

- 族妇女宫颈癌 HPV 谱研究[J]. 肿瘤, 2007, 27(5): 379-382.
- [4] TAKAHASHI T, BABA M, NISHINO H, et al. Cyclooxygenase-2 plays a suppressive role for induction of apoptosis in isoliquiritigenin-treated mouse colon cancer cells [J]. Cancer Lett, 2006, 231(2): 319-325.
- [5] YOSHIDA T, HORINAKA M, TAKARA M, et al. Combination of isoliquiritigenin and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces apoptosis in colon cancer HT29 cells [J]. Environ Health Prev Med, 2008, 13(5): 281-287.
- [6] AUYEUNG K K, KO J K. Novel herbal flavonoids promote apoptosis but differentially induce cell cycle arrest in human colon cancer cell [J]. Invest New Drugs, 2010, 28(1): 1-13.
- [7] ZHAO H X, ZHANG X H, CHEN X W, et al. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, blocks M2 macrophage polarization in colitis-associated tumorigenesis through downregulating PGE2 and IL-6 [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2014, 279(3): 311-321.
- [8] LEE Y M, LIM D Y, CHOI H J, et al. Induction of cell cycle arrest in prostate cancer cells by the dietary compound isoliquiritigenin [J]. J Med Food, 2009, 12(1): 8-14.
- [9] KWON G T, CHO H J, CHUNG W Y, et al. Isoliquiritigenin inhibits migration and invasion of prostate cancer cells: possible mediation by decreased JNK/AP-1 signaling [J]. J Nutr Biochem. 2009, 20(9): 663-676.
- [10] ZHANG X, YEUNG E D, WANG J, et al. Isoliquiritigenin, a natural anti-oxidant, selectively inhibits the proliferation of prostate cancer cells [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(8): 841-847.
- [11] YE L, GHO W M, CHAN F L, et al. Dietary administration of the licorice flavonoid isoliquiritigenin deters the growth of MCF-7 cells overexpressing aromatase [J]. Int J Cancer, 2009, 124(5): 1028-1036.
- [12] WANG N, WANG Z Y, WANG Y. Dietary compound isoliquiritigenin prevents mammary carcinogenesis by inhibiting breast cancer stem cells through WIF1 demethylation [J]. Oncotarget, 2015, 6(12): 9854-9876.
- [13] LAU G T, YE L, LEUNG L K. The licorice flavonoid isoliquiritigenin suppresses phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in the non-tumorigenic MCF-10A breast cell line [J]. Planta Med, 2010, 76(8): 780-785.
- [14] WANG K L, HSIA S M, CHAN C J. Inhibitory effects of isoliquiritigenin on the migration and invasion of human breast cancer cells [J]. Expert Opin Ther Targets, 2013, 17(4): 337-349.
- [15] WANG Z Y, WANG N, LIU P X, et al. MicroRNA-25 regulates chemoresistance-associated autophagy in breast cancer cells, a process modulated by the natural autophagy inducer isoliquiritigenin [J]. Oncotarget, 2014, 5(16): 7013-7026.
- [16] AUYEUNG K K, KO J K. Novel herbal flavonoids promote apoptosis but differentially induce cell cycle arrest in human colon cancer cell [J]. Invest New Drugs, 2010, 28(1): 1-13.
- [17] HSU Y L, KUO P L, LIN C C. Isoliquiritigenin induces apoptosis and cell cycle arrest through p53-dependent pathway in Hep G2 cells [J]. Life Sci, 2005, 77(3): 279-292.
- [18] MA J, FU N Y, PANG D B, et al. Apoptosis induced by isoliquiritigenin in human gastric cancer MGC-803 cells [J]. Planta Med, 2001, 67(8): 754-757.
- [19] KAKATI D, SARMA J C. Microwave assisted solvent free synthesis of 1,3-diphenylpropanones [J]. Chem Cent J, 2011, 5(8): 1-5.
- [20] MOURBOUL A, ANWAR M, RENA K. Advance in study on the preparation techniques and pharmacological actions of isoliquiritigenin [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(4): 277-280.
- [21] 李宏智, 艾尼瓦尔·买买提, 木合布力·阿布力孜, 等. 异甘草素衍生物的合成及结构表征[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(19): 1882-1885.
- [22] 戈夏, 李建其. 木犀草素和奥洛波尔的合成[J]. 中国医药工业杂志, 2003, 34(4): 159-161.

收稿日期: 2015-09-19

RRLC-ESI-MS/MS 分析白头翁皂苷在大鼠体内的组织分布

刘亚丽¹, 魏韶锋¹, 宋永贵², 李伟², 张凌², 杨世林², 王萌¹, 苏丹^{2*} (1.江西中医药大学科技学院, 江西 南昌 330025; 2.江西中医药大学中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

摘要: 目的 研究白头翁皂苷在大鼠体内的分布规律和蓄积情况。方法 以 300 mg·kg⁻¹ 白头翁皂苷提取物均匀分散混悬液单次灌胃给予大鼠后, 采用 RRLC-ESI-MS/MS 对白头翁皂苷中的有效成分 B3, BD, B7, B10, B11 在动物体内的组织分布情况进行考察。结果 白头翁皂苷在动物体内的分布迅速且广泛, 给药 0.25 h 后, 各组织脏器中即可检测到较高水平的药物浓度。5 种皂苷在大部分组织器官中的达峰时间为 30 min, 给药 2 h 后, 白头翁皂苷的浓度逐渐下降, 给药 6 h 后, 药物基本消除。在动物脑中亦可检测到药物的存在。结论 白头翁皂苷在体内不易蓄积, 主要分布在心脏、肝、肺、肾、小肠等器官, 心脏中药物浓度最高, 且可以透过血脑屏障。

关键词: 白头翁皂苷; RRLC-ESI-MS/MS; 组织分布

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)01-0006-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.01.002

基金项目: 国家自然科学基金(81460594); 江西省自然科学基金(20151BAB215038); 江西省卫计委科研项目(2015A054); 江西中医药大学博士启动基金(2010BS2037、2014BS019)

作者简介: 刘亚丽, 女, 博士, 讲师 Tel: 18007092727 E-mail: 582685133@qq.com *通信作者: 苏丹, 女, 博士, 副教授, 硕导 Tel: 13177859011 E-mail: Sud94@aliyun.com

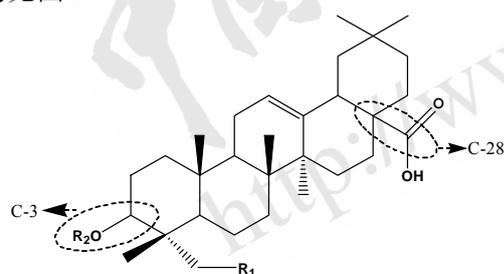
Distribution Analysis of Saponins in *Pulsatilla Chinensis*(Bunge) Regel in Rats' Tissues by RRLC-ESI-MS/MS

LIU Yali¹, WEI Shaofeng¹, SONG Yonggui², LI Wei², ZHANG Ling², YANG Shilin², WANG Meng¹, SU Dan^{2*} (1.Science and Technology College, Jiangxi University of Chinese Traditional Medicine, Nanchang 330025, China; 2.The National Pharmaceutical Engineering Center(NPEC) for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Jiangxi University of Chinese Traditional Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To research the distribution and accumulation of pulchinosides(B3, BD, B7, B10, B11) in rats. **METHODS** The tissue distribution had been investigated after 300 mg·kg⁻¹ oral administration of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) regel saponins(PRS) evenly dispersed suspension by RRLC-ESI-MS/MS. **RESULTS** PRS exhibited rapid and extensive distribution, and high level concentrations could be detected in rats' tissues after 0.25 h for oral administration. T_{max} of 5 components in the tissues were about 30 min. The concentrations declined gradually after 2 h and a large proportion of PRS were almost eliminated after 6 h. PRS could also be detected in the brain. **CONCLUSION** PRS is difficult to accumulate *in vivo*. The medicine mainly distributes in heart, liver, lungs, spleen and small intestine, and it is highest in the heart than in other tissues, and it can transmit across blood-brain barrier.

KEY WORDS: *Pulsatilla chinensis* (Bunge) regel saponins; RRLC-ESI-MS/MS; tissue distribution

中药白头翁具有清热解毒,凉血止痢的功效^[1],并有研究表明白头翁具有抗肿瘤作用^[2-6]。本课题组近期研究报道了白头翁皂苷活性成分在裸鼠肿瘤模型中具有潜在的抗肿瘤活性^[7]。课题组前期对总皂苷进行分离、鉴定和构效关系的研究,结果表明 5 种齐墩果烷母核的白头翁皂苷(白头翁皂苷 B3, BD, B7, B10 和 B11)为白头翁总皂苷提取物的主要活性成分。白头翁皂苷为齐墩果烷型五环三萜类皂苷,是自然界十分重要的一类天然产物,许多中草药如白头翁、人参、三七、柴胡、紫菀、木通、牛膝、八月札等均含有该类成分,结构见图 1。



B3: R1=OH R2=rha(1→2)[glc(1→4)]ara
B7: R1=H R2=rha(1→2)[glc(1→4)]ara
BD: R1=OH R2=rha(1→2)ara
B10: R1=H R2=rha(1→2)[glc(1→3)]ara
Hederagenin: R1=OH R2=H
B11: R1=H R2=rha(1→2)ara

图 1 白头翁皂苷的化学结构式

Fig. 1 Chemical structures of the oleanane triterpenoidal saponin

药物发挥作用的形式和作用机制体现在药物的代谢动力学特征上,研究其药动学特征包括体内、在体、离体的吸收、分布、代谢和排泄,即

机体对药物的处置过程研究对更好地理解药物的药理和临床疗效至关重要。本课题组对于白头翁皂苷的药动学特征、吸收及降解动力学特征均已完成^[8-10],在此基础上,本课题组以 300 mg·kg⁻¹单剂量灌胃给予大鼠白头翁皂苷均匀分散混悬液后,就 5 种皂苷成分在大鼠体内组织分布情况进行考察,以为白头翁总皂苷的临床应用提供理论参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

T-18 组织匀浆机 (北京东方科技公司); Agilent1290 快速分离液相色谱(RRLC)偶联三重四级杆 LC-MS(AgilentQQQ6460) 电喷雾离子源(ESI)购自美国 Agilent 公司, RRLC 配备二元泵(G4220A)、自动恒温柱温箱(G1316C)、自动进样器(G4226A)、自动恒温器(G1330B)和紫外检测器(DAD, G4212A)。色谱柱 Phenomenex[®] Kinetex C₁₈ column(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 配备 Phenomenex[®] Security Guard ULTRA Cartridges 保护预柱(内径: 4.6 mm)。微量移液枪(上海大龙医疗设备有限公司); SPE 固相微萃取小柱(Agela Cleanert ODS C₁₈柱, 200/3 mg·mL⁻¹); DT5-3 型低速台式自动平衡离心机(北京时代北利离心有限公司); IKA 涡旋仪(上海揽宝仪器设备有限公司); KQ3200E 型超声波仪(常州恒隆仪器有限公司); AUW2200 型电子分析天平 (日本岛津, 精度: 十万分之一)。

1.2 药品与试剂

药材: 干燥的白头翁根购买自辽宁省绥中市,

由苏州大学药学院李笑然教授鉴定为正品。药材标本(No. 08-02-15-18)存放在苏州大学药学院中药标本馆。

白头翁皂苷提取物经制备色谱由干燥白头翁药材提取,其中 B3, BD, B7, B10 和 B11 的含量分别为 24.1%, 7.4%, 12.4%, 13.5%和 8.5%, 占白头翁总皂苷 65.9%。

5 种皂苷的对照品(B3, BD, B7, B10, B11)和常春藤皂苷元(纯度均>95%)为笔者所在实验室提取(中药固体制造技术国家工程研究中心天然药物部),其结构经专属方法鉴定,包括 MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 。

常春藤皂苷元和内标物质(IS)连翘苷(纯度>98%)购自中国药品生物制品鉴定所。

甲醇(色谱级,美国 Fisher Scientific);醋酸铵(美国 Sigma, 纯度>99%)。其他试剂均为分析纯。去离子水由 Milli-Q 超纯水设备制备。

1.3 动物

无菌 Wistar 大鼠,♂, 体质量 200~220 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司(中国长沙), 实验动物合格证号: SCXK(湘)2011-0003。实验前 3 d 饲养于昼夜自然循环的控制环境中[(22±2)℃, 湿度(50±20)%]。动物实验遵循中华人民共和国国家科学技术委员会实验动物管理条例。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 口服白头翁皂苷提取物的制备 干燥的白头翁药材(20 kg), 10 倍量 70%乙醇回流提取 3 次, 得白头翁总皂苷。将白头翁总皂苷用 1.0% NaOH 水溶液碱水解反应 6 h 后, 放冷过夜, 用盐酸调节 pH 至 7.0, 上 D101 大孔树脂柱, 依次用水、40%乙醇、75%乙醇、95%乙醇洗脱; 收集 75%乙醇洗脱液, 减压浓缩, 真空干燥得总皂苷碱水解产物 57 g, 为抗肿瘤药理活性部位; 将水解产物经制备色谱用甲醇和水梯度分离, 获得白头翁皂苷 B3(70 mg), BD(50 mg), B7(70 mg), B10(50 mg)和 B11(40 mg)。

白头翁皂苷均匀分散混悬液制备如下: 取一定量白头翁总皂苷溶解在含 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)的水溶液中得口服用 $18.75 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 均匀分散混悬液。

2.1.2 内标溶液的制备 精密称取连翘苷对照品适量溶解于甲醇中, 制成浓度为 $1.108 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液, 临用时用甲醇配成浓度为 $1.108 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$

的内标溶液, 储存于 4℃, 备用。

2.1.3 储备液和对照品溶液的制备 精密称定对照品溶解于甲醇中制成独立贮备液, B3 为 $617 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, BD 为 $510 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, B7 为 $819 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, B10 为 $720 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, B11 为 $519 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。临用前用甲醇按一定比例稀释为混合系列工作溶液。

2.1.4 样品处理 取组织样品(精确称量), 准确加入 2 倍量甲醇制备匀浆, 超声 5 min, 离心 10 min($4\ 200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$), 取上清液 200 μL , 加入 10 μL 内标物质, 20 μL 甲醇溶液, 200 μL 乙腈, N_2 吹干, 100 μL 甲醇复溶, 涡旋 3 min, 离心 10 min ($15\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$), 取上清液 2 μL 进 LC-MS 分析。

2.2 分析方法的建立

2.2.1 LC-MS 条件 采用 Phenomenex[®] Kinetex C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)和 Phenomenex[®] SecurityGuard ULTRA Cartridges 保护预柱(内径 4.6 mm)。柱温 30℃, 进样量 2 μL 。流动相为甲醇(A)和 2 mmol·L⁻¹ 醋酸铵水溶液(B), 流速 0.2 mL·min⁻¹。梯度洗脱: 0~1 min, 68%→80%A; 1~2.5 min, 80%→82%A; 2.5~4 min, 82%→85%A, 维持 0.5 min, 4.5~5 min, 85%→95%。溶剂浓度很快恢复到初始浓度 32% B, 同时自动进样器洗针时间为 0.5 min。

ESI 质谱源: 干燥 N_2 流速 10 L·min⁻¹; 干燥气体温度 350℃; 喷雾器压力 50 psi; 毛细管电压 -4 000 V。各待测成分的 MRM 通道参数: B3 m/z 911.4→603.2, BD m/z 749.4→471.3, B7 和 B10 m/z 895.6→733.2, B11 m/z 733.5→455.3。

2.2.2 方法专属性 在确定的 LC-MS 条件下, 5 个白头翁皂苷和内标物质的 MRM 检测具有较高选择性, 色谱峰良好, 内源性物质无干扰, 结果见图 2。

2.2.3 标准曲线的建立和最低定量限 取空白组织样品, 匀浆后加入 20 μL 系列对照品溶液, 按“2.1.4”项下方法处理, 取上清液 2 μL 进 LC-MS 仪分析记录白头翁皂苷 B3, BD, B7, B10, B11 与内标的峰面积, 并计算 5 种待测成分与内标的峰面积比。分别以组织中各待测成分的浓度为横坐标, 各待测成分与内标物的峰面积比值为纵坐标, 以加权最小二乘法($W=1/\chi^2$) 回归绘制标准曲线。标准曲线的绘制采用 7 个浓度水平, 每个浓度平行 3 份, 重复 3 d 测定。得白头翁皂苷的标准曲线方程见表 1。

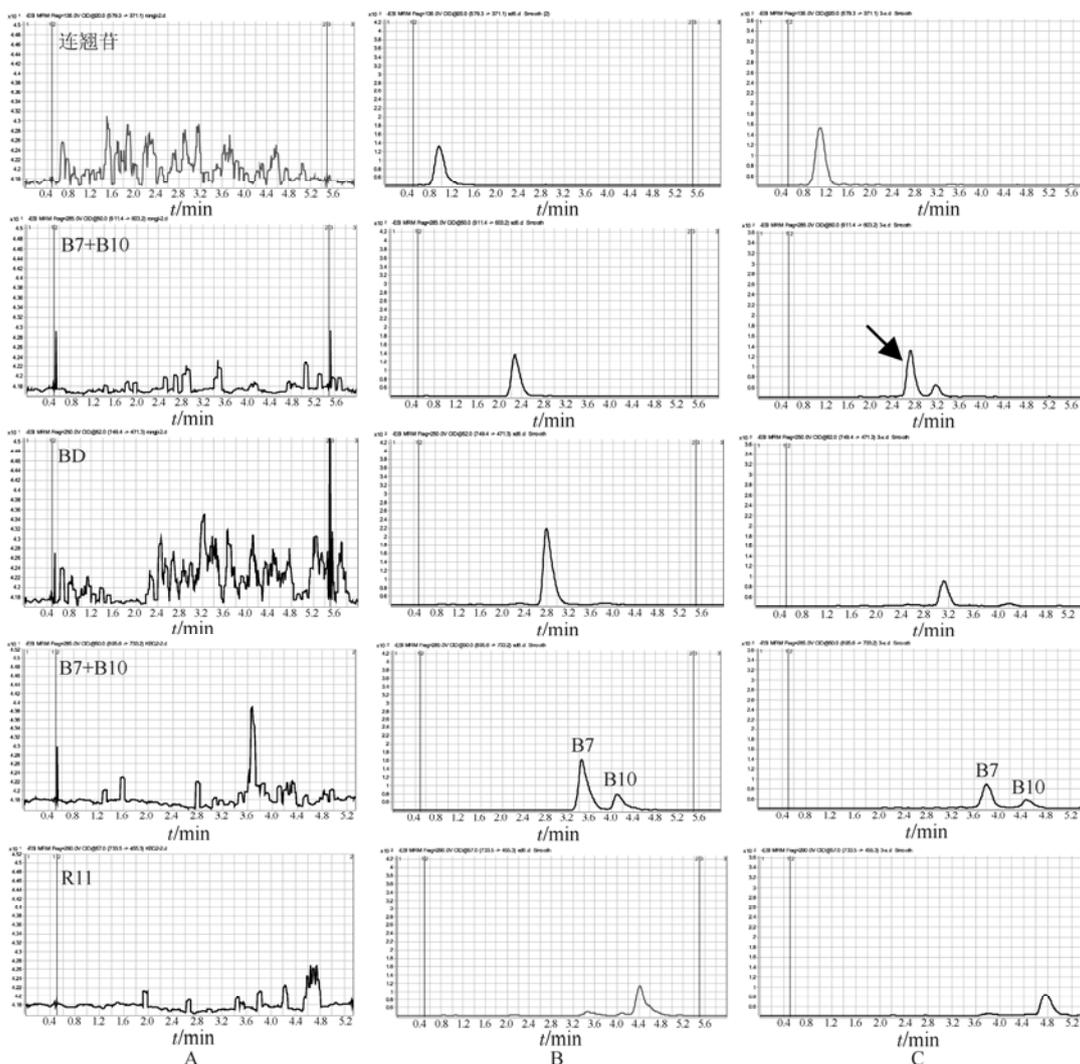


图 2 MRM 检测 LC-MS 典型色谱图

A-空白心浆液；B-空白心匀浆液+皂苷对照品；C-供试品。

Fig. 2 Representative extract ion MRM chromatograms

A-blank heart homogenate; B-blank heart homogenate spiked with the 5 analytes at LLOQ and IS; C-heart homogenate sample after a single oral administration of PRS extract to rats.

表 1 白头翁皂苷的线性曲线

Tab. 1 Linear curve of pulchinenosides(B3, BD, B7, B10, B11)

成分	标准曲线方程	线性范围/ng·mL ⁻¹	r ²
B3	y=0.006 1x+0.003 1	2.211~691.04	0.990 8
BD	y=0.024 6x-0.020 9	1.501~469.20	0.992 2
B7	y=0.010 0x-0.009 1	1.992~622.44	0.995 2
B10	y=0.007 8x+0.002 5	0.829 4~259.20	0.991 2
B11	y=0.020 3x+0.014 0	0.664 3~207.60	0.991 2

结果表明标准曲线范围满足组织样品的浓度要求，5 个分析样品在拟定浓度范围内线性较好。B3, BD, B7, B10 和 B11 的最低定量限分别为 2.211, 1.501, 1.992, 0.829 4 和 0.664 3 ng·mL⁻¹，变异系数分别为 5.98%, 12.4%, 2.11%, 4.13% 和

8.96%。

2.2.4 精密度和准确度试验 取空白组织样品，匀浆后加入 20 μL B3, BD, B7, B10 和 B11 的高 (依次为 621.94, 422.28, 560.20, 233.28, 180.84 ng·mL⁻¹)、中(55.28, 37.54, 49.80, 20.74, 16.61 ng·mL⁻¹)、低浓度溶液(2.211, 1.501, 1.972, 0.829 4, 0.664 3 ng·mL⁻¹)，按“2.1.4”项下方法处理。取上清液 2 μL 进 LC-MS 仪分析。每个浓度制备 6 份，每个浓度连续进样 6 次，测定日内精密性。重复操作，连续测定 3 d 并并行标准曲线，计算日间精密性。准确度通过样品的测定浓度与理论浓度的符合程度来评价，用相对回收率和相对误差来表示。

结果准确度为-8.14%~4.49%和-6.51%~9.13%，日内和日间精密度分别为2.31%~8.10%和2.59%~9.55%。结果表明，该方法精密度均在合理范围内。

2.2.5 提取回收率试验 取空白组织样品，匀浆后加入20 μL高、中、低浓度质控溶液，按“2.1.4”项下方法处理，取上清液2 μL进LC-MS仪分析，计算5个待测化合物和内标的峰面积比值(A_1)。另取大鼠空白组织匀浆各200 μL，200 μL乙腈，N₂吹干，加入70 μL甲醇复溶，涡旋3 min，离心10 min(15 000 r·min⁻¹)，取上清液，加入10 μL内标物质，20 μL高、中、低浓度质控溶液，涡旋混匀，取2 μL进LC-MS仪分析，计算5个待测化合物和内标的峰面积比值(A_2)，计算提取回收率($A_1/A_2 \times 100\%$)。

结果白头翁皂苷 B3, BD, B7, B10 和 B11 的平均提取回收率为71.17%~99.81%，RSD ≤ 14.1%。内标物质的平均提取回收率为(97.27 ± 0.355 8)%。

2.2.6 样品稳定性试验 质控样品稳定性评价为待测物样品循环冷冻(-20 °C)和溶解(室温)3次，室温24 h放置的稳定性，以及置于-20 °C环境中1个月。

结果组织样品中的分析物质在3次冻融(准确度: -10.8%~5.7%，RSD ≤ 8.2%)，室温静置24 h(准确度: -6.4%~14.9%，RSD ≤ 7.4%)，1个月内在-20 °C环境(准确度: -7.5%~11.0%，RSD ≤ 7.2%)的条件下没有发生明显的降解，表明供试品稳定性良好。

2.2.7 基质效应试验 取空白组织样品，匀浆后加入20 μL高、中、低浓度质控溶液，按“2.1.4”项下方法处理，取上清液2 μL进LC-MS仪分析，计算5个待测化合物和内标的峰面积比值(A_1)。另精密吸取10 μL内标溶液与20 μL高、中、低浓度质控溶液混匀，加入蒸馏水200 μL代替空白组织上清液，200 μL乙腈，N₂吹干，100 μL甲醇复溶，涡旋3 min，离心10 min(15 000 r·min⁻¹)，取上清液2 μL进LC-MS仪分析，计算5个待测化合物和内标的峰面积比值(A_2)。求各浓度下5个待测化合物的回收率($A_1/A_2 \times 100\%$)，计算基质效应。

结果基质效应的均值为82.35%~99.90%，RSD ≤ 14.3%。表明在本方法的实验条件下，大鼠组织中的内源性物质对5个被测化合物的离子化

无明显影响。

3 组织分布实验

大鼠5只，实验前禁食12 h，自由饮水，一次性灌胃300 mg·kg⁻¹白头翁皂苷均匀混悬液，于给药后0.25 h脱颈椎处死动物，取出脑、心、肝、脾、肺、肾、睾丸、胰、脂肪、肌肉等组织，用2倍量甲醇制备匀浆。按照拟定方法测定大鼠组织中白头翁皂苷 B3, BD, B7, B10 和 B11 的含量，以不给药的相应组织匀浆为空白对照。另按同法测定给药后0.5, 2, 6 h组织中的药物含量。

经过对灌胃300 mg·kg⁻¹给药后大鼠组织的分析测定，计算不同时间点采集的各组织中白头翁皂苷的含量，见图3。

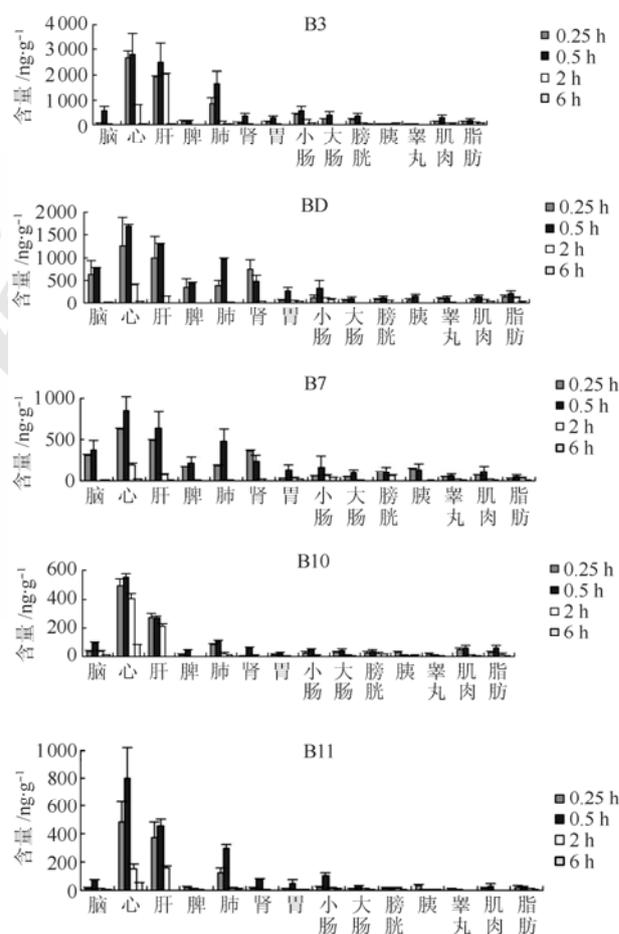


图3 5种白头翁皂苷一次性灌胃给药(300 mg·kg⁻¹)后大鼠组织中平均含量($n=5$)

Fig. 3 Mean contents of 5 pulchinenosides after single oral administration 300 mg·kg⁻¹ of PRS extract to rats($n=5$)

4 讨论

4.1 白头翁皂苷在大鼠体内分布特征

药物分布速度决定药效产生的快慢，分布越

迅速药效产生越快。由图 3 可以看出,白头翁皂苷在动物体内的分布迅速且广泛,给药 15 min 后,各组织脏器中即可检测到较高水平的药物浓度。5 种皂苷在大部分组织器官中的达峰时间为 0.5 h,给药 2 h 后,白头翁皂苷的浓度逐渐下降,给药 6 h 后,药物基本消除,说明该类皂苷在体内不易蓄积。本课题组前期对白头翁皂苷的药动力学研究发现^[8]其表现出较快的吸收和较低的生物力利用度,组织分布的实验结果与药物在血浆中的药动力学行为相吻合。而给药后药物在胃和小肠中的浓度随时间下降的实验结果与口服给药方式有关。

给药后,5 种白头翁皂苷主要分布在心脏、肝、肺、肾、小肠等器官,心脏中药物浓度最高。这与这些部位的血管丰富,血流量大密切相关,提示白头翁皂苷与这些脏器具有更高的组织亲和力,有利于这些脏器的肿瘤治疗,也可能使这些脏器成为毒性的靶器官。因此其结果对认识该药的疗效和毒性均有价值^[8]。同时,小肠中的白头翁皂苷的分布高于大肠中,这与肠吸收实验结果相吻合,小肠中的十二指肠段是主要吸收部位。肾和膀胱的含量较低,提示尿液排泄不是药物排泄的主要途径。脂肪和肌肉等组织的分布较低,这一结论可能与脂肪组织中血管稀少有关。药物不易进入脂肪组织。

在动物脑中亦检测到白头翁皂苷的存在,说明白头翁皂苷可以通过血脑屏障。这与文献关于五环三萜类皂苷人参皂苷 Rg1、桦木酸在脑组织中的分布报道相一致^[11-12]。刘智宇等^[13]对五环三萜类皂苷在动物脑中的分布进行综述,也表示动物经肠外给予皂苷类成分多数可以透过血脑屏障。该类化合物虽不符合“five rules”^[14]规则,仍能透过血脑屏障。提示白头翁皂苷类化合物可能具有较好的神经系统疾病的相关治疗作用。

4.2 白头翁皂苷的组织靶向性

5 种白头翁皂苷,根据苷元类型,B3 和 BD 为常春藤皂苷元类皂苷,B7、B10 和 B11 为齐墩果酸类皂苷,共属于五环三萜类皂苷,由于其 3-位单糖链上所连接的糖基不同而不同。但由于基本母核结构相似,该类皂苷的组织分布结果显示了一定的特征性,肝脏和肺与白头翁五环三萜皂苷具有较高的亲和力,是其潜在的靶器官。课题组前期药效学实验显示白头翁皂苷体外对肝癌 BEL-7402、肺癌 A549 两株细胞的生长抑制作用

较其他细胞株更加显著,在体内对此两株细胞建立的动物移植瘤生长的影响也显示白头翁皂苷对肺癌和肝癌具有较好的抑制作用^[15]。可见,药动学的组织分布结果与前期抗肿瘤药效学的实验结果相吻合,为白头翁皂苷作用机制的阐述提供依据。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 96.
- [2] ZHENG Y T, ZHOU F, WU X L, et al. 23-Hydroxybetulinic acid from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel synergizes the antitumor activities of doxorubicin *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128(3): 615-622.
- [3] CHEN W K, LIN Q, CHEN L, et al. The saponin of Chinese drug Bai-Tou-Weng: IV. The structures of anemosides B4 and A3 [J]. *Acta Chim Sin*, 1990, 48(5): 501-505.
- [4] PARK H J, KWON S. H, LEE J H, et al. Kalopanax saponin A is a basic saponin structure for the anti-tumor activity of hederagenin monodesmosides [J]. *Planta Med*, 2001, 67(2): 118-121.
- [5] LI H Y, CHEN H X, WANG L. Ginsenoside Rb1 antagonist dasatinib-induced inhibition on NK cells cytotoxicity to ovarian cancer cells [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2014, 31(3): 293-297.
- [6] SHU Z, CHEN Z, DING X J, et al. Three new triterpenoids from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel and their cytotoxic activities [J]. *Heterocycles*, 2011, 83(10): 2365-2371.
- [7] XU Q M, SHU Z, YANG S L, et al. Antitumor activity of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel saponins in human liver tumor 7402 cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(3/4): 293-300.
- [8] LIU Y L, SONG Y G, XU Q M, et al. Validated rapid resolution LC-ESI-MS/MS method for simultaneous determination of five pulchinenosides from *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel in rat plasma: Application to pharmacokinetics and bioavailability studies [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013(942/943): 141-150. Doi: 10.1016/j.jchromb.2013.10.036.
- [9] LIU Y L, SONG Y G, GUAN Z Y, et al. Intestinal absorption of pulchinenosides from *Pulsatilla chinensis* in rats [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2015, 40(3): 543-549.
- [10] 刘亚丽, 宋永贵, 关志宇, 等. 白头翁皂苷类成分的肠道菌群降解动力学[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(8): 1-4.
- [11] FENG L, WANG L, HU C, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of ginsenoside Rg1 in rats [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(12): 1975-1984.
- [12] WANG S Q, ZHU Y Z, YE H, et al. Study on transport characteristics of four marker constituents of Baitouwen decoction in Caco-2 cell monolayer model by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2014, 31(3): 330-334.
- [13] LIU Z Y, JIANG W X, WU B, et al. Advance in studies on ADME of saponins [J]. *Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用)*, 2012, 6(21): 121-124.
- [14] EGAN W J, JAURIC G. Prediction of intestinal permeability [J]. *Adv Drug Rev*, 2002, 54(3): 273-289.
- [15] XU Q M, SHU Z, YANG S L, et al. Antitumor activity of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel saponins in human liver tumor 7402 cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(3/4): 293-300.

收稿日期: 2015-06-11