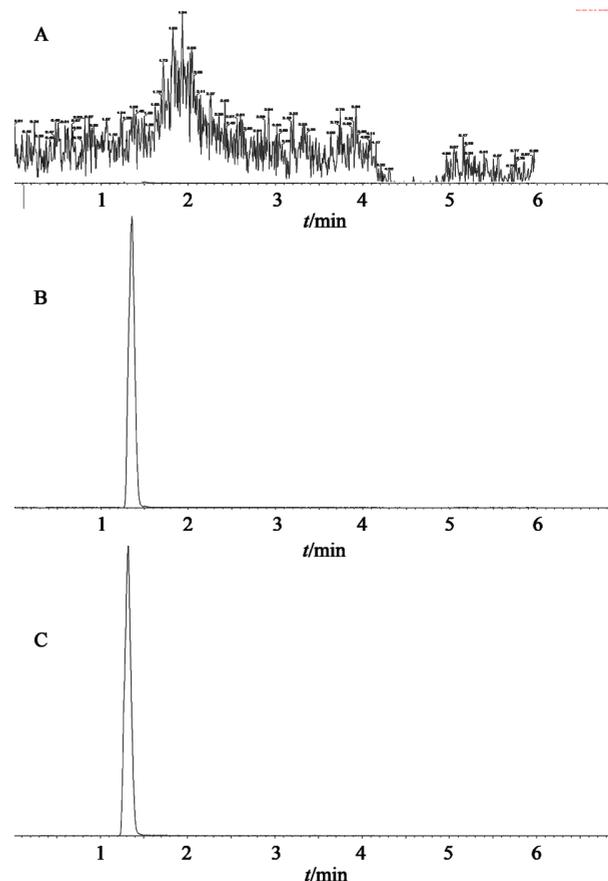


图1 大鼠空白肝组织匀浆(A)、空白肝组织匀浆+氢溴酸樟柳碱对照品(900  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )(B)、给药30 min后肝组织匀浆(C)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of rat blank liver homogenate (A), rat blank liver homogenate + anisidine hydrobromide standard substance (900  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) (B), and rat liver homogenate 30 min after administration

### 2.7 线性关系考察

取大鼠空白肝组织匀浆,配制成相当于氢溴酸樟柳碱血浆质量浓度分别为15、80、140、300、600、900、1 200、1 500、1 800、2 100、2 400  $\text{ng/mL}$ 的标准系列样品,按“2.5”项下方法操作,进样1.0  $\mu\text{L}$ ,记录

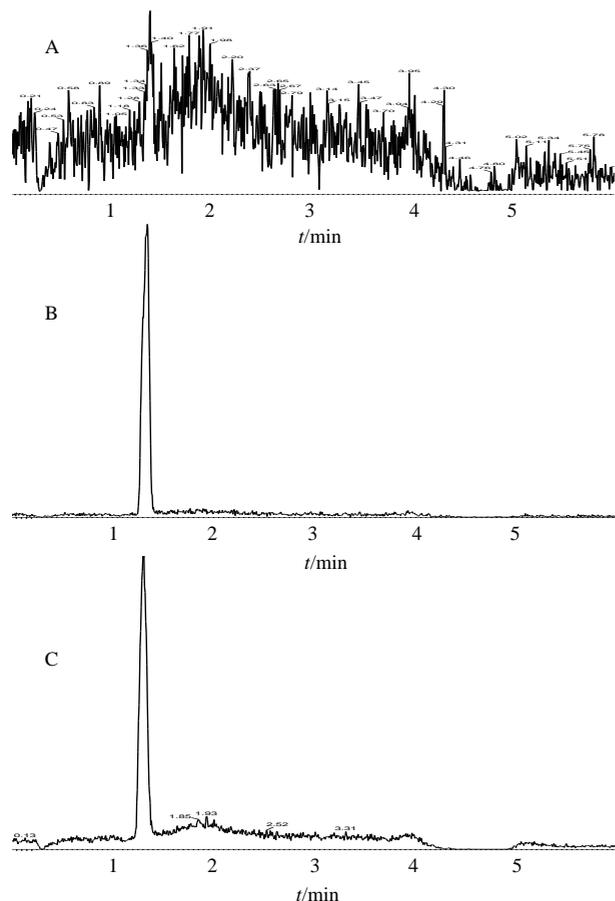


图2 犬空白血浆(A)、犬空白血浆+氢溴酸樟柳碱对照品(100 ng·mL<sup>-1</sup>)(B)、犬给予氢溴酸樟柳碱注射液(0.3 mg·kg<sup>-1</sup>) 5 min后血浆(C)色谱图

Fig. 2 Chromatogram of Beagle dog blank plasma(A), Beagle dog blank plasma + anisidine hydrobromide standard substance (100 ng·mL<sup>-1</sup>)(B), and Beagle dog plasma 5 min after administration of Anisidine Hydrobromide Injection of 0.3 mg·kg<sup>-1</sup> (C)

峰面积。以氢溴酸樟柳碱大鼠肝组织匀浆质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,用加权( $W=1/X^2$ )最小二乘法进行回归运算,求得直线回归方程 $Y=240.3 X+2 458.7(R^2=0.999 4)$ ,线性范围为15~2 400 ng/mL,定量下限为15.0 ng/mL。

取犬空白血浆,配制成相当于氢溴酸樟柳碱血浆质量浓度分别为2.5、5.0、8.0、12.5、20、40、60、80、100、120、140、150 ng/mL的标准系列样品,按“2.5”项下方法操作,进样1.0 μL,记录峰面积。同法求得犬血浆的直线回归方程为 $Y=200.1 X+255.7(R^2=0.998 7)$ ,线性范围为8~150 ng/mL。定量下限为8.0 ng/mL。

### 2.8 准确度、精密度和提取回收率试验

取大鼠空白肝组织匀浆,配制氢溴酸樟柳碱质量浓度分别为40、900、2 100 ng/mL的质控样品各5

份,连续考察3个分析批,计算批内、批间精密密度(RSD)及准确度。结果见表2,方法的精密度和准确度均符合生物样品测定要求<sup>[2-4]</sup>。

表2 氢溴酸樟柳碱在大鼠肝组织匀浆中的精密度和准确度(批内n=5,批间n=15)

Table 2 Precision and accuracy of anisidine hydrobromide in rat liver homogenate (intra-assay n=5, inter-assay n=15)

分析批	理论质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	实测质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	准确度/%
1	40	40.1±2.2	5.5	100.2
	900	968.3±6.1	0.6	107.6
	2 100	2 159.9±17.8	0.8	102.9
2	40	39.6±0.9	2.4	99.1
	900	886.3±8.7	1.0	98.5
	2 100	2 031.5±20.4	1.0	96.7
3	40	40.4±1.3	3.3	101.0
	900	834.4±47.8	5.7	92.7
	2 100	2 030.4±31.6	1.6	96.7
批间	40	40.0±1.5	3.7	100.1
	900	896.3±62.8	7.0	99.6
	2 100	2 073.9±66.7	3.2	98.8

取犬空白血浆,配制氢溴酸樟柳碱质量浓度分别为8、60、140 ng/mL的质控样品各5份,连续考察3个分析批,计算批内、批间精密密度(RSD)及准确度。结果见表3。方法的精密度和准确度均符合生物样品测定的有关要求<sup>[2-4]</sup>。

表3 氢溴酸樟柳碱在犬血浆中的精密密度、准确度(批内n=5,批间n=15)

Table 3 Precision and accuracy of anisidine hydrobromide in Beagle dog plasma (intra-assay n=5, inter-assay n=15)

分析批	理论质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	实测质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	准确度/%
1	8	7.8±1.0	13.1	97.7
	60	61.3±5.6	9.2	102.1
	140	153.4±3.7	2.4	109.5
2	8	7.2±0.7	9.9	89.4
	60	64.6±6.1	9.4	107.7
	140	155.4±3.9	2.5	111.0
3	8	8.6±1.1	12.3	107.6
	60	52.6±1.7	3.2	87.6
	140	154.2±2.1	1.4	110.1
批间	8	7.9±1.1	13.6	98.2
	60	59.5±6.9	11.7	99.2
	140	154.3±3.2	2.1	110.2

取犬空白血浆,配制氢溴酸樟柳碱质量浓度分别为8、60、140 ng/mL的质控样品各3份,按“2.5”项下方法操作。同时取犬空白血浆按“2.5”项下方法操作,上清液中加入质控工作液配制成8、60、140 ng/mL的样品。以每一质量浓度2种处理方法的峰面积比值计算提取回收率。3个质量浓度的提取回收率分别为94.4%、87.7%、93.4%,RSD分别为10.1%、13.2%、2.1%。

## 2.9 基质效应

取大鼠空白肝组织匀浆按“2.5”项下操作,上清液中加入质控工作液配成氢溴酸樟柳碱质量浓度为40、1 800 ng/mL的样品,同时以流动相代替空白组织匀浆,同法操作。以每一质量浓度2种处理方法的峰面积比值计算基质效应。2个质量浓度的基质效应分别为95.8%和101.3%,RSD分别为6.1%和1.2%,表明基质效应可以忽略不计。

取犬空白血浆按“2.5”项下操作,上清液中加入质控工作液配成氢溴酸樟柳碱质量浓度为20、140 ng/mL的样品,同时以纯水代替空白血浆,同法操作。以每一质量浓度2种处理方法的峰面积比值计算基质效应。2个质量浓度的基质效应分别为96.5%和97.7%,RSD分别为5.2%和1.7%,表明基质效应可以忽略不计。

## 2.10 稳定性考察

犬血浆8、60、140 ng/mL 3个质量浓度样品经历

-20 °C冷冻21 d稳定性结果RE分别为9.6%、7.3%、5.8%;冻融稳定性RE分别为7.1%、-0.5%、1.4%;室温放置稳定性RE分别为12.1%、6.9%、8.1%。表明在各试验条件下,氢溴酸樟柳碱质量浓度无明显变化,稳定性良好。

本研究先进行的是犬药动学实验,发现提取回收率和稳定性均好,做大鼠组织分布时,未再进行回收率和稳定性的考察。

## 2.11 大鼠组织分布实验结果

单次iv氢溴酸樟柳碱注射液后,大鼠肾、胃峰质量浓度最高,分别为(1 967.6±569.4)、(2 316.9±952.6) ng/mL。其次为血浆、小肠、肺、肝、脾、卵巢、心、子宫、骨骼肌,而脂肪、睾丸和脑峰浓度最低,低于200 ng/mL。除胃在30 min达峰外,其余组织均在5 min达峰,之后快速下降。结果见表4。

## 2.12 Beagle犬药动学实验结果

采用DAS 3.0软件,绘制药-时曲线(图3),非房室模型统计矩法估算药动学参数(表5)。氢溴酸樟柳碱在犬体内表观分布容积大,说明分布较广泛,同时血浆清除率高,半衰期短,消除较快,在0.1、0.3、0.9 mg/kg剂量下,氢溴酸樟柳碱在犬体内的暴露量增加接近剂量增加比例(1:3:9),说明体内无蓄积。

## 3 讨论

氢溴酸樟柳碱作用广泛,安全性较好,在眼科、

表4 大鼠iv氢溴酸樟柳碱注射液后不同时间点组织和血浆药物浓度( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

Table 4 Tissue and plasma concentrations in rats at different time points after iv Anisodine Hydrobromide Injection ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

部位	氢溴酸樟柳碱/(ng·mL <sup>-1</sup> )				
	给药后5 min	给药后30 min	给药后60 min	给药后90 min	给药后180 min
肾	1 967.6±569.4	969.0±467.0	392.1±156.4	114.7±61.0	26.6±17.0
胃	1 529.6±256.8	2 316.9±952.6	1 269.1±369.0	771.8±534.5	101.1±63.3
小肠	958.0±119.5	478.7±174.2	225.1±112.0	126.3±38.9	40.4±12.9
肺	835.5±92.2	454.3±139.3	204.7±79.8	103.1±50.0	31.9±5.3
肝	784.7±106.3	399.8±115.1	191.7±51.3	97.4±37.7	32.1±20.4
脾	755.5±187.8	356.5±134.7	187.8±48.4	67.8±25.6	16.2±4.1
卵巢	625.9±169.7	358.6±119.6	233.6±90.1	71.2±20.3	19.0±4.1
心	484.2±96.9	238.4±67.1	95.6±32.4	33.4±14.9	/
子宫	465.6±131.0	383.9±213.3	197.4±145.0	60.8±12.3	/
骨骼肌	441.3±105.5	218.2±78.9	109.5±36.0	35.5±13.9	/
脂肪	184.5±93.4	95.2±83.3	61.6±33.7	19.2±7.2	/
睾丸	161.2±30.6	174.0±32.7	144.2±19.3	97.1±5.3	24.3±5.9
脑	122.6±28.9	137.0±42.5	93.3±14.6	47.1±13.4	/
血浆	1 060.9±119.5	464.2±235.6	192.0±112.0	72.3±38.9	/

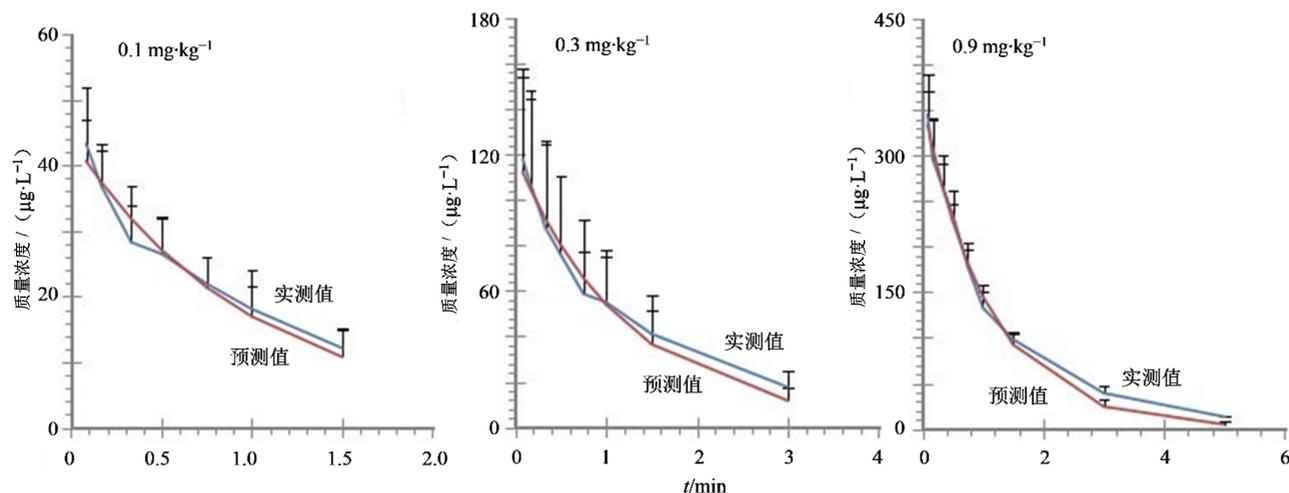


图3 Beagle犬iv不同剂量氢溴酸樟柳碱注射液后药-时曲线

Fig. 3 Plasma concentration - time curve of Beagle dogs after iv different doses of Anisidine Hydrobromide Injection

表5 Beagle犬iv不同剂量氢溴酸樟柳碱注射液后的主要药动学参数( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )Table 5 Main pharmacokinetic parameters of different doses of Anisidine Hydrobromide Injection after iv injection in Beagle dogs ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

参数	单位	0.1 mg·kg <sup>-1</sup>	0.3 mg·kg <sup>-1</sup>	0.9 mg·kg <sup>-1</sup>
$C_{max}$	ng·mL <sup>-1</sup>	43.3±8.6	117.9±40.2	348.6±40.0
$AUC_{0-t}$	ng·h·mL <sup>-1</sup>	35.9±6.6	159.6±56.6	443.3±50.3
$AUC_{0-\infty}$	ng·h·mL <sup>-1</sup>	50.6±12.7	189.8±65.3	468.8±45.5
$MRT_{0-\infty}$	h	1.2±0.4	2.0±1.1	1.5±0.2
$t_{1/2\alpha}$	h	0.9±0.3	1.5±0.9	1.1±0.2
$CL_z$	×10 <sup>5</sup> L·h <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup>	20.9±5.3	17.9±7.6	19.4±2.2
$V_z$	×10 <sup>5</sup> L·kg <sup>-1</sup>	24.6±7.0	37.0±18.5	31.3±4.3

心脑血管等疾病的防治方面展现了广阔的应用前景,逐渐受到医药界的重视,其药效学、药动学方面的研究取得了一定的进展<sup>[5]</sup>。由于给药剂量小,生物样品中氢溴酸樟柳碱浓度很低,仅HPLC难以满足测定要求,目前测定方法主要为LC-MS/MS、LC-MS<sup>[1,6-7]</sup>,具有专属性强、灵敏度高、分析速度快的特点。氢溴酸樟柳碱在(+)-HESI电离方式下,一级质谱以分子离子峰质荷比( $m/z$ )320的 $[M+H]^+$ 峰为基峰,没有聚合及其他加合现象。选择性对其 $[M+H]^+$ 峰进行产物离子全扫描分析,樟柳碱生成的主要碎片离子有 $m/z$  156、 $m/z$  138和 $m/z$  110。将以上主要碎片离子作为定量分析时监测的产物离子。与黄莹等<sup>[6]</sup>的方法不同的是,本试验创新性地采用甲醇处理样品的方法,不加酸碱处理,操作更加简单方便,减少了提取、吹干、复溶等过程中样品的损失,同时方法的精密性、准确度和回收率等都达到了生物样品分析的要求。

氢溴酸樟柳碱的化学结构与东莨菪碱相似,具有酯键、羟基,分子极性大,水溶性好。本研究发现大鼠单次iv后,氢溴酸樟柳碱在血流量丰富的组织、器官浓度较高,如肾、胃、小肠、肺、肝、脾等,而在脂肪中的浓度较低,这跟药物水溶性好、脂溶性差的性质相符。岳天立等<sup>[8]</sup>比较了东莨菪碱和樟柳碱的组织分布情况,发现大鼠iv后,樟柳碱以肾浓度最高,与本研究一致,而东莨菪碱则是以肺最高,肾次之。另外,本研究发现大鼠睾丸、脑中的浓度较低,提示由于生理屏障的存在,减少了药物向这些组织、器官的分布。但是氢溴酸樟柳碱分子结构中具有氧桥,其仍具有较强的中枢抗胆碱作用<sup>[9]</sup>,岳天立等<sup>[8]</sup>报道大鼠ig和iv后,都可以在脑组织中检测到氢溴酸樟柳碱,说明其可以透过血脑屏障。课题组前期进行的大鼠重复给药毒性试验中,也观察到动物给药后出现中枢抑制现象<sup>[10]</sup>。

在大鼠进行的东莨菪碱和樟柳碱的药动学比较研究中发现,樟柳碱的表观分布容积和清除率远高于东莨菪碱<sup>[1]</sup>。两者在代谢上的差异可能与两者分子结构不完全一致有关,樟柳碱在托品酸的 $\alpha$ 碳上比东莨菪碱多了一个羟基,导致其极性更大。此次在Beagle犬进行的药动学研究中,氢溴酸樟柳碱的表观分布容积大,提示其体内分布广泛,这跟大鼠组织分布实验结果具有一致性,但同时也提示其作用广泛,副作用可能较多。氢溴酸樟柳碱在犬体内清除率高,半衰期短,提示其体内作用时间较短。同时在0.1~0.9 mg/kg给药剂量内,动物体内无药物蓄积,说明其具有较好的安全性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Tian F, Li C, Wang X, et al. Comparative study on pharmacokinetics of a series of anticholinergics, atropine, anisodamine, anisodine, scopolamine and tiotropium in rats [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2015, 40(3): 245-253.
- [2] 国家食品药品监督管理总局. 药物非临床药代动力学研究技术指导原则 [EB/OL]. (2014-05-13)[2020-08-28]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=21e45c8c5bacf662>.  
CFDA. Technical guideline for non-clinical pharmacokinetic study of drugs. [EB/OL]. (2014-05-13)[2020-08-28]. <http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=21e45c8c5bacf662>.
- [3] Shah V P, Midha K K, Findlay J W, et al. Bioanalytical method validation-a revisit with a decade of progress [J]. *Pharm Res*, 2000, 17(12): 1551-1557.
- [4] Viswanathan C T, Bansal S, Booth B, et al. Quantitative bioanalytical methods validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays [J]. *Pharm Res*, 2007, 24(10): 1962-1973.
- [5] 郑立, 汤韵秋, 余凌媛, 等. 氢溴酸樟柳碱药效学和药动学研究进展 [J]. *辽宁中医杂志*, 2018, 45(11): 2448-2451.  
Zheng L, Tang Y Q, Yu L Y, et al. Research progress of pharmacodynamics and pharmacokinetics study on anisodine hydrobromide [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2018, 45(11): 2448-2451.
- [6] 黄莹, 只德广, 徐为人, 等. 樟柳碱在Beagle犬血清中的药动学研究 [J]. *中草药*, 2006, 37(8): 1214-1217.  
Huang Y, Zhi D G, Xu W R, et al. Pharmacokinetics of anisodine in Beagle dogs serum by LC-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2006, 37(8): 1214-1217.
- [7] Chen Y, Chen H X, Du P, et al. Analysis of anisodine and identification of twenty of its metabolites in rat urine by liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 2005, 62(11-12): 563-569.
- [8] 岳天立, 王桂芬, 宋振玉.  $^3H$ -东莨菪碱和 $^3H$ -樟柳碱代谢的比较 [J]. *药学报*, 1979, 14(4): 208-217.  
Yue T L, Wang G F, Song Z Y. The physiological dispositions of  $^3H$ -scopolamine and  $^3H$ -anisodine [J]. *Acta Pharm Sin*, 1979, 14(4): 208-217.
- [9] 陈保健. 樟柳碱的药理与临床应用 [J]. *江苏医药*, 1976(2): 50-51, 14.  
Chen B J. Pharmacology and clinical application of anisodine [J]. *Jiangsu Med J*, 1976(2): 50-51, 14.
- [10] 李勇, 曾菊芳, 陈祥燕, 等. 氢溴酸樟柳碱注射液大鼠单次和重复给药毒性试验研究 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(8): 1523-1530.  
Li Y, Zeng J F, Chen X Y, et al. Single dose and repeat doses toxicity studies of Anisodine Hydrobromide Injection in rats [J]. *Drug Eval Res*, 2019, 42(8): 1523-1530.

[责任编辑 兰新新]