

[制剂]

鹿角方中 10 种成分在慢性心力衰竭大鼠左右肾脏中的组织分布

马静雅, 时潇丽, 刘力*

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021)

摘要: **目的** 考察鹿角方中补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、柚皮苷、橙皮苷、淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 I 在慢性心力衰竭大鼠左右肾脏中的组织分布。**方法** 经腹主动脉缩窄建立慢性心力衰竭模型后, 大鼠灌胃给予鹿角方混悬液 (0.16、0.31、0.63 g/mL) 30 周。LC-MS/MS 法测定各成分含有量, 分析采用 Phenomenex Luna-C₁₈ 色谱柱 (2.0 mm×100 mm, 5 μm); 流动相水-乙腈-0.1% 甲酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 40 °C; 电喷雾离子源正离子扫描模式, 多反应监测。**结果** 10 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999 0$), 相对回收率 86.53%~111.96%, 基质效应 RSD 1.09%~12.66%。给药 2 h 后, 同一剂量组大鼠左右肾脏中各成分含有量无明显差异 ($P>0.05$), 但除了宝藿苷 I 外, 左肾中其他 9 种成分平均含有量低于右肾中。各成分含有量随着给药剂量增加而升高, 线性拟合度大于 0.882 5。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于研究鹿角方治疗慢性心力衰竭的药效物质基础。

关键词: 鹿角方; 化学成分; 慢性心力衰竭; 肾组织分布; LC-MS/MS

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)08-1965-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.08.001

Tissue distribution of ten constituents of Lujiao Decoction in left and right kidneys of rats with chronic heart failure

MA Jing-ya, SHI Xiao-li, LIU Li*

(Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the tissue distribution of psoralen, isopsoralen, loganin, naringin, hesperidin, icariin, epimedin A, epimedin B, epimedin C and baohuoside I of Lujiao Decoction in left and right kidneys of rats with chronic heart failure. **METHODS** The models for chronic heart failure were established by abdominal aorta banding, after which rats were given intragastric administration of Lujiao Decoction suspensions (0.16, 0.31, 0.63 g/mL) for 30 weeks. LC-MS/MS was adopted in the content determination of various constituents. The analysis was performed on a 40 °C thermostatic Phenomenex Luna-C₁₈ column (2.0 mm×100 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of water-acetonitrile-0.1% formic acid flowing at 0.8 mL/min in a gradient elution manner, and electrospray ionization source was scanned in positive ion mode with multiple reaction monitoring. **RESULTS** Ten constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999 0$), whose relative recoveries were 86.53% - 111.96% with the matrix effect RSDs of 1.09% - 12.66%. At 2 h after administration, the contents of various constituents in left and right kidneys of rats demonstrated no obvious differences in the same dose group ($P>0.05$), but the average contents of the other nine constituents (except for baohuoside I) in left kidneys were lower than those in the right kidneys. The contents of various constituents were increased with the enhancement of administration dose, whose linear fitting degrees were more than 0.882 5. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be applied to studying the pharmacodynamic substance basis

收稿日期: 2020-05-07

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81573648)

作者简介: 马静雅 (1994—), 女 (回族), 博士生, 从事中药新药研究。Tel: (021) 20256808, E-mail: majingya9437@126.com

* 通信作者: 刘力 (1961—), 女, 主任药师, 博士生导师, 从事中药学和临床药学研究。Tel: (021) 53827660, E-mail: liuli2750@

of Lujiao Decoction in treating chronic heart failure.

KEY WORDS: Lujiao Decoction; chemical constituents; chronic heart failure; renal tissue distribution; LC-MS/MS

鹿角方由鹿角胶、淫羊藿、补骨脂、山茱萸、女贞子、陈皮6味药材组成,来源于上海中医药大学附属曙光医院心内科胡婉英教授^[1]。该方是依据“水火既济,心肾相关”“从肾治心”的中医理论,结合多年临床实践拟定的治疗慢性心力衰竭的补肾强心方,已在临床上安全使用二十余年,疗效确切。

现代药理和临床研究表明,鹿角方具有改善肾功能^[2]、抑制心肌肥厚^[3]、逆转心肌纤维化及心室重构^[4]等作用。课题组前期建立液质联用方法同时测定复方鹿角颗粒中18种氨基酸^[5]、13种成分^[6]的含有量,并对其入血成分^[7]及心脏组织分布^[8]进行了初步分析,但目前尚无关于它在慢性心力衰竭大鼠中肾脏分布的报道。因此,本实验在前期研究的基础上采用液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)法,对鹿角方中10种成分在慢性心力衰竭大鼠左右肾脏中的组织分布进行分析,以期为该方药效物质基础及发挥“从肾治心”作用的研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Triple-Quad 4500 质谱仪(美国 AB SCIEX 公司),含三重四极杆线性离子阱串联质量分析器、ESI 离子源、Analyst Software 色谱工作站; TG332A 微量分析天平、FA2004 电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司); SK7200B 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); VtexMixer VX200 涡旋混合器(美国 Labnet 公司); LEGEND MICRO 21R 高速离心机(美国 Thermo Scientific 公司); NDK200-2 氮吹仪(杭州米欧仪器有限公司); F610 手持组织匀浆机、JXFSTPR-24 自动匀浆机(上海净信科技有限公司)。

1.2 试剂与药物 鹿角方浸膏由上海中医药大学附属曙光医院制剂实验室制得,每1g浸膏粉含5.13g生药。马钱苷(批号111640-201005)、柚皮苷(批号110722-201312)、橙皮苷(批号110721-201818)、补骨脂素(批号110739-200814)、异补骨脂素(批号110738-201715)、淫羊藿苷(批号110737-200415)、宝藿苷I(批号113558-15-9)对照品及瑞格列奈(批号100753-

201303)均购自中国食品药品检定研究院。朝藿定A(批号110623-72-8)、朝藿定B(批号110623-73-9)、朝藿定C(批号111780-201503)对照品均购自上海同田生物技术股份有限公司。乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯,均购自德国 CNW 公司。

1.3 动物 SPF 级 Wistar 雄性大鼠,体质量 180~200 g,由上海中医药大学实验动物中心提供,动物使用许可证号 SYXK(沪)2014-0008,在 18~24 °C 下饲养,自由饮水进食。研究已获得上海中医药大学动物伦理实验委员会批准。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱 Phenomenex Luna-C₁₈ 色谱柱(2.0 mm×100 mm, 5 μm);流动相水(A)-乙腈(B)-0.1%甲酸(C),洗针液 50% 甲醇,梯度洗脱(0~0.1 min, 9% B, 90% C; 0.1~6.0 min, 9%~36% B, 90%~60% C; 6.0~9.0 min, 36%~72% B, 60%~20% C; 9.0~10.0 min, 72%~81% B, 20%~10% C; 10.0~12.0 min, 81% B, 10% C; 12~12.01 min, 81%~9% B, 10%~90% C; 12.01~15.0 min, 9% B, 90% C);体积流量 0.8 mL/min;柱温 40 °C;样品室温度 4 °C;进样量 10 μL。

2.1.2 质谱 电喷雾离子源正离子扫描模式,多反应监测;气帘气 25 psi(1 psi=0.133 kPa);碰撞气 9 psi,离子喷雾电压 5 500 V;离子源温度 550 °C;雾化气压 55 V;辅助气压 55 V;去簇电压、射入电压、碰撞能量、碰撞室射出电压见表 1。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取各对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,混匀,各精密吸取适量,50% 甲醇稀释,即得。

2.2.2 内标溶液 精密称取瑞格列奈适量,置于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,混匀,精密吸取适量,50% 甲醇稀释,即得(50 ng/mL)。

2.2.3 标准曲线样品溶液 取 300 μL 空白肾组织匀浆液,精密加入对照品、内标溶液各 10 μL 后进行预处理,即得(马钱苷、柚皮苷、橙皮苷、朝

表1 质谱选择器通道及相关参数

Tab. 1 MS selector channels and relative parameters

成分	m/z	去簇电 压/V	射入电 压/V	碰撞能 量/V	碰撞室射 出电压/V
补骨脂素	187.1/131.1	80	10	35	10
异补骨脂素	187.1/131.1	80	10	35	10
马钱苷	408.2/229.1	40	7	15	9
柚皮苷	581.3/273.1	50	10	25	6
橙皮苷	611.2/303.1	60	5	35	12
淫羊藿苷	677.3/531.2	60	9	24	14
朝藿定 A	839.3/369.1	80	7	50	12
朝藿定 B	809.3/369.2	50	9	50	10
朝藿定 C	823.4/369.2	70	7	55	12
宝藿苷 I	515.2/369.1	60	9	16	15
瑞格列奈(正离 子模式内标)	453.3/230.2	80	10	30	10

藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、宝藿苷 I 质量浓度分别为 0.072~72、0.144~144、0.096~96、0.072~72、0.072~72、0.072~72、0.036~36、0.481~481、0.572~572、0.024~24 ng/mL)。同法制备质量控制样品溶液。

2.3 样品预处理 采用乙腈沉淀蛋白法。精密吸取 300 μ L 空白肾组织匀浆液，精密加入 10 μ L 内标溶液，涡旋混匀 1 min 后精密加入 4 倍量乙腈沉淀蛋白，涡旋振荡 3 min，4 $^{\circ}$ C 下 10 000 r/min 离心 10 min，取上清液，常温下氮气吹干，浓缩后精密加入 150 μ L 50% 甲醇复溶，涡旋振荡 2 min，4 $^{\circ}$ C 下 10 000 r/min 离心 10 min，吸取上清液进行 LC-MS/MS 分析。

2.4 慢性心力衰竭大鼠模型建立 参考文献 [9]，大鼠术前禁食，腹腔注射 4% 水合氯醛麻醉后仰卧位固定，于剑突下 0.5 cm 处沿腹白线依次打开腹腔，用已浸润过生理盐水的棉球拨开肠道，在左肾上缘钝性分开后腹膜等软组织，暴露腹主动脉，在双侧肾动脉之间分离腹主动脉，用 4-0 号真丝编织线将腹主动脉与 6 号钝头不锈钢针结扎，待线扎紧后取出不锈钢针，结扎处明显窄缩时依次缝合肌层、皮肤；假手术组大鼠开腹、暴露腹主动脉后不结扎，其余操作步骤同模型组。术后大鼠保温，肌肉注射青霉素，连续 3 d，每天 1 次。

2.5 给药方案及肾组织采集 建模后，将存活的大鼠随机分为假手术组、模型组及鹿角方低剂量组 (0.16 g/mL)、中剂量组 (0.31 g/mL)、高剂量组 (0.63 g/mL) (分别取鹿角方浸膏粉 8、15.5、

31.5 g 于离心管中，加水定容至 50 mL)，假手术组、模型组大鼠灌胃给予蒸馏水，鹿角方各剂量组大鼠灌胃给予相应药物混悬液，各组给药剂量均为 7 mL/kg，每天 1 次，连续 30 周。根据前期预实验结果，本实验在末次灌胃给药后 2 h 麻醉大鼠，腹主动脉取血，置于离心管中，迅速取出左右肾脏，生理盐水清洗残留血液，加入 4 倍量蒸馏水匀浆，-80 $^{\circ}$ C 下保存。

2.6 统计学分析 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)， $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。采用线性拟合方法，分析各成分含有量与给药剂量的关系。

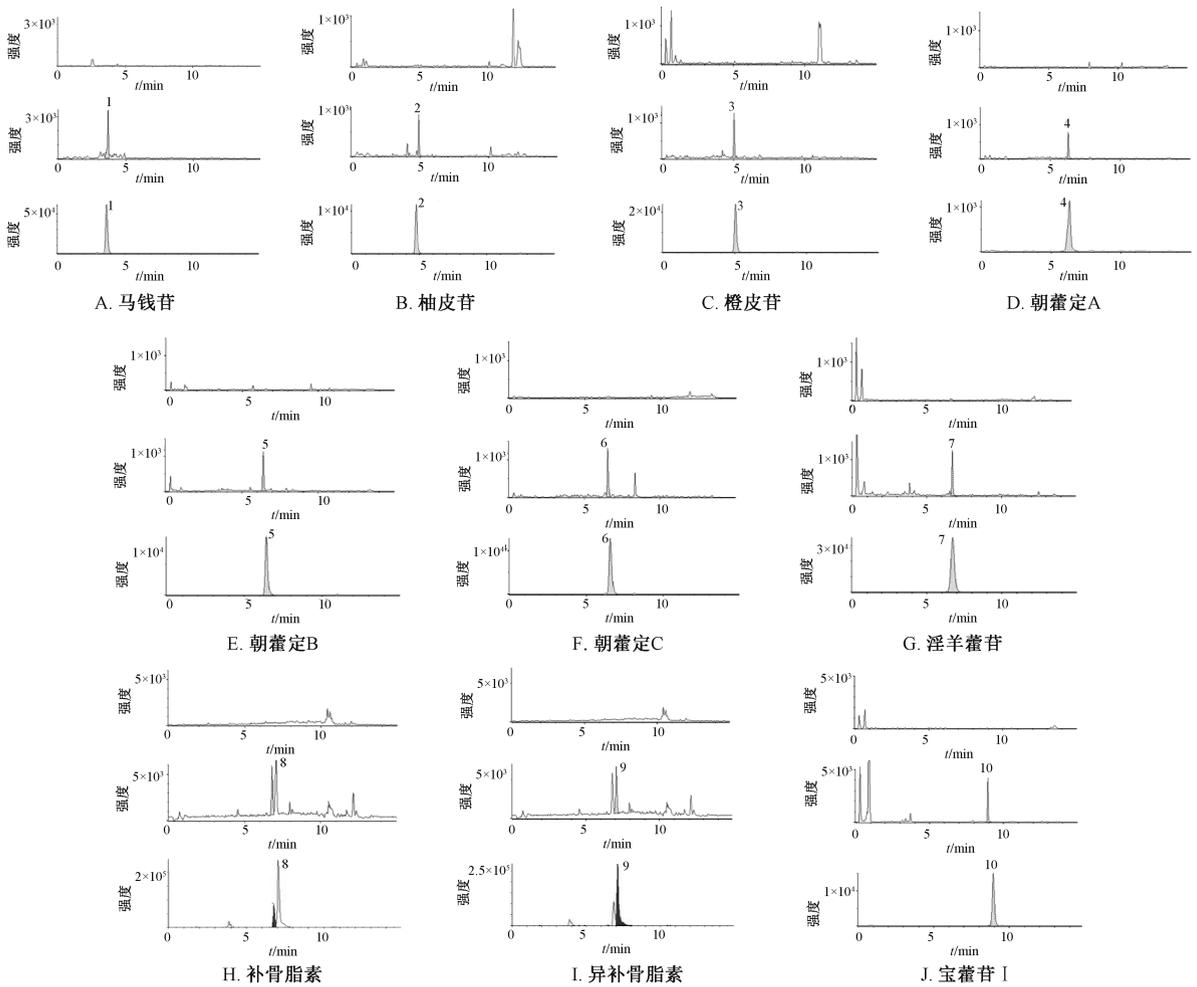
2.7 方法学考察

2.7.1 专属性、灵敏度试验 本实验比较了 6 批空白大鼠肾组织匀浆样品、质量浓度定量下限肾组织匀浆样品、给药后 2 h 肾组织匀浆样品的色谱图，发现匀浆液中内源物质在相应出峰时间不干扰样品测定，同时以信噪比 (S/N) ≥ 10 时的质量浓度为定量下限，各成分峰形理想，表明该方法专属性、灵敏度良好，见图 1。

2.7.2 线性关系考察 按“2.2.3”项下方法制备标准曲线样品溶液，在“2.1”项条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标 (X)，各成分与内标峰面积比值为纵坐标 (Y) 进行回归，结果见表 2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.7.3 精密度、准确度试验 按“2.2.3”项下方法制备质量控制样品溶液，按“2.3”项下方法预处理，在“2.1”项条件下进样测定，同一天内进行 6 次，计算日内精密度；连续测定 3 d，每天 1 次，计算日间精密度，结果见表 3，可知该方法精密度、准确度良好。

2.7.4 回收率、基质效应试验 按“2.2.3”项下方法制备质量控制样品溶液，每个质量浓度平行 6 份，按“2.3”项下方法预处理，在“2.1”项条件下进样测定，记录各成分、内标峰面积；取空白肾组织匀浆液，按“2.3”项下方法预处理 (至“常温下氮气吹干”为止)，加入相应质量浓度对照品、内标溶液各 10 μ L，再精密加入 130 μ L 50% 甲醇复溶，涡旋振荡 3 min，4 $^{\circ}$ C 下 10 000 r/min 离心 5 min，取 10 μ L 上清液进行分析；平行配制相同质量浓度的标准曲线样品溶液，按“2.3”项下方法预处理，每个质量浓度平行 6 份，结果见表 4，可知该方法基质效应良好。



注：各小图从上至下，依次为空白大鼠肾组织匀浆样品、质量浓度定量下限肾组织匀浆样品、给药后 2 h 肾组织匀浆样品。

1. 马钱苷 2. 柚皮苷 3. 橙皮苷 4. 朝藿定 A 5. 朝藿定 B 6. 朝藿定 C 7. 淫羊藿苷 8. 补骨脂素 9. 异补骨脂素 10. 宝藿苷 I
1. loganin 2. naringin 3. hesperidin 4. epimedin A 5. epimedin B 6. epimedin C 7. icariin 8. psoralen 9. isopsoralen 10. baohuoside I

图 1 各成分 LC-MS/MS 色谱图

Fig. 1 LC-MS/MS chromatograms of various constituents

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Liner relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)	r
补骨脂素	$Y=0.0133X+0.00366$	0.481~481	0.9998
异补骨脂素	$Y=0.0133X+0.00533$	0.572~572	0.9999
马钱苷	$Y=0.0257X+0.00965$	0.072~72	0.9993
柚皮苷	$Y=0.00249X+0.000306$	0.144~144	0.9999
橙皮苷	$Y=0.00407X+0.0009$	0.096~96	0.9998
淫羊藿苷	$Y=0.061X+0.00284$	0.036~36	0.9997
朝藿定 A	$Y=0.00899X+0.00142$	0.072~72	0.9997
朝藿定 B	$Y=0.0285X+0.0019$	0.072~72	0.9999
朝藿定 C	$Y=0.0265X+0.00359$	0.072~72	0.9994
宝藿苷 I	$Y=0.0312X+0.00482$	0.024~24	0.9992

2.7.5 稳定性试验 按“2.2.3”项下方法制备质量控制样品溶液，每个质量浓度平行 6 份，分别考察其在室温下放置 6 h，4℃下自动进样器中放

置 24、48 h，反复冻融 3 次后的稳定性，结果见表 5，可知该方法稳定性良好。

2.8 肾组织分布 表 6 显示，同一剂量组内各成分在大鼠左右肾脏中的含有量无明显差异 ($P>0.05$)，但除了鹿角方中剂量组宝藿苷 I 外，各组其他 9 种成分在左肾中的含有量低于右肾中，以柚皮苷、橙皮苷、朝藿定 C、淫羊藿苷、补骨脂素更明显。再对各成分含有量与给药剂量的关系进行拟合，结果见表 7，可知其含有量均随着给药剂量增加而升高。另外，很难测定鹿角方低剂量组朝藿定 A 含有量，而且橙皮苷、柚皮苷、朝藿定 B、朝藿定 C 含有量也相对较低。

3 讨论与结论

中医认为，心属火藏神，肾属水藏精，水火既济是指以上两脏互相作用、互相制约以维持正常的

表3 各成分精密度、准确度试验结果 (n=6)

Tab. 3 Results of precision and accuracy tests for various constituents (n=6)

成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	日内精密度			日间精密度		
		测得值/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%	RSD/%	测得值/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%	RSD/%
补骨脂素	0.481	0.46	95.22	5.65	0.44	92.13	8.72
	0.962	0.93	96.45	4.28	0.87	92.64	8.48
	19.200	19.00	98.81	2.02	18.81	97.98	6.83
	385.000	384.33	99.97	3.41	369.06	95.93	6.75
异补骨脂素	0.572	0.55	97.91	4.47	0.53	92.85	6.13
	1.140	1.07	93.87	6.00	1.03	94.27	9.07
	22.900	22.97	100.40	2.35	22.95	100.69	5.41
	458.000	478.00	104.50	1.83	453.33	99.04	6.48
马钱苷	0.072	0.07	101.86	8.20	0.07	98.37	10.04
	0.144	0.14	98.50	5.76	0.14	98.17	8.08
	2.880	2.81	97.30	11.17	2.90	100.65	10.44
	57.600	52.00	90.25	1.86	55.32	96.06	10.33
柚皮苷	0.144	0.14	100.54	7.80	0.14	100.46	10.16
	0.288	0.29	101.80	2.77	0.29	100.96	7.98
	5.760	5.80	100.88	3.17	5.70	99.09	5.81
	115.000	114.33	99.38	1.81	110.04	95.61	6.55
橙皮苷	0.096	0.09	97.68	12.66	0.09	93.56	10.04
	0.192	0.19	97.50	7.23	0.18	94.52	6.67
	3.840	3.86	100.47	3.62	3.80	98.86	6.07
	76.800	75.47	98.22	3.20	74.95	97.51	6.47
淫羊藿苷	0.036	0.04	97.95	11.62	0.03	92.26	10.99
	0.072	0.07	95.50	6.13	0.07	95.90	9.42
	1.440	1.38	95.55	3.81	1.42	98.76	6.55
	28.800	28.68	99.38	2.90	27.72	96.11	6.42
朝藿定 A	0.072	0.07	102.97	7.27	0.07	99.88	11.27
	0.144	0.14	99.37	4.25	0.15	101.00	6.75
	2.880	2.96	103.10	4.36	2.89	100.48	7.51
	57.600	58.37	101.40	2.28	56.38	97.96	7.18
朝藿定 B	0.072	0.07	105.02	13.13	0.07	91.83	14.86
	0.144	0.14	97.98	9.06	0.14	98.58	8.32
	2.880	2.93	101.75	5.10	2.91	101.31	5.82
	57.600	57.55	99.95	2.05	55.63	96.52	7.05
朝藿定 C	0.072	0.07	101.08	6.16	0.07	98.01	9.24
	0.144	0.15	104.01	7.71	0.15	104.33	9.25
	2.880	2.95	102.68	2.85	2.94	102.52	5.51
	57.600	57.25	99.45	1.29	56.19	97.62	6.48
宝藿苷 I	0.024	0.02	96.35	7.23	0.02	100.00	10.10
	0.048	0.04	91.92	6.23	0.05	96.97	9.22
	0.960	0.97	101.07	3.12	1.02	104.23	10.06
	19.200	19.35	107.50	4.25	17.86	99.36	9.46

表4 各成分回收率、基质效应试验结果 (n=6)

Tab. 4 Results of recovery and matrix effect tests for various constituents (n=6)

成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	相对回收率/%	基质效应	RSD/%	成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	相对回收率/%	基质效应	RSD/%
补骨脂素	0.962	100.44		5.53	淫羊藿苷	0.072	101.17		7.16
	19.200	101.03		1.94		1.440	86.53		2.70
	385.000	98.15		2.01		28.800	90.67		1.64
异补骨脂素	1.140	98.69		8.60	朝藿定 A	0.144	101.15		5.82
	22.900	98.95		3.63		2.880	93.36		2.81
	458.000	96.40		2.59		57.600	95.16		2.05
	0.144	111.96		6.90		朝藿定 B	0.144	108.44	
2.880	98.43		2.77	2.880	97.12			2.48	
57.600	97.24		4.85	57.600	95.66			1.99	
柚皮苷	0.288	102.75		12.66	朝藿定 C	0.144	101.67		5.17
	5.760	101.81		2.96		2.880	97.96		1.09
	115.000	96.64		2.18		57.600	95.70		1.87
橙皮苷	0.192	104.15		11.80	宝藿苷 I	0.048	108.18		6.00
	3.840	100.38		1.71		0.960	97.81		3.99
	76.800	95.91		1.56		19.200	95.35		3.59

表5 各成分稳定性试验结果 (n=6)

Tab. 5 Results of stability tests for various constituents (n=6)

成分	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	(试验后含有量/试验前含有量)/%			
		室温下放置 6 h	4 °C 下自动进样器中放置 24 h	4 °C 下自动进样器中放置 48 h	反复冻融 3 次
补骨脂素	0.962	101.63	98.05	93.76	94.28
	19.200	98.90	94.48	92.60	102.69
	385.000	98.13	94.60	93.49	101.17
异补骨脂素	1.140	102.18	101.25	94.61	96.78
	22.900	100.81	97.15	93.92	103.49
	458.000	96.75	95.63	93.90	103.38
马钱苷	0.144	94.32	103.63	105.97	87.89
	2.880	98.89	100.47	96.58	92.51
	57.600	99.85	103.01	98.62	99.07
柚皮苷	0.288	87.88	94.49	90.10	95.84
	5.760	99.38	95.88	93.36	85.04
	115.000	97.61	96.96	93.76	85.17
橙皮苷	0.192	96.99	91.06	83.84	115.00
	3.840	98.03	97.46	92.54	110.72
	76.800	97.91	96.91	94.40	107.51
淫羊藿苷	0.072	102.82	102.90	90.38	95.17
	1.440	101.40	100.42	99.12	83.10
	28.800	100.07	98.72	98.04	80.82
朝藿定 A	0.144	110.66	102.90	109.68	103.04
	2.880	101.95	103.46	104.95	99.71
	57.600	99.93	100.93	105.38	96.87
朝藿定 B	0.144	96.26	102.15	102.13	108.89
	2.880	100.08	101.46	100.81	111.28
	57.600	99.08	99.86	103.25	109.11
朝藿定 C	0.144	112.47	107.54	110.23	100.63
	2.880	98.52	99.50	100.69	94.29
	57.600	99.81	100.32	102.92	97.58
宝藿苷 I	0.048	98.48	98.47	92.14	105.04
	0.960	106.28	100.05	94.95	100.38
	19.200	106.23	97.89	95.90	110.59

表6 各成分在大鼠左右肾脏中的组织分布 (ng/g, $\bar{x}\pm s$, n=4~6)

Tab. 6 Tissue distribution of various constituents in the left and right kidneys of rats (ng/g, $\bar{x}\pm s$, n=4~6)

成分	鹿角方低剂量组			鹿角方中剂量组			鹿角方高剂量组		
	左肾	右肾	左肾/ 右肾	左肾	右肾	左肾/ 右肾	左肾	右肾	左肾/ 右肾
马钱苷	124.84±92.60	138.32±95.48	0.90	162.64±68.20	166.44±70.80	0.98	264.56±104.80	305.96±106.28	0.86
柚皮苷	3.60±3.92	5.76±5.96	0.63	8.20±3.36	9.08±5.76	0.90	36.60±31.08	67.04±35.60	0.55
橙皮苷	4.88±4.88	7.68±7.80	0.63	9.64±3.76	10.80±5.52	0.89	44.44±38.84	87.12±48.12	0.51
朝藿定 A	—	—	—	2.04±0.92	2.16±1.28	0.94	8.68±7.88	16.96±9.80	0.51
朝藿定 B	3.60±4.24	3.92±4.16	0.92	5.44±2.28	6.16±3.44	0.89	24.12±21.64	47.72±28.20	0.51
朝藿定 C	4.12±5.32	5.92±6.04	0.69	8.36±3.32	8.72±4.80	0.96	35.52±31.52	69.64±40.64	0.51
淫羊藿苷	4.72±6.76	8.76±7.64	0.54	8.73±3.93	9.90±5.88	0.88	38.00±33.60	74.00±42.80	0.51
补骨脂素	95.20±52.08	123.40±33.52	0.77	180.04±83.64	236.16±90.40	0.76	342.96±80.00	413.88±156.12	0.83
异补骨脂素	373.12±327.28	407.48±149.36	0.91	682.96±276.56	769.32±209.76	0.89	1 379.00±364.08	1 434.24±456.80	0.96
宝藿苷 I	2.84±1.00	3.00±1.20	0.95	7.20±3.20	5.08±0.92	1.41	14.04±10.60	29.00±14.84	0.48

注:—表示该成分含有量低于定量下限,无法测定。

生理活动^[10]。慢性心力衰竭病机为心气虚,渐至气虚及阳,日久及肾,以致心肾阳虚,瘀水内停,属心肾同病之证,这可为鹿角方以“温肾求强心”

“从肾治心”理论治疗该疾病提供依据。

本实验采用腹主动脉缩窄方法,建立慢性心力衰竭大鼠模型。腹主动脉缩窄部分位于左肾肾动脉

表7 各成分含有量与给药剂量的关系

Tab.7 Relationships between the contents of various constituents and administration doses

成分	$R^2_{左肾}$	$R^2_{右肾}$
马钱苷	0.995 3	0.969 3
柚皮苷	0.956 6	0.902 4
橙皮苷	0.953 8	0.896 8
朝藿定 A	—	0.911 5
朝藿定 B	0.939 7	0.902 2
朝藿定 C	0.989 0	0.899 0
淫羊藿苷	0.951 0	0.882 5
补骨脂素	0.999 9	0.996 2
异补骨脂素	0.999 3	0.999 5
宝藿苷 I	0.999 8	0.918 2

与右肾肾动脉之间，而左肾位于缩窄处的下方，与右肾相比其缩窄造成的血流量明显减少，并且质量更小，同时有一部分出现萎缩。因此，血供减少可能是导致鹿角方中马钱苷、柚皮苷、橙皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素含有量在大鼠左肾中偏低的主要原因。

淫羊藿苷^[11]、朝藿定 C^[12]、马钱苷^[13]、橙皮苷^[14]、柚皮苷^[15]等化合物均可改善肾脏损伤，本实验对上述入血成分在慢性心力衰竭大鼠肾组织中的含有量进行分析，发现均能检测出，可能是鹿角方改善肾功能的药效物质基础。灌胃 2 h 后发现，补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷含有量较高，而其他含有量较低的成分为黄酮。研究表明，朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 在体内可转换成次级苷，后者渗透性好，更有利于吸收入血^[16]，其代谢成分有待进一步考察。

综上所述，本实验首次研究鹿角方在慢性心力衰竭大鼠左右肾脏中的组织分布，建立 LC-MS/MS 法对方中 10 种活性成分（补骨脂素、异补骨脂素、马钱苷、柚皮苷、橙皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I）进行定量分析，并进行方法学、肾组织分布考察。这有助于进一步研究鹿角方治疗慢性心力衰竭的药效物质基础，也为研究该方发挥“心肾相交”“从肾治心”作用的机制提供借鉴。

参考文献:

[1] 胡婉英, 周 华, 董耀荣. 鹿角方治疗心力衰竭的临床和实验研究[J]. 上海中医药杂志, 1992(11): 8-11.
[2] 顾 君, 薛金贵, 王肖龙, 等. 鹿角方治疗慢性心力衰竭合

并肾功能不全(心肾阳虚证)的临床疗效[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(2): 163-166.
[3] Zhao W, Hu W Y, Wang X L, et al. A traditional Chinese medicine, Lujiao prescription, as a potential therapy for hypertrophic cardiomyocytes by acting on histone acetylation [J]. *J Chin Med Assoc*, 2015, 78(8): 486-493.
[4] 蔡 辉, 胡婉英, 王艳君, 等. 鹿角方逆转压力负荷增加大鼠左心室重构的作用(英文)[J]. 中国临床康复, 2006, 10(3): 177-179.
[5] 徐冉驰, 刘 力, 徐德生. 液-质联用法同时测定复方鹿角颗粒中 18 种氨基酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(19): 1719-1723.
[6] 徐冉驰, 刘 力, 徐德生. LC-MS/MS 法同时测定复方鹿角颗粒中 13 种成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(4): 612-619.
[7] 时潇丽, 马静雅, 刘 力. 基于 LC-MS/MS 分析鹿角方的入血移行成分[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(18): 1827-1832.
[8] Ma J Y, Shi X L, Liu L, et al. Evaluation of nine active components of Lu-Jiao Fang in normal and hypertrophic rat myocardia via LC-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(5): e4814.
[9] Song R, Zhu S J, Zhang H M, et al. ATPase may play a critical role in disturbance of energy metabolism in congestive heart failure rats[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(10): 3654-3658.
[10] 韩博宇, 邵千枫, 从 禹, 等. 从心肾相交理论探讨制方思路[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(5): 1172-1174.
[11] Zhang W Y, Yuan W, Xu N, et al. Icaritin improves acute kidney injury and proteinuria in a rat model of pregnancy-induced hypertension [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 7398-7404.
[12] Wei D H, Deng J L, Shi R Z, et al. Epimedin C protects H₂O₂-induced peroxidation injury by enhancing the function of endothelial progenitor HUVEC populations [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(9): 1491-1499.
[13] Liu K, Xu H Q, Lv G H, et al. Loganin attenuates diabetic nephropathy in C57BL/6J mice with diabetes induced by streptozotocin and fed with diets containing high level of advanced glycation end products [J]. *Life Sci*, 2015, 123: 78-85.
[14] Elhelaly A E, AlBasher G, Alfarraj S, et al. Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, 26(34): 35151-35162.
[15] Amini N, Sarkaki A, Dianat M, et al. Protective effects of naringin and trimetazidine on remote effect of acute renal injury on oxidative stress and myocardial injury through Nrf-2 regulation [J]. *Pharmacol Rep*, 2019, 71(6): 1059-1066.
[16] 蒋 俊, 崔 莉, 孙 娥, 等. 基于淫羊藿黄酮类化合物的体内代谢阐述其抗骨质疏松药效物质基础[J]. 中草药, 2014, 45(5): 721-729.