

文冠果壳苷大鼠体内绝对生物利用度和体外代谢研究

徐萍蔚¹, 唐谦², 杨皓月³, 金艺³, 鹿秀梅^{3*} (1.国家药品监督管理局药品审评中心, 北京 100022; 2.浙江省药品化妆品审评中心, 杭州 310012; 3.沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要: 目的 采用 LC-MS/MS 测定大鼠血浆中文冠果壳苷的浓度, 研究其在大鼠体内的口服绝对生物利用度和体外代谢行为。方法 大鼠分别灌胃文冠果壳苷 40 mg·kg⁻¹ 和尾静脉注射文冠果壳苷 2 mg·kg⁻¹ 后, 不同时间点采集血样。采用 LC-MS/MS 分析方法测定大鼠血浆中文冠果壳苷的含量, 运用 DAS 3.3.2 软件计算相关的药动学参数, 并通过肠道菌群和肝 S9 体外孵化试验研究文冠果壳苷的代谢行为。结果 应用于经胃和静脉给药的文冠果壳苷线性浓度范围分别为 1.56~100 μg·L⁻¹ 和 200~40 000 μg·L⁻¹, 专属性、精密度、准确度、基质效应、提取回收率以及稳定性均符合生物样本分析要求。灌胃给药后大鼠血浆中文冠果壳苷的 ρ_{\max} 、AUC_{0-t} 分别为 (38.33±33.21) μg·L⁻¹ 和 (100.77±28.85) μg·h·L⁻¹; 静注给药后大鼠血浆中文冠果壳苷的 ρ_{\max} 、AUC_{0-t} 分别为 (24 428.01±10 386.18) μg·L⁻¹ 和 (17 355.24±10 498.71) μg·h·L⁻¹; 文冠果壳苷在大鼠体内的绝对生物利用度为 0.028%。与孵化前样品相比, 肠道菌群培养 48 h 和肝 S9 培养 2 h 后, 文冠果壳苷分别降解为孵化前的 90.7% 和 99.3%。结论 建立的 LC-MS/MS 分析方法可应用于文冠果壳苷在大鼠体内的药动学研究。文冠果壳苷在大鼠体内的口服绝对生物利用度仅为 0.028%, 这可能是由于极低的胃肠道吸收引起的。

关键词: 文冠果壳苷; LC-MS/MS; 绝对生物利用度; 孵化; 肠道菌群

中图分类号: R969.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)09-1201-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20221116

引用本文: 徐萍蔚, 唐谦, 杨皓月, 等. 文冠果壳苷大鼠体内绝对生物利用度和体外代谢研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9): 1201-1206.

Study on Absolute Bioavailability of Xanthoceraside in Rat and *in Vitro* Metabolic Behavior

XU Pingwei¹, TANG Qian², YANG Haoyue³, JIN Yi³, LU Xiumei^{3*} (1.Center for Drug Evaluation, NMPA, Beijing 100022, China; 2.Zhejiang Center for Drug & Cosmetic Evaluation, Hangzhou 310012, China; 3.School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method to determine the concentration of xanthoceraside(XAN) in rat plasma by LC-MS/MS, and to study its oral absolute bioavailability and metabolic behavior *in vitro* in rats. **METHODS** The blood sample was collected at different time points after intragastric administration of XAN at 40 mg·kg⁻¹ and intravenous administration of XAN at 2 mg·kg⁻¹. XAN in plasma sample was analyzed by the validated LC-MS/MS. DAS 3.3.2 software was used to calculate relevant pharmacokinetic parameters, the metabolic behavior of XAN was studied by intestinal microflora and liver S9 incubation test *in vitro*. **RESULTS** The linear concentration ranges of XAN were 1.56–100 μg·L⁻¹ and 200–40 000 μg·L⁻¹, which were applied to the determination after intragastric and intravenous administration separately. The specificity, precision, accuracy, matrix effect, extraction recovery and stability of the methods were consistent with the requirements for biological sample analysis. The pharmacokinetic parameters ρ_{\max} and AUC_{0-t} after oral administration were (38.33±33.21) μg·L⁻¹ and (100.77±28.85) μg·h·L⁻¹, respectively; and the ρ_{\max} and AUC_{0-t} after intravenous injection were (24 428.01±10 386.18) μg·L⁻¹ and (17 355.24±10 498.71) μg·h·L⁻¹, respectively. The absolute bioavailability of XAN in rat *in vitro* was 0.028%. In the incubation experiment, XAN remained 90.7% and 99.3% compared with the pre-incubation sample after 48 h of intestinal flora incubation and 2 h of liver S9 incubation. **CONCLUSION** The LC-MS/MS analytical method established is suitable for the pharmacokinetic study of the XAN in rats. The oral absolute bioavailability of XAN is 0.028%, which might be caused by the low absorption in gastrointestinal tract.

KEYWORDS: xanthoceraside; LC-MS/MS; absolute bioavailability; incubation; intestinal flora

文冠果又名木瓜、文登阁、崖木瓜等^[1-2], 为无患子科单型属中国特有植物, 第三纪孑遗种^[3], 主要分布于中国辽宁、河北、陕西等省, 其叶片、茎枝、果壳、种仁、种皮均可入药, 具有良好的

药用价值。文冠果果壳中含有多种活性成分, 主要以三萜类、黄酮类及香豆素类为主, 具有很好的抗阿尔茨海默病、增强记忆、抗肿瘤等活性^[4-7]。文冠果壳苷是一种从文冠果果壳中提取的三萜皂苷

作者简介: 徐萍蔚, 女, 硕士, 主管药师
15142059970@163.com

E-mail: xuxue-666666@163.com

*通信作者: 鹿秀梅, 女, 博士, 副教授 E-mail:

中国现代应用药学 2023 年 5 月第 40 卷第 9 期

Chin J Mod Appl Pharm, 2023 May, Vol.40 No.9

· 1201 ·

类化合物，其化学结构式见图 1。

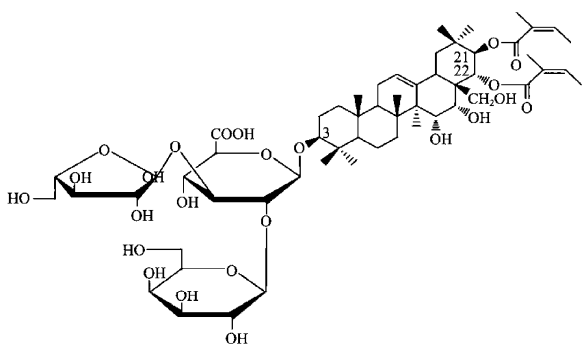


图 1 文冠果壳苷化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of xanthoceraside

文冠果壳苷具有抗炎^[8]，改善学习记忆^[9-10]，保护突触或提高突触可塑性^[11]等作用，并对胰岛素通路、tau 蛋白磷酸化及 O-GlcNAc 糖基化也有一定的影响^[12]。目前，国内外文献还未见血浆中文冠果壳苷浓度的测定及其药动学研究的相关报道，关于其体内生物转化过程的研究也很少。因此，本研究拟建立 LC-MS/MS 测定大鼠血浆中文冠果壳苷浓度的方法，研究其在大鼠体内的绝对生物利用度，并通过体外孵化实验推测其在大鼠体内的代谢行为。

1 材料

1290II Infinity 高效液相色谱仪(配备 G4220A 二元泵、G4226A 自动进样器、G1330B 恒温器和 G1316C 柱温箱，美国 Agilent 公司)；API 5500 三重四极杆质谱仪、API 4000 三重四极杆质谱仪(配备电喷雾离子源、Analyst 1.6.3 数据采集软件，美国 AB Sciex 公司)；MS 105DU 型电子分析天平(瑞士梅特勒托利多)；XH-D 涡旋混合器(上海启前电子科技有限公司)；D3024R 离心机[大龙兴创实验仪器(北京)有限公司，离心半径：5.5 cm]；KQ-300 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器)；L-128 氮气吹干仪(北京来亨科贸有限责任公司)；BCD-192KJ 冰箱(青岛海尔股份有限公司)；DW-86L626 立式超低温保存箱(Haier 公司)。

文冠果壳苷(沈阳药科大学天然药化实验室自制，含量：99.4%)；吡啶美辛(内标，批号：100258-200904；含量：99.8%)、黄芪甲苷对照品(批号：110781-201616；含量 97.4%)均购自中国食品药品检定研究院；乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)均来自 Fisher scientific；醋酸铵(分析纯，天津市大

茂化学试剂厂)；纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)；Solutol(德国 BASF 公司，批号：bcq5646V)；NADPH(大连美仑生物技术有限公司，批号：S0808A；含量：98.5%)；大鼠肝 S9(无锡欣润生物技术有限公司，批号：LS2003)；蛋白浓度：38 mg·mL⁻¹；脑心浸液(brain heart infusion, BHI)(美国 BD 公司，批号：0012128)；硝苯地平对照品(U.S.Pharmacopeia，批号：N-423；含量：99.7%)。

SD 大鼠 10 只，♂，体质量为(200±20)g。沈阳药科大学实验动物中心提供，动物使用许可证号：SYXK(辽)2018-0009；动物质量合格证号：211002300041933。

2 方法与结果

2.1 绝对生物利用度检测

2.1.1 测定条件 色谱条件：色谱柱为 Agela Venusil XBP C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm，3 μm)；流动相为乙腈(A)-5 mmol·L⁻¹ 醋酸铵水溶液(B)，梯度洗脱(0~1.0 min，30%A；1.0~1.5 min，30%→95%A；1.5~3.0 min，95%A；3.0~3.1 min，95%→30%A；3.1~3.5 min，30%A)。柱温箱温度 40 ℃；进样量 10 μL，流速 0.3 mL·min⁻¹。

质谱条件：离子源为 ESI 源，多反应监测(MRM)方式扫描，负离子检测模式；检测离子通道为 *m/z* 1 139.6→1 139.6(文冠果壳苷，待测物)；*m/z* 356.2→312.0(吡啶美辛，内标)。源电压为 -4 500 V，Gas1(N₂)为 70 psi，Gas2(N₂)为 65 psi，离子源温度为 600 ℃，Curtain Gas(N₂)为 13 psi，CAD Gas(N₂)为 2 psi。文冠果壳苷和内标吡啶美辛的产物离子全扫描(*m/z* 50→1 250)质谱图见图 2。

2.1.2 溶液的配制 标准溶液与质量控制溶液的配制：精密称取适量文冠果壳苷对照品，加入适量甲醇溶解，配成文冠果壳苷储备液(1.0 g·L⁻¹)，平行操作 2 份。其中一份储备液用甲醇进一步稀释获得 2 组对照品溶液，分别作为灌胃和静注给药的系列对照品溶液。文冠果壳苷的浓度分别为 10 000，5 000，2 500，1 250，625，312.5，156 μg·L⁻¹ 和 40 000，20 000，10 000，5 000，2 000，1 000，500，200 μg·L⁻¹。另一份储备液同法配制得 2 组质控溶液，浓度分别为 8 000，2 000，400 μg·L⁻¹ 和 32 000，8 000，400 μg·L⁻¹。均于 -20 ℃ 保存，备用。

内标溶液的配制：精密称取吡啶美辛对照品适量，加入适量甲醇溶解，配成浓度为 1.0 g·L⁻¹ 的吡啶美辛内标储备液。用甲醇进一步稀释至

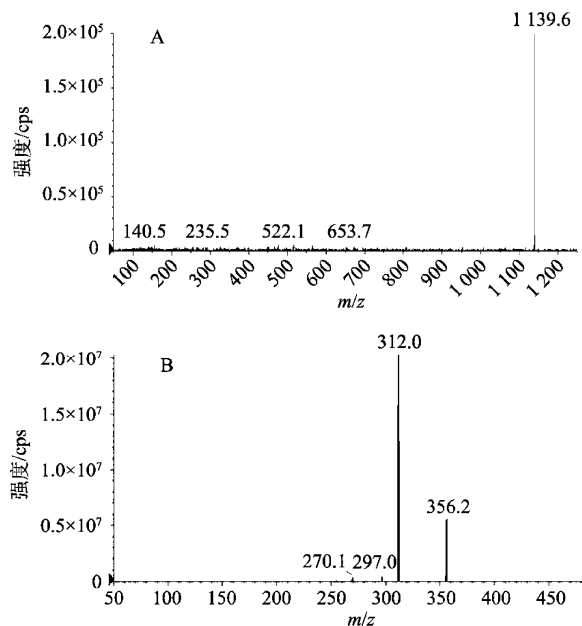


图 2 文冠果壳苷(A)和内标吲哚美辛(B)[M-H]⁻的产物离子全扫描质谱图
Fig. 2 Product ion spectra of [M-H]⁻ of xanthoceraside(A) and indomethacin(B)

200 μg·L⁻¹ 和 2 000 μg·L⁻¹, 分别作为灌胃给药血浆所得样品和静脉注射给药所得血浆样品的内标工作溶液。于-20 ℃保存, 备用。

2.1.3 血浆样品的处理 灌胃给药所得血浆样品处理方法: 取大鼠血浆样品 100 μL 于 1.5 mL 塑料管中, 依次加入内标工作溶液(200 μg·L⁻¹ 吲哚美辛)10 μL, 甲醇 10 μL(代替标准工作溶液或质控工作溶液)和乙腈 200 μL, 涡旋 30 s, 冷冻离心(12 000 r·min⁻¹, 4 ℃)5 min, 取上清液 270 μL 至 2 mL 塑料管中, 在 40 ℃氮气流下吹干, 加入 70 μL 乙腈-5 mmol·L⁻¹ 醋酸铵缓冲溶液(30 : 70), 涡旋 1 min, 冷冻离心(12 000 r·min⁻¹, 4 ℃)5 min 后, 取上清液 10 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

静脉注射给药所得血浆样品处理方法: 取大鼠血浆样品 20 μL 于 1.5 mL EP 管中, 依次加入内标工作溶液(2 000 μg·L⁻¹ 吲哚美辛)10 μL, 甲醇 20 μL(代替标准工作溶液或质控工作溶液)和乙腈 40 μL, 涡旋 30 s, 冷冻离心(12 000 r·min⁻¹, 4 ℃)5 min, 取上清液 10 μL 至 1.5 mL 塑料管中, 加入 490 μL 乙腈-5 mmol·L⁻¹ 醋酸铵缓冲溶液(30 : 70), 涡旋 30 s, 取 10 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

2.1.4 分析方法确证 方法学验证遵从中国药典 2020 年版四部“9012 生物样品定量分析方法验证指导原则^[13]”和 FDA 关于生物分析方法验证指

南^[14]。分别取大鼠空白血浆 100 μL 和 20 μL, 各自加入上述灌胃和静注的文冠果壳苷系列标准溶液 10 μL 和 20 μL, 按“2.1.3”项下方法处理后作为灌胃和静注给药血浆样品的系列对照品溶液, 分析方法的线性范围为 1.56~100 μg·L⁻¹(灌胃给药适用线性范围)和 200~40 000 μg·L⁻¹(静脉给药适用线性范围), 定量下限分别为 1.56 μg·L⁻¹ 和 200 μg·L⁻¹。在上述 2 个线性范围内定量分析方法的专属性好, 见图 3; 日内和日间精密度 RSD ≤ 14.87%; 平均提取回收率分别在 88.61%~106.08% 和 96.04%~104.22%; 内标的平均提取回收率分别为 94.33% 和 95.40%; 基质效应 RSD 分别为 4.76% 和 3.49%; 血浆样品在室温放置 6 h、-20 ℃放置 30 d、-30 ℃~15 ℃冻融循环 5 次后稳定性良好。该方法可以分别满足灌胃给药和静脉给药后获得的生物样品的检测要求。

2.1.5 药动学和绝对生物利用度研究 采用随机、开放的试验设计。10 只健康 SD 大鼠, 随机分为 2 组(每组 5 只), 禁食 12 h 后, 分别灌胃和尾静脉注射给予文冠果壳苷 40 mg·kg⁻¹(溶剂: 0.5%羧甲基纤维素钠溶液)和 2 mg·kg⁻¹(溶剂: PEG400 : 生理盐水=1 : 1)。实验期间动物自由饮水, 于给药后 12 h 恢复进食。灌胃组于给药前及给药后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 h 眼眶取血 0.3 mL; 静注组于给药前及给药后 5, 15, 30 min 以及 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 眼眶取血 0.2 mL; 置肝素化离心试管中, 4 ℃离心 5 min(4 000 r·min⁻¹), 分离血浆, -70 ℃保存待测。按“2.1.3”项下方法处理未知血浆样品, 并采用已验证的 LC-MS/MS 方法进行检测, 得到的平均血药浓度-时间曲线见图 4。采用药动学统计软件(DAS 3.3.2)计算药动学参数, 结果见表 1。

以大鼠单剂量静脉注射给予文冠果壳苷 2 mg·kg⁻¹ 后体内血药浓度-时间曲线下面积 AUC_{0-∞} 为参比, 计算大鼠单剂量灌胃给予文冠果壳苷 40 mg·kg⁻¹ 后文冠果壳苷入血的绝对生物利用度, 计算方法见公式(1), 得到文冠果壳苷在 SD 大鼠体内的绝对生物利用度为 0.028%。

$$F_{absolute}(\%) = \frac{AUC_{0-\infty(i.g.)} \times Dose_{i.v.}}{AUC_{0-\infty(i.v.)} \times Dose_{i.g.}} \times 100\% \quad (1)$$

式中, AUC_{0-∞(i.g.)} 表示灌胃给药后药物从零时间至所有原形药物全部消除这一段时间的药-时曲线下总面积; AUC_{0-∞(i.v.)} 表示静脉注射给药后药物

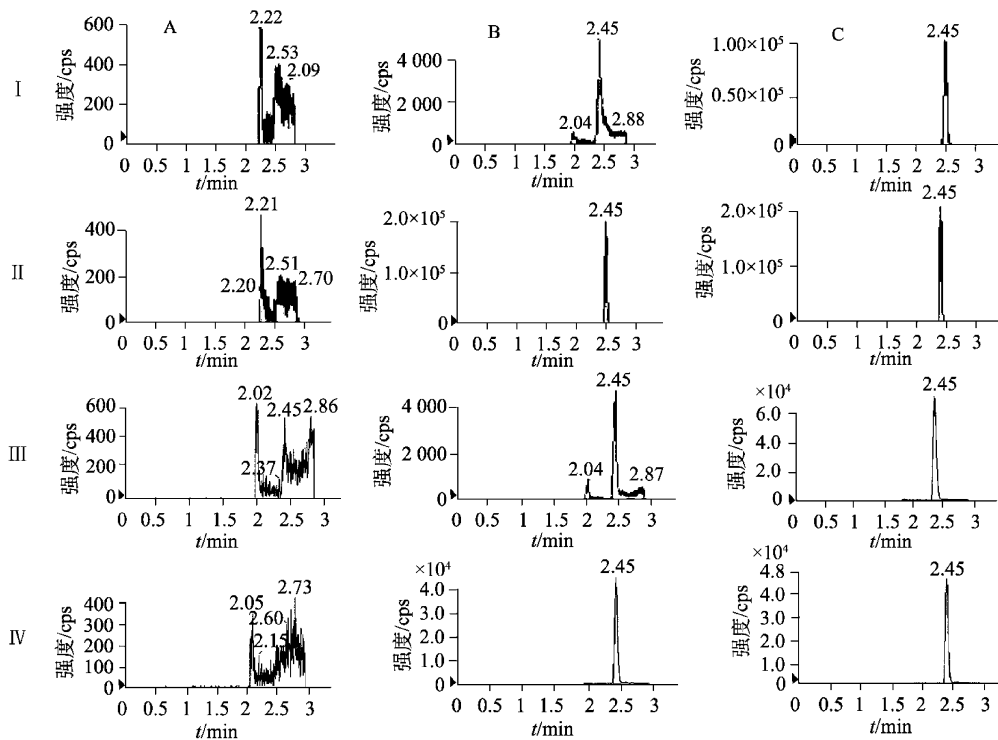


图3 大鼠灌胃和静注给药后文冠果壳苷及其内标的代表性MRM色谱图

I、II-灌胃给药文冠果壳苷和内标色谱图；III、IV-静注给药文冠果壳苷和内标色谱图；A-空白血浆；B-空白血浆中加标定量下限(灌胃， $1.56 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ；静注， $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的文冠果壳苷；C-给药后0.5 h的大鼠血浆样品。

Fig. 3 Representative MRM chromatograms of xanthoceraside and the internal standard after intragastric administration and intravenous administration in rats

Chanel I and II for xanthoceraside and the internal standard after intragastric administration, respectively; Chanel III and IV for xanthoceraside and the internal standard after intravenous administration, respectively; A-blank plasma sample; B-blank plasma sample spiked with xanthoceraside at the LLOQ (intragastric, $1.56 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; intravenous, $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); C-rat plasma sample collected at 0.5 h after administration.

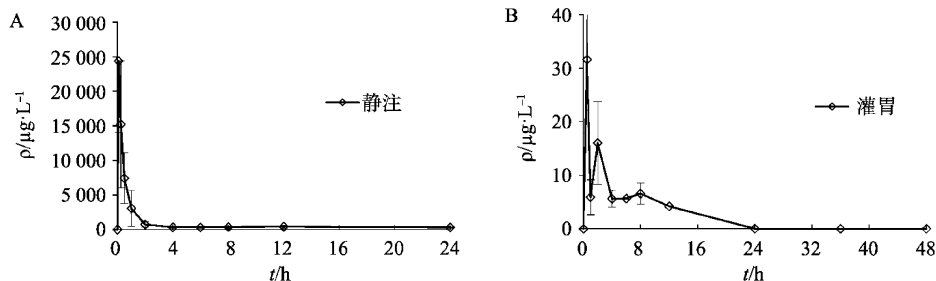


图4 SD大鼠静注(A)和灌胃(B)给予文冠果壳苷后的平均血药浓度-时间曲线

Fig. 4 Mean plasma concentration-time curve of xanthoceraside in SD rats after intragastric(A) and intravenous(B) administration

表1 大鼠灌胃和静脉注射给予文冠果壳苷后的主要药动学参数(n=5)

Tab. 1 Main pharmacokinetic parameters of xanthoceraside after intragastric and intravenous administration to rat(n=5)

给药方式	$\rho_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	t_{max}/h	$t_{1/2}/\text{h}$	$\text{AUC}_{0-\infty}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{AUC}_{0-24}/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$
灌胃	38.33 ± 33.21	1.10 ± 0.56	7.17 ± 5.90	100.77 ± 28.85	114.36 ± 14.62
静脉注射	$24\ 428.01\pm 10\ 386.18$	0.08	7.69 ± 14.19	$17\ 355.24\pm 10\ 498.71$	$20\ 764.45\pm 17\ 351.71$

从零时间至所有原形药物全部消除这一段时间的
药-时曲线下总面积； $\text{Dose}_{\text{i.g.}}$ 表示灌胃给药剂量；
 $\text{Dose}_{\text{i.v.}}$ 表示静脉注射给药剂量。

2.2 文冠果壳苷的体外孵化研究

2.2.1 测定条件 液相条件：色谱柱为 Diamonsil
 C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm，5 μm)；流动相为乙腈

(A)-5 mmol·L⁻¹ 醋酸铵水溶液(B), 梯度洗脱(0~3 min, 30%A; 3~5 min, 30%→95%A; 5~8 min, 95%A; 8~9 min, 95%→30%A; 9~12 min, 30%A), 以 1.0 mL·min⁻¹ 的流速泵入, 柱后 0.5 mL·min⁻¹ 分流; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL。

质谱条件: 离子源为电喷雾离子源(ESI 源); 多反应监测(MRM)方式扫描; 负离子检测模式; 检测离子通道为 *m/z* 1 139.6→1 139.6(文冠果壳苷); 源电压为-4 500 V; Gas1(N₂)为 50 psi, Gas2(N₂)为 50 psi; 离子源温度为 600 °C; Curtain Gas(N₂)为 20 psi; CAD Gas(N₂)为 4 psi。

2.2.2 肠道菌群孵化 将 20 L BHI 溶液加入从 5 只 SD 大鼠获得的 2.5 g 混合新鲜粪便中。冷冻离心(300 r·min⁻¹, 4 °C)5 min, 取上清液于干净的离心管中, 冷冻离心(4 000 r·min⁻¹, 4 °C)10 min, 弃去上清液, 所得残渣加入 15 mL BHI 培养液涡旋, 得到肠菌液(质量浓度为 0.17 g·mL⁻¹)。将文冠果壳苷储备液用甲醇稀释至 800 μmol·L⁻¹(912 mg·L⁻¹), 取稀释后溶液 5 μL 于 2 mL 塑料管中, 置于 40 °C 氮气下吹干。将肠菌液 20 μL 和 BHI 培养液 180 μL 加入离心管中, 涡旋 2 min, 在 37 °C 密闭孵化 0, 24, 48 h。所有样本平行操作 2 份。孵化结束后, 向样品中加入 2 倍体积冰冷的乙腈终止反应, 将样品冷冻离心(4 000 r·min⁻¹, 4 °C)5 min, 作为实验组, 取 10 μL 上清液用于 LC-MS/MS 分析。以黄芪甲苷(终浓度为 20 μmol·L⁻¹)为阳性对照药, 同法操作。以 125 °C 高压灭活后的肠菌液, 同法操作, 作为阴性对照。除不加底物外, 同法操作, 作为空白对照。结果见表 2。

表 2 文冠果壳苷在肠道菌群孵化体系中的峰面积变化
Tab. 2 Change of peak area of xanthoceraside in intestinal flora incubation system

分组	t/h	平均峰面积	剩余量百分比/%
实验组	0	62 500	100.0
	24	57 200	91.5
	48	56 700	90.7
阳性对照组	0	1 570 000	100.0
	24	198 000	12.6
	48	171 000	10.9
阴性对照组	0	68 400	100.0
	24	65 900	96.3
	48	72 000	105.3

2.2.3 大鼠肝 S9 孵化 取 5 μL 800 μmol·L⁻¹ 文冠果壳苷溶液于 2 mL EP 管中, 置于 40 °C 氮气下吹

干, 向其中再加入 7 μL 大鼠肝 S9; 20 μL KCl-MgCl₂ 溶液和 163 μL KPI 缓冲液, 涡旋 2 min, 置于 37 °C 水浴中预孵化 5 min。向混合物中加入 10 μL NADPH 于 37 °C 条件下正式开始孵化 0 h 和 2 h, 样品平行操作 2 份。孵化结束后, 向样品中加入 2 倍体积冰冷的乙腈终止反应, 将样品冷冻离心(4 000 r·min⁻¹, 4 °C)5 min, 取上清液 10 μL 用于 LC-MS/MS 分析。以硝苯地平(终浓度为 20 μmol·L⁻¹)为阳性对照药, 同法操作。以不加 NADPH 同法操作获得的样品, 作为阴性对照。除不加底物外, 同法操作, 作为空白对照。结果见表 3。

表 3 文冠果壳苷在大鼠肝 S9 孵化体系中的峰面积变化
Tab. 3 Change of peak area of xanthoceraside in rat liver S9 incubation system

分组	t/h	平均峰面积	剩余量百分比/%
实验组	0	57 400	100.0
	2	57 000	99.3
阳性对照组	0	2 370 000	100.0
	2	1 610 000	68.1
阴性对照组	0	60 800	100.0
	2	60 100	98.8

3 讨论

本研究进行了预试验, 发现灌胃给予文冠果壳苷大鼠体内测得血药浓度与静脉注射给药相差过大, 因此本研究最终拟定 2 条标准曲线分别对灌胃及静脉注射给药体内文冠果壳苷浓度进行测定; 同时在样品处理方法上, 通过增加灌胃给药大鼠血浆用量及对样品进行浓缩等方法提高方法的灵敏度, 从而更准确地对体内文冠果壳苷的浓度进行测定。

经计算, 文冠果壳苷在 SD 大鼠体内的口服绝对生物利用度仅为 0.028%, 表明灌胃给予文冠果壳苷后吸收进入 SD 大鼠体循环的文冠果壳苷原型药物相对量极低, 即灌胃给予文冠果壳苷在 SD 大鼠体内几乎不吸收。原因可能是文冠果壳苷与人参皂苷等大部分三萜皂苷类化合物结构相似, 其分子量较大, 需经消化酶和肠道菌群的代谢作用降解为小分子量的化合物才能被人体吸收, 而动物体内发挥这类作用的酶很少。且其易被胃酸分解; 肠黏膜对其通透性差等因素都可能导致其口服生物利用度极低。

从灌胃给予文冠果壳苷的 5 只 SD 大鼠各自及平均药时曲线来看, 均有明显的双峰现象, 推测

灌胃后,文冠果壳苷在SD大鼠体内的吸收过程可能存在肝肠循环。

体外孵化试验结果显示,文冠果壳苷在大鼠肝S9孵化下和肠道菌群孵化下均几乎没有发生代谢。由此推测大鼠灌胃给予文冠果壳苷后,文冠果壳苷几乎不被吸收,且大部分以原型的形式排出体外。

4 结论

本研究首次建立了一种快速、简单的LC-MS/MS方法测定大鼠血浆中文冠果壳苷的浓度,并用于研究大鼠体内文冠果壳苷的药动学行为。大鼠灌胃给予40 mg·kg⁻¹文冠果壳苷后的绝对生物利用度仅为0.028%。体外代谢研究显示,肠道菌群和大鼠肝S9对文冠果壳苷的转化作用微弱,因此肝脏和肠道代谢不是引起该化合物口服生物利用度低的主要原因,推测其极低的口服生物利用度可能是由于胃肠道吸收受限引起的。

REFERENCES

- [1] 商庆辉,孙妍.文冠果的化学成分和药理作用研究进展[J].中国药房,2015,26(30):4316-4320.
- [2] 赵彩云,宿华,赵英顺.文冠果的综合开发利用价值[J].内蒙古林业调查设计,2008,31(6):118-119.
- [3] ZHANG S, ZU Y G, FU Y J, et al. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) and its anti-oxidant activity[J]. Bioresour Technol, 2010, 101(7): 2537-2544.
- [4] WAN G S, WANG X B, WU L J, et al. Advances in studies on chemical constituents of *Xanthoceras sorbifolia* and their pharmacological activities[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2013, 44(13): 1842-1851.
- [5] WANG D, SU D, LI X Z, et al. Barrigenol triterpenes from the husks of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge and their antitumor activities[J]. RSC Adv, 2016, 6(33): 27434-27446.
- [6] LI Y J, XU J K, XU P, et al. *Xanthoceras sorbifolia* extracts ameliorate dendritic spine deficiency and cognitive decline via upregulation of BDNF expression in a rat model of Alzheimer's disease[J]. Neurosci Lett, 2016(629): 208-214.
- [7] LI Z L. Studies on the chemical constituents and biological activities of the husks of *Xanthoceras sorbifolia* Bge.[D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2006.
- [8] QI Y, JI X F, CHI T Y, et al. *Xanthoceraside* attenuates amyloid β peptide1-42-induced memory impairments by reducing neuroinflammatory responses in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2018(820): 18-30.
- [9] JIN G, WANG L H, JI X F, et al. *Xanthoceraside* rescues learning and memory deficits through attenuating beta-amyloid deposition and tau hyperphosphorylation in APP mice[J]. Neurosci Lett, 2014(573): 58-63.
- [10] LIU P, ZOU L B, JIAO Q, et al. *Xanthoceraside* attenuates learning and memory deficits via improving insulin signaling in STZ-induced AD rats[J]. Neurosci Lett, 2013(543): 115-120.
- [11] 刘鹏,朱琳,纪雪飞,等.文冠果壳苷对APP/PS1转基因小鼠突触可塑性的作用及其机制研究[J].神经药理学报,2018,8(2): 32.
- [12] 邹莉波,刘鹏,迟天燕,等.文冠果壳苷对侧脑室注射STZ致痴呆大鼠脑内tau蛋白磷酸化及O-GlcNAc修饰的调节作用[J].中国药理通讯,2013,30(2): 34-35.
- [13] 中国药典.一部[S].2020: 466-472.
- [14] US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. US Food and Drug Administration Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation[S]. (2018-05-24). <https://www.fda.gov/media/70858/download>.

收稿日期: 2022-03-31

(本文责编: 沈倩)