

## 吸入和 ig 给药苯甲酸槟榔碱后槟榔碱及其代谢产物在大鼠体内的药动学研究

陈腾飞<sup>1</sup>, 贾玲<sup>1#</sup>, 宋玲<sup>1</sup>, 楚明<sup>2</sup>, 高云航<sup>1</sup>, 李晗<sup>1</sup>, 刘欣安<sup>3</sup>, 彭博<sup>1</sup>, 陈韡亚<sup>1</sup>, 侯红平<sup>1</sup>, 卢禁<sup>2\*</sup>, 张广平<sup>1\*</sup>

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700
2. 深圳市合元科技有限公司, 广东 深圳 518103
3. 中国科学院深圳先进技术研究院, 广东 深圳 518055

**摘要:** 目的 研究吸入和 ig 给药苯甲酸槟榔碱后槟榔碱及其代谢产物槟榔次碱和槟榔碱-N-氧化物在大鼠血浆和组织中的药动学特征及差异。方法 SD 大鼠分为吸入组和 ig 组, 药动学和组织分布研究的给药剂量分别为 4.06、16.24 mg·kg<sup>-1</sup>, 给药后于不同时间点采集生物样品; 采用超高效液相色谱串联三重四级杆质谱 (UPLC-MS/MS) 法测定槟榔碱、槟榔次碱和槟榔碱-N-氧化物的血药浓度, 绘制血药浓度-时间曲线, 计算主要药动学参数。结果 建立的 UPLC-MS/MS 方法符合生物样品测定的要求。与 ig 给药组相比, 吸入苯甲酸槟榔碱后槟榔碱和槟榔碱-N-氧化物的达峰时间 ( $t_{max}$ ) 和平均滞留时间 (MRT) 均显著延长 ( $P < 0.01$ ), 提示其吸收和消除速度更慢, 而槟榔次碱的  $t_{max}$  显著缩短 ( $P < 0.01$ ), 吸收速度较快, 但其半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 和 MRT 仍显著延长 ( $P < 0.01$ ), 表明消除速度较慢。组织分布方面, 2 种给药方式下 3 种成分在各组织中的暴露量存在差异: 与 ig 给药相比, 吸入苯甲酸槟榔碱后, 大鼠肝脏中槟榔次碱和槟榔碱-N-氧化物的血药浓度-时间曲线下面积 ( $AUC_{0-t}$ ) 和峰浓度 ( $C_{max}$ ) 均显著降低 ( $P < 0.01$ ); 肺组织中槟榔碱、槟榔次碱的  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$  显著增大 ( $P < 0.01$ ); 脑组织中槟榔次碱和槟榔碱-N-氧化物的  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$  显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 而槟榔碱的  $C_{max}$  显著降低 ( $P < 0.01$ ); 肾组织中槟榔碱和槟榔碱-N-氧化物的  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$  均显著升高 ( $P < 0.01$ ), 槟榔次碱  $AUC_{0-t}$  显著降低 ( $P < 0.01$ ); 睾丸组织中未检测到槟榔碱、槟榔次碱, 且槟榔碱-N-氧化物的  $C_{max}$  显著降低 ( $P < 0.01$ )。结论 苯甲酸槟榔碱经吸入给药后, 可增加槟榔碱及其代谢产物在大鼠肺组织中的分布, 同时降低肝和睾丸组织中的分布, 从而在一定程度上减轻大鼠肝脏负担, 为槟榔碱的后续深入研究及临床安全用药提供参考。

**关键词:** 苯甲酸槟榔碱; 槟榔碱; 槟榔次碱; 槟榔碱-N-氧化物; 吸入; 药动学; 组织分布

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)10-2890-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.016

## Pharmacokinetics of arecoline and its two active metabolites in rats after inhalation and intragastric administration of arecoline benzoate

CHEN Tengfei<sup>1</sup>, JIA Ling<sup>1</sup>, SONG Ling<sup>1</sup>, CHU Ming<sup>2</sup>, GAO Yunhang<sup>1</sup>, LI Han<sup>1</sup>, LIU Xinan<sup>3</sup>, PENG Bo<sup>1</sup>, CHEN Weiya<sup>1</sup>, HOU Hongping<sup>1</sup>, LU Jin<sup>2</sup>, ZHANG Guangping<sup>1</sup>

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China
2. Shenzhen First Union Technology Co., Ltd., Shenzhen 518103, China
3. Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China

**Abstract: Objective** To investigate the pharmacokinetic characteristics and differences of arecoline, arecoline-N-oxide and arecolidine in plasma and tissues of rats after inhalation and intragastric administration of arecoline benzoate. **Methods** SD rats were

收稿日期: 2025-06-03

基金项目: 中国中医科学院优秀青年科技人才培养专项 (ZZ13-YQ-058、ZZ17-YQ-020); 中国中医科学院科技创新工程重大攻关项目 (CI2021A04615); 广东省基础与应用基础研究基金资助项目 (2023A1515011743)

作者简介: 陈腾飞 (1986—), 男, 副研究员, 主要从事中药药动学研究。E-mail: tfchen@icmm.ac.cn

#共同第一作者: 贾玲 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理。E-mail: 18327133345@163.com

\*通信作者: 张广平 (1975—), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药药理研究。E-mail: gpzhangicmm@126.com

卢禁, 男, 博士, 主要从事药剂学研究。E-mail: 13842062044@163.com

divided into inhalation group and intragastric administration group. The doses for pharmacokinetic and tissue distribution studies were 4.06 and 16.24 mg·kg<sup>-1</sup>, respectively. Biological samples were collected at different time points after administration. The blood concentrations of arecoline, arecolidine and arecoline-*N*-oxide were determined by ultra-performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The blood concentration-time curves were plotted and the main pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** The established UPLC-MS/MS method met the requirements for the determination of biological samples. Compared with the intragastric administration group, the peak time ( $t_{\max}$ ) and mean residence time (MRT) of arecoline and arecoline-*N*-oxide after inhalation of arecoline benzoate were significantly prolonged ( $P < 0.01$ ), suggesting that their absorption and elimination rates were slower. However, the  $t_{\max}$  of arecolidine was significantly shortened ( $P < 0.01$ ), indicating a faster absorption rate. However, its half-life ( $t_{1/2}$ ) and MRT were still significantly prolonged ( $P < 0.01$ ), suggesting a slower elimination rate. In terms of tissue distribution, there were differences in the exposure of the three components in various tissues between the two administration methods. Compared with intragastric administration, after inhalation of arecoline benzoate, the area under the blood concentration-time curve ( $AUC_{0-t}$ ) and peak concentration ( $C_{\max}$ ) of arecolidine and arecoline-*N*-oxide in the liver of rats were significantly decreased ( $P < 0.01$ ); the  $C_{\max}$  and  $AUC_{0-t}$  of arecoline and arecolidine in the lung tissue were significantly increased ( $P < 0.01$ ); the  $C_{\max}$  and  $AUC_{0-t}$  of arecolidine and arecoline-*N*-oxide in the brain tissue were significantly increased ( $P < 0.05, 0.01$ ), while the  $C_{\max}$  of arecoline was significantly decreased ( $P < 0.01$ ); the  $C_{\max}$  and  $AUC_{0-t}$  of arecoline and arecoline-*N*-oxide in the kidney tissue were significantly increased ( $P < 0.01$ ), while the  $AUC_{0-t}$  of arecolidine was significantly decreased ( $P < 0.01$ ); arecoline and arecolidine were not detected in the testis tissue, and the  $C_{\max}$  of arecoline-*N*-oxide was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Inhalation administration of arecoline benzoate can increase the distribution of arecoline and its metabolites in the lung tissue of rats, while reducing their distribution in the liver and testis tissues, thereby reducing the burden on the liver to a certain extent, providing a reference for the subsequent in-depth research and clinical safe use of arecoline.

**Key words:** arecoline benzoate; arecoline; arecolidine; arecoline-*N*-oxide; inhalation; pharmacokinetics; tissue distribution

槟榔为棕榈科常绿乔木植物槟榔 *Areca catechu* L. 的成熟种子, 作为中国“四大南药”之首, 具有极高的药用价值。其化学成分丰富多样, 涵盖生物碱类、酚类、黄酮类、氨基酸、萜类、多糖等<sup>[1-2]</sup>, 其中以槟榔碱及其代谢产物为代表的生物碱类成分, 是槟榔发挥药理与毒理作用的主要活性物质<sup>[3-5]</sup>。槟榔碱具有神经保护、心血管保护、影响内分泌及消化系统、抗炎、抗氧化、驱虫等作用<sup>[6]</sup>。其中, 关于槟榔碱对神经系统的影响研究较为全面, 其主要通过刺激毒蕈碱受体 (M 受体), 发挥促进机体兴奋性、提高学习记忆能力等作用<sup>[7-8]</sup>。近年来, 槟榔碱的毒理作用也被越来越多的研究报道, 包括致癌性、生殖毒性、神经毒性、肝毒性及肾毒性等<sup>[6]</sup>, 而其主要不良反应为口腔黏膜下纤维化, 这主要是由于槟榔碱可刺激成纤维细胞增殖、抑制胶原纤维降解, 进而破坏口腔组织细胞外基质环境的稳态<sup>[9]</sup>。目前已有多篇文献报道了 ig 给予槟榔碱或槟榔碱氢溴酸盐后, 其在大鼠和比格犬体内的药动学研究<sup>[10-13]</sup>, 但关于吸入给药或经鼻给药后的药动学研究则相对较少<sup>[14]</sup>。肺部因具有毛细血管丰富、血流量大、吸收面积广的特点, 药物经吸入给药后可直接运送至肺部, 通过肺部毛细血管快速吸收入血, 能在极大程度上避免肝脏首关效应<sup>[15-16]</sup>, 同时还可减少或

减轻药物成分对口腔黏膜的刺激。

槟榔碱化学性质不稳定且易挥发, 在常用吸入溶剂丙二醇与甘油中难以保持稳定, 直接影响给药效率及剂量准确性; 另一方面, 作为碱性成分, 其直接吸入时对呼吸道具有极强刺激性。针对上述问题, 本课题组前期通过苯甲酸与槟榔碱的结构修饰制备了苯甲酰槟榔碱, 该化合物不仅显著提升了化学稳定性及在吸入溶剂中的溶解性能, 提高了雾化转移效率与一致性, 更有效降低了对呼吸道的刺激性, 且前期研究已评价了大鼠吸入苯甲酸槟榔碱气溶胶的安全性<sup>[17]</sup>。为给槟榔碱的药理、毒理学研究提供数据参考, 本研究旨在对比吸入与 ig 给药苯甲酸槟榔碱后, 槟榔碱及其 2 个代谢产物槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物在正常大鼠血浆及脑、肺、肝、肾、睾丸中的药动学特征与分布差异。

## 1 材料

### 1.1 仪器

601-2202-002 Rev04 动物口鼻暴露系统, 美国 DSI 公司; HYS001 气溶胶发生器, 深圳市合元科技有限公司; Promo 2000 散射光气溶胶光谱仪, 德国 Palas 公司; Qtrap 5500 超高灵敏度三重四极杆串联线性离子阱液质联用系统 (包括 ExionLC AC 液相色谱仪、Qtrap 5500 质谱仪、Analyst 1.7

工作软件), 美国 SCIEX 公司; MS105DU 十万分之一电子天平, 德国 Mettler-Toledo 公司; RVC 2-18 CDplus 真空浓缩仪, 德国 Christ 公司; Centrifuge 5254R 离心机, 德国 Eppendorf 公司; Vortex-genie2 G560E 漩涡仪, 美国 SCIENTIFIC INDUSTRIES 公司。

### 1.2 药物与试剂

氢溴酸槟榔碱(批号 111684-202003, 质量分数 99.80%), 中国食品药品检定研究院; 槟榔次碱(批号 107701, 质量分数 >98.00%), 上海安谱实验科技股份有限公司; 槟榔碱-*N*-氧化物为参考文献<sup>[10]</sup>所报道实验室自制, 经核磁、质谱和色谱等技术手段检测其质量分数为 95.00%; 尼古丁(批号 V-942900-NU1, 质量分数 >98.00%, 内标)购自美国 CFW Laboratories, Inc. 公司; ABA 雾化液(批号 HYA022, 质量分数 >98.00%)由深圳市合元科技有限公司提供; 色谱纯甲醇和乙腈购于德国 Merck 公司; 色谱纯甲酸购于美国 ROE SCIENTIFIC 公司; 娃哈哈饮用纯净水购于中国杭州娃哈哈集团有限公司。

### 1.3 动物

SPF 级 Sprague-Dawley 大鼠, 体质量 220~270 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(京)2021-0011。实验动物饲养于中国中医科学院中药研究所 SPF 级动物房, 大鼠饲养条件: 12 h 明暗交替、温度(23±1)℃、湿度(50±15)%, 自主饮水及进食。本实验经中国中医科学院中药研究所动物伦理委员会批准, 伦理编号 2023B147。

## 2 方法与结果

### 2.1 给药与血浆样品采集

**2.1.1 给药剂量** 参考前期实验结果<sup>[17]</sup>, 本实验吸入给药时间设定为 30 min, 各剂量组气溶胶质量浓度均为 5 mg·L<sup>-1</sup>。以丙二醇和丙三醇为溶剂(其中丙二醇比例分别为 56.25%、45.00%, 丙三醇比例均为 40%), 将苯甲酸槟榔碱分别配制成质量分数为 3.75%、15.00%的制剂。对应的低、高剂量(D)经计算分别为 4.06、16.24 mg·kg<sup>-1</sup>。

$$D = (C \times IF \times RMV \times t) / BW^{[18]}$$

$$RMV = 0.608 \times BW^{0.852}$$

C 为气溶胶质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>), IF 为苯甲酸槟榔碱的比例, RMV 为每分钟呼吸量(L·min<sup>-1</sup>), t 为吸入给药时间(min), BW 为大鼠体质量(kg, 以 0.25 kg 计)。

**2.1.2 药动学研究血浆样品采集** SD 大鼠随机分为

苯甲酸槟榔碱吸入给药组和 ig 给药组, 给药剂量均为 4.06 mg·kg<sup>-1</sup>, 每组 5 只, 单次给药。大鼠在实验前 24 h 进行颈静脉置管。各组分别在给药开始后 0.083、0.250、0.500、0.750、1.000、2.000、3.000、5.000、7.000、9.000、11.000、24.000 h, 通过静脉置管采集血液约 150 μL, 之后从静脉置管补充等体积的 0.9% 氯化钠溶液。血液样品置 1.5 mL 肝素抗凝 EP 管中, 4 ℃、10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 2 min, 上清血浆 50 μL 转移至新的 1.5 mL EP 管中, -80 ℃ 保存。

**2.1.3 组织分布研究生物样品采集** SD 大鼠随机分为 2 组, 包括苯甲酸槟榔碱吸入给药组和 ig 给药组, 给药剂量均为 16.24 mg·kg<sup>-1</sup>, 每组 30 只。各组于给药后 0.083、0.500、1.000、3.000、7.000、24.000 h, 分别麻醉 5 只, 迅速腹主动脉采血(肝素抗凝), 随后取大脑、肺、肝、肾、睾丸等组织器官。另设对照组(5 只), 于各组给药前麻醉, 并按上述方法采集血液和组织器官。

血液样品的处理和保存方法同“2.1.2”项。各组织器官依次用 0.9% 氯化钠溶液冲洗、滤纸吸干水分后称质量, 按 1:4 加入 0.9% 氯化钠溶液, 冰浴条件下匀浆, 匀浆液 -80 ℃ 保存。

### 2.2 样品处理

取样品 50 μL, 加 200 μL 甲醇或含内标沉淀剂(10 ng·mL<sup>-1</sup> 的尼古丁甲醇溶液), 涡旋 1 min, 超声 1 min, 10 ℃、12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 3 min, 取上清 200 μL, 46 ℃、1 700 r·min<sup>-1</sup> 减压浓缩至干燥, 加乙腈 100 μL 复溶, 涡旋 1 min, 超声 1 min, 10 ℃、12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 3 min, 取上清进样分析。

### 2.3 色谱条件

采用飞诺美 Kinetex C<sub>18</sub> 100 Å(100 mm×3 mm, 2.6 μm) 色谱柱; 流动相为 0.05% 甲酸水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱 0~1.5 min, 5% B; 1.5~2.0 min, 5%→98% B; 2.0~2.3 min, 98% B; 2.3~2.4 min, 98%→5% B; 2.4~4.0 min, 5% B; 柱温 40 ℃; 体积流量 0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 进样体积 5 μL; 自动进样器温度 6 ℃。

### 2.4 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI), 正离子模式下以多重反应监测(MRM)方式检测, 源参数包括: 喷雾电压 5 500 V; 气帘气(CUR) 35 psi(1 psi≈6.895 kPa); 碰撞气(CAD) 6 psi; 辅助气 1(GS1, N<sub>2</sub>) 45 psi, 辅助气 2(GS2, N<sub>2</sub>) 45 psi; 辅助气加热温度(TEM) 500 ℃。槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-*N*-

氧化物和内标尼古丁的定量分析离子对 ( $m/z$ ) 分别为 156.2→44.1、142.1→44.0、172.2→140.1 和 163.2→130.1, 碰撞能 (CE) 分别为 20.4、19.7、

26.4、27.2 eV, 去簇电压 (DP) 分别为 28.6、50.6、64.2、70.1 eV。各成分和内标的结构式和二级质谱图见图 1。

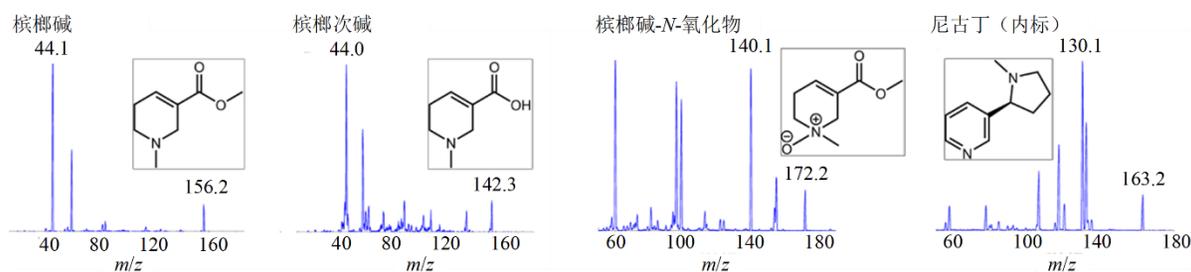


图 1 各成分、内标的结构式和二级质谱图

Fig. 1 Chemical structures and mass spectrum of analytes and internal standard

## 2.5 对照品和质控样品溶液的制备

精密称取氢溴酸槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物适量, 用甲醇配制成质量浓度为  $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的对照品储备液, 取各储备液适量, 用甲醇配制成 3 种化合物质量浓度均为  $10 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合对照品母液, 再用甲醇将其逐级稀释, 得到系列混合对照品工作溶液 (槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物质量浓度均依次为  $2000$ 、 $1500$ 、 $500$ 、 $200$ 、 $40$ 、 $20$ 、 $10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、高、中、低混合质控 (QC) 工作溶液 (质量浓度均依次为  $1500$ 、 $200$ 、 $20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 及混合定量下限 (LLOQ) 工作溶液 (质量浓度均为  $10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

取  $45 \text{ }\mu\text{L}$  大鼠空白血浆或脑匀浆, 分别加入  $5 \text{ }\mu\text{L}$  上述混合对照品工作溶液、QC 工作溶液和 LLOQ 工作溶液, 混匀后即得混合对照品溶液 (质量浓度依次为  $200$ 、 $150$ 、 $50$ 、 $20$ 、 $4$ 、 $2$ 、 $1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); 高、中、低混合 QC 样品溶液 (质量浓度依次为  $150$ 、 $20$ 、 $2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); 以及混合 LLOQ 样品溶液 (质量浓度均为  $1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

## 2.6 方法学验证

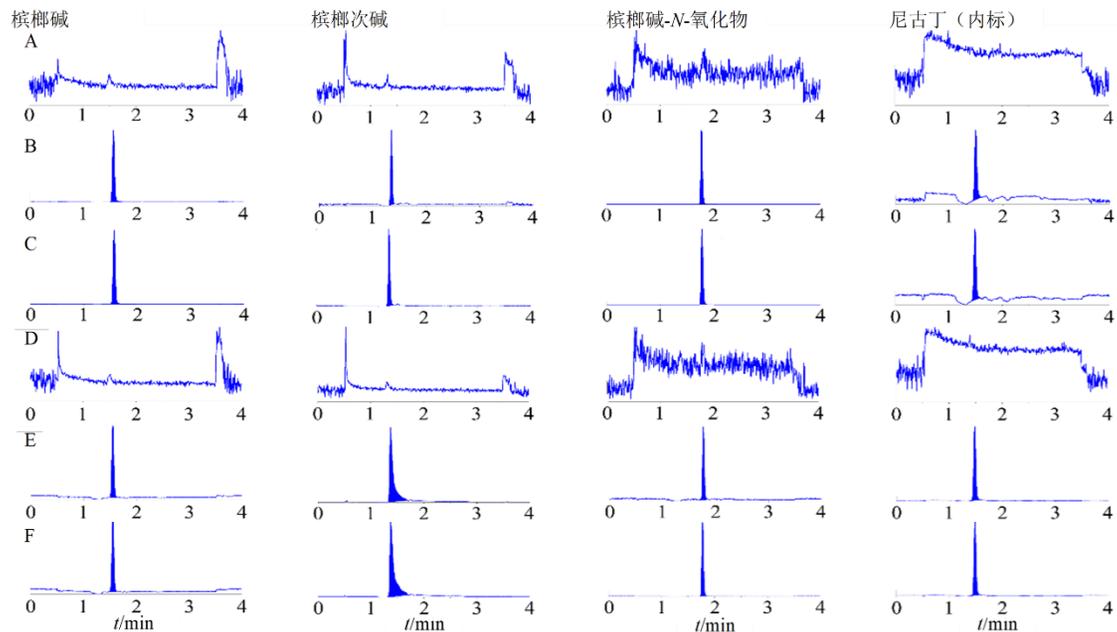
**2.6.1 专属性考察** 取 6 份不同大鼠的空白基质 (血浆或脑组织匀浆)、混合对照品 (质量浓度均为  $1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、给药后 1 h 的含药血浆、给药 1 h 的脑组织匀浆, 各样品按“2.2”项处理后进样分析, 结果见图 2。血浆和脑组织匀浆样品中槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物和内标尼古丁的保留时间分别为 1.56、1.35、1.78、1.49 min, 空白生物基质中的内源性物质对各成分和内标均无干扰, 表明该方法的专属性良好。

**2.6.2 线性关系考察** 取“2.5”项下混合对照品样

品溶液, 按“2.2”项处理后进样分析, 以各成分与内标的峰面积比值为纵坐标 ( $Y$ ), 各个成分质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 采用加权 ( $1/\chi^2$ ) 最小二乘法进行线性回归分析, 求得各个待测成分的标准曲线。LLOQ 的信噪比 ( $S/N$ ) 不小于 10, 并且空白样品中的干扰峰不大于 LLOQ 样品中各成分峰面积的 20%。血浆和脑组织匀浆等生物基质中 3 种成分的线性回归方程见表 1, 各分析物在血浆和脑匀浆中的线性范围均为  $1\sim 200 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , LLOQ 均为  $1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**2.6.3 精密度和准确度考察** 取“2.5”项下 LLOQ 样品和低、中、高质量浓度的混合 QC 样品 ( $n=5$ ), 按“2.2”项处理, 考察日内和日间 (3 批) 精密度和准确度, 以当日随行标曲计算实测质量浓度, 结果以相对标准偏差 (RSD) 表示精密度和相对误差 (RE) 表示准确度。LLOQ 样品的 RSD (%) 和 RE (%) 要求均在  $\pm 20\%$  以内, QC 样品要求均在  $\pm 15\%$  以内。结果表明, 血浆中 3 种成分的 LLOQ 和低、中、高质量浓度 QC 的批内 RSD 为  $1.70\%\sim 9.71\%$ , RE 为  $-8.26\%\sim 6.40\%$ ; 批间 RSD 为  $5.27\%\sim 8.04\%$ , RE 为  $-6.23\%\sim 1.86\%$ 。脑匀浆中 3 种成分 LLOQ 和低、中、高质量 QC 的批内 RSD 为  $1.78\%\sim 9.42\%$ , RE 为  $-7.65\%\sim 6.35\%$ ; 批间 RSD 为  $3.49\%\sim 7.61\%$ , RE 为  $-4.91\%\sim 5.16\%$ , 表明该检测方法准确度和精密密度良好, 符合生物样本定量分析要求。

**2.6.4 稀释可靠性考察** 取  $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物对照品储备液适量, 用甲醇配制成 3 个成分质量浓度均为  $15 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液, 用空白血浆或脑匀浆稀释成 3 个成分质量浓度均为  $1.5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的高质量浓度生物基质样品, 再用生物基质稀释成质量浓度均为



A-空白血浆样品; B-加入混合对照品溶液的血浆样品; C-吸入给药苯甲酸槟榔碱 (4.06 mg·kg<sup>-1</sup>) 1 h 后的血浆样品; D-空白脑匀浆样品; E-加入混合对照品溶液的脑匀浆样品; F-吸入给药苯甲酸槟榔碱 (16.24 mg·kg<sup>-1</sup>) 1 h 后脑匀浆样品。

A-blank plasma sample; B-plasma sample with mixed reference substance solution added; C-plasma sample 1 h after inhalation administration of arecoline benzoate (4.06 mg·kg<sup>-1</sup>); D-blank brain homogenate sample; E-brain homogenate sample with mixed reference substance solution added; F-Brain homogenate sample 1 h after inhalation administration of arecoline benzoate (16.24 mg·kg<sup>-1</sup>).

图 2 大鼠血浆和脑匀浆中 4 个成分及内标 MRM 色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of four components and internal standard in rat plasma and brain homogenate

表 1 大鼠血浆和脑匀浆中各成分的线性关系考察

Table 1 Investigation of linear relationship of of each component in rat plasma and brain homogenate

生物基质	成分	回归方程	r
血浆	槟榔碱	$Y=0.020\ 4\ X+0.026\ 5$	0.994\ 7
	槟榔次碱	$Y=0.009\ 5\ X-0.006\ 3$	0.999\ 0
	槟榔碱-N-氧化物	$Y=0.020\ 8\ X+0.063\ 3$	0.997\ 8
脑匀浆	槟榔碱	$Y=0.161\ X+0.05$	0.995\ 4
	槟榔次碱	$Y=0.032\ 6\ X+0.035\ 2$	0.999\ 5
	槟榔碱-N-氧化物	$Y=0.005\ 17\ X+0.018\ 9$	0.997\ 6

150 ng·mL<sup>-1</sup> 的稀释可靠性样品,以当日标准曲线计算实测质量浓度,各样品的 RSD 和 RE 要求均在 ±15% 以内。结果表明,空白血浆样品中 3 种成分的 RSD 为 2.66%~8.25%, RE 为 -8.57%~5.43%。脑匀浆样品中 3 种成分的 RSD 为 2.95%~8.60%, RE 为 -7.63%~-0.88%。

**2.6.5 基质效应和提取回收率考察** 取 50 μL 纯净水,按“2.2”项下方法浓缩干燥后加入 100 μL 对应质量浓度的低、高质量浓度 QC 溶液复溶,处理后取上清进样分析,测得各成分的峰面积为 A (n=6);取大鼠空白血浆或脑组织匀浆各 50 μL,同法浓缩干燥、复溶并进样分析,测得各成分的峰面积

为 B (n=6);取大鼠空白血浆或脑组织匀浆,按“2.5”项下方法制备低、高质量浓度的 QC 样品,按“2.2”项下方法进行处理并分析,测得各成分的峰面积为 C (n=6)。B 与 A 的比值为基质效应,C 与 B 的比值为提取回收率,RSD 要求在 ±15% 以内。结果表明,血浆中 3 种成分低、高质量浓度的提取回收率为 48.82%~62.34%,RSD 为 0.40%~12.97%;基质效应为 51.53%~77.37%,RSD 为 1.69%~10.66%。脑匀浆中 3 种成分低、高质量浓度的提取回收率为 42.60%~77.51%,RSD 为 2.77%~13.88%;基质效应为 47.86%~74.60%,RSD 为 0.42%~11.06%。

**2.6.6 稳定性考察** 按“2.5”项制备低、中、高质量浓度的 QC 样品 ( $n=5$ ), 分别考察已处理样品在自动进样器 (6 °C) 放置 24 h、室温 (25 °C) 放置 1 h、-80 °C 反复冻融 2 次以及 -80 °C 存放 90 d 的稳定性, 以当日标准曲线计算实测质量浓度, 各样品的 RSD 和 RE 要求均在  $\pm 15\%$  以内。结果表明, 血浆中各成分在上述 4 种条件下的 RSD 为 2.01%~12.22%, RE 为 -9.16%~2.30%; 脑匀浆中各考察条件下的 RSD 为 1.57%~10.13%, RE 为 -9.57%~7.61%。

## 2.7 气溶胶粒径测定

采用 Promo 2000 散射光气溶胶光谱仪测定苯甲酸槟榔碱气溶胶的粒径, 将雾化装置连接到光谱仪, 设置气流量为  $28.3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ , 采样时间 10 min, 以测定气溶胶颗粒的空气动力学中值直径 (MMAD) 和几何标准偏差 (GSD)。经 3 次平行测定, 低质量浓度苯甲酸槟榔碱吸入药液的 MMAD 为  $(0.727 \pm 0.006) \mu\text{m}$ , GSD 为  $1.537 \pm 0.031$ ; 高质量浓度苯甲酸槟榔碱吸入药液的 MMAD 为  $(0.700 \pm 0.010) \mu\text{m}$ , GSD 为  $1.447 \pm 0.038$ 。

## 2.8 数据处理

实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 MaS Studio 1.5.2.14

软件非房室模型计算  $t_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $\text{AUC}_{0\sim t}$  和 MRT 等药动学参数。两组的差异采用  $t$  检验进行分析,  $P < 0.05$  认为有显著性差异。

## 2.9 药动力学结果

吸入和 ig 给药苯甲酸槟榔碱后, 体内槟榔碱、槟榔次碱和槟榔碱-*N*-氧化物的血药浓度-时间曲线见图 3, 主要药动学参数见表 2。与 ig 给药相比, 3 种成分的药动力学特征存在显著差异, 具体表现为: 槟榔碱在吸入给药后达峰时间 ( $t_{\max}$ )、半衰期 ( $t_{1/2}$ )、平均滞留时间 (MRT) 显著延长 ( $P < 0.01$ ), 提示其吸收和消除速度更慢; 暴露量[峰浓度 ( $C_{\max}$ ) 和曲线下面积 ( $\text{AUC}_{0\sim t}$ )]方面, 吸入给药的  $C_{\max}$  和  $\text{AUC}_{0\sim t}$  均高于 ig 给药组, 其中  $\text{AUC}_{0\sim t}$  具有统计学显著性 ( $P < 0.05$ )。槟榔次碱在吸入给药后  $t_{\max}$  更短 ( $P < 0.01$ ), 提示吸收更快; 但  $t_{1/2}$  和 MRT 显著延长 ( $P < 0.01$ ), 表明消除更慢; 暴露量方面, 吸入给药的  $C_{\max}$  和  $\text{AUC}_{0\sim t}$  均显著高于 ig 给药 ( $P < 0.01$ )。槟榔碱-*N*-氧化物在吸入给药后  $t_{\max}$  和 MRT 显著延长 ( $P < 0.01$ ), 提示吸收和代谢过程更缓慢; 但暴露量显著降低, 吸入给药的  $C_{\max}$  和  $\text{AUC}_{0\sim t}$  均显著低于 ig 给药 ( $P < 0.01$ ),  $t_{1/2}$  则无统计学差异。

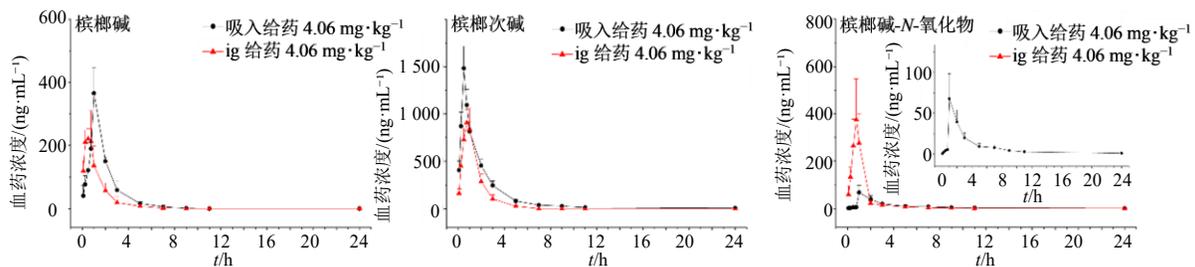


图 3 大鼠吸入和 ig 给药后各成分的血药浓度-时间曲线 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

Fig. 3 Blood concentration-time curves of each component after inhalation and ig administration in rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

表 2 大鼠吸入和 ig 给药后各成分的主要药动力学参数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

Table 2 Main pharmacokinetic parameters of each component after inhalation and ig administration in rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

参数	槟榔碱		槟榔次碱		槟榔碱- <i>N</i> -氧化物	
	吸入组	ig 组	吸入组	ig 组	吸入组	ig 组
$t_{1/2}/\text{h}$	$1.20 \pm 0.26^{**}$	$0.60 \pm 0.22$	$5.79 \pm 2.27^{**}$	$0.64 \pm 0.21$	$8.00 \pm 3.48$	$8.47 \pm 1.69$
$t_{\max}/\text{h}$	$1.00 \pm 0^{**}$	$0.50 \pm 0$	$0.50 \pm 0^{**}$	$0.85 \pm 0.22$	$1.00 \pm 0^{**}$	$0.70 \pm 0.11$
$C_{\max}/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	$365.87 \pm 79.93$	$233.95 \pm 110.35$	$1482.58 \pm 231.74^{**}$	$819.74 \pm 202.69$	$67.81 \pm 30.41^{**}$	$390.14 \pm 200.21$
$\text{AUC}_{0\sim t}/(\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	$610.31 \pm 146.15^*$	$322.19 \pm 150.94$	$2624.37 \pm 378.64^{**}$	$1556.21 \pm 253.18$	$187.12 \pm 45.34^{**}$	$560.22 \pm 220.15$
MRT/h	$1.80 \pm 0.14^{**}$	$1.08 \pm 0.15$	$2.54 \pm 0.14^{**}$	$1.43 \pm 0.10$	$4.90 \pm 0.41^{**}$	$2.27 \pm 0.61$

与 ig 给药组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs ig group.

## 2.10 组织分布结果

吸入和 ig 给药苯甲酸槟榔碱后,不同时间点各组大鼠血浆、脑、肺、肝、肾、睾丸中槟榔碱、槟榔次碱和槟榔碱-*N*-氧化物的质量浓度见图 4,各组织中 3 种成分的暴露量见表 3。苯甲酸槟榔碱吸入和 ig 给药 5 min 后即可在大鼠的血浆、脑、肺、肝和肾中检测到槟榔碱、槟榔次碱和槟榔碱-*N*-氧化物。吸入给药后槟榔碱在肺中暴露量最高;槟榔次碱在肾中暴露量最高;槟榔碱-*N*-氧化物在肺中的  $C_{\max}$  最高,在肾中的  $AUC_{0\sim t}$  最高,睾丸中最低(睾丸中检测到少量的槟榔碱-*N*-氧化物,槟榔碱和槟榔次碱在各取材时间点的质量浓度均低于定量下限,未能得到浓度-时间曲线),ig 给药后槟榔次碱在肝中的暴露量最高,槟榔碱-*N*-氧化物在肺中的暴露量最高,而槟榔碱在各组织中的暴露量均相对较低。

与 ig 给药相比,吸入给药后:①肺组织中槟榔碱和槟榔次碱的  $C_{\max}$  和  $AUC_{0\sim t}$  均显著升高 ( $P < 0.01$ ),槟榔碱-*N*-氧化物的  $C_{\max}$  升高,  $AUC_{0\sim t}$  降低,两者均无显著性差异;②脑组织中槟榔碱  $C_{\max}$  有显著降低 ( $P < 0.01$ ),槟榔次碱和槟榔碱-*N*-氧化物的暴露量显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ );③肝脏中槟榔次碱和槟榔碱-*N*-氧化物的暴露量显著降低 ( $P < 0.01$ );④肾中槟榔碱和槟榔碱-*N*-氧化物的暴露量均显著升高 ( $P < 0.01$ ),槟榔次碱的,  $AUC_{0\sim t}$  则显著降低 ( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

气溶胶的粒径大小是决定其在呼吸道内输送效率与沉积规律的关键因素。相较于大粒径颗粒,小粒径药物颗粒的细胞膜渗透性显著增强<sup>[19]</sup>。具体而言,粒径  $> 5 \mu\text{m}$  的颗粒易通过惯性撞击作用沉积于上呼吸道;粒径  $1\sim 5 \mu\text{m}$  的颗粒更倾向于通过惯性撞击与重力沉降机制到达肺深部区域;而粒径  $< 1 \mu\text{m}$  的颗粒则主要依赖布朗扩散作用沉积于肺泡<sup>[20-21]</sup>。已有研究证实,肺上皮细胞对粒径  $< 0.5 \mu\text{m}$  颗粒的内化效率分别是  $1 \mu\text{m}$  颗粒的 10 倍、 $2\sim 3 \mu\text{m}$  颗粒的 100 倍<sup>[22]</sup>,本研究中大鼠暴露于  $\text{MMAD} \leq 1 \mu\text{m}$  的亚微米气溶胶,该粒径特性可有效促进苯甲酸槟榔碱向肺泡等深部呼吸组织的靶向输送。

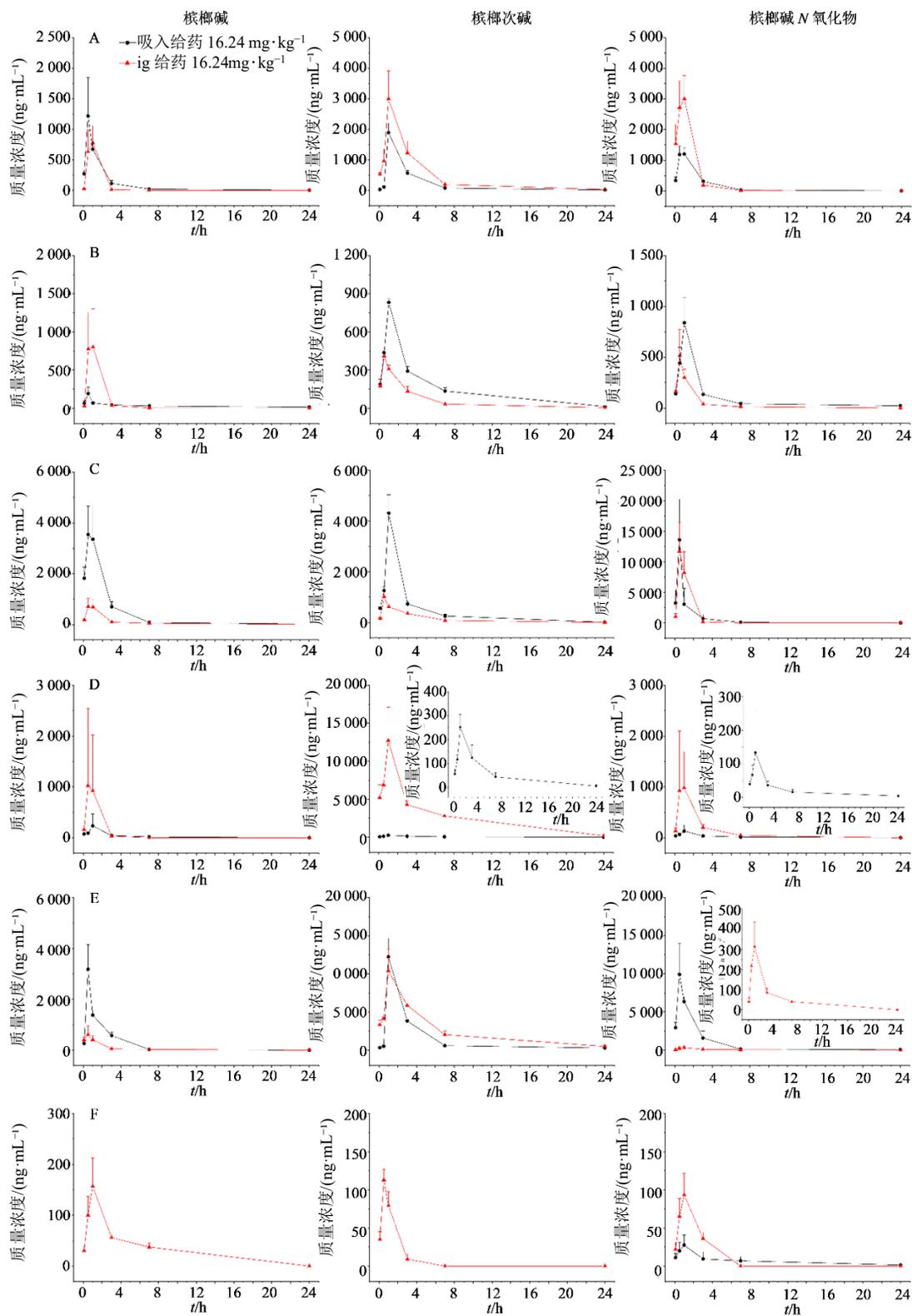
本研究中,槟榔碱与槟榔碱-*N*-氧化物的母离子/子离子对(图 2)与文献<sup>[11-12]</sup>报道存在差异,在本实验所用仪器及优化后的实验条件下,槟榔碱在子离子为  $m/z$  44.1 时表现出最高信号响应强度,且在高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)分析中

无基线干扰,故选择该子离子用于定量;槟榔碱-*N*-氧化物虽在子离子为  $m/z$  60.0 时信号响应最强,但存在明显基线干扰,而其子离子  $m/z$  140.1 的信号响应强度仅次于  $m/z$  60.0,且无基线干扰,因此最终选择  $m/z$  140.1 作为槟榔碱-*N*-氧化物的定量离子。在药动力学研究中,生物样品常用前处理方法包括液液萃取、蛋白质沉淀与固相萃取等<sup>[23-25]</sup>,本研究对比了甲醇、乙腈、丙酮、醋酸乙酯、二氯甲烷等常用蛋白沉淀剂的效果,结果显示以甲醇作为蛋白沉淀剂时,槟榔碱、槟榔次碱及槟榔碱-*N*-氧化物的提取效率最高,故确定其为最佳沉淀剂。部分化合物存在一定程度的基质效应,本研究在方法开发阶段针对性优化了样品处理方法。结果显示,各化合物基质效应(评价指标)及回收率的 RSD 均控制在 15% 以内,表明经校正曲线校正后,基质影响的个体间差异得到有效控制,进而在一定程度上降低了基质效应对生物样品定量结果准确性的干扰。

已有研究表明,大鼠与小鼠经 ig 给予槟榔碱后,体内可产生多种代谢产物,包括槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物、槟榔次碱-*N*-氧化物、*N*-甲基哌啶酸,以及一系列槟榔碱与槟榔次碱的甘氨酸轭合物<sup>[10,26]</sup>。本研究预试验结果显示,大鼠经吸入给药苯甲酸槟榔碱后,其血浆与组织中槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物的浓度可满足准确定量要求,而其他代谢产物因浓度过低难以准确定量,因此本研究重点考察了吸入与 ig 2 种给药方式下,大鼠血浆及不同组织中槟榔碱、槟榔次碱与槟榔碱-*N*-氧化物的药动学特征及差异。

从代谢途径来看,槟榔次碱由槟榔碱经酯水解反应生成,而槟榔碱-*N*-氧化物则是槟榔碱在黄素单加氧酶催化下发生氧化反应的产物<sup>[27-28]</sup>。本研究药动学实验结果显示,槟榔碱在体内的主要代谢产物为槟榔次碱,ig 给药后,槟榔次碱在体内会迅速进一步代谢为其他化合物,而吸入给药后,槟榔次碱的代谢速率显著减慢;两种给药方式下,槟榔碱-*N*-氧化物的进一步代谢速率无明显差异。上述结果与文献报道<sup>[11]</sup>存在一定差异,推测其原因可能为:本研究采用的苯甲酸槟榔碱是槟榔碱的苯甲酸盐,而文献中使用的是槟榔碱氢溴酸盐,槟榔碱的成盐形式不同,可能导致其在体内的吸收速率与代谢路径存在差异。

从给药途径的生理机制差异来看,吸入给药可将药物直接递送至肺泡,药物经肺部呼吸膜吸收后



A-血浆; B-脑; C-肺; D-肝脏; E-肾; F-睾丸。

A-plasma; B-brain; C-lung; D-liver; E-kidney; F-testis.

图 4 大鼠吸入和 ig 给药苯甲酸槟榔碱后不同时间点各组织中槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-N-氧化物的质量浓度-时间曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Fig. 4 Concentration-time curve of arecoline-N-oxides in rat tissues at different time points after inhalation and ig administration of arecoline benzoate ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

表 3 吸入和 ig 给药苯甲酸槟榔碱后各成分在大鼠血浆、脑、肺、肝、肾和睾丸中的暴露情况 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 3 Exposure of analytes in rat plasma, brain, lungs, liver, kidneys and testes after inhalation and ig administration of arecoline benzoate ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

成分	生物基质	参数	单位	吸入组	ig 组
槟榔碱	血浆	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	1 248.63 ± 591.59	932.38 ± 153.53
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	2 027.17 ± 604.62	1 325.14 ± 334.72
	脑	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	190.64 ± 82.43 <sup>***#</sup>	997.30 ± 305.56
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	715.54 ± 83.65 <sup>#</sup>	1 470.61 ± 754.89
	肺	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	4 010.95 ± 948.91 <sup>***#</sup>	839.56 ± 300.54
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	9 420.54 ± 1 886.58 <sup>***#</sup>	2 090.10 ± 428.61 <sup>#</sup>
	肝	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	255.96 ± 217.43 <sup>#</sup>	1 733.24 ± 1 431.25
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	698.12 ± 281.54 <sup>#</sup>	1 701.82 ± 1 273.89
	肾	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	3 172.76 ± 975.75 <sup>***#</sup>	620.19 ± 341.81
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	5 027.10 ± 675.98 <sup>***#</sup>	1 401.79 ± 211.22
	睾丸	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	—	161.62 ± 52.13 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	—	492.79 ± 74.83 <sup>#</sup>
槟榔次碱	血浆	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	1 893.52 ± 314.3 <sup>*</sup>	2 998.29 ± 914.63
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	5 101.92 ± 422.69 <sup>**</sup>	10 345.06 ± 2297.02
	脑	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	831.67 ± 26.4 <sup>**##</sup>	408.87 ± 36.66 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	3 682.73 ± 306.5 <sup>***#</sup>	1 387.30 ± 171.24 <sup>#</sup>
	肺	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	4 305.22 ± 725.23 <sup>***#</sup>	1 008.13 ± 194.3 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	11 149.83 ± 1 287.05 <sup>***#</sup>	3 259.44 ± 257.71 <sup>#</sup>
	肝	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	251.59 ± 53.75 <sup>**##</sup>	12 753.28 ± 4 364.91 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	1 187.29 ± 301.56 <sup>***#</sup>	64 234.94 ± 8 816.02 <sup>#</sup>
	肾	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	12 228.12 ± 2431.64 <sup>#</sup>	10 411.96 ± 2 773.19 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	35 771.33 ± 5076.32 <sup>***#</sup>	59 059.74 ± 9 594.14 <sup>#</sup>
	睾丸	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	—	112.92 ± 13.77 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	—	170.05 ± 20.8 <sup>#</sup>
槟榔碱-N-氧化物	血浆	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	1 351.47 ± 208.84 <sup>**</sup>	3 244.94 ± 540
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	3 403.80 ± 357.55 <sup>**</sup>	6 128.69 ± 1 028.71
	脑	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	894.11 ± 135.61 <sup>*##</sup>	533.38 ± 244.68 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	2 329.35 ± 337.09 <sup>***#</sup>	796.32 ± 149.82 <sup>#</sup>
	肺	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	13 605.95 ± 6 646.15 <sup>#</sup>	12 390.07 ± 4 088.91 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	13 607.53 ± 7 213.69 <sup>#</sup>	16 079.97 ± 5 220.81 <sup>#</sup>
	肝	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	140.71 ± 115.65 <sup>***#</sup>	1 567.52 ± 927.64 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	520.40 ± 145.83 <sup>***#</sup>	2 394.54 ± 946.07 <sup>#</sup>
	肾	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	10 100.27 ± 3 910.31 <sup>**##</sup>	313.40 ± 121.17 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	19 665.64 ± 3 314.68 <sup>***#</sup>	836.33 ± 182.16 <sup>#</sup>
	睾丸	$C_{max}$	$ng \cdot mL^{-1}$	32.38 ± 11.6 <sup>**##</sup>	96.46 ± 28.96 <sup>#</sup>
		$AUC_{0 \sim t}$	$h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	161.36 ± 74.2 <sup>#</sup>	189.00 ± 39.67 <sup>#</sup>

与 ig 给药组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与血浆比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs ig group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs plasma.

直接进入体循环,有效规避肝脏首关效应,此外,部分药物还可通过鼻腔等呼吸道黏膜吸收进入血液,再经循环系统分布至各脏器组织<sup>[29-30]</sup>;而 ig 给药后,药物需首先经胃肠道吸收进入门静脉,再经过肝脏首关效应代谢,剩余药物方可分布至其他脏

器组织。因此,吸入给药后槟榔碱在大鼠肺组织中的暴露量最高,且显著高于 ig 给药组;进一步分析代谢产物分布发现,吸入给药组大鼠肺组织、ig 给药组大鼠肝脏中,槟榔次碱的暴露量均较高,提示大鼠肝脏与肺组织中可能均存在可将槟榔碱代谢

为槟榔次碱的酶；而 2 种给药方式下，槟榔碱-*N*-氧化物均在肺组织中呈现高暴露量，提示大鼠体内催化槟榔碱生成槟榔碱-*N*-氧化物的酶可能主要分布于肺组织。

槟榔生物碱可在脑内与毒蕈碱型受体、 $\gamma$ -氨基丁酸（GABA）受体等结合<sup>[8,31]</sup>，进而产生欣快感、中枢神经系统兴奋、眩晕、流涎、震颤等副交感神经相关药理效应<sup>[32]</sup>。本研究组织分布结果显示，无论采用吸入还是 ig 给药，大鼠脑组织中均能检测到上述 3 种分析物（槟榔碱、槟榔次碱、槟榔碱-*N*-氧化物），其中，吸入给药后大鼠脑内槟榔碱的暴露量低于 ig 给药组，而槟榔次碱与槟榔碱-*N*-氧化物的暴露量则高于 ig 给药组。此外，血睾屏障可有效阻止有害物质干扰精子的生成与发育<sup>[33]</sup>，本研究结果也证实，2 种给药方式下，大鼠睾丸组织中均未检出或仅检出微量的槟榔碱及其代谢产物，与血睾屏障的生理功能相符。

综上，吸入与 ig 给药苯甲酸槟榔碱后，槟榔碱及其代谢产物在大鼠体内均呈现广泛分布特征；其中，吸入给药可显著增加上述 3 种化合物在大鼠肺组织中的分布，同时降低其在肝脏与睾丸中的分布，这一特性可在一定程度上减轻肝脏的代谢负担，为槟榔碱的后续深入研究及临床安全用药提供重要的参考依据与数据支持。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Peng W, Liu Y J, Wu N, et al. *Areca catechu* L. (Arecaceae): A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 164: 340-356.
- [2] 周明玺, 郭亦晨, 李珂, 等. 槟榔活性成分及药理毒理作用研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 878-883.  
Zhou M X, Guo Y C, Li K, et al. Research progress on active components and pharmacological and toxicological effects of *Areca catechu* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(3): 878-883.
- [3] 刘小靖, 王鹏龙, 项嘉伟, 等. 以中医药思维理解“食用槟榔”与“药用槟榔” [J]. 中草药, 2021, 52(1): 248-254.  
Liu X J, Wang P L, Xiang J W, et al. Dispute between “edible *Areca catechu*” and “medicinal *Areca catechu*” under thinking of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(1): 248-254.
- [4] Cao M R, Liu Y K, Yuan H W, et al. HPLC-based qualitative and quantitative analyses of alkaloids in chewable *Areca* products from different geographic regions [J]. J AOAC Int, 2020, 103(5): 1400-1405.
- [5] 梁焕宴, 冀沛然, 弓宝, 等. 槟榔的药用历史及其应用现状 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 678-687.  
Liang H Y, Ji P R, Gong B, et al. Medicinal history and current application status of *Arecae Semen* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(2): 678-687.
- [6] Liu Y J, Peng W, Hu M B, et al. The pharmacology, toxicology and potential applications of arecoline: A review [J]. Pharm Biol, 2016, 54(11): 2753-2760.
- [7] Maiese K, Holloway H H, Larson D M, et al. Effect of acute and chronic arecoline treatment on cerebral metabolism and blood flow in the conscious rat [J]. Brain Res, 1994, 641(1): 65-75.
- [8] Johnston G A R, KROGSGAARD-LARSEN P, Stephanson A. Betel nut constituents as inhibitors of  $\gamma$ -aminobutyric acid uptake [J]. Nature, 1975, 258(5536): 627-628.
- [9] Siriwardena B S, Jayawardena K D, Senarath N H, et al. An evaluation of clinical and histopathological aspects of patients with oral submucous fibrosis in the background of oral squamous cell carcinoma [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 4154165.
- [10] Giri S, Idle J R, Chen C, et al. A metabolomic approach to the metabolism of the *Areca* nut alkaloids arecoline and arecaidine in the mouse [J]. Chem Res Toxicol, 2006, 19(6): 818-827.
- [11] Pan H, Li Y, Huang L Y, et al. Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for simultaneous quantification of arecoline and its two active metabolites in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 154: 397-403.
- [12] Pan H, Huang L Y, Li Y, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for determination of unstable arecoline in rat plasma and its application [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1070: 112-116.
- [13] Soncrant T T, Holloway H W, Greig N H, et al. Regional brain metabolic responsivity to the muscarinic cholinergic agonist arecoline is similar in young and aged Fischer-344 rats [J]. Brain Res, 1989, 487(2): 255-266.
- [14] Hussain M A, Mollica J A. Intranasal absorption of physostigmine and arecoline [J]. J Pharm Sci, 1991, 80(8): 750-751.
- [15] Kunde S S, Ghosh R, Wairkar S. Emerging trends in pulmonary delivery of biopharmaceuticals [J]. Drug Discov Today, 2022, 27(5): 1474-1482.

- [16] Patton J S, Byron P R. Inhaling medicines: Delivering drugs to the body through the lungs [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(1): 67-74.
- [17] Chu M, Fu G F, Deng J J, et al. Evaluation of the inhalation toxicity of arecoline benzoate aerosol in rats [J]. *J Appl Toxicol*, 2022, 42(8): 1396-1410.
- [18] Forbes B, Asgharian B, Dailey L A, et al. Challenges in inhaled product development and opportunities for open innovation [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(1/2): 69-87.
- [19] Sécher T, Bodier-Montagutelli E, Guillon A, et al. Correlation and clinical relevance of animal models for inhaled pharmaceuticals and biopharmaceuticals [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 167: 148-169.
- [20] Mitchell J P, Carter I, Christopher J D, et al. Good practices for the laboratory performance testing of aqueous oral inhaled products (OIPs): An assessment from the international pharmaceutical aerosol consortium on regulation and science (IPAC-RS) [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2023, 24(3): 73.
- [21] Ibrahim M, Verma R, Garcia-Contreras L. Inhalation drug delivery devices: Technology update [J]. *Med Devices (Auckl)*, 2015, 8: 131-139.
- [22] Soni S, O'Dea K P, Abe E, et al. Microvesicle-mediated communication within the alveolar space: Mechanisms of uptake by epithelial cells and alveolar macrophages [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 853769.
- [23] 高小明, 杨瑞, 夏素霞, 等. 生脉注射液中人参皂苷 Rc 在心绞痛患者体内的 PK-PD 相关性 [J]. *药物评价研究*, 2018, 41(7): 1241-1245, 1259.
- Gao X M, Yang R, Xia S X, et al. PK-PD correlation of ginsenoside Rc from Shengmai Injection in patients with angina pectoris [J]. *Drug Eval Res*, 2018, 41(7): 1241-1245, 1259.
- [24] Mei Y D, Tong X Y, Hu Y M, et al. Comparative pharmacokinetics of six bioactive components of Shen-Wu-Yi-Shen tablets in normal and chronic renal failure rats based on UPLC-TSQ-MS/MS [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116818.
- [25] Sun J Y, Dai J N, Wang X Q, et al. Chiral LC-MS/MS method development for the enhanced separation and determination of pranoprofen enantiomers and its application to a stereoselective pharmacokinetic study [J]. *Microchem J*, 2024, 196: 109523.
- [26] Zhu M M, Chen H X, Han F M, et al. Analysis of arecoline in rat urine, and identification of its metabolites, by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 2006, 64(11): 705-708.
- [27] Giri S, Krausz K W, Idle J R, et al. The metabolomics of (+/-)-arecoline 1-oxide in the mouse and its formation by human flavin-containing monooxygenases [J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(4): 561-573.
- [28] Nery R. The metabolic interconversion of arecoline and arecoline 1-oxide in the rat [J]. *Biochem J*, 1971, 122(4): 503-508.
- [29] Clementino A R, Pellegrini G, Banella S, et al. Structure and fate of nanoparticles designed for the nasal delivery of poorly soluble drugs [J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(8): 3132-3146.
- [30] Costantino H R, Illum L, Brandt G, et al. Intranasal delivery: Physicochemical and therapeutic aspects [J]. *Int J Pharm*, 2007, 337(1/2): 1-24.
- [31] Gilani A H, Nabeel Ghayur M, Saify Z S, et al. Presence of cholinomimetic and acetylcholinesterase inhibitory constituents in betel nut [J]. *Life Sci*, 2004, 75(20): 2377-2389.
- [32] Chu N S. Effects of Betel chewing on the central and autonomic nervous systems [J]. *J Biomed Sci*, 2001, 8(3): 229-236.
- [33] Mruk D D, Yan Cheng C. The mammalian blood-testis barrier: Its biology and regulation [J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(5): 564-591.

[责任编辑 孙英杰]