

· 药物代谢 ·

## LC-MS/MS 分析银杏二萜内酯葡胺注射液在 人尿液中的代谢产物

耿婷<sup>1</sup>, 张射兵<sup>2</sup>, 李艳静<sup>1</sup>, 黄文哲<sup>1</sup>, 王振中<sup>1</sup>, 萧伟<sup>1\*</sup>

(1. 江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001;  
2. 南京中医药大学, 南京 210046)

**[摘要]** 目的:研究银杏二萜内酯葡胺注射液在人尿液中的主要代谢产物及其代谢途径。方法:3名受试者静脉滴注银杏二萜内酯葡胺注射液后收集0~6h的尿样,分别按酸化和不酸化样品处理后,以液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对样品进行分析。采用ACE C<sub>18</sub>-AR色谱柱(4.6 mm×150 mm,3 μm),酸性HPLC条件流动相I为乙腈-0.4%甲酸铵水溶液(pH 3.2)梯度洗脱,中性HPLC条件流动相II为乙腈-水梯度洗脱,流速0.7 mL·min<sup>-1</sup>。通过比较空白尿样和给药后尿样的总离子流和提取离子流色谱图以及各个色谱峰的保留时间、准分子离子和二级碎片离子,分析银杏内酯A(GA),银杏内酯B(GB)和银杏内酯K(GK)在人体内可能的代谢产物。结果:除原型药外,共鉴定了12个代谢产物,其中GA相关的代谢产物有6个,包括5个I相和1个II相代谢产物;GB相关的有4个,包括1个I相和3个II相代谢产物;GK相关的有2个,包括1个I相和1个II相代谢产物。结论:GA在人体内主要的代谢途径为羟基化和内酯环水解,并可进一步共价结合成硫酸酯;GB主要的代谢途径为羟基化和内酯环水解,并可进一步共价结合成硫酸酯、葡萄糖醛酸苷或谷胱甘肽结合物;GK在人体内主要的代谢途径为甲基化葡萄糖醛酸结合反应。

**[关键词]** 银杏二萜内酯葡胺注射液;尿液;代谢产物;银杏内酯A;银杏内酯B;银杏内酯K

**[中图分类号]** R969.1;R945;R284.1;O657.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)11-0090-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017110090

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170309.1013.044.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-09 10:13

## Analysis of Metabolites of Ginkgo Diterpene Lactone Meglumine Injection in Human Urine by LC-MS/MS

GENG Ting<sup>1</sup>, ZHANG She-bing<sup>2</sup>, LI Yan-jing<sup>1</sup>, HUANG Wen-zhe<sup>1</sup>,  
WANG Zhen-zhong<sup>1</sup>, XIAO Wei<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Pharmaceutical New-Tech for Chinese Medicine, Jiangsu Kanion  
Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China;  
2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the major metabolites of ginkgolide A (GA), ginkgolide B (GB) and ginkgolide K (GK) from ginkgo diterpene lactone meglumine injection in human urine. **Method:** The urine samples of the volunteers after a single intravenous infusion administration of ginkgo diterpene lactone meglumine injection were collected for 0-6 h, then the samples were prepared with or without acidification treatment and

**[收稿日期]** 20161224(002)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203);江苏省自然科学基金项目(BK20130403)

**[第一作者]** 耿婷,博士,中级工程师,从事药物分析、质量标准、中药及复方药物的药代动力学研究,Tel:18001598290,E-mail:yilinger110@126.com

**[通讯作者]** \*萧伟,博士,研究员级高级工程师,从事中药新药的研究与开发,Tel:025-86587935,E-mail:kanionxw2010@126.com

analyzed by LC-MS/MS. The potential metabolites of GA, GB and GK were analyzed through comparing the total ion current (TIC) and extract ion current (EIC) chromatogram of the test samples with the blank urine and analyzing the quasi-molecular ion and secondary fragment ion of all chromatograms. **Result:** In addition to the prototype drugs, twelve metabolites were found in human urine containing five phase I metabolites and one phase II metabolite from GA, one phase I metabolite and three phase II metabolites from GB, one phase I metabolite and one phase II metabolite from GK. **Conclusion:** The major metabolic pathways of GA in human are hydroxylation and lactone ring hydrolysis, then hydrolyzation is followed by conjugation with sulfuric acid. The major metabolic pathways of GB are hydroxylation and lactone ring hydrolysis, then hydrolyzation is followed by conjugation with sulfuric acid, glucuronic acid, and glutathione, respectively. The major metabolic pathways of GK is methyl glucuronic acid binding reaction.

[**Key words**] ginkgo diterpene lactone meglumine injection; urine; metabolites; ginkgolide A; ginkgolide B; ginkgolide K

银杏二萜内酯葡胺注射液为江苏康缘药业股份有限公司已上市品种,是以银杏二萜内酯(主要成分为银杏内酯 A,银杏内酯 B 和银杏内酯 K)为原料,葡甲胺、柠檬酸和氯化钠为辅料制成的新型中药制剂<sup>[1]</sup>,具有活血通络之功效,临床主要用于脑梗死(中风病中经络痰瘀阻络证)的治疗。药效学研究表明该注射剂对动脉粥样硬化性血栓性脑梗死恢复期痰瘀阻络证<sup>[2]</sup>、急性脑梗死<sup>[3]</sup>、脑缺血致神经细胞损伤<sup>[4]</sup>及大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤<sup>[5-6]</sup>等具有较好的治疗和保护作用。

银杏二萜内酯葡胺注射液是经过国家食品药品监督管理局(CFDA)批准的中药 5 类新药,国家药物临床试验机构南京医科大学第一附属医院 I 期临床试验研究室根据《药物临床试验管理规范》、《新药临床研究指导原则》等相关规定,经南京医科大学第一附属医院伦理委员会伦理批准,对其进行 I 期临床试验,受试者在试验开始前签署知情同意书。当药物进入 I 期临床试验后,药物代谢研究着重于鉴定人体内的循环代谢物和排泄代谢物,尽可能完整地表征主要代谢物<sup>[7]</sup>。本研究为 I 期临床预试验阶段,采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)联用技术研究 3 名健康受试者静脉滴注银杏二萜内酯葡胺注射液后在尿液中的原型成分及其代谢产物,为揭示该注射剂的体内代谢过程及机制、指导其临床合理用药提供科学依据。

## 1 材料

XS105 和 PL602-L 型电子分析天平,SevenEasy 型 pH 计(瑞士梅特勒-托利多公司);LC-20A 型超高效液相色谱仪(日本岛津公司),LTQ Orbitrap XL 组合型离子阱-轨道阱组合质谱仪[德国 Thermo Fisher 公司,包括电喷雾离子源(ESI),线性离子阱

质谱(linear ion trap, LTQ)和轨道离子阱质谱(orbitrap)并依次串联],5810R 型高速冷冻离心机(Eppendorf 公司),Vortex-Genie2 型涡旋仪(美国 MoBio 公司)。

银杏内酯 A(GA),银杏内酯 B(GB)和银杏内酯 K(GK)对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110862-201310, 110863-201209, 111936-201201,纯度分别为 95.4%, 99.9%, 94.6%);银杏二萜内酯葡胺注射液(江苏康缘药业股份有限公司,批号 130202,规格 5 mL/支,含银杏二萜内酯 25 mg,其中 GA 8.5 mg,GB 14.5 mg,GK 1.0 mg),水为纯化水,甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 尿样的采集** 3 名健康受试者(男性 1 名,女性 2 名),18~40 岁,体重指数 19~25 kg·m<sup>-2</sup>。受试者于服药前夜开始禁食不禁水 10 h 以上,第 2 天清晨排空尿液,早餐后 30 min 开始静脉滴注银杏二萜内酯葡胺注射液(临用前将注射液 5 mL 加至 0.9% 氯化钠注射液 250 mL 中稀释),收集给药前 0~1 h 及给药后 0~6 h 的尿样,测定尿样体积,分装尿样,置于 -20 ℃ 冰箱保存。

### 2.2 尿样的处理

**2.2.1 酸化样品** 取受试者 0~6 h 尿样,减压浓缩至一定体积,加甲醇沉淀除盐,水浴浓缩至小体积后加适量盐酸酸化,上样至预处理后的 HLB 固相萃取柱,加适量水洗,加 85% 甲醇和甲醇依次洗脱,洗脱液混合后用旋转蒸发仪干燥,加 50% 甲醇复溶,即得。

**2.2.2 不酸化样品** 取受试者尿液样品,减压浓缩至小体积,加甲醇反复沉淀除盐后水浴浓缩至小体

积,加 50% 甲醇复溶,所得样品用于 LC-MS/MS 分析。

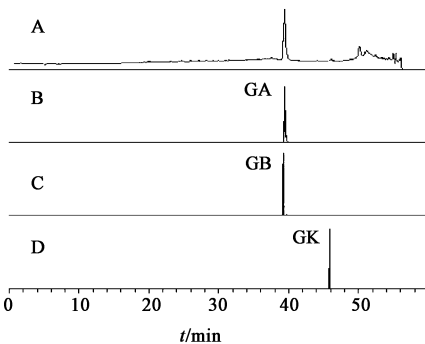
### 2.3 分析条件

**2.3.1 色谱条件** ACE C<sub>18</sub>-AR 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 3 μm), ACE C<sub>18</sub> 保护柱(3.0 mm × 10 mm, 3 μm), 流动相 I 和 II 分别为乙腈(A)-0.4% 甲酸铵水溶液(pH 3.2, B) 和乙腈(A)-水(B) 梯度洗脱(0~5 min, 0% A; 5~40 min, 0%~35% A; 40~50 min, 35%~100% A; 50~55 min, 100% A; 55~57 min, 100~0% A; 57~70 min, 0% A), 流速 0.7 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 4 °C, 进样量 10 μL。

**2.3.2 质谱条件** 质谱条件 I 为正离子模式, 质谱条件 II 为负离子模式。电喷雾离子化源(ESI), 离子化电压 3.5 kV, 毛细管温度 350 °C, 毛细管电压 ±14 eV, 透镜补偿电压 ±70 V, 锥孔补偿电压 0 V, 鞘气压力 2.067 × 10<sup>5</sup> Pa, 辅助气流量 5 L·min<sup>-1</sup>, 扫吹气流量 10 L·min<sup>-1</sup>, 扫描方式为 Q1 和 MS<sup>2</sup>; 其中 MS<sup>2</sup> 模式下, 碰撞诱导解离(CID), 碰撞能量为归一化能量 35%; 扫描范围 *m/z* 100~800。

### 2.4 GA, GB 和 GK 的质谱分析

**2.4.1 GA** GA 产生的质子化 GA([M+H]<sup>+</sup>) 为 *m/z* 409.152 5, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub> 吻合(误差 -3.489 1 ppm), 保留时间 39.4 min。在(+)碰撞诱导解离(CID)模式下, GA 连续丢失水(18 Da) 形成碎片离子 *m/z* 391.140 5, 373.129 9, 丢失 1 个 CO(28 Da) 形成碎片离子 *m/z* 363.145 7, 脱水(18 Da) 生成 *m/z* 345.135 2, 再丢失 CO(28 Da) 形成碎片离子 *m/z* 317.138 4, 所有碎片离子均与 GA 对照品的结构相符。见图 1。



A. TIC; B, C, D. EIC

图 1 银杏二萜内酯葡胺注射液中 GA, GB 和 GK 的 TIC 和 EIC  
Fig. 1 TIC and EIC of GA, GB and GK from ginkgo diterpene lactone meglumine injection

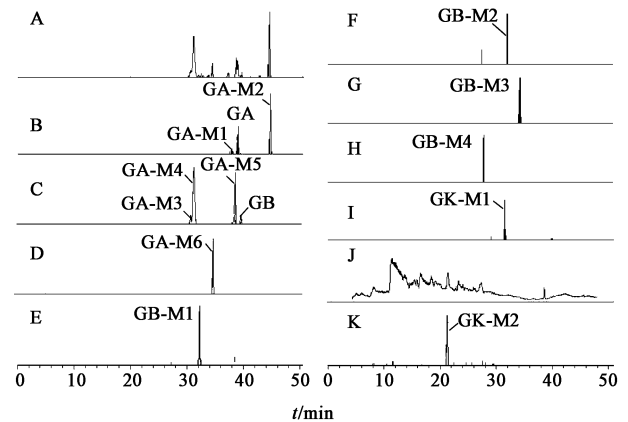
**2.4.2 GB** GB 产生的质子化 GB([M+H]<sup>+</sup>) 为 *m/z* 425.148 3, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> 吻合

(误差 -1.499 6 ppm), 保留时间 39.2 min。在(+)CID 模式下, GB 连续丢失水(18 Da) 形成碎片离子 *m/z* 407.135 4, 389.124 7, 371.114 2, *m/z* 407.135 4 丢失 CO(28 Da) 形成碎片离子 *m/z* 379.140 5, 进而脱水(18 Da) 生成 *m/z* 361.129 9, 343.119 4; *m/z* 407.135 4 丢失 CO<sub>2</sub>(44 Da) 形成碎片离子 *m/z* 363.145 6, 脱水(18 Da) 生成 *m/z* 345.132 5, *m/z* 343.119 4 丢失一氧化碳(28 Da) 形成碎片离子 *m/z* 315.112 5, 所有碎片离子均与 GB 对照品的结构相符。见图 1。

**2.4.3 GK** GK 产生的质子化 GK([M+H]<sup>+</sup>) 为 *m/z* 407.135 2, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub> 吻合(误差 3.275 6 ppm), 保留时间 45.8 min。在(+)CID 模式下, GK 丢失水(18 Da) 形成碎片离子 *m/z* 389.124 5, 继而丢失一氧化碳(28 Da) 形成碎片离子 *m/z* 361.128 3, 继而丢失水(18 Da) 形成碎片离子 *m/z* 343.345 8, 所有碎片离子均与 GK 对照品的结构相符。见图 1。

### 2.5 代谢产物分析

**2.5.1 GA** 与空白生物样品相比, 在给药后受试者尿液中除原形药(GA, *m/z* 409.149[M+H]<sup>+</sup>) 外, 检测到的代谢产物的 *m/z* 分别为 409.149(GA-M1 和 GA-M2), 425.144(GA-M3, GA-M4 和 GA-M5), 507.114(GA-M6)。利用精确分子质量和质谱裂解规律, 鉴定代谢产物的结构。见图 2。



A. (+)-TIC; B. (+)-EIC 409; C. (+)-EIC 425; D. (+)-EIC 507; E. (+)-EIC 441; F. (+)-EIC 523; G. (+)-EIC 635; H. (+)-EIC 748; I. (+)-EIC 407; J. (-)-TIC; K. (-)-EIC 595

图 2 健康人体给药后尿液样品中各代谢产物的 TIC 和 EIC  
Fig. 2 TIC and EIC of metabolites in human urine after administration of ginkgo diterpene lactone meglumine injection

GA-M1 和 GA-M2; HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在 *m/z* 409.149[M+H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 2 个色谱峰, 与 GA 的分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub> 相吻合(误

差分别为 1.317 3, 0.420 1 ppm), 保留时间分别为 38.2, 44.6 min。在 (+)CID 模式下, GA-M1 和 GA-M2 连续丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  391, 373, 并进一步丢失一氧化碳 (28 Da) 形成碎片离子  $m/z$  363, 345。因保留时间不同, 故推测为 GA 的异构体。

GA-M3, GA-M4 和 GA-M5: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  425.144 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可检测到 3 个色谱峰, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> (误差分别为 0.236 1, 1.237 8, 2.296 7 ppm) 相吻合, 保留时间分别为 30.7, 31.4, 38.7 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GA 增加 1 个 O。在 (+)CID 模式下, GA-M3 ~ M5 连续丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  407, 389, 371, 继而丢失一氧化碳 (28 Da) 形成碎片离子  $m/z$  379, 361, 343, 推测为 GA 的羟基化产物。

GA-M6: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  507.114 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>S (误差 -3.986 1 ppm) 相吻合, 保留时间 34.6 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GA 增加 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>。在 (+)CID 模式下, GA-M6 丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  489, 再丢失 1 分子水 (18 Da) 及 SO<sub>3</sub> (80 Da) 形成碎片离子  $m/z$  391, 内酯环断裂丢失 2 个一氧化碳 (28 Da) 形成碎片离子  $m/z$  331, 推测为 GA 水解后的硫酸化产物。

**2.5.2 GB** 与空白生物样品相比, 在给药后受试者尿液中除原型药 (GB,  $m/z$  425.143 ([M + H]<sup>+</sup>) 外, 检测到的代谢产物的  $m/z$  分别为 441.139 (GB-M1), 523.113 (GB-M2), 635.180 (GB-M3), 748.221 (GB-M4), 见图 2。

GB-M1: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  441.139 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub> (误差 1.205 9 ppm) 相吻合, 保留时间 32.2 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GB 增加 1 个 O。在 (+)CID 模式下, GB-M1 连续丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  423, 405, 继而丢失 CO (28 Da) 形成碎片离子  $m/z$  377, 丢失 CO<sub>2</sub> (44 Da) 形成碎片离子  $m/z$  361, 推测为 GB 的羟基化产物。

GB-M2: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  523.113 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与分子式 C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>14</sub>S (误差 3.325 8 ppm) 相吻合, 保留时间 31.6 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GB 增加 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>。在 (+)CID 模式

下, GB-M2 连续丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  505, 487, 丢失 SO<sub>3</sub> (80 Da) 形成碎片离子  $m/z$  407, 继而内酯环断裂形成碎片离子  $m/z$  347, 推测为 GB 水解后的硫酸化产物。

GB-M3: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  635.181 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与分子式 C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>18</sub> (误差 -1.588 1 ppm) 相吻合, 保留时间 34.0 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GB 增加 C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>。在 (+)CID 模式下, GB-M3 丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  617, 丢失一氧化碳 (28 Da), 形成碎片离子  $m/z$  591, 推测为 GB 水解后与葡萄糖醛酸结合产物。

GB-M4: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  748.221 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与分子式 C<sub>30</sub>H<sub>41</sub>O<sub>17</sub>N<sub>3</sub>S (误差 -1.689 4 ppm) 相吻合, 保留时间 27.7 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GB 增加 C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S。在 (+)CID 模式下, GB-M4 丢失 1 分子甘氨酸 (74 Da) 形成碎片离子  $m/z$  674, 推测为 GB 水解后与谷胱甘肽结合产物。

**2.5.3 GK** 与空白生物样品相比, 在给药后受试者尿液中共检测到 2 个代谢产物, 其  $m/z$  分别为 407.132 (GK-M1) 和 595.167 (GK-M2), 见图 2。

GK-M1: HPLC 条件 I 和质谱条件 I 下, 在  $m/z$  407.132 [M + H]<sup>+</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与 GK 的分子式 C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub> (误差 -3.219 7 ppm) 相吻合, 保留时间 31.5 min。在 (+)CID 模式下, GK-M1 丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  389, 继而丢失一氧化碳 (28 Da) 形成碎片离子  $m/z$  361。因保留时间不同, 故推测为 GK 的异构体。

GK-M2: HPLC 条件 II 和质谱条件 II 下, 在  $m/z$  595.167 [M - H]<sup>-</sup> 的 EIC 中, 可以检测到 1 个色谱峰, 与分子式 C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>O<sub>15</sub> (误差 2.632 3 ppm) 相吻合, 保留时间 21.6 min。根据精确相对分子质量, 其分子式组成比 GK 增加 C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>。在 (-)CID 模式下, GK-M2 首先丢失 1 分子葡萄糖醛酸 (176 Da) 形成碎片离子  $m/z$  419, 再脱水 (18 Da) 生成  $m/z$  401; GK-M2 亦可脱甲基 (14 Da) 生成  $m/z$  581, 再丢失水 (18 Da) 形成碎片离子  $m/z$  563, 继而丢失葡萄糖醛酸形成碎片离子  $m/z$  387, 推测为 GK 的甲基化葡萄糖醛酸结合产物。

**2.6 代谢途径分析** 文献关于银杏内酯类成分的代谢转化研究, 多是以闭环形式给药, 经生物转化后可检测到其羟基化产物或开环产物<sup>[8]</sup>。银杏二萜

内酯葡胺注射液是以开环形式的内酯类成分给药,探讨体内的代谢过程。由鉴定结果可知,GA 在人体内主要的代谢途径为羟基化和内酯环水解,并可进一步共价结合成硫酸酯;GB 在人体内主要的代

谢途径为羟基化和内酯环水解,并可进一步形成硫酸酯、葡萄糖醛酸共价结合物或谷胱甘肽结合物;GK 在人体内主要的代谢途径为甲基化葡萄糖醛酸结合反应。见图 3。

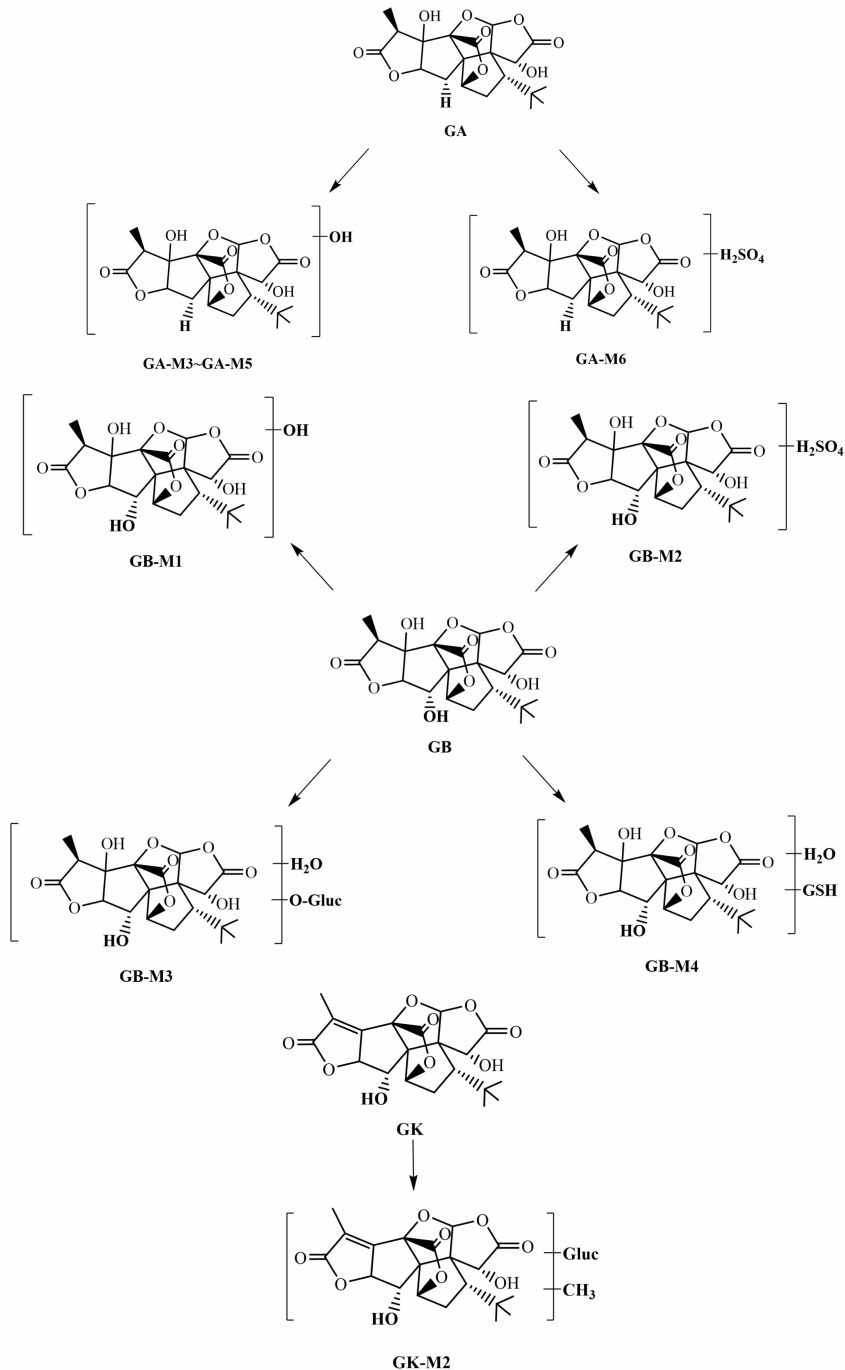


图 3 GA,GB 和 GK 在尿液中的主要代谢途径

Fig. 3 Main metabolic pathways of GA,GB and GK in human urine

### 3 讨论

银杏二萜内酯葡胺注射液虽然由银杏二萜内酯原料制备而成,但是由于辅料葡甲胺的加入,成品的

pH 8 ~ 9,注射液中的内酯类成分 GA,GB 和 GK 主要以开环形式存在。同时该类成分具有碱化开环,且开环后经酸化能够再环化为原型的特点<sup>[9]</sup>。但

是由于化合物开环方式的不确定性及开环对照品无法制备,因此该类成分的药代研究较难开展,尤其是代谢物的结构鉴别难度较大。课题前期采用酸化方式测得体内的总内酯含量,扣除中性条件下游离内酯的含量,进而间接获得开环内酯的总量,以此描述总开环内酯类成分在体内的动态变化过程<sup>[10-11]</sup>。本文基于这一研究思路,同时为了简化代谢物谱并提高质谱灵敏度,将部分尿液样品先用盐酸酸化至 pH < 3,再用乙酸乙酯萃取或 HLB 柱进行处理,所得样品采用酸性 HPLC 条件分析,正离子质谱模式检测代谢物;此外,部分尿液样品不经过酸化处理,直接进行提取、浓缩、复溶,所得样品采用中性 HPLC 条件分析,负离子质谱模式检测代谢物。2 种方法结合以最大程度地保证主要代谢物的表征。

对于代谢物的鉴别,一般多采用空白对照方法<sup>[12]</sup>,通过对比分析给药前后的色谱和质谱数据,寻找给药后出现的新色谱峰,此色谱峰即可能为代谢产物。同时,结合代谢物的精确相对分子质量和质谱裂解规律,推测可能的代谢途径。课题前期研究表明 GA 和 GB 在不同种属肝微粒体中的稳定性较好,且不存在明显的种属差异;GK 在不同种属的肝微粒体中均可检测到 2 个明显的代谢产物,分别为氧化和氧化开环产物。本文通过对临床健康受试者经静脉滴注银杏二萜内酯葡胺注射液后的尿液进行分析,发现除原型药物外,共鉴定了 12 个可能的代谢产物,其中 I 相代谢主要包括羟基化和内酯环水解产物,II 相代谢可直接共价结合,亦可在 I 相代谢基础上进一步生成硫酸酯、葡萄糖醛酸共价结合物或谷胱甘肽结合物等。该研究结果为进一步揭示银杏二萜内酯葡胺注射液的体内代谢过程及作用机制、指导临床合理用药提供了科学依据。

#### [参考文献]

[ 1 ] 章晨峰,曹亮,邓奕,等. 银杏二萜内酯葡胺注射液对脑缺血再灌注大鼠行为学和脑脊液成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(20):118-122.  
[ 2 ] 赵宾江,王振中,凌娅,等. 银杏二萜内酯葡胺注射液治疗动脉粥样硬化性血栓性脑梗死恢复期(痰瘀阻络证)Ⅲ期临床试验[J]. 中草药,2013,44(24):

3525-3530.

[ 3 ] 高聚,姜华,肖展翅,等. 银杏二萜内酯葡胺注射液治疗急性脑梗死的临床疗效观察[J]. 实用心脑血管病杂志,2015,23(4):133-134.  
[ 4 ] 刘秋,许治良,周军,等. 银杏二萜内酯葡胺注射液对缺糖缺氧损伤的 SH-SY5Y 细胞保护作用[J]. 中国药理学通报,2015,31(7):994-999.  
[ 5 ] 陈春苗,周军,陈健,等. 银杏二萜内酯葡胺注射液对大鼠急性脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(17):133-136.  
[ 6 ] 叶敏,果德安. 银杏萜内酯的研究概况[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2003,5(1):33-38,82.  
[ 7 ] BIN J, WANG Q, ZHUO Y Y, et al. Piperphenonamine (PPTA) attenuated cerebral ischemia-induced memory deficits via neuroprotection associated with anti-apoptotic activity[J]. Metab Brain Dis, 2012, 27(4):495-505.  
[ 8 ] WANG D L, LIANG Y, CHEN W D, et al. Identification of ginkgolide B metabolites in urine and rat liver cytochrome P450 enzymes responsible for their formation *in vitro*[J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(3):376-384.  
[ 9 ] ZHOU X W, MA Z, GENG T, et al. Evaluation of *in vitro*, inhibition and induction of cytochrome P450 activities by hydrolyzed ginkgolides [J]. J Ethnopharmacol, 2014, doi: 10.1016/j.jep. 2014. 10. 023.  
[ 10 ] LI Y J, ZHANG C F, HUANG W Z, et al. Simultaneous determination of ginkgolides A, B and K in human plasma by UPLC-MS/MS and its application to the pharmacokinetic study of Ginkgo Diterpene Lactone Meglumine Injection in humans[J]. Anal Methods-UK, 2016, 8(11):2341-2348.  
[ 11 ] WANG S, OUYANG B, GENG J, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of ginkgolide A, ginkgolide B, and ginkgolide K after intravenous infusion of ginkgo diterpene lactones in a rat model[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, doi:10.1016/j.jpba. 2016. 04. 035.  
[ 12 ] 姜艳彬,单吉浩,王莹,等. LC-MS/MS 技术在药物代谢研究中的应用进展[J]. 药物分析杂志,2014,34(3):385-391.

[责任编辑 刘德文]