



LC-MS/MS法测定大鼠血浆中夏枯草消瘤合剂有效成分体内药动学研究

戴媛媛, 马明华, 徐晓红, 汪晓河, 张若曦, 徐智儒, 年华

In vivo pharmacokinetic study on determination of effective components in Xiakucao Xiaoliu mixture in Normal Rat Plasma By LC-MS/MS

DAI Yuanyuan, MA Minghua, XU Xiaohong, WANG Xiaohe, ZHANG Ruoxi, XU Zhiru, NIAN Hua

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202111008>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

用LC-MS/MS法测定大鼠血浆中大蒜皂苷PIEB的浓度及其体内药动学研究

Study on determination and pharmacokinetics of garlic saponins PIEB in the rat plasma by LC-MS/MS

药学实践与服务. 2019, 37(1): 37-41 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.01.009

夏枯草消瘤合剂对Lewis肺癌小鼠的药效作用

Therapeutic effect of Xiakucao Xiaoliu mixture on Lewis lung cancer mice

药学实践与服务. 2020, 38(1): 57-62 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.201812070

液相色谱-串联质谱法测定全脑缺血损伤模型大鼠体内拉莫三嗪血药浓度及药动学研究

Study on plasma concentration and pharmacokinetics of lamotrigine in cerebral ischemia model rats by LC-MS/MS

药学实践与服务. 2018, 36(5): 443-445,460 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.013

高效液相-高分辨飞行时间质谱对复方夏枯草消瘤方化学成分的鉴别

Identification of chemical constituents of Xiakucao Xiaoliu mixture by HPLC-TOF/MS

药学实践与服务. 2020, 38(2): 138-142, 155 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.201907116

用LC-MS法测定人血浆中顺式阿曲库铵的浓度

Cisatracurium assay in human plasma by LC-MS

药学实践与服务. 2020, 38(2): 148-151 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.201909001

LC-MS/MS法测定红景天胶囊中红景天苷含量的方法

LC-MS/MS method for determination of salidroside in the capsule

药学实践与服务. 2021, 39(2): 157-159 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202007059



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中夏枯草消瘤合剂有效成分体内药动学研究

戴媛媛^{1,5}, 马明华², 徐晓红³, 汪晓河³, 张若曦¹, 徐智儒⁴, 年 华¹ (1. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437; 2. 同济大学附属杨浦医院药学部, 上海 200090; 3. 上海交通大学附属第六人民医院, 上海 201306; 4. 上海医药工业研究院创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 201203; 5. 上海国际医学中心, 上海 200120)

[摘要] 目的 建立 LC-MS/MS 测定大鼠血浆样品中夏枯草消瘤合剂有效成分浓度的方法, 并进行药动学研究。方法 采用 C₁₈ 色谱柱正离子模式下流动相为甲醇-水 (0.1% 甲酸) 体系, 梯度洗脱, 流速为 0.3 ml/min。负离子模式下流动相为乙腈-水 (0.1% 甲酸) 体系, 梯度洗脱, 流速为 0.4 ml/min。分别对正离子模式下咖啡酸、迷迭香酸、丁香酸、芦丁及负离子模式下白术内酯 II、白术内酯 III 进行测定。正常大鼠灌胃给予夏枯草消瘤合剂 7.8 ml/kg, 给药后在不同的时间点眼眶取血, 采用经过验证的 LC-MS/MS 法测定血药浓度并采用 DAS2.0 软件的非房室模型计算大鼠给药后的药动学参数。结果 夏枯草消瘤合剂药效成分咖啡酸等的药动学参数属于非房室模型, 夏枯草消瘤合剂大鼠给药后体内咖啡酸、迷迭香酸、丁香酸及白术内酯 III 等 4 种主要抗癌活性成分与文献报道单体给药后药动学特征相比, 均存在明显差异。结论 本研究建立的 UPLC-MS/MS 法快速、灵敏、准确, 适用于测定大鼠血浆中夏枯草消瘤合剂主要活性成分, 为其主要抗癌活性物质研究提供科学依据。

[关键词] 药动学; 夏枯草消瘤合剂; 液相色谱-串联质谱分析仪

[文章编号] 2097-2024(2023)06-0358-08

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202111008

In vivo pharmacokinetic study on determination of effective components in Xiakucao Xiaoliu mixture in Normal Rat Plasma By LC-MS/MS

DAI Yuanyuan^{1,5}, MA Minghua², XU Xiaohong³, WANG Xiaohe³, ZHANG Ruoxi¹, XU Zhiru⁴, NIAN Hua¹ (1. Yueyang hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Tradional Chinese Medicine, Shanghai 200437 China; 2. Department of Pharmacy, Yangpu Hospital, Tongji University, Shanghai 200090 China; 3. The Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201306 China; 4. State Key Laboratory of New Drug & Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203 China; 5. Shanghai International Medical Center, Shanghai 200120 China)

[Abstract] **Objective** To establish a method and study the pharmacokinetics for concentration determination of effective components in Xiakucao Xiaoliu mixture in Normal Rat Plasma By LC-MS/MS. **Methods** The mobile phase was methanol-water (0.1% formic acid) system under the positive ion mode of C₁₈ chromatographic column, gradient elution was adopted, and the flow rate was 0.3 ml/min. In the negative ion mode, the mobile phase was acetonitrile-water (0.1% formic acid) system, gradient elution, with a flow rate of 0.4 ml/min. Caffeic acid, rosmarinic acid, syringic acid, rutin in positive ion mode and Atractylodes lactone II and Atractylodes lactone III in negative ion mode were respectively determined. Normal rats were intragastrically given Xiakucao Xiaoliu Mixture 7.8 ml/kg, and blood was taken from the orbit at different time points after the administration. The blood concentration was determined by the validated LC-MS/MS method and the non-standard DAS2.0 software was used. The pharmacokinetic parameters of rats after administration were calculated by the compartment model. **Results** The pharmacokinetic parameters belonged to non atrioventricular model. The pharmacokinetic characteristics of the four main anti-cancer active ingredients of Caffeic acid, Rosmarinic acid, Syringic acid and Atractylodes III in rats after administration of Xiakucao Xiaoliu Mixture were significantly different from those reported in the literature after the administration of monomers. **Conclusion** The established method was simple, accurate and sensitive, which could be suitable for the content determination of effective components in Xiakucao Xiaoliu mixture in Normal Rat Plasma, which would be a valuable information for the study on main anticancer active substances.

[基金项目] 上海市中药专家传承工作室建设项目 (2020ZYGZS-002); 上海市卫生健康委员会中医药科研项目 (2020YP001)

[作者简介] 戴媛媛, 硕士, 药师, Tel: 15221192617, Email: shineyy1024@163.com

[通信作者] 徐智儒, 博士, 研究员, 研究方向: 药物代谢动力学, Email: zhiruxu@hotmail.com; 年 华, 博士, 主任药师, 研究方向: 中药临床药学, Email: jackynian@126.com

[Key words] Pharmacokinetics; Xiakucao Xiaoliu mixture; LC-MS

夏枯草消瘤合剂源于著名中医肿瘤学专家钱伯文教授的经验方,是上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院用于肿瘤治疗的特色院内制剂(批准文号:沪药制字 Z05050340),已在临床应用 30 余年,对于肺癌、肝癌、甲状腺癌等癌症治疗效果显著,现已成为医院肿瘤内科的一线用药。该方由夏枯草、生地黄、牡蛎、煅牡蛎、莪术、麸炒白术、麸炒苍术等七味药组成,具有化痰、散结、解毒的功效^[1-2]。

课题组前期采用高效液相色谱-飞行时间串联质谱(HPLC-TOF/MS)对夏枯草消瘤合剂中的 37 种主要药效成分进行了定性鉴别^[3]。通过文献检索,明确夏枯草消瘤合剂中主要含有咖啡酸^[4-6]、迷迭香酸^[7-9]、丁香酸^[10-12]、芦丁^[13-15]、白术内酯 II^[16-18]、白术内酯 III^[19-20] 等多种具有抗肺癌药理作用的活性成分。尽管夏枯草消瘤合剂临床疗效显著,抗癌活性成分明确,但作用机制尚不明确,因此,对夏枯草消瘤合剂开展体内药动学研究十分有必要。

笔者采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析技术,利用正常大鼠,经口灌胃给药,对夏枯草消瘤合剂中 6 种主要的抗癌活性成分进行体内药动学研究,为其临床合理用药评价提供必要的科学支持。

1 材料

1.1 仪器

Xevo TQ-S 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS); I-CLASS UPLC 液相色谱(Waters); CP225D 型电子天平(德国赛多利斯公司); Heraeus Fresco 21 小型高速冷冻离心机(赛默飞)。

1.2 试剂与药品

夏枯草消瘤合剂(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院);咖啡酸标准品(批号 111871-201706,含量以 99.7% 计)、迷迭香酸标准品(批号 110885-201703,含量以 98.1% 计)、芦丁标准品(批号 100080-201811,含量以 91.7% 计)、白术内酯 II 标准品(批号 111976-201501,含量以 99.9% 计)、白术内酯 III 标准品(批号 111978-201501,含量以 99.9% 计),以上标准品均由中国食品药品检定研究院提供;丁香酸标准品(批号 180919,北京北纳创联生物技术研究院,含量以 97% 计);内标对照品甲苯磺丁脲标准品(99.7%)、卡利拉嗪标准品(99.5%)均由实验室提供。

1.3 动物

健康 SD 大鼠 6 只,雌雄各半,每只体重约 250 g [动物使用许可证:SYXK(沪)2019-0027]。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱检测条件

色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)。正离子模式流动相为甲醇-水(0.1% 甲酸);流速为 0.3 ml/min;进样量为 2 μl;柱温为 40 °C,内标为卡利拉嗪。负离子模式流动相为乙腈-水(0.1% 甲酸);流速为 0.4 ml/min;进样量为 5 μl;柱温为 50 °C,内标为甲磺酸丁脲。离子源为电喷雾离子化源(ESI);源温度为 120 °C,雾化气体温度为 500 °C;毛细管电压为 3.2 kV;扫描方式为多反应监测(MRM)。待测物与内标的质谱检测参数见表 1。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取咖啡酸、迷迭香酸、芦丁、丁香酸、白术内酯 II、白术内酯 III 标准品适量,甲醇溶解配制 1 mg/ml 的对照品储备液。前 4 种储备液按比例混合后使用 50% 甲醇稀释,得到混标对照品溶

表 1 待测物及内标的质谱检测参数

化合物	检测方式	质谱扫描		锥孔电压 (P/V)	碰撞电压 (P/V)
		母离子	碎片离子		
咖啡酸	ESI-	178.94	135.04	28.00	16.00
迷迭香酸	ESI-	359.02	161.03	29.00	14.00
丁香酸	ESI-	196.95	181.96	15.00	12.00
芦丁	ESI-	609.09	299.98	39.00	32.00
甲苯磺丁脲(IS)	ESI-	268.94	169.84	43.00	18.00
白术内酯 II	ESI+	233.07	187.13	32.00	16.00
白术内酯 III	ESI+	293.11	63.09	55.00	18.00
卡利拉嗪(IS)	ESI+	427.26	382.04	25.00	24.00

表 2 对照品工作曲线和质控样品浓度

待测物	线性范围(ng/ml)	质控样品浓度(ng/ml)		
		低	中	高
咖啡酸	2~400	5	40	320
迷迭香酸	1.5~300	3.75	30	240
芦丁	2.5~500	6.25	50	400
丁香酸	5~1000	12.5	100	800
白术内酯 II	1.5~240	3	24	192
白术内酯 III	3~480	6	48	384

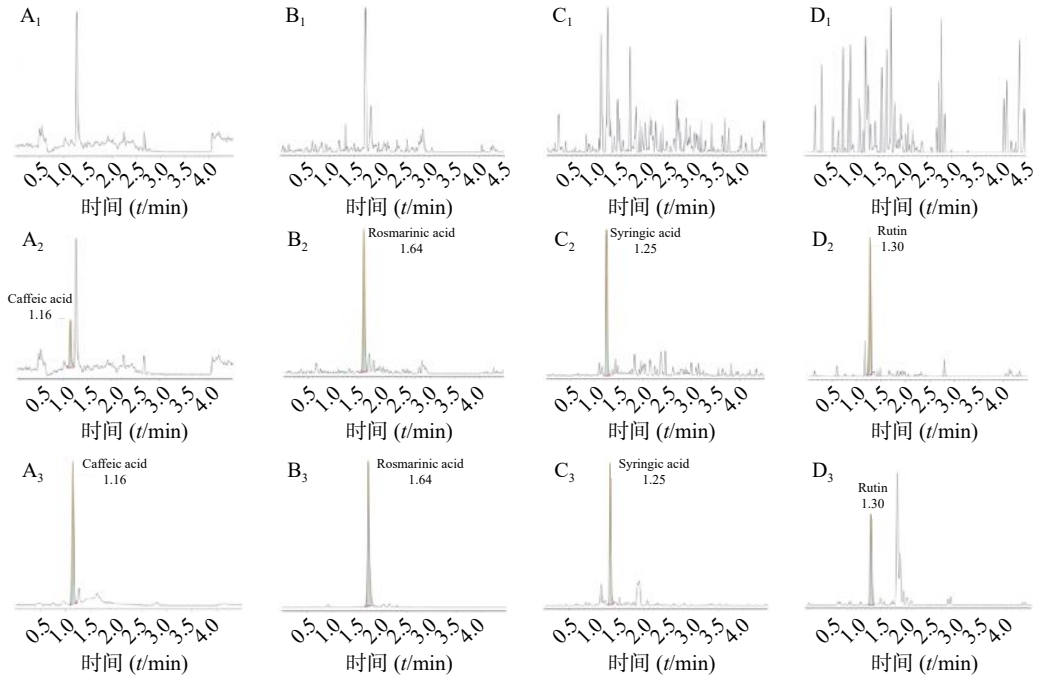


图1 部分成分的空白大鼠血浆、定量下限样品及给药样品色谱图(负离子IS⁻模式)

A.咖啡酸;B.迷迭香酸;C.丁香酸;D.芦丁;
下标1为空白大鼠血浆;下标2为定量下限样品;下标3为给药后生物血浆样品

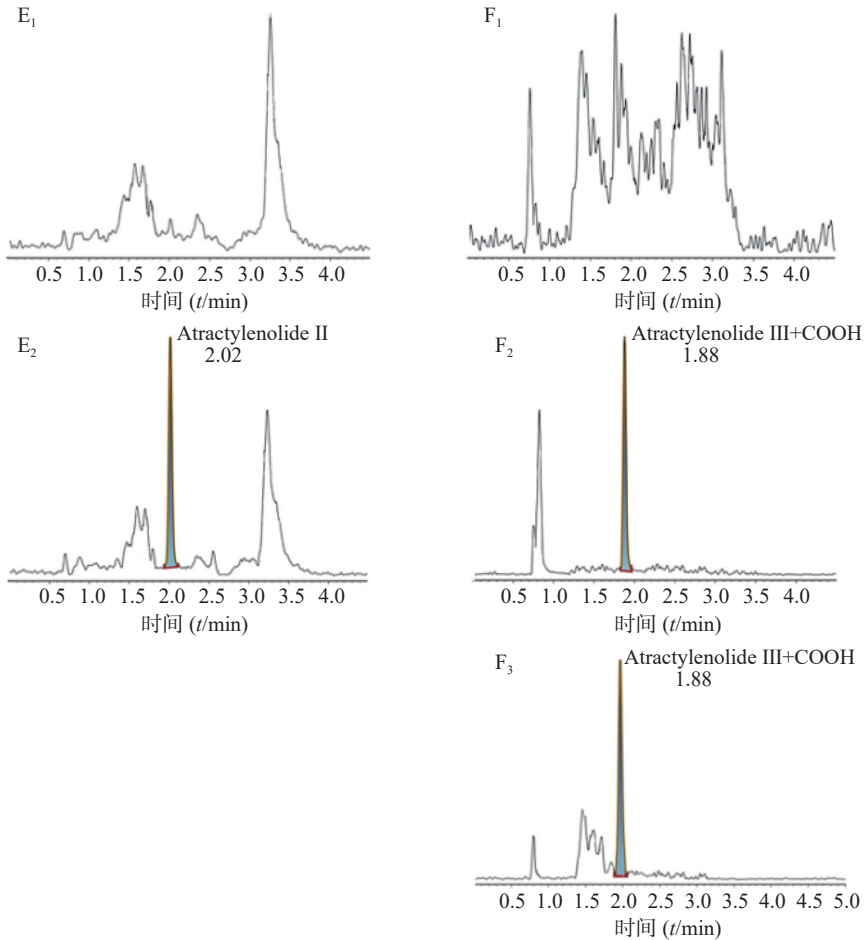


图2 部分成分的空白大鼠血浆、定量下限样品及给药样品色谱图(正离子IS⁺模式)

E.白术内酯II;F.白术内酯III;下标1为空白大鼠血浆,下标2为定量下限样品,下标3为给药后生物血浆样品;白术内酯II给药后样品未检出定性色谱峰,故未加入给药后色谱图

液 a; 另取白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ储备液按比例混合后使用 50% 甲醇稀释, 得到混标对照品溶液 b。

2.3 内标物溶液的配制

分别精密称取甲苯磺丁脲、卡利拉嗪标准品, 甲醇溶解配制 1 mg/ml 的对照品储备液, 并用 80% 甲醇稀释至 20 ng/ml 及 100 ng/ml, 备用。

2.4 工作曲线和质控样品的制备

取“2.2”项下混标对照品溶液 a 5 μ l、大鼠空白血浆 50 μ l, 混匀得到不同浓度的工作曲线样本。加入内标溶液 5 μ l、1 mol/L 盐酸 30 μ l, 混匀后加入 400 μ l 乙酸乙酯, 震荡 10 min 后离心 (13 000 r/min, 10 min, 4 $^{\circ}$ C), 取 360 μ l 上清液, 40 $^{\circ}$ C 条件氮气吹

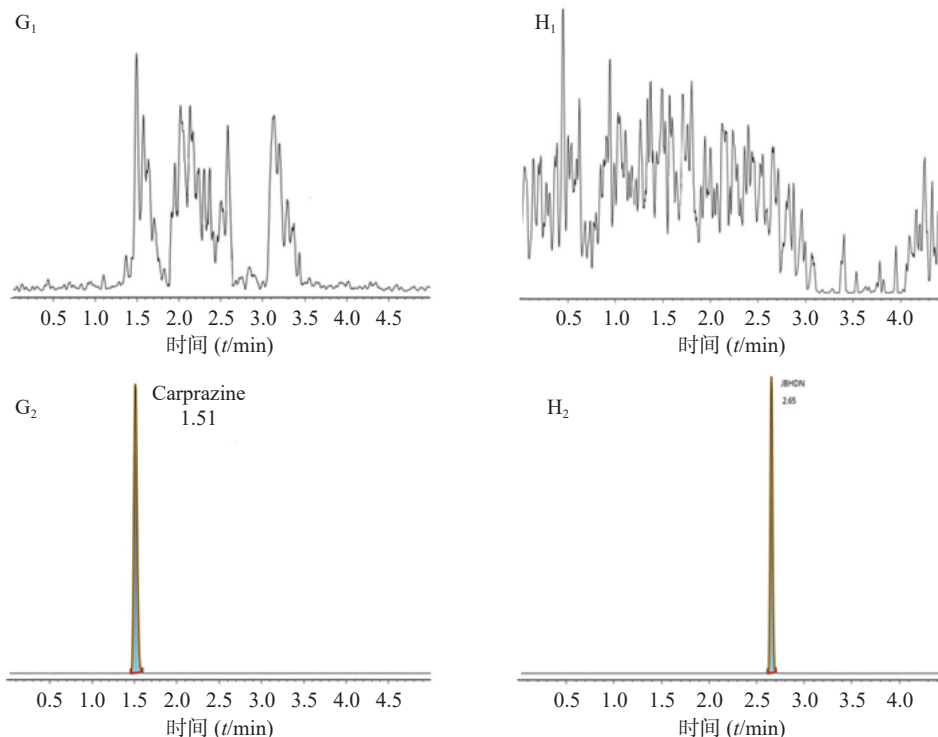


图3 内标的空白血浆与标准样品色谱图

G. 卡利拉嗪 (IS⁺模式); H. 甲苯环丁脲 (IS⁺模式); 下标 1 为内标空白大鼠血浆, 下标 2 为内标标准样品

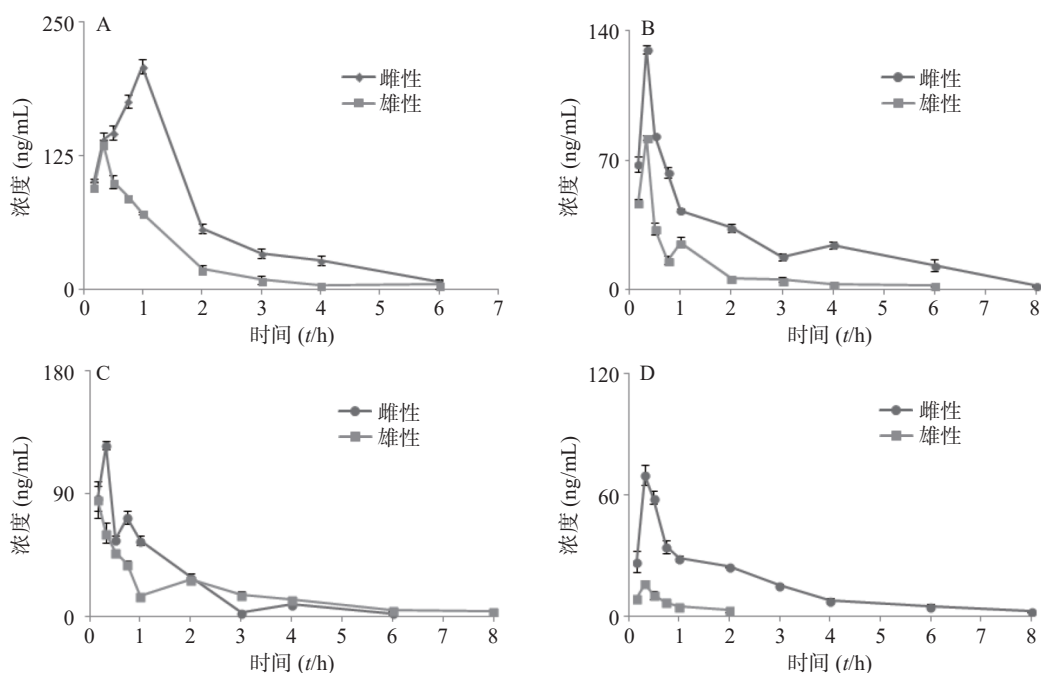


图4 待测物在大鼠体内的平均血药浓度-时间曲线

A. 咖啡酸; B. 迷迭香酸; C. 丁香酸; D. 白术内酯Ⅲ

干。用 50 μl 50% 甲醇复溶,离心 (13 000 r/min, 3 min, 4 °C), 取上清即得负离子质控样本。正离子质控样本制备则取“2.2”项下混标对照品溶液 b 5 μl, 操作同前, 在加入内标溶液后, 加入 5% 氢氧化钠溶液 30 μl 后, 同负离子质控样品操作, 即得。对照品工作曲线和质控样品浓度见表 2。

表 3 血浆标准曲线数据

待测物	线性范围(ng/ml)	标准曲线	相关系数r-
咖啡酸	2 ~ 400	$Y=7.31 \times 10^{-4} + 1.28 \times 10^{-3} X$	0.998 7
迷迭香酸	1.5 ~ 300	$Y=-4.79 \times 10^{-4} + 8.11 \times 10^{-4} X$	0.998 8
芦丁	2.5 ~ 500	$Y=5.96 \times 10^{-4} + 8.98 \times 10^{-5} X$	0.998 7
丁香酸	5 ~ 1000	$Y=1.13 \times 10^{-4} + 3.55 \times 10^{-5} X$	0.998 4
白术内酯 II	1.5 ~ 240	$Y=8.62 \times 10^{-3} + 1.52 \times 10^{-2} X$	0.998 3
白术内酯 III	3 ~ 480	$Y=2.05 \times 10^{-5} + 1.98 \times 10^{-3} X$	0.998 3

表 4 准确度与精密度测定结果

成分	理论浓度 (ng/ml)	日内(n=5)		日间(n=5)	
		RSD (%)	准确度 (%)	RSD (%)	准确度 (%)
咖啡酸	2	6.7	80.8	16.6	95.6
	5	8.4	87.1	12.8	94.9
	40	7.5	99.0	8.8	97.3
	320	7.9	96.7	6.4	96.3
迷迭香酸	1.5	12.0	118.7	9	117.3
	3.75	3.6	94.4	9	96.4
	30	12.0	94.5	10.7	96.3
	240	11.0	100.7	6.9	102.3
丁香酸	5	6.1	111.4	13.8	105.2
	12.5	8.8	87.3	13	96.9
	100	7.3	93.5	12.5	94.7
	800	11.6	103.4	9.8	105.3
芦丁	2.5	11.3	87.2	12.2	91.8
	6.25	3.4	93.9	12.6	95.4
	50	9.0	98.6	11.3	92.1
	400	8.0	102.0	9.9	96.9
白术内酯 II	1.5	11.9	95.7	12.5	100.9
	3	9.3	100.9	12.4	101.3
	24	10.9	97.8	11.8	99.8
	192	8.7	99.7	8.9	93.9
白术内酯 III	3	14.8	95.9	15.4	101.4
	6	12.4	108.0	12.8	105.9
	48	8.2	102.9	7.7	100.2
	384	3.5	103.1	9.2	99.1

2.5 血浆样品处理

精密吸取大鼠血浆样本 50 μl, 加入内标溶液 5 μl、50% 甲醇溶液 5 μl 后, 按“2.4”项下处理, 取上清液进行分析。

2.6 专属性研究

空白大鼠血浆、定量下限样品及给药后血浆样品中, 咖啡酸、迷迭香酸、丁香酸、芦丁(负离子模式)的色谱图见图 1, 白术内酯 II、白术内酯 III(正离子模式)的色谱图见图 2, 内标甲苯磺丁脲、卡利拉嗪的色谱图见图 3。实验结果可见, 大鼠血浆中的内源性物质均不干扰各待测成分以及内标的测定。

2.7 标准曲线及线性范围

按“2.4”项下制备系列标准血浆样品溶液, 每

表 5 待测物提取回收率结果

成分	提取回收率(%)	RSD(%)
咖啡酸	75.16±0.04	5.5
	75.36±0.09	11.9
迷迭香酸	76.56±0.05	6.3
	75.07±0.07	9.4
芦丁	60.62±0.08	12.7
	60.62±0.05	9.0
丁香酸	103.9±0.07	6.3
	92.97±0.13	14.1
白术内酯 II	53.48±0.07	12.5
	50.04±0.04	7.5
白术内酯 III	58.47±0.06	9.9
	62.54±0.06	9.1
卡利拉嗪(IS)	74.47±0.07	9.8
甲苯磺丁脲(IS)	98.77±0.05	4.6

表 6 内标均一化后待测物基质效应结果

成分	基质效应(%)	RSD(%)
咖啡酸	113.2±0.11	10.0
	112.0±0.10	8.6
迷迭香酸	104.8±0.08	7.7
	108.6±0.04	3.8
芦丁	109.0±0.10	9.2
	104.1±0.06	5.9
丁香酸	114.5±0.12	10.5
	110.0±0.10	9.4
白术内酯 II	99.7±0.10	9.9
	107.8±0.15	14.0
白术内酯 III	166.7±0.08	13.7
	169.8±0.04	11.5

个浓度平行3份。以各待测物峰面积与内标峰面积的比值 (A_S/A_{IS} , Y) 对相应的浓度 (C , X) 进行加权回归 (权重为 $1/X^2$), 得到各待测物在大鼠血浆中的标准曲线数据, 见表3。相关系数 $r > 0.9983$, 各待测物在浓度范围内呈线性, 且线性关系良好。

2.8 准确度和精密度

按照“2.4”项下方法配制定量下限、低、中及高4个浓度的大鼠血浆质控样品各5份, 连续测定3批。精密度与准确度结果见表4。

2.9 提取回收率

按照“2.4”项下方法配制低、高两个浓度的大鼠血浆质控样品, 平行制备6份, 作为基质样品。取大鼠空白血浆50 μ l, 按“2.4”项下操作至复溶时加入混标溶液5 μ l、内标溶液5 μ l、50% 甲醇40 μ l 混匀并离心取上清液, 作为提取基质样品。通过基质样品峰面积与提取基质样品峰面积的比值求得方法的回收率, 结果见表5, 回收率在50%~110%, RSD 小于15%, 待测成分提取回收率良好。

2.10 稳定性考察

按照“2.4”项下方法配制低、高两个浓度的大鼠血浆质控样品均平行制备5份, 根据当日随行的标准曲线计算样品浓度, 考察处理前放置4 h、冻融循环1次(-80 $^{\circ}$ C)、放置1周(-80 $^{\circ}$ C)、处理后放置4 h和进样器内(4 $^{\circ}$ C)放置24 h的稳定性, 结果准确度在85%~115%范围内, RSD 小于15%, 在上述条件下样品稳定。

2.11 稳基质效应考察

取对照品工作溶液5 μ l、内标溶液5 μ l、50% 甲醇40 μ l 混匀后, 作为无基质样品进行UPLC-MS/MS分析。按照“2.4”项下方法制备提取基质样品。低、高两个浓度样品均平行制备6份。

通过提取基质样品中待测物峰面积与无基质

样品待测物峰面积的比值比上提取基质样品中内标的峰面积与无基质样品中内标峰面积的比值即为基质效应, 结果见表6, 白术内酯III基质效应较高, 但高、低浓度对基质效应影响较为一致, 不影响测量结果的准确性。基质效应RSD 小于15%, 样品中基质对方法无影响。

2.12 大鼠体内药动学

SD大鼠6只, 采取灌胃给药7.8 ml/kg, 给药后分别于0、10、20、30、45 min, 以及1、2、3、4、6、8、10 h眼眶采全血约100 μ l(1% 肝素抗凝), 低温(4 $^{\circ}$ C)离心8000 r/min, 8 min, 分别取50 μ l 上清液于对应离心管中, -80 $^{\circ}$ C 低温备用。

大鼠经口灌胃夏枯草消瘤合剂后, 各待测物在大鼠体内的平均血药浓度-时间曲线见图4, 采用DAS2.0软件的非房室模型计算分析大鼠给药后的药动学参数, 详见表7。其中芦丁在大鼠体内血药浓度低于定量下限, 白术内酯II在生物样品中未被检测出, 故未能进行计算。

3 讨论

本次实验采用单次灌胃给予夏枯草消瘤合剂, 给药后不同时间点眼眶取血, 利用LC-MS/MS检测合剂中主要药效成分(包括咖啡酸、迷迭香酸、丁香酸、白术内酯III等)的血药浓度, 并绘制“药-时曲线”, 结果呈现出典型的血管外给药特征。其中, 咖啡酸和迷迭香酸在大鼠体内代谢的半衰期及达峰时间较两种成分单独代谢均显著延长^[21], 表明复方配伍可以减缓咖啡酸和迷迭香酸在大鼠体内代谢速度, 延长两者在体内发挥作用的时间, 起到了增加疗效的作用。其中, 咖啡酸为迷迭香酸的代谢产物^[22], 合剂中咖啡酸半衰期及达峰时间的延长可能与迷迭香酸等酚酸类成分的代谢相关, 迷迭香酸

表7 夏枯草消瘤合剂中有效成分在大鼠体内的药动学参数

参数	咖啡酸		迷迭香酸		丁香酸		白术内酯III	
	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性	雌性	雄性
AUC _(0-t) (mg·h/L)	384.1±2.946**	156.6±3.658	203.6±9.177**	67.57±2.932	151.5±9.637	115.8±18.63	114.0±2.869**	10.32±3.749
AUC _(0-∞) (mg·h/L)	395.5±7.342**	161.8±4.451	230.7±32.08*	73.84±7.545	167.0±11.45	144.8±11.22	125.3±5.275**	12.33±2.454
MRT _(0-t) (t/h)	1.596±0.05	0.997±0.052	2.265±0.136	1.339±0.056	1.219±0.020	1.846±0.616	1.959±0.212	0.573±0.178
MRT _(0-∞) (t/h)	1.771±0.122	1.110±0.05	3.285±1.298	2.205±0.776	1.634±0.067	3.082±0.605	2.707±0.253	0.890±0.213
t _{1/2z} (t/h)	1.041±0.094	0.765±0.060	2.160±1.005	2.071±1.334	1.199±0.097	2.137±0.402	1.797±0.346*	0.426±0.040
t _{max} (t/h)	1**	0.33	0.33	0.33	0.33*	0.167	0.33	0.33
CL _{ZF} (L/h)	0.008±0.001**	0.018±0.001	0.013±0.002**	0.041±0.004	0.018±0.001	0.021±0.002	0.024±0.001*	0.249±0.045
c _{max} (mg/L)	208.2±6.721**	136.0±3.798	129.9±2.462**	82.46±1.373	125.057±3.101*	85.510±13.597	69.90±5.080**	16.23±1.411

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与雄性大鼠组比较。

的代谢造成了体内咖啡酸的总量增加,间接造成了咖啡酸“在体内拥有更长的滞留时间及进入血液循环更高的药物浓度”的表象。此外,丁香酸的药时曲线出现双峰,而此前未有文献报道此类情况,原因有待进一步研究。白术内酯 III 在复方中代谢与其单独代谢时相比达峰时间明显缩短^[23],可能是复方中的成分影响体内代谢酶活性,进而促进了白术内酯 III 的代谢。

本研究结果显示,合剂中各成分的代谢均存在显著性别差异。咖啡酸在雌性与雄性大鼠体内暴露的 AUC 值具有 2 倍的差异,且雌性相较于雄性到达 t_{\max} (峰浓度时间)有 30 min 延迟,提示雌雄个体间药物进入血液循环的相对量及达峰时间存在明显的差异。同样,白术内酯 III 的性别差异也极为明显,AUC 存在约 10 倍的差异,MRT、 $t_{1/2}$ 、 c_{\max} 存在 4 倍差异,提示白术内酯 III 在雌性体内仍发挥药效的同时在雄性大鼠体内早已被清除。现有研究证实^[24-25],大鼠药动学的性别差异主要原因是雌性与雄性大鼠肝中 CYP450 酶的种类差异。大鼠与人类的 CYP450 酶系在酶的组成和活性上亦存在明显差异^[26]。

在夏枯草消瘤合剂用于临床治疗非小细胞肺癌的合理用药方案制订、与化疗药物等相互作用评价、药物本身体内代谢过程监测及根据患者性别不同的个体差异化给药方案调整等过程中,本次实验的研究结果将为中药临床药动学方面的评估提供科学依据。

【参考文献】

- [1] 马明华,汪晓河,戴媛媛,等.夏枯草消瘤合剂对Lewis肺癌小鼠的药效作用[J].药学实践杂志,2020,38(1):57-62.
- [2] 贺天临,谢国群,陈洁,等.夏枯草消瘤合剂联合化疗治疗中晚期非小细胞肺癌30例[J].上海中医药大学学报,2015,29(5):29-32.
- [3] 戴媛媛,汪晓河,马明华,等.高效液相-高分辨飞行时间质谱对复方夏枯草消瘤方化学成分鉴别[J].药学实践杂志,2020,38(2):138-142,155.
- [4] MIN J, SHEN H, XI W, et al. Synergistic anticancer activity of combined use of caffeic acid with paclitaxel enhances apoptosis of non-small-cell lung cancer H1299 cells *in vivo* and *in vitro*[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(4): 1433-1442.
- [5] LI Y, JIANG F, CHEN L J, et al. Blockage of TGF β -SMAD2 by demethylation-activated miR-148a is involved in caffeic acid-induced inhibition of cancer stem cell-like properties *in vitro* and *in vivo*[J]. *FEBS Open Bio*, 2015, 5(1): 466-475.
- [6] TYSZKA-CZOCHARA M, BUKOWSKA-STRAKOVA K, KOCEMBA-PILARCZYK K A, et al. Caffeic acid targets AMPK signaling and regulates tricarboxylic acid cycle anaplerosis while metformin downregulates HIF-1 α -induced glycolytic enzymes in human cervical squamous cell carcinoma lines[J]. *Nutrients*, 2018, 10(7): 841-862.
- [7] LIAO X Z, GAO Y, SUN L L, et al. Rosmarinic acid reverses non-small cell lung cancer cisplatin resistance by activating the MAPK signaling pathway[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(5): 1142-1153.
- [8] XU Y, HAN S, LEI K, et al. Anti-Warburg effect of rosmarinic acid via miR-155 in colorectal carcinoma cells[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2016, 25(6): 481-489.
- [9] 周勇,王帅,华银槐,等.迷迭香酸调节PD-1/B7-H1(PD-L1)信号通路对非小细胞肺癌细胞增殖的抑制研究[J].中华中医药学刊,2020,38(6):147-151,272.
- [10] ZHANG L, LIU R, NIU W. Phytochemical and antiproliferative activity of proso millet[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104058.
- [11] CHEEMANAPALLI S, ANURADHA C M, MADHUSUDHANA P, et al. Exploring the binding affinity of novel syringic acid analogues and critical determinants of selectivity as potent proteasome inhibitors[J]. *Anti Cancer Agents Med Chem*, 2016, 16(11): 1496-1510.
- [12] KARTHIK G, ANGAPPAN M, VIJAYAKUMAR A, et al. Syringic acid exerts antiangiogenic activity by downregulation of VEGF in zebrafish embryos[J]. *Biomed Prev Nutr*, 2014, 4(2): 203-208.
- [13] 孔祥虎,李志欣,房丽君,等.芦丁对人肺癌A549/DDP细胞耐药性的逆转作用及其机制[J].中国免疫学杂志,2019,35(19):2332-2336.
- [14] KHAN F, PANDEY P, UPADHYAY T K, et al. Anti-cancerous effect of rutin against HPV-C33A cervical cancer cells via G0/G1 cell cycle arrest and apoptotic induction[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2020, 20(3): 409-418.
- [15] SALEH A, ELFAYOUMI H M, YOUNS M, et al. Rutin and orlistat produce antitumor effects via antioxidant and apoptotic actions[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2019, 392(2): 165-175.
- [16] TIAN S, YU H D. Atractylenolide II inhibits proliferation, motility and induces apoptosis in human gastric carcinoma cell lines HGC-27 and AGS[J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1886.
- [17] WANG J, NASSER M, ADLAT S, et al. Atractylenolide II induces apoptosis of prostate cancer cells through regulation of AR and JAK2/STAT3 signaling pathways[J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3298.
- [18] ZHANG R, WANG Z, YU Q, et al. Atractylenolide II reverses the influence of lncRNA XIST/miR-30a-5p/ROR1 axis on chemo-resistance of colorectal cancer cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3151-3165.
- [19] JI G Q, CHEN R Q, WANG L. Anti-inflammatory activity of atractylenolide III through inhibition of nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways in mouse macrophages[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2016, 38(2): 98-102.
- [20] YOOU M S, NAM S Y, JIN M H, et al. Ameliorative effect of

- atractylenolide III in the mast cell proliferation induced by TSLP[J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 106(pt a): 78-85.
- [21] KONISHI Y, HITOMI Y, YOSHIDA M, et al. Pharmacokinetic study of caffeic and rosmarinic acids in rats after oral administration[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(12): 4740-4746.
- [22] 郭少波, 徐露露, 蒋丽娟, 等. 迷迭香酸的大鼠体内代谢产物及代谢途径分析[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(21): 4704-4712.
- [23] WANG R, WANG G, HAO H, et al. Quantitative determination of atractylenolide III in rat plasma by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 831(1-2): 36-41.
- [24] WAXMAN D J. Rat hepatic cytochrome P-450 isoenzyme 2c. Identification as a male-specific, developmentally induced steroid 16 alpha-hydroxylase and comparison to a female-specific cytochrome P-450 isoenzyme[J]. *J Biol Chem*, 1984, 259(24): 15481-15490.
- [25] WAXMAN D J, DANNAN G A, GUENGERICH F P. Regulation of rat hepatic cytochrome P-450: age-dependent expression, hormonal imprinting, and xenobiotic inducibility of sex-specific isoenzymes[J]. *Biochemistry*, 1985, 24(16): 4409-4417.
- [26] 赵阳, 柳晓泉, 钱之玉, 等. 药物代谢的性别差异[J]. *药学进展*, 2001, 25(5): 289-293.
- [收稿日期] 2021-11-02 [修回日期] 2022-03-27
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 351 页)

- [67] RAMADAS B, KUMAR PAIN P, MANNA D. LYTAGs: an emerging tool for the degradation of non-cytosolic proteins[J]. *ChemMedChem*, 2021, 16(19): 2951-2953.
- [68] SCHERZINGER E, LURZ R, TURMAINE M, et al. Huntingtin-encoded polyglutamine expansions form amyloid-like protein aggregates in vitro and in vivo[J]. *Cell*, 1997, 90(3): 549-558.
- [69] LI Z Y, WANG C, WANG Z Y, et al. Allele-selective lowering of mutant HTT protein by HTT-LC3 linker compounds[J]. *Nature*, 2019, 575(7781): 203-209.
- [70] PEI J P, PAN X L, WANG A X, et al. Developing potent LC3-targeting AUTAC tools for protein degradation with selective autophagy[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2021, 57(97): 13194-13197.
- [71] DONG G Q, WU Y, CHENG J F, et al. Ispinesib as an effective warhead for the design of autophagosome-tethering chimeras: discovery of potent degraders of nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(11): 7619-7628.
- [72] FU Y H, CHEN N X, WANG Z Y, et al. Degradation of lipid droplets by chimeric autophagy-tethering compounds[J]. *Cell Res*, 2021, 31(9): 965-979.
- [73] ANDING A L, BAEHRECKE E H. Cleaning House: Selective Autophagy of Organelles[J]. *Dev Cell*, 2017, 41(1): 10-22.
- [74] TAKAHASHI D, MORIYAMA J, NAKAMURA T, et al. AUTACs: cargo-specific degraders using selective autophagy[J]. *Mol Cell*, 2019, 76(5): 797-810.
- [75] JI C H, KIM H Y, LEE M J, et al. Author Correction: the AUTOTAC chemical biology platform for targeted protein degradation via the autophagy-lysosome system[J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 2108.
- [76] LEBRAUD H, WRIGHT D J, JOHNSON C N, et al. Protein degradation by In-cell self-assembly of proteolysis targeting chimeras[J]. *ACS Cent Sci*, 2016, 2(12): 927-934.
- [77] COTTON A D, NGUYEN D P, GRAMESPACHER J A, et al. Development of antibody-based PROTACs for the degradation of the cell-surface immune checkpoint protein PD-L1[J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(2): 593-598.
- [78] XUE G, WANG K, ZHOU D L, et al. Light-induced protein degradation with photocaged PROTACs[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(46): 18370-18374.
- [79] PFAFF P, SAMARASINGHE K T G, CREWS C M, et al. Reversible spatiotemporal control of induced protein degradation by bistable PhotoPROTACs[J]. *ACS Cent Sci*, 2019, 5(10): 1682-1690.
- [收稿日期] 2023-03-06 [修回日期] 2023-05-11
[本文编辑] 李睿旻