

UFLC-MS/MS 法同时测定宁泌泰胶囊中没食子酸、连翘苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和槲皮素在大鼠血浆中的含量

陈银梅, 朱启洪, 宿贵鹏

六盘水市妇幼保健院, 贵州 六盘水 553000

摘要: **目的** 建立同时测定大鼠 ig 宁泌泰胶囊后血浆中没食子酸、连翘苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和槲皮素 5 种成分的超快速液相色谱串联质谱 (UFLC-MS/MS) 方法。**方法** 大鼠 ig 宁泌泰胶囊 (1.5、4.0 g/kg) 或 iv 没食子酸、连翘苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和槲皮素 5 种成分的混合溶液, 采集不同时间点的血样。采用甲醇沉淀血浆蛋白, 以乙酰对氨基酚为内标, 进行 UFLC-MS/MS 分析。**结果** 没食子酸、连翘苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和槲皮素 5 种成分在大鼠血浆中呈良好的线性关系。方法学考察均符合要求, 日内、日间精密度 RSD \leq 15%, 稳定性良好, 准确度为 90.60%~113.50%, 提取回收率为 73.77%~94.86%, 基质效应为 83.80%~106.17%。**结论** 建立的 UFLC-MS/MS 方法可以快速、灵敏地检测生物样品中没食子酸、连翘苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和槲皮素的血药浓度, 可以用于宁泌泰胶囊中 5 种成分的药动学研究。

关键词: 宁泌泰胶囊; 没食子酸; 连翘苷; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马汀; 槲皮素; UFLC-MS/MS

中图分类号: R285.61 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)20-6274-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.20.018

Simultaneous determination contents of gallic acid, forsythin, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and quercetin of Ningmitai Capsules in plasma of rats by UFLC-MS/MS method

CHEN Yin-mei, ZHU Qi-hong, SU Gui-peng

Liupanshui Municipal Maternity and Infant hospital, Liupanshui 553000, China

Abstract: Objective To establish an ultra-fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (UFLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of five components of gallic acid, forsythin, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and quercetin in the plasma of rat after ig Ningmitai Capsules (宁泌泰胶囊). **Methods** Rats were ig Ningmitai Capsules (1.5, 4.0 g/kg) or iv gallic acid, forsythin, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and quercetin mixed solution, blood sample were collected at different time points. The plasma protein was precipitated with methanol, and acetaminophen was used as internal standard for UFLC-MS/MS analysis. **Results** Gallic acid, forsythin, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and quercetin showed a good linear relationship in plasma of rats. The methodological investigations met the requirements. RSD of intra- and inter-day precision were less than 15%, the stability was good, the accuracy was 90.60%—113.50%, the absolute recovery was 73.77%—94.86%, and the matrix effect was 83.80%—106.17%. **Conclusion** The established UFLC-MS/MS method can quickly and sensitively detect the plasma concentrations of gallic acid, forsythin, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and quercetin in biological samples, and can be used for the pharmacokinetic study of five components in Ningmitai Capsules.

Key words: Ningmitai Capsules; gallic acid; forsythin; berberine hydrochloride; palmatine hydrochloride; quercetin; UFLC-MS/MS

宁泌泰胶囊系苗药, 收载于国家食品药品监督管理局国家药品标准 (试行) WS-10348-(ZD-0348)-2002, 由四季红、白茅根、大风藤、三棵针、仙鹤草、芙蓉叶、连翘 7 味中药组成, 具有清热解毒、

利湿通淋的功效, 用于治疗湿热蕴结所致淋证如小便不利、淋漓涩痛、尿血以及下尿路感染、慢性前列腺炎^[1]。目前的报道主要集中于宁泌泰胶囊中活性成分的含量测定^[2-5]。本研究建立了快速、灵敏

收稿日期: 2021-05-20

作者简介: 陈银梅 (1977—), 女, 副主任药师, 主要从事医院药学的研究。E-mail: cymabcd@126.com

的超快速液相色谱串联质谱(UFLC-MS/MS)方法,对宁泌泰胶囊中没食子酸、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、连翘苷、槲皮素同步进行定量测定,并对以上5种成分在大鼠血浆中的药动学进行研究,为明确宁泌泰胶囊药效物质基础提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠24只,体质量(220±20)g,6周龄,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物合格证号SCXK(沪)2014-0009-0016。动物于温度(20~25)℃、湿度40%~70%的环境中适应性饲养1周,实验前大鼠禁食12h,自由饮水。所有动物实验遵循国家有关实验动物管理和使用的规定,均符合3R原则。

1.2 药品与试剂

宁泌泰胶囊(0.38g/粒,批号2019R000356)购自贵阳新天药业股份有限公司,经UFLC-MS/MS测定含没食子酸1620.3μg/g、连翘苷790.1μg/g、盐酸小檗碱312.4μg/g、盐酸巴马汀135.2μg/g、槲皮素234.6μg/g;盐酸巴马汀对照品(批号Z16J10X79792,质量分数>98%)购自上海源叶生物科技有限公司;对照品盐酸小檗碱(批号110713-200609)、没食子酸(批号110831-201906)、槲皮素(批号100081-200907)、对乙酰氨基酚(批号100018-201409)购自中国食品药品检定研究院,质量分数均>98%;连翘苷(批号487-41-2,质量分数>98%)购自上海同田生物技术有限公司;色谱级甲醇和乙腈购自美国Thermo Fisher Scientific公司;色谱级甲酸购自美国Sigma公司;超纯水由Millipore纯水仪制备。

1.3 仪器

LCMS-8050型UFLC-MS/MS仪(日本岛津公司);5414R型离心机(德国Eppendorf公司);BP211D型精密电子天平(德国Sartorius公司);VX200型多功能涡旋振荡器(美国Labonco公司);KQ-250DB型高频恒温超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的配制 分别精密称取盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、没食子酸、槲皮素对照品各10mg于10mL量瓶中,加甲醇定容,配制质量浓度为1mg/mL的储备液。分别取10μL 5个

化合物的储备液,加入950μL甲醇,配制成质量浓度为10μg/mL的混合对照品储备液。用甲醇将混合对照品储备液稀释成质量浓度为1μg/mL的混合对照品溶液。取1μg/mL混合对照品溶液,分别吸取适量,用甲醇配制成质量浓度为0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、100.0、500.0ng/mL的混合对照品系列溶液,于-20℃保存备用。另吸取储备液适量用甲醇稀释成质量浓度为2、50、400ng/mL的质控样品。

2.1.2 内标溶液的配制 精密称定对乙酰氨基酚对照品5.00mg,置于10mL量瓶中,用甲醇定容,配制成质量浓度为0.5mg/mL的溶液。取该溶液适量,以甲醇稀释为质量浓度为0.05μg/mL的内标溶液,于-20℃保存备用。

2.1.3 给药溶液的配制 取宁泌泰胶囊内容物,称定质量,加入一定量的超纯水,分别配制成质量浓度为0.05、0.20g/mL的混悬溶液,用于ig给药。分别称取盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、没食子酸和槲皮素对照品各2mg,用含5%二甲基亚砜(DMSO)的0.9%氯化钠溶液溶解,配制成含各化合物0.5mg/mL的溶液用于iv给药。

2.2 色谱和质谱条件

2.2.1 色谱条件 Waters HSS T3色谱柱(100mm×2.1mm,1.8μm),流动相为0.1%甲酸溶液(A)-含0.1%甲酸的乙腈溶液(B),梯度洗脱:0~1min,2%B;1~2min,2%~45%B;2~4min,45%~98%B;4~5min,98%B;体积流量为0.4mL/min;进样量为5μL;柱温为40℃。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源;正、负离子模式;锥孔电压正离子为3kV,负离子为2.5kV;离子源温度为400℃;接口温度为300℃;离子化气体流量体积为3L/min;干燥气流量体积为10L/min;加热气体流量为10L/min;采用多反应监测(multiple reaction monitoring,MRM)对盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、没食子酸、槲皮素5种成分及内标进行定量分析,质谱参数见表1。

2.3 血样的采集

取16只SD大鼠分别ig宁泌泰胶囊(0.5、4.0g/kg),连续7d,分别于第1、7天给药前及给药后0.083、0.250、0.500、1.000、2.000、4.000、6.000、8.000h取血0.3mL,4000×g离心10min,分离血浆。取8只SD大鼠iv药物(1mg/kg),于第1天给药前和给药后0.033、0.083、0.250、0.500、1.000、2.000、4.000、6.000、8.000h取血0.3mL,4000×g

表1 5种化合物与内标的质谱参数

Table 1 Mass spectrometry parameters of five compounds and internal standard

化合物	相对分子质量	离子模式	离子对 (m/z)	Q1/V	Q3/V	CE/eV
盐酸巴马汀	387.5	正离子	352.1→336.1	11	16	34
盐酸小檗碱	371.5	正离子	336.0→278.0	18	23	44
连翘苷	534.5	负离子	579.1→371.1	15	27	20
没食子酸	170.0	负离子	169.0→125.0	14	19	16
槲皮素	302.0	负离子	301.1→125.1	14	17	25
对乙酰氨基酚(内标)	151.1	正离子	152.0→110.0	13	19	20

离心 10 min, 分离血浆。

2.4 血浆样品的处理方法

前期对样品的处理方法进行了考察, 发现血浆样品用甲醇沉淀对盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、槲皮素和内标的沉淀效果好, 且无内源性物质干扰, 最终确定方法 1 作为盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、槲皮素的样品处理方法。由于方法 1 中没食子酸的回收率较低, 因此没食子酸的分析按方法 2 的样品处理方法进行处理。

方法 1: 吸取大鼠血浆样品 100 μL , 加入 800 μL 甲醇(含内标 100 ng/mL) 沉淀蛋白, 13 000 \times g 离心 5 min, 吸取上清液 800 μL , 氮气吹干, 加入 100 μL 甲醇-水(1:1) 复溶, 涡旋混合 1 min, 13 000 \times g 离心 5 min, 取上清液 5 μL 进样。

方法 2: 吸取大鼠血浆样品 100 μL , 加入 100 μL 2% 甲酸水溶液, 再加入 800 μL 甲醇(含内标 100 ng/mL) 沉淀蛋白, 13 000 \times g 离心 5 min, 吸取上清液 800 μL , 氮气吹干, 加入 100 μL 甲醇-水(1:1) 复溶, 涡旋混合 1 min, 13 000 \times g 离心 5 min, 取上清液 5 μL 进样。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验 取大鼠空白血浆, 除不加内标溶液并补加相应体积的甲醇外, 其余按“2.4”项下方法处理, 获得空白血浆样品色谱图。取 100 μL 混合对照品溶液(0.5 ng/mL), 37 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后, 加入 100 μL 空白血浆涡旋混匀, 其余按“2.4”项下方法处理, 获得定量限生物样品色谱图。取给药后 30 min 血浆样品, 按“2.4”项下方法处理, 获得给药血浆样品色谱图。

2.5.2 线性范围和定量限 精密移取各质量浓度混合对照品溶液 100 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后, 加入 100 μL 空白血浆涡旋混匀, 配制成含有各对照品质量浓度为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、100.0、500.0 ng/mL 的含药血浆, 按“2.4”项下方法处理。以各化合物质量浓度为横坐标(X), 化合物与内标峰面

积比值为纵坐标(Y), 以加权最小二乘法进行线性回归, 得回归方程即为标准曲线。方法灵敏度以定量限表示, 以 $S/N \geq 10$ 时的质量浓度作为方法的定量限, $S/N \geq 3$ 时的质量浓度作为方法的检测限。

2.5.3 准确度和精密度 取空白血浆 100 μL , 按标准曲线配制方法制备含各对照品质量浓度分别为 2、50、400 ng/mL 的质控样品, 每个浓度平行配制 5 份。按“2.4”项下方法处理, 1 d 内测定 3 次, 并连续测定 3 d, 记录色谱图, 计算各化合物峰面积和内标峰面积的比值, 根据当天的标准曲线得出实测质量浓度及实测质量浓度准确度, 计算日内、日间精密度, 计算实测质量浓度与配制质量浓度的比值, 得出方法的准确度。

2.5.4 提取回收率 精密移取各对照品的质控样品 100 μL 置 1.5 mL 离心管中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后, 加入空白血浆 100 μL , 涡旋混匀, 按“2.4”项下方法处理, 取上清液 5 μL 进样分析, 记录色谱图, 计算各质量浓度样品与内标的峰面积比值, 每个质量浓度平行制备 5 份。

另取空白血浆 100 μL , 按“2.4”项下方法处理, 取上清液得空白血浆上清液。取混合对照品溶液 100 μL , 置 1.5 mL 离心管中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后, 加入空白血浆上层清液 100 μL , 涡旋混匀后, 吸取 5 μL 进样分析, 记录色谱图, 计算各化合物与内标峰面积比值的平均值, 每个质量浓度平行配制 2 份, 计算提取回收率。

2.5.5 稳定性

(1) 短期稳定性: 精密移取各混合对照品溶液 100 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后, 加入空白血浆 100 μL , 配制成含各对照品质量浓度为 2、50、400 ng/mL 的质控样品, 于室温下放置 24 h 后按“2.4”项下方法处理, 每个浓度平行制备 5 份, 记录色谱图, 计算各化合物与内标峰面积的比值, 根据标准曲线计算化合物的实测质量浓度, 计算实测质量浓度与配制质量浓度的比值, 求得样品短期稳定性。

(2) 长期稳定性: 精密移取各混合对照品溶液 100 μL, 37 °C 氮气吹干后, 加入空白血浆 100 μL, 配制成含各化合物质量浓度为 2、50、400 ng/mL 的质控样品, 于 -20 °C 放置 14 d 后按“2.4”项下方法处理, 每个浓度平行制备 5 份, 记录色谱图。计算各化合物与内标峰面积的比值, 根据标准曲线计算化合物的实测质量浓度, 计算实测质量浓度与配制质量浓度的比值, 求得样品长期稳定性。

(3) 冻融稳定性: 精密移取各对照品溶液 100 μL, 37 °C 氮气吹干后, 加入空白血浆 100 μL, 配制成含各化合物质量浓度为 2、50、400 ng/mL 的质控样品, 于 -20 °C 储存 24 h, 取出解冻, 反复冻融 3 次后进样分析, 记录色谱图。计算各化合物与内标峰面积的比值, 根据标准曲线计算化合物的实测质量浓度, 计算实测质量浓度与配制质量浓度的比值, 求得样品冻融稳定性。

(4) 样品在进样器中的稳定性: 精密移取各对照品溶液 100 μL, 37 °C 氮气吹干后, 加入空白血浆 100 μL, 配制成含各化合物质量浓度为 2、50、400 ng/mL 的质控样品, 按“2.4”项下方法处理, 在自动进样器中放置 8 h 后进样分析, 每个质量浓度平行制备 5 份, 记录色谱图。计算各化合物与内

标峰面积的比值, 根据标准曲线计算化合物的实测质量浓度, 计算实测质量浓度与配制质量浓度的比值, 求得样品在进样器中的稳定性。

2.5.6 基质效应 取 100 μL 空白血浆, 按“2.4”项下方法处理, 制备空白血浆上清液适量, 备用。精密移取 100 μL 质量浓度为 2、50、400 ng/mL 的对照品溶液于 1.5 mL 离心管中, 氮气吹干, 残渣以 100 μL 空白血浆上清液复溶, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上层清液, 进行 UFLC-MS/MS 分析, 记录各化合物峰面积 (A)。

精密移取 100 μL 质量浓度为 2、50、400 ng/mL 的混合对照品溶液于 1.5 mL 离心管中, 氮气吹干。残渣以 100 μL 蒸馏水复溶, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上层清液, 进行 UFLC-MS/MS 分析, 记录各化合物峰面积 (B), 计算基质效应。

$$\text{基质效应} = A/B$$

2.6 数据分析

采用 DAS 2.0 软件计算药动力学参数。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验 如图 1 所示, 在该色谱条件下, 盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、对乙酰氨基酚、连翘苷、

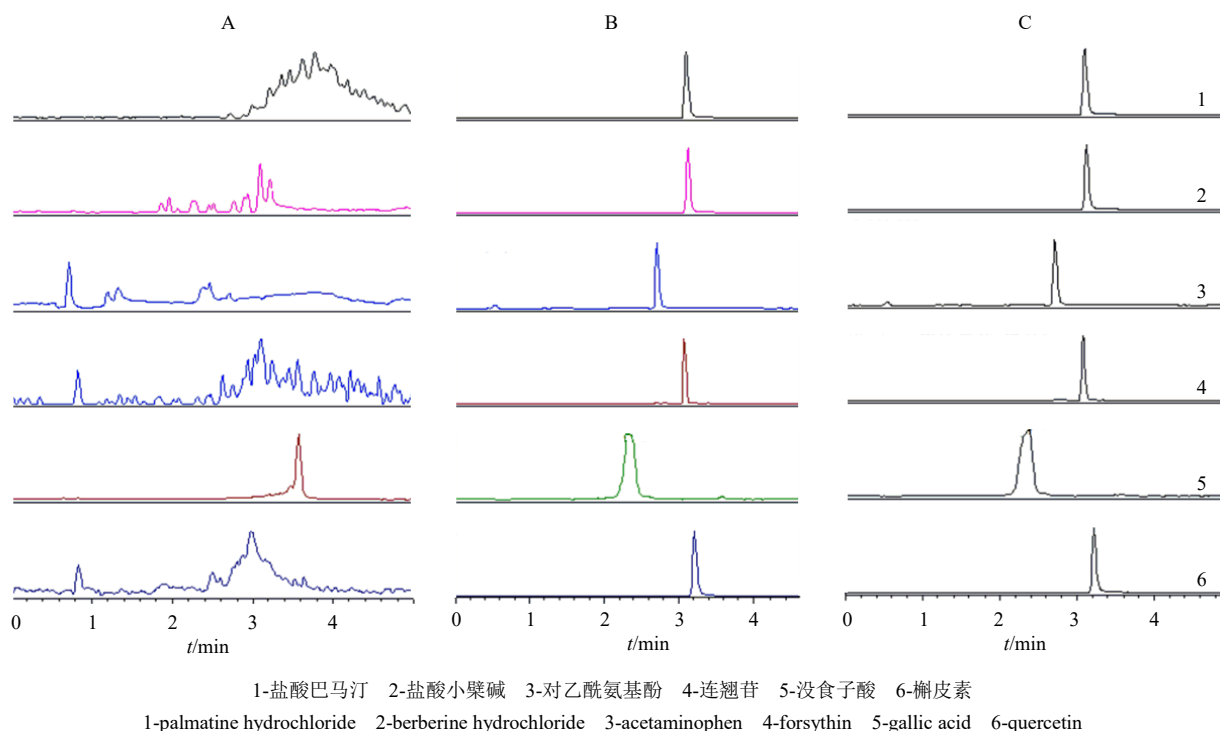


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加对照品 (B) 以及给药后血浆样本 (C) 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of blank plasma (A), blank plasma plus reference substance (B) and plasma sample after administration (C)

没食子酸、槲皮素的保留时间 (t_R) 分别为 3.20、3.21、2.65、3.05、2.17、3.13 min, 血浆中内源性杂质不干扰各化合物和内标的测定。

3.1.2 线性范围和定量限 如表 2 所示, 盐酸巴马汀、盐酸小檗碱在 1~500 ng/mL 呈良好的线性关系, 连翘苷、槲皮素在 2~500 ng/mL 呈良好的线性关系, 没食子酸在 5~500 ng/mL 呈良好的线性关

系, 表明该方法灵敏度较高, 可用于血浆样品中待测化合物的分析。

3.1.3 准确度和精密度 如表 3 所示, 高、中、低 3 个质量浓度的待测化合物日内精密度与日间精密度 RSD 均小于 15%, 准确度为 90.60%~113.50%。

3.1.4 稳定性 如表 4 所示, 各待测化合物在血浆

表 2 血浆样品中各化合物的标准曲线、线性范围、定量限及检测限

Table 2 Standard curve, linear range, quantification limit and detection limit of compounds in plasma samples

化合物	标准曲线	R^2	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)	检测限/(ng·mL ⁻¹)
盐酸巴马汀	$Y=0.0541X+0.2596$	0.9833	1~500	1	0.5
盐酸小檗碱	$Y=0.0371X+0.1684$	0.9896	1~500	1	0.5
连翘苷	$Y=0.0026X+0.0017$	0.9999	2~500	2	1.0
没食子酸	$Y=0.0015X+0.0057$	0.9962	5~500	5	2.0
槲皮素	$Y=0.0018X+0.0010$	0.9660	2~500	2	1.0

表 3 血浆样品中各化合物的准确度、日内精密度和日间精密度

Table 3 Accuracy, intra-day precision and inter-day precision of compounds in plasma samples

化合物	理论质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%	日内精密度/%	日间精密度/%
盐酸巴马汀	2	1.85±0.01	92.50±6.41	9.84	10.51
	50	56.10±3.57	112.20±7.11	3.00	13.49
	400	453.57±43.38	90.60±3.19	1.65	2.46
盐酸小檗碱	2	1.92±0.02	96.00±4.41	2.89	7.53
	50	56.74±2.13	113.48±4.37	3.34	11.42
	400	450.82±33.85	90.16±8.79	4.05	7.12
连翘苷	2	2.02±0.06	100.10±5.43	1.41	3.85
	50	49.81±0.45	99.62±4.27	3.15	5.15
	400	501.64±10.84	100.32±7.16	4.51	6.51
没食子酸	2	1.97±0.43	98.50±4.29	2.42	4.82
	50	53.04±4.70	106.08±7.15	2.97	7.22
	400	472.68±11.14	94.53±8.12	9.45	3.65
槲皮素	2	2.27±0.42	113.50±2.89	3.33	12.00
	50	55.33±1.97	110.66±4.16	3.27	6.12
	400	478.74±9.45	95.74±5.05	5.43	7.36

表 4 血浆样品中各化合物在不同条件下的稳定性

Table 4 Stability of compounds in plasma samples under different conditions

化合物	理论质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	短期稳定性		长期稳定性		冻融稳定性		进样器中稳定性	
		实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%
盐酸巴马汀	2	2.1±0.1	2.4	2.2±0.3	11.4	1.9±0.2	7.9	2.2±0.2	9.1
	50	51.3±0.1	4.5	52.7±4.4	8.3	48.3±3.6	7.5	53.2±4.9	9.2
	400	501.2±10.6	5.0	521.5±31.7	6.1	476.8±25.5	5.3	532.3±37.5	7.0
盐酸小檗碱	2	2.1±0.2	6.1	1.9±0.1	5.3	2.0±0.1	5.0	1.8±0.1	5.6
	50	49.3±4.7	7.4	47.7±5.1	10.7	51.6±3.9	7.6	54.0±5.1	9.4
	400	513.0±11.5	1.4	483.6±32.4	6.7	522.9±28.1	5.4	533.7±19.8	3.7
连翘苷	2	2.3±0.1	2.0	2.1±0.1	4.7	2.0±0.1	5.0	2.3±0.1	3.0
	50	48.8±3.7	2.5	49.1±4.8	9.8	50.7±4.2	8.3	53.5±4.2	7.9
	400	514.1±5.7	2.6	474.1±9.9	2.1	509.6±13.2	2.6	542.0±16.3	3.0
没食子酸	2	2.3±0.4	4.4	2.1±0.1	4.4	1.9±0.2	8.3	2.2±0.3	9.2
	50	51.6±1.7	3.2	50.5±7.2	14.3	52.9±4.4	8.2	55.3±3.8	6.8
	400	496.3±9.5	0.8	477.6±13.9	3.0	516.8±21.2	4.1	533.7±29.8	5.6
槲皮素	2	2.0±0.1	4.4	2.1±0.1	2.7	2.0±0	1.0	1.9±0.1	2.4
	50	46.7±2.9	6.5	45.4±5.7	12.1	48.9±3.1	5.9	48.2±5.0	9.4
	400	483.1±11.3	3.4	446.2±31.5	7.1	477.0±21.8	4.6	455.6±35.2	7.7

中于 -20 °C 放置 14 d, 室温放置 24 h, 经过 3 个冻融循环后基本稳定。此外, 制备好的样品在自动进样器中放置 8 h 基本不影响测定结果。

3.1.5 提取回收率和基质效应 如表 5 所示, 高、中、低 3 个质量浓度各待测化合物的提取回收率为 73.77%~94.86%, 符合生物样本的分析要求, 表明方法提取回收率较高。基质效应为 85.30%~106.17%, 表明内源性物质不干扰各待测化合物的测定。

3.2 药动学研究

大鼠给药第 1 天, 血浆中没食子酸、槲皮素、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷的血药浓度-时间曲线如图 2 所示, 药动学参数见表 6。

ig 宁泌泰胶囊 (0.5 g/kg) 第 1 天, 除没食子酸

表 5 血浆样品中各化合物的提取回收率和基质效应
Table 5 Extraction recovery rate and matrix effect of compounds in plasma samples

化合物	理论质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	提取回收率/%	基质效应/%
盐酸巴马汀	2	90.32±11.47	103.19±3.03
	50	94.86±10.02	96.02±2.43
	400	92.85±10.56	99.13±1.82
盐酸小檗碱	2	78.98±2.15	102.04±3.38
	50	79.29±2.89	98.81±2.16
	400	90.13±3.40	100.09±1.29
连翘苷	2	90.08±2.68	85.30±2.69
	50	85.95±7.96	86.04±2.27
	400	91.41±2.23	87.92±2.64
没食子酸	2	75.13±8.08	92.12±12.87
	50	75.99±10.13	106.17±8.41
	400	73.77±7.61	90.56±12.96
槲皮素	2	86.97±5.55	94.20±11.36
	50	86.60±6.04	96.21±4.17
	400	82.60±3.70	95.05±5.28

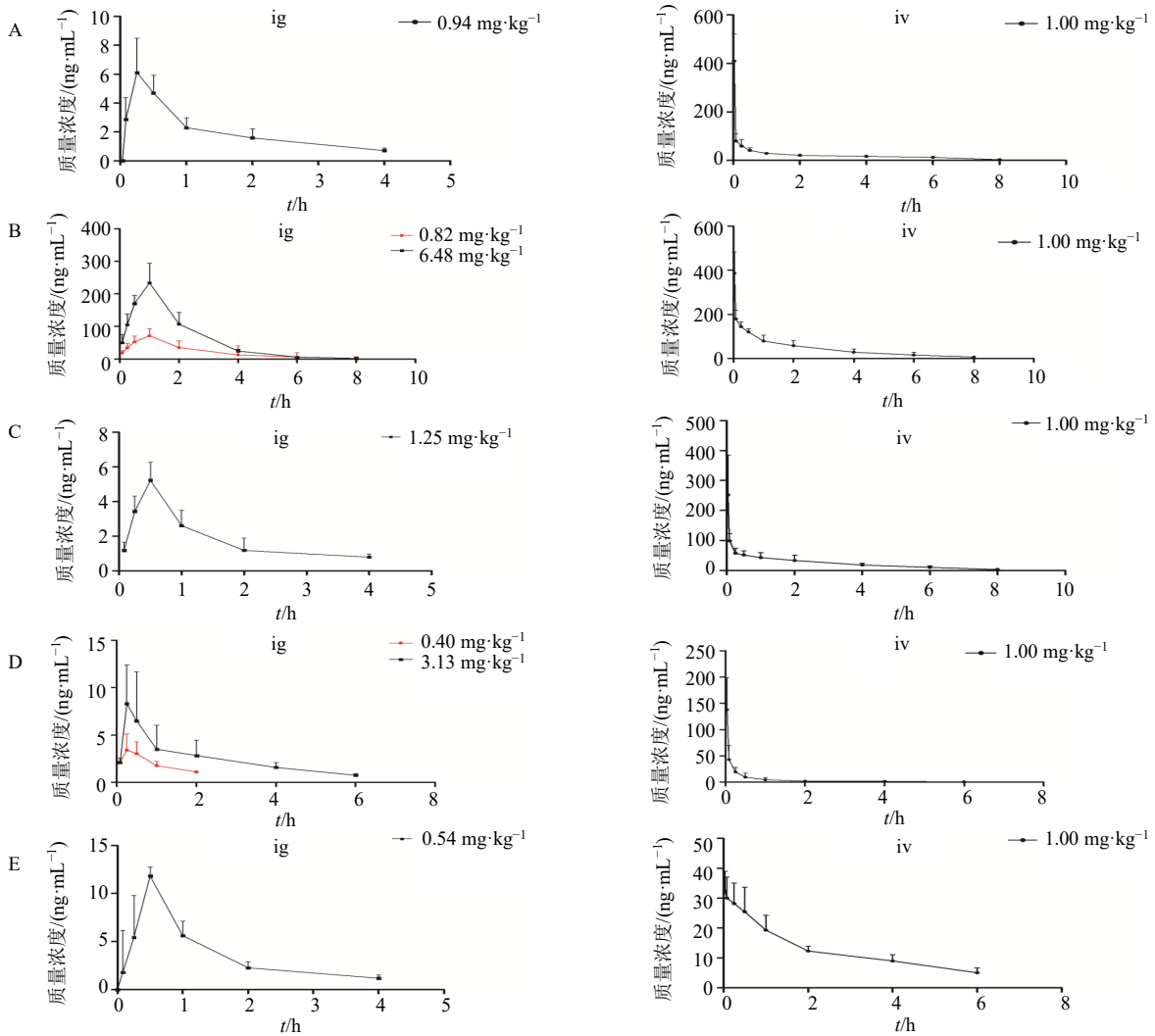


图 2 血浆中没食子酸 (A)、槲皮素 (B)、盐酸巴马汀 (C)、盐酸小檗碱 (D)、连翘苷 (E) 的血药浓度-时间曲线 (1 d)

Fig. 2 Plasma concentration-time curve of gallic acid (A), quercetin (B), palmatine hydrochloride (C), berberine hydrochloride (D) and forsythin (E) in plasma after administration (1 d)

表6 血浆中没食子酸、槲皮素、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷的药动学参数(1 d)

Table 6 Pharmacokinetic parameters of gallic acid, quercetin, palmatine hydrochloride, berberine hydrochloride and forsythyn after administration (1 d)

参数	没食子酸/(mg·kg ⁻¹)			连翘苷/(mg·kg ⁻¹)		
	iv 1.00	ig 2.71	ig 21.68	iv 1.00	ig 0.40	ig 3.13
AUC _{0-∞} /(μg·L ⁻¹ ·h)	346.83±85.42	155.29±46.56	491.60±104.39	65.08±23.49	4.40±1.94	14.64±8.18
AUC _{0-t} /(μg·L ⁻¹ ·h)	385.89±114.46	160.17±50.28	493.90±104.75	65.47±24.93	4.81±2.58	16.77±8.47
MRT _{0-∞} /h	1.95±0.53	2.06±0.11	1.66±0.11	0.68±0.24	0.86±0.30	1.83±0.49
MRT _{0-t} /h	2.81±1.38	2.26±0.24	1.70±0.11	0.75±0.29	1.13±0.84	2.77±1.31
t _{1/2} /h	2.21±1.12	1.44±0.29	1.00±0.11	0.92±0.90	0.71±0.64	1.87±1.08
t _{max} /h	—	1.00	0.94±0.17	—	0.29±0.10	0.34±0.13
V/(L·kg ⁻¹)	163.21±55.82	243.07±69.78	59.98±10.34	419.49±388.96	3 841.70±1 927.96	3 364.25±1 823.54
CL/(L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	56.73±20.24	120.72±43.56	41.79±7.13	331.14±91.43	5 281.63±2 679.75	1 485.32±838.63
C _{max} /(μg·L ⁻¹)	—	71.34±19.54	240.81±52.95	—	3.91±1.75	9.71±5.27
F/%	—	54.60	21.87	—	16.52	7.18

参数	盐酸小檗碱/(mg·kg ⁻¹)		槲皮素/(mg·kg ⁻¹)		盐酸巴马汀/(mg·kg ⁻¹)	
	iv 1.00	ig 1.25	iv 1.00	ig 0.94	iv 1.00	ig 0.54
AUC _{0-∞} /(μg·L ⁻¹ ·h)	201.28±72.76	6.76±2.47	192.46±22.38	7.87±1.45	93.90±13.39	4.22±1.80
AUC _{0-t} /(μg·L ⁻¹ ·h)	216.98±74.29	7.20±3.15	228.02±44.52	8.75±2.44	101.24±28.82	5.26±2.43
MRT _{0-∞} /h	2.08±0.42	1.09±0.25	2.17±0.34	0.98±0.27	2.36±0.26	1.16±0.19
MRT _{0-t} /h	2.73±0.89	1.26±0.50	9.83±14.11	1.54±1.49	4.36±2.35	1.46±0.59
t _{1/2} /h	1.97±0.65	0.61±0.44	7.55±10.05	0.94±1.45	3.25±1.85	0.92±0.55
t _{max} /h	—	0.47±0.08	—	0.28±0.09	—	0.50
V/(L·kg ⁻¹)	286.36±106.63	2 307.92±877.33	486.74±231.40	2 514.03±3 128.70	903.32±327.48	673.07±816.62
CL/(L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	103.80±41.60	3 245.35±1 327.20	78.64±32.76	2 453.32±717.97	208.31±46.37	344.39±256.07
C _{max} /(μg·L ⁻¹)	—	5.27±0.99	—	8.49±1.62	—	11.80±0.95
F/%	—	2.68	—	4.35	—	8.32

与连翘苷外,槲皮素、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱在大鼠血浆中的含量均低于定量限;没食子酸的生物利用度(F)为54.60%,连翘苷的 F 为16.52%。

ig 宁泌泰胶囊(4.0 g/kg)第1天,没食子酸、槲皮素、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷的半衰期($t_{1/2}$)均较短,为0.61~1.87 h,提示各化合物清除较快,不易在体内蓄积,各化合物的 $t_{1/2}$ 由长至短分别为连翘苷(1.87 h)、没食子酸(1.00 h)、槲皮素(0.94 h)、盐酸巴马汀(0.92 h)、盐酸小檗碱(0.61 h);各化合物的达峰时间(t_{max})为0.28~0.94 h, t_{max} 由高至低排序为没食子酸>盐酸巴马汀>盐酸小檗碱>连翘苷>槲皮素;没食子酸的达峰浓度(C_{max})为(240.81±52.95) μg/L,是其余化合物的20~45倍,提示没食子酸可能在宁泌泰胶囊发挥药理活性中较为重要。各化合物的 F 由高到低分别为没食子酸21.87%、盐酸巴马汀8.32%、连

翘苷7.18%、槲皮素4.35%。虽然动物间存在个体差异,但ig 宁泌泰胶囊(0.5、4.0 g/kg)后,没食子酸与连翘苷的血药浓度-时间曲线行为基本一致。

ig 宁泌泰胶囊(0.5、4.0 g/kg)7 d后,没食子酸、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷和槲皮素的血药浓度-时间曲线如图3所示,除盐酸巴马汀外,各化合物的血药浓度-时间曲线行为基本一致。ig 宁泌泰胶囊(4.0 g/kg)7 d后,大鼠血浆中的盐酸巴马汀的 C_{max} 仅为15 ng/mL。

4 讨论

本研究建立了快速、灵敏的UFLC-MS/MS方法,用于宁泌泰胶囊中没食子酸、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、槲皮素5种成分在大鼠血浆中的药动学研究。该方法的专属性、线性范围、准确度、精密度、回收率和稳定性良好,可以用于宁泌泰胶囊体内的药物浓度测定。本研究发现,宁泌泰

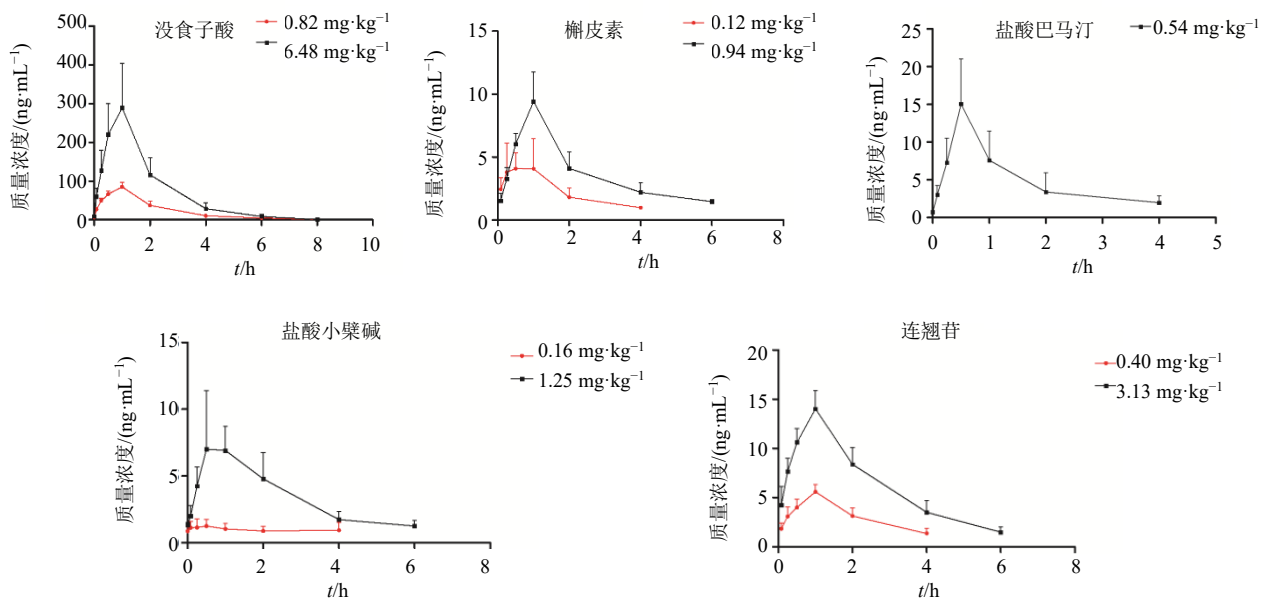


图3 没食子酸、槲皮素、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱和连翘苷的血药浓度-时间曲线 (7 d)

Fig. 3 Plasma concentration-time curve of gallic acid, quercetin, palmitine hydrochloride, berberine hydrochloride and forsythine after administration on (7 d)

胶囊中没食子酸、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、连翘苷、槲皮素的 F 高、 $t_{1/2}$ 短, 表明各化合物在体内易发生清除、不易在体内蓄积。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 杨建林, 刘跃新, 张光银, 等. 宁泌泰胶囊治疗 III 型前列腺炎随机双盲安慰剂对照临床研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2428-2432.

[2] 许乾丽, 茅向军, 熊慧林, 等. HPLC 测定宁泌泰胶囊中没食子酸的含量 [J]. 中成药, 2001, 23(9): 641-643.
 [3] 成志俊. HPLC 法测定宁泌泰胶囊中盐酸小檗碱的含量 [J]. 海峡药学, 2013, 25(4): 49-50.
 [4] 钱淑琴, 陈宗良. HPLC 法测定宁泌泰胶囊中连翘苷的含量 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(1): 208-209.
 [5] 徐阳, 单柏宇, 徐伟男, 等. HPLC-DAD 法同时测定宁泌泰胶囊中 5 个有效成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 1042-1047.

[责任编辑 李亚楠]