

玳玳果黄酮降脂提取物体内效应组分排泄动力学研究

曾华平^{1,2}, 陈丹^{1*}, 马国萍¹, 陈红^{2*}, 朱仙慕¹, 刘秀棉¹, 洪丽婷¹, 余惠珍²(1.福建中医药大学药学院, 福州 350122; 2.福建省立医院干部特诊科临床老年病研究所, 福州 350001)

摘要: 目的 建立同时测定大鼠尿液及粪便中提取物效应组分新橙皮苷和柚皮苷含量方法, 研究大鼠口服玳玳果黄酮降脂提取物后的尿药排泄动力学及排泄特征。方法 采用 UPLC-MS/MS 建立效应组分新橙皮苷及柚皮苷在大鼠尿液及粪便的定量分析方法, 计算口服玳玳果黄酮降脂提取物后不同时间点新橙皮苷及柚皮苷在尿液及粪便中的排泄率, 并以亏量法计算尿液中的消除半衰期及消除速率常数, 评价大鼠口服玳玳果黄酮降脂提取物后尿药排泄动力学及排泄特征。结果 所建立的 UPLC-MS/MS 定量分析方法专属性良好、标准曲线及线性范围良好, 方法准确度与精密度、定量下限均符合有关规定, 该方法能够满足大鼠尿液及粪便中效应组分的定量检测需要; 口服 72 h 后, 大鼠尿液中新橙皮苷、柚皮苷的平均累计排泄率分别为(1.76±0.76)%和(1.39±0.57)%; 大鼠粪便中新橙皮苷、柚皮苷的平均累计排泄率分别为(52.45±6.30)%和(51.57±4.80)%; 口服后效应组分新橙皮苷及柚皮苷在尿液及粪便中的排泄量分别在 24~36 h 和 4~8 h 达到峰值; 72 h 后仍有药物经尿液排泄, 给药后 24 h 粪便累计排泄率便达坪值; 亏量法计算得新橙皮苷消除速率常数为(0.080±0.021)·h⁻¹, 消除半衰期为(9.41±3.22)h, 柚皮苷消除速率常数为(0.077±0.017)·h⁻¹, 消除半衰期为(9.51±2.97)h, 新橙皮苷及柚皮苷的动力学参数间差异无统计学意义。结论 口服给药后效应组分原形即通过粪便较快地排出体外, 粪便排泄是效应组分排出体外的主要途径, 新橙皮苷及柚皮苷经尿液排泄的特征无明显差异。

关键词: 玳玳果黄酮降脂提取物; 新橙皮苷; 柚皮苷; 排泄动力学

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)15-1870-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.15.004

引用本文: 曾华平, 陈丹, 马国萍, 等. 玳玳果黄酮降脂提取物体内效应组分排泄动力学研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(15): 1870-1875.

Study on the Excretion Pharmacokinetics of the *in Vivo* Active Parts of Daidai Flavonoids Lipid-lowering Extract

ZENG Huaping^{1,2}, CHEN Dan^{1*}, MA Guoping¹, CHEN Hong^{2*}, ZHU Xianmu¹, LIU Xiumian¹, HONG Liting¹, YU Huizhen²(1.Department of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2.Institute of Senile Disease, Fujian Provincial Hospital Cadre Special Clinic, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the simultaneous determination of the active part contents (neohesperidin and naringin) in rat urine and feces. To study the urine drug excretion pharmacokinetics and characteristics after the extract was given to the rats orally. **METHODS** UPLC-MS/MS was used to establish a quantitative analysis method for the active parts(neohesperidin and naringin) in rat urine and feces. The excretion rates of neohesperidin and naringin in urine and feces at different time points were calculated after the extract was given orally. The elimination half-lives and elimination rate constants in urine were calculated by using sigma minus method. The urine drug excretion pharmacokinetics and characteristics was evaluated after the extract given to the rats orally. **RESULTS** The UPLC-MS/MS quantitative analysis method established had good specialization, standard curve and linear range. The accuracy, precision, and quantitative lower limit of the method all conformed to relevant standards. The method was able to quantitatively determine the active parts in rat urine and feces. The average cumulative excretion rates for neohesperidin and naringin in rat urine were (1.76±0.76)% and (1.39±0.57)% respectively 72 h after oral administration, and the values in rat feces were (52.45±6.30)% and (51.57±4.80)% respectively. The excretion amount for neohesperidin and naringin in urine and feces reached the peak at 24~36 h and 4~8 h after oral administration respectively. The active parts were still detectable in urine 72 h after oral administration, but the cumulative excretion rates in feces reached the plateau at 24 h. By using sigma minus method, the elimination rate constants for neohesperidin was calculated to be (0.080±0.021)·h⁻¹, and the elimination half-life was (9.41±3.22)h. The values for naringin were (0.077±0.017)·h⁻¹ and (9.51±2.97)h respectively. The difference in the kinetic parameters between the two active parts had no statistical significance. **CONCLUSION** After oral administration, the original compounds of the active parts are quickly excreted in feces. Feces excretion is the main excretion way of the active parts. There are no significant difference in the excretion characteristics of the two active parts in urine.

KEYWORDS: Daidai flavonoids lipid-lowering extract; neohesperidin; naringin; excretion pharmacokinetics

基金项目: 福建省自然科学基金(2018J01253); 福建省医学创新项目(2016-CX-45); 福建省科技计划项目(2010Y2004)

作者简介: 曾华平, 男, 硕士 Tel: 18650188675 E-mail: v_hugo1989@outlook.com *通信作者: 陈丹, 女, 博士, 教授 Tel: 13515026709 E-mail: 13515026709@163.com 陈红, 女, 副主任医师 Tel: 18950339443 E-mail: chyed@sina.com

药物排泄是体内药物或其代谢物排出体外的过程,了解药物的排泄过程对理解药物的药效及毒性、设计给药方案均有重要的帮助^[1-2]。玳玳(*Citrus Aurantium L. var daidai Tanaka*)是芸香科柑橘亚属植物,酸橙的变种,药食同源^[3]。课题组前期研究了从玳玳果中分离制备总黄酮的有效部位^[4-5],研究显示,玳玳果黄酮提取物具有良好的降血脂、抗氧化、清除自由基等作用^[6-7],玳玳果黄酮降脂提取物的特征效应组分为新橙皮苷和柚皮苷^[8-10]。研究运用 UPLC-MS/MS 技术^[11],建立玳玳果黄酮降脂提取物效应组分在大鼠尿液及粪便样品中定量分析方法,并以 SD 大鼠为动物模型,考察了口服玳玳果黄酮降脂提取物后效应组分新橙皮苷及柚皮苷在大鼠尿液及粪便中的体内排泄动力学特性,同时使用亏量法求算大鼠尿液中效应组分的药动学参数,进一步求证玳玳果黄酮降脂提取物效应组分的体内代谢特征,同时也为玳玳果黄酮降脂提取物的合理用药提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC TQD 超高效液相色谱三重四级杆质谱联用仪(美国 Waters 公司,配四元高压泵、在线脱气机、自动进样器、柱温箱、TQD 检测器、Masslynx 4.1 工作站控制系统);XS 205 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);SK-1 快速混匀器(常州国华电器有限公司);TGL-18G-C 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);Milli-Q 纯水器(美国 Millipore)。

1.2 试药

玳玳果黄酮降脂提取物(自制,总黄酮含量为 954.90 mg·g⁻¹);新橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111857-201201;纯度≥98%);柚皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110722-201209;纯度≥98%);注射用生理盐水;甲醇、乙腈均为色谱纯;水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD 大鼠(300±20)g,8~9 周龄,♂,上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号:SCXK(沪)2012-0002。25℃,光照/黑暗各 12 h 下饲养,自由饮食、饮水,适应性饲养 1 周后开始实验。实验前禁食不禁水 12 h。医学实验动物环

境设施由福建中医药大学动物实验中心提供,使用许可证号:SYXK(闽)2014-0005。实验动物处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》。

2 方法与结果

2.1 色谱与质谱条件

2.1.1 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈-0.1%甲酸水(25:75),流速为 0.3 mL·min⁻¹,柱温为 35℃,进样量为 2 μL。

2.1.2 质谱条件 扫描方式为负离子扫描(ESI),毛细管电压 3.0 kV,锥孔电压(新橙皮苷 45 V、柚皮苷 40 V),离子源温度 110℃,脱溶剂气体温度 350℃,脱溶剂气体体积流量 600 L·h⁻¹,锥孔气体体积流量 45 L·h⁻¹,质量分析采用选择离子监测模式(SIR),新橙皮苷 *m/z* 609.44,柚皮苷 *m/z* 579.46,芦丁 *m/z* 609.33。

2.2 溶液的制备

2.2.1 药液的制备 取玳玳果黄酮降脂提取物约 2.0 g,精密称定,加超纯水 125 mL,配制成每 1 mL 含玳玳果黄酮 16 mg 混悬液,冷藏备用。口服剂量为 10 mL·kg⁻¹。

2.2.2 混合对照品储备液的制备 分别精密称取减压干燥至恒重的新橙皮苷、柚皮苷对照品适量,加甲醇稀释定容,制得混合对照品储备液(含新橙皮苷 100.6 μg·mL⁻¹,柚皮苷 99.2 μg·mL⁻¹),置于 4℃ 冰箱保存。临用前精密量取混合对照品储备液适量,逐级稀释至所需浓度。

2.2.3 空白尿液及空白粪便匀浆的制备 尿液、代谢笼边缘及粪便上的尿液用生理盐水冲洗至离心管,与直接接入离心管的原尿液混合,收集于洁净 EP 管中,即得空白尿液。粪便烘干,研碎,取约 0.5 g,精密称定,加甲醇超声提取 1 min 后,补加甲醇稀释定容至 10 mL,移取上清液至洁净 EP 管中,即得空白粪便匀浆。以上各液置-20℃冻存。

2.2.4 待测样品溶液的制备

2.2.4.1 尿液样品的制备 给药后大鼠置代谢笼中,按“2.2.3”项下方法收集待测尿液样本,精密量取待测尿液样本 200 μL,置于洁净 EP 管中,加 600 μL 甲醇,涡旋混合 3 min,14 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 后,收集上清液至洁净 EP 管,氮气流下吹干,残渣加 150 μL 甲醇,涡旋溶解 5 min。

14 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 移取上清液, 待测。

2.2.4.2 粪便样品的制备 给药后大鼠置代谢笼中, 按“2.2.3”项下方法收集待测粪便样本, 取干燥粪便样品约 0.5 g, 精密称定, 加甲醇超声溶解 1 min 后, 用甲醇定容至 10 mL 量瓶, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 移取上清液, 待测。

2.2.5 含混合对照品尿液及粪便匀浆的制备与处理 分别精密量取混合对照品储备液, 用甲醇配制高、中、低浓度混合对照品溶液(粪便: 新橙皮苷 50.3, 10.06, 2.012 μg·mL⁻¹, 柚皮苷 49.6, 9.92, 1.984 μg·mL⁻¹; 尿液: 新橙皮苷 2.515, 0.503, 0.100 6 μg·mL⁻¹, 柚皮苷 2.48, 0.496, 0.099 2 μg·mL⁻¹)。精密吸取 200 μL, 氮气流下吹干, 残渣加等体积空白尿液或粪便匀浆, 涡旋溶解 3 min, 即得含混合对照品尿液、含混合对照品粪便匀浆。含混合对照品尿液按“2.2.4.1”项下方法处理; 含混合对照品粪便匀浆超声 1 min 后, 用甲醇定容至 10 mL 量瓶, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 移取上清液, 待测。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验 分别取空白尿液、空白粪便匀浆、含混合对照品尿液、含混合对照品粪便匀浆以及待测尿液、待测粪便匀浆的上清液, 分别注入 UPLC-MS 联用仪, 分析。试验结果表明, 效应组分新橙皮苷、柚皮苷分离良好, 无内源性物质干扰, 方法具备专属性, 分析条件可用于待测样品的分析测定。结果见图 1。

2.3.2 标准曲线制备及线性关系考察 分别精密量取新橙皮苷、柚皮苷混合对照品溶液适量, 用甲醇逐级稀释配制系列含混合对照品溶液的尿液、粪便匀浆(粪便: 新橙皮苷 100.6, 50.3, 20.12, 10.06, 4.024, 2.012, 0.804 8 μg·mL⁻¹, 柚皮苷 99.2, 49.6, 19.84, 9.92, 3.968, 1.984, 0.793 6 μg·mL⁻¹; 尿液: 新橙皮苷 5.03, 2.515, 1.006, 0.503, 0.201 2, 0.100 6, 0.040 24 μg·mL⁻¹, 柚皮苷 4.96, 2.48, 0.992, 0.496, 0.198 4, 0.099 2, 0.039 68 μg·mL⁻¹)。分别精密吸取各系列混合对照品溶液 200 μL, 置洁净 EP 中, 氮气流下吹干, 再精密加入空白尿液(或粪便匀浆)200 μL, 涡旋混合 3 min, 按“2.2.4”项下方法处理, 上清液分别注入 UPLC-MS 联用仪。以待测组分浓度为横坐标, 待测组分峰面积为纵坐标, 进行线性回归。加权最小二乘法计算回归方程(权重因子为 1/x²), 记录线性范围。试验

结果表明, 新橙皮苷及柚皮苷在上述所设置的浓度范围内线性关系良好, 校正标样的回算浓度均在标示值的±15%以内, 各回归方程的相关系数 r>0.99。结果见表 1。

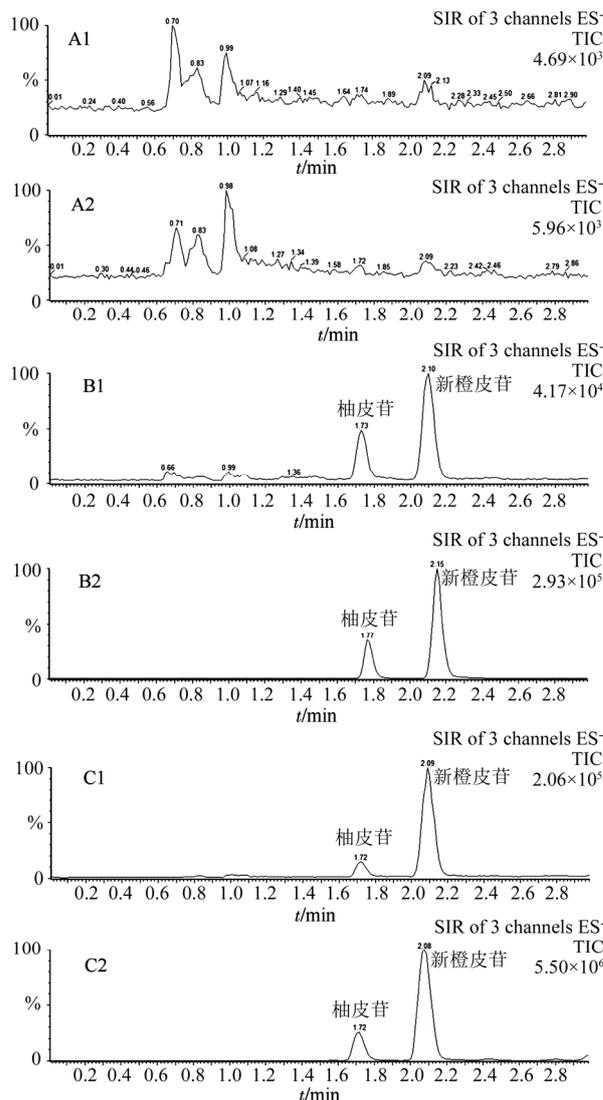


图 1 超高效液相色谱-质谱总离子流图

A1-空白尿液; A2-空白粪便匀浆; B1-含混合对照品尿液; B2-含混合对照品粪便匀浆; C1-待测尿液; C2-待测粪便匀浆。

Fig. 1 Mass spectrometric total ion chromatogram by UPLC-MS

A1-blank urine; A2-blank feces homogenate; B1-urine with mixed reference solution; B2-feces with mixed reference solution; C1-urine sample; C2-feces sample.

表 1 标准曲线考察结果

Tab. 1 Results of regression equation test

样本	效应组分	回归方程	相关系数	线性范围/ μg·mL ⁻¹
尿液	新橙皮苷	$y=3.350 \times 10^3 x + 42.701$	0.995 6	0.040 24-5.03
	柚皮苷	$y=3.398 \times 10^3 x + 17.96$	0.998 9	0.039 68-4.96
粪便	新橙皮苷	$y=4.203 \times 10^3 x - 22.42$	0.999 5	0.804 8~100.6
	柚皮苷	$y=3.004 \times 10^3 x - 34.80$	0.999 2	0.793 6-99.2

2.3.3 定量下限考察 取混合对照品溶液,反复稀释至低浓度,按“2.2.5”项下方法处理,制备含混合对照品尿液及粪便匀浆,取上清液分别注入 UPLC-MS 联用仪,分析,信噪比法($S/N=10$)确定定量下限;同法平行制备该最低定量浓度滤液 5 份,分别注入 UPLC-MS 联用仪,分析。实验结果表明,测量值在理论值的 90%~110%内, $RSD \leq 10\%$ ($n=5$)。故确定尿液中新橙皮苷及柚皮苷的定量下限分别为 0.040 24, 0.039 68 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 粪便中新橙皮苷及柚皮苷的定量下限分别为 0.804 8, 0.793 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.4 提取回收率试验 按“2.2.5”项下方法分别制备含高、中、低浓度混合对照品的尿液及粪便匀浆,各 5 份;另取 200 μL 相同高、中、低浓度的混合对照品溶液各 5 份,氮气流下吹干,残渣精密加入已预先按“2.2.4”项方法处理的各空白尿液 150 μL ,涡旋溶解 5 min,分别注入 UPLC-MS 联用仪,记录各组分峰面积,分析。含混合对照品尿液及粪便匀浆记为 SET1;混合对照品添加已处理尿液或粪便匀浆记为 SET2。依据公式提取回收率($\%$)= $(\text{SET1}/\text{SET2})\times 100\%$,分别计算新橙皮苷、柚皮苷的提取回收率。试验结果表明,尿液中各组分的提取回收率在 72.68%~88.08%, $RSD \leq 9.0\%$ ($n=5$);粪便中各组分提取回收率在 92.34%~119.3%, $RSD \leq 2.7\%$ ($n=5$);提示提取回收率良好。

2.3.5 方法回收率试验 按“2.2.5”项下方法分别制备含高、中、低浓度混合对照品的尿液及粪便匀浆各 5 份,分别注入 UPLC-MS 联用仪,分析,测量值与理论值相比计算方法回收率。实验结果表明,测量值在理论值的 90%~110%, $RSD \leq 5\%$ ($n=5$);提示方法回收率良好。

2.3.6 精密密度试验 按“2.2.5”项下方法分别制备含高、中、低浓度混合对照品的尿液及粪便匀浆各 5 份,日内连续进样,计算日内精密密度;每日同法制备含高、中、低浓度对照品的尿液及粪便匀浆液各 5 份,连续测定 3 d,计算批间精密密度。试验结果表明,测量值在理论值的 90%~110%之间, $RSD \leq 10\%$ ($n=5$);提示方法精密密度符合生物样品测定要求。

2.3.7 室温放置稳定性试验 按“2.2.5”项下方法制备含高、中、低浓度混合对照品的尿液及粪便匀浆各 1 份,于室温放置 0, 2, 4, 6, 8 h 后上清液分别注入 UPLC-MS 联用仪,分析计算不同时刻

各组分的浓度测量值相对标示值的平均相对偏差,评价样品室温放置的稳定性。实验结果表明,各组分在尿液及粪便中平均相对偏差的绝对值 $\leq 7.89\%$,待测样品室温放置 8 h 基本稳定。

2.3.8 反复冻融及长期冷冻稳定性试验 按“2.2.5”项下方法制备含高、中、低浓度混合对照品的尿液及粪便匀浆各 5 份,置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻保存,1 周内反复冻融 5 次,每次 24 h,末次取出测定。另同法处理各 5 份,置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻保存 15 d,末次取出测定。分析计算不同时刻各组分的浓度测量值相对标示值的平均相对偏差,评价样品反复冻融稳定性、样品长期冻融稳定性。实验结果表明,各组分在尿液及粪便中反复冻融稳定性平均相对偏差的绝对值 $\leq 10.6\%$,长期冻融稳定性平均相对偏差的绝对值 $\leq 9.06\%$,提示待测样品反复冻融基本不影响其稳定性、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存 15 d 基本稳定。

2.3.9 基质效应考察 按“2.2.5”项下方法制备含高、中、低浓度混合对照品的尿液及粪便匀浆各 5 份,氮气流下吹干,残渣精密加入预先已照“2.2.4”项下方法处理的各空白尿液(150 μL)或空白粪便匀浆(200 μL),涡旋混合 3 min;另取同体积相同高、中、低浓度的混合对照品溶液各 5 份,氮气流下吹干,残渣分别加甲醇 150 μL (尿液)和 200 μL (粪便),涡旋溶解 5 min,分别注入 UPLC-MS 联用仪,分析,记录各组分峰面积。混合对照品添加已预处理后尿液或粪便匀浆记为 SET2;混合对照品溶液记为 SET3。依据公式:基质因子($\%$)= $(\text{SET2}/\text{SET3})\times 100\%$,评价基质效应。实验结果表明,尿液中各组分的基质因子在 82.00%~100.4%, $RSD \leq 9.0\%$ ($n=5$);粪便中各组分基质因子在 70.00%~81.50%, $RSD \leq 4.6\%$ ($n=5$);提示基质效应无干扰。

2.4 尿液及粪便样本的收集

SD 大鼠 5 只,♀♂兼用,置代谢笼中适应性饲养,给药前禁食不禁水 8 h,并收集空白尿液及粪便供方法学验证。灌胃给予玳玳果黄酮降脂提取物(16, 10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)后,分别于 0~2 h, 2~4 h, 4~8 h, 8~12 h, 12~24 h, 24~36 h, 36~48 h, 48~72 h 收集尿液与粪便样本。将各时间段尿液、代谢笼边缘及粪便上的尿液用生理盐水冲洗至离心管中与原尿液混合,准确测量各时间段尿液总体积;各时间段粪便样本汇总收集于 10 mL EP 管中,烘

干后准确称量粪便质量。大鼠给药后正常饮食饮水。

2.5 样品的处理与测定

按“2.2”项下方法制备待测样品，精密吸取待测样品 2 μL ，注入 UPLC-MS 联用仪分析。实验结果表明，口服给予玳玳果黄酮降脂提取物 2 h 后，即可在尿液中检测到效应组分新橙皮苷及柚皮苷，但含量较低，同时在给药后至 72 h 仍可在部分大鼠尿液中检测到效应组分；口服给予玳玳果黄酮降脂提取物 2 h 后即可在粪便中检测到效应组分新橙皮苷及柚皮苷，且含量较高，但 24 h 后粪便中未检测到效应组分。

2.6 数据处理及排泄动力学特性分析

2.6.1 排泄参数的计算

以某时间段内待测中药样品药效组分浓度与体积稀释倍数的乘积计算药物排泄量，即得某时间段内生物样本中药效组分的总量；以某时间段内药物的排泄量比总给药量，即得药物排泄率；将药物在某时间段内的排泄量除以该段时间间隔，即得药物在该时间段中点的排泄速率；以给药后至某时间内药物在生物样本中的排泄总量计算药物的累计排泄量。

实验结果表明，玳玳果黄酮降脂提取物在尿液及粪便中的排泄特性各不相同，有近 50% 的原形药效组分经粪便排出体外，而经尿液排泄的原形药效组分不足给药量的 2%，提示粪便排泄是口服玳玳果总黄酮提取物后原形药效组分在体内的主要排泄途径；同时，口服给药后提取物新橙皮苷及柚皮苷在尿液及粪便中的排泄量分别在 24~36 h 和 4~8 h 达到峰值，72 h 后仍有药物经尿液排泄，24 h 后粪便累计排泄率便达坪值。提示口服玳玳果黄酮降脂提取物后，药物可通过粪便快速排出体外，而经吸收进入体循环的药物在体内消除较慢或主要以代谢物的形式排出体外。结果见图 2。

2.6.2 尿液药动力学参数分析

使用 DAS 2.0 药动力学软件对 0~48 h 各时间段中尿药浓度-时间数据进行拟合，亏量法计算药物消除半衰期($t_{1/2}$, h)及消除速率常数(K_e , h^{-1})，以亏量的自然对数 $\ln(X_u^\infty - X_u^t)$ 对时间 $t(\text{h})$ 作图，计算获得 $K_e(t_{1/2} = 0.693 / 2K_e)$ ；提取物新橙皮苷及柚皮苷的动力学参数两两比较使用 Mann-Whitney U 两独立样本非参数检验进行，检验水准为 0.05，当 $P < 0.05$ 时拒绝原假设，判定差异有统计学意义。实验结果表明，玳玳果黄酮降脂提取物效应组分经尿液消除较

慢，新橙皮苷及柚皮苷 K_e 分别为 $(0.080 \pm 0.021) \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $(0.077 \pm 0.017) \cdot \text{h}^{-1}$ ， $t_{1/2}$ 分别为 $(9.41 \pm 3.22) \text{h}$ 和 $(9.51 \pm 2.97) \text{h}$ ，动力学参数间差异无统计学意义。提示玳玳果黄酮降脂提取物效应组分新橙皮苷及柚皮苷经尿液的排泄动力学过程无明显差异。

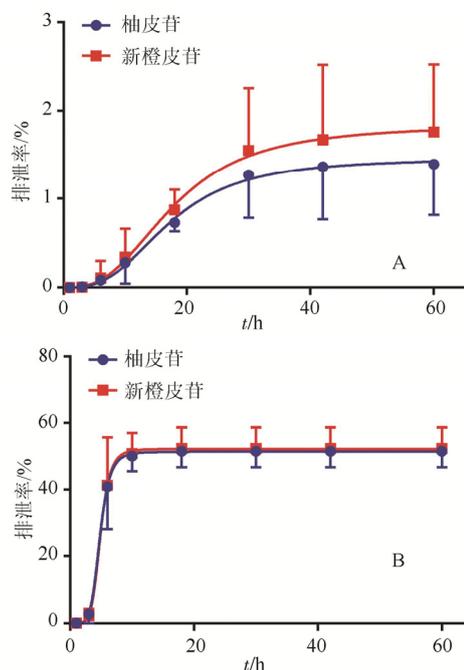


图 2 口服玳玳果黄酮降脂提取物后效应组分在尿液及粪便中的排泄过程

A—尿液；B—粪便。

Fig. 2 Excretion process of effective components after oral administration of the total flavonoids extractive of Daidai fruit in urine and feces

A—urine; B—feces.

3 讨论

使用尿药数据求算药动力学参数可使用速率法、亏量法等，速率法要求药物须以原形从尿中排出，且药物经肾排泄过程应符合一级动力学。实验曾使用尿药排泄速率对集尿时间作图，所得结果不成线性，提示玳玳果黄酮降脂提取物新橙皮苷及柚皮苷经肾排泄动力学为一级动力学过程的可能性小，故使用亏量法处理数据，以 $\ln(X_u^\infty - X_u^t) - t$ 作图，由尾端直线的斜率求算 K_e ，结果发现排泄亏量与时间相关性好，二者相关系数 r 在 0.882~0.977 之间，故实验采用亏量法计算药动力学参数，且所得结果与既往课题组研究结果可以相互验证^[12]，进一步证实亏量法计算玳玳果黄酮降脂提取物尿药药动力学参数的可靠性。

实验结果表明，玳玳果黄酮降脂提取物效应组分新橙皮苷及柚皮苷有近 50% 的原形药效组分

经粪便排出, 给药后 24 h 排泄即接近完全, 粪便排泄可能为新橙皮苷及柚皮苷以原形排出体外的主要途径; 而尿液中药物排泄缓慢, 提取物效应组分总排泄率均<2%, 给药 72 h 后仍可在尿液中检测到新橙皮苷和柚皮苷原形, 提示提取物在尿液的排泄形式可能为苷元、苷元的葡萄糖醛酸或硫酸结合物等二相代谢物形式, 经肾排泄过程可能不为一级动力学过程。前期实验研究显示^[1], 玳玳果黄酮降脂提取物中效应组分均与大鼠血浆蛋白有较高的结合率, 可能是导致效应组分的肾清除率低, 累计排泄量<2%的主要原因。综上提示, 2 种效应组分在体内消除相对缓慢, 效应组分进入体循环后便大量转化为代谢物的形式, 较高的血浆蛋白结合率可能是导致效应组分原形排泄率低的主要原因。

中药提取物在粪便及尿液中的排泄特征及样本前处理方法鲜有报道, 相比通过血药浓度计算得到药代动力学参数, 通过尿液及粪便中药物的含量变化指示排泄特征, 可以更加直观地描述中药在机体内的消除过程, 本研究较为详细地探讨了玳玳果黄酮降脂提取物在大鼠体内的排泄特性, 建立了简便易行的样品前处理方法, 明确了提取物效应组分口服后通过粪便及尿液 2 个排泄途径中的主要排泄形式, 为该提取物开发临床应用的递药系统研究提供了合理的指导依据。

REFERENCES

- [1] LIU M H, ZOU W, YANG C P, et al. Metabolism and excretion studies of oral administered naringin, a putative antitussive, in rats and dogs [J]. *Biopharm Drug Disposition*, 2012, 33(3): 123-134.
- [2] PENG Q, ZHANG Z R, SUN X, et al. Mechanisms of

phospholipid complex loaded nanoparticles enhancing the oral bioavailability [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(2): 565-575.

- [3] 新安, 王一仁. 饮片新参[M]. 上海: 上海千顷堂书局出版社, 1936: 128.
- [4] LIU Y J, CHEN D, HUANG Q D, et al. Study on extraction process of total flavonoids in Daidai [J]. *Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志)*, 2009, 29(21): 1826-1828.
- [5] 陈丹, 刘永静. 一种玳玳果总黄酮有效部位的制备方法[P]. 中国专利: CN201010556341. 9, 2011-05-18.
- [6] LIU Y J, CHEN D, QIU H X, et al. Study on antiatherosclerosis effects of Daidai flavones extract [J]. *Chin J Trad Med Sci Technol(中国中医药科技)*, 2013, 20(6): 622-623.
- [7] QIU H X, CHEN D, LIU Y J, et al. Study on antiatherosclerosis effects of Daidai flavones dropping pills on hyperlipidemia [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2011, 28(7): 597-601.
- [8] ZENG L J, CHEN D, HUANG Q D, et al. Isolation of a new flavanone from Daidai fruit and hypolipidemic activity of total flavonoids extracts [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(16): 1521-1528.
- [9] ZENG L J, CHEN D, ZHENG L, et al. Studies on pharmacokinetics features of characteristic active ingredients of Daidai flavone extract in different physiological status [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2014, 39(2): 309-315.
- [10] WU X Q, ZENG L J, CHEN D, et al. Study on the characteristic fingerprints *in vitro* and *in vivo* of total flavonoids extracts of Daidai by UPLC-MS [J]. *Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志)*, 2014, 34(20): 1734-1740.
- [11] DONG Z J, AN J, WANG Q M, et al. Simultaneous determination of tenacissoside A, tenacissoside H and tenacissoside I in Xiaoaiping injection by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2018, 35(3): 396-398.
- [12] LIAN Y F, CHEN D, LIAO S B, et al. Pharmacokinetics and bioavailability *in vivo* rats of Daidai flavonoids lipid-lowering dropping pills [J]. *Chin Pharm J(中国药学报)*, 2017, 52(13): 1171-1176.

收稿日期: 2018-10-08

(本文责编: 蔡珊珊)