

· 药物代谢 ·

# 白果中止咳化合物 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中的排泄行为分析

张庆<sup>1</sup>, 王晴<sup>2</sup>, 程锦堂<sup>1</sup>, 刘安<sup>1</sup>, 王跃生<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学 东直门医院, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 研究白果中有止咳作用的新化合物 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中的排泄行为。方法: 利用 UPLC-MS/MS 测定大鼠尿液和胆汁中 GK-A 的含量, 色谱分离采用 C<sub>18</sub> 色谱柱, 流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~1 min, 95% A; 1~3 min, 95%~85% A; 3~7.5 min, 85%~40% A; 7.5~8 min, 40% A), 流速 0.2 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 进样量 0.5 μL; 质谱采用电喷雾离子源, 在正离子模式下采用多重反应监测(MRM)方式测定, GK-A 和 GK-2(内标)的定量离子对分别为 m/z 453.1~291.1, 467.0~305.1。大鼠灌胃给予 GK-A 后, 收集不同时间段尿液和胆汁, 测定样品中 GK-A 的含量, 计算其累积排泄量和累积排泄率。结果: 给药 72 h 后 GK-A 在大鼠尿液中的累积排泄量(12.35 ± 2.69) μg, 累积排泄率(0.58 ± 0.13)%; 给药 24 h 后 GK-A 在大鼠胆汁中的累积排泄量(55.16 ± 29.22) μg, 累积排泄率(1.57 ± 0.83)%。GK-A 原型经大鼠尿液和胆汁排泄的量较少, 且排泄速度慢。结论: 灌胃给药后, GK-A 原型经大鼠尿液和胆汁的排泄不是其主要的消除途径。

**[关键词]** 白果; GK-A; 尿液; 胆汁; 排泄行为; 止咳作用; 新药开发

**[中图分类号]** R22; R969.1; R28; R334; O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)03-0096-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191354

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190316.2024.007.html>

**[网络出版时间]** 2019-03-19 10:00

## Analysis of Excretion Behavior of GK-A from Ginkgo Semen in Urine and Bile of Rats

ZHANG Qing<sup>1</sup>, WANG Qing<sup>2</sup>, CHENG Jin-tang<sup>1</sup>, LIU An<sup>1</sup>, WANG Yue-sheng<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate excretion of GK-A, a antitussive compound separated from Ginkgo Semen, in the urine and bile of rats. **Method:** UPLC-MS/MS was used to determine the concentration of GK-A in rat urine and bile samples. The separation was performed on a C<sub>18</sub> column, the mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution (A) and acetonitrile (B) for gradient elution (0-1 min, 95% A; 1-3 min, 95%-85% A; 3-7.5 min, 85%-40% A; 7.5-8 min, 40% A). The detection was carried out by a triple quadrupole mass spectrometer in the positive ion mode with an electrospray ionization (ESI). Multiple reaction monitoring (MRM) mode was employed. After intragastric administration of GK-A, the urine and bile samples were collected at different time points, and the contents of GK-A in the samples were determined, and the cumulative excretion and cumulative excretion rate were calculated. **Result:** After 72 h of administration, the cumulative excretion of GK-A in urine was (12.35 ± 2.69) μg, and the cumulative excretion rate was (0.58 ± 0.13)%. Meanwhile, after 24 h of administration, the cumulative excretion of GK-A in bile was (55.16 ± 29.22) μg, and the cumulative excretion rate was (1.57 ± 0.83)%. Only a small amount of GK-A was excreted from urine and bile of rats with a slow

**[收稿日期]** 20190122(007)

**[基金项目]** 中国中医科学院自主选题项目(L2017047)

**[第一作者]** 张庆, 博士, 从事中药质量评价与药代动力学研究, E-mail: zzzhangqing01@126.com

**[通信作者]** \*王跃生, 博士, 研究员, 从事中药制剂研究, Tel: 0791-87118919, E-mail: wylw915@163.com

speed. **Conclusion:** After intragastric administration, the excretion of GK-A in rat urine and bile is not the main elimination pathway.

**[Key words]** Ginkgo Semen; GK-A; urine; bile; excretion behavior; antitussive effect; development of new drug

白果为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* 的干燥成熟种子,具有敛肺定喘、止带缩尿的功效,临床上常用于治疗痰多喘咳、带下白浊、遗尿尿频<sup>[1]</sup>。白果的化学成分主要包括黄酮类、萜类内酯类、白果酸类等<sup>[2]</sup>。目前,有关白果止咳作用药效物质基础的研究报道较少,仅有文献报道白果中的 4'-*O*-甲基吡哆醇(MPN)有镇咳祛痰的作用<sup>[3]</sup>,但 MPN 也是白果中主要的一类有毒成分,具有导致中毒死亡的风险<sup>[4]</sup>。目前尚无其他白果中有止咳作用成分的报道,本课题组前期从白果中分离得到了化合物 GK-A,该化合物全名为 *N*-[2-(1- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-1*H*-吡啶-3-基)乙酰基-*L*-天冬氨酸],见图 1(A),并建立了从白果中分离纯化制备 GK-A 的工艺<sup>[5]</sup>。前期采用小鼠浓氨水引咳模型,证明 GK-A 能降低小鼠的咳嗽次数,延长咳嗽的潜伏时间,其止咳作用与阳性药磷酸可待因相当,GK-A 是吡啶类生物碱,其结构与磷酸可待因不同,是有很好的前景的止咳类新药候选化合物。

新药研究过程中发挥着重要作用<sup>[7]</sup>,系统阐明 GK-A 在体内的处置过程是其深入开发研究的重要内容。药物从体内的消除与药物的药效和不良反应关系密切<sup>[8]</sup>,药物进入体内后以多种形式、多种途径排出体外,而尿液排泄和胆汁排泄是药物尤其是极性大的药物从体内排出的重要途径<sup>[9]</sup>。目前尚无 GK-A 在体内排泄研究的报道,本研究通过建立 UPLC-MS/MS 测定大鼠尿液和胆汁中 GK-A 含量的方法,用于研究灌胃给药后 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中的排泄情况,完善 GK-A 的体内排泄信息。

### 1 材料

1290 型高效液相色谱仪串联 6460 型三重四级杆质谱仪(美国安捷伦科技有限公司),TARGIN™ VX-III 型涡旋混合仪(北京踏锦科技有限公司),5427R 型离心机(德国艾本德公司),BS224S-型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

GK-A 与 GK-2 { 内标, *N*-[2-(1- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-1*H*-吡啶-3-基)乙酰基]-*L*-谷氨酸,结构式见图 1(B)} (实验室自制,纯度均  $\geq 98\%$ ),水为屈臣氏蒸馏水,甲酸为质谱纯,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量(250  $\pm$  20) g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2014-0006。实验动物饲养在温度(25  $\pm$  2)  $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 40% ~ 60%,12 h ~ 12 h 循环光照的环境中,保证充足的饲料和饮用水,本实验经中国科学院中医基础理论研究所动物伦理委员会批准,伦理编号 2017069。

### 2 方法与结果

**2.1 溶液的配制** 精密称取 GK-A 适量,置于 100 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,混匀后得质量浓度为 0.15  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的 GK-A 储备液。精密称取内标适量,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,混匀后得质量浓度为 0.10  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的内标储备液。

**2.2 质控(QC)样品的制备** 取 GK-A 储备液适量,用甲醇稀释,使质量浓度分别为 0.24, 1.2, 12  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别精密吸取 0.24, 1.2, 12  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 GK-A 对照品溶液 100  $\mu\text{L}$ ,于 35  $^{\circ}\text{C}$  氮气吹干后加入空白尿液 100  $\mu\text{L}$ ,涡旋 1 min,即得低

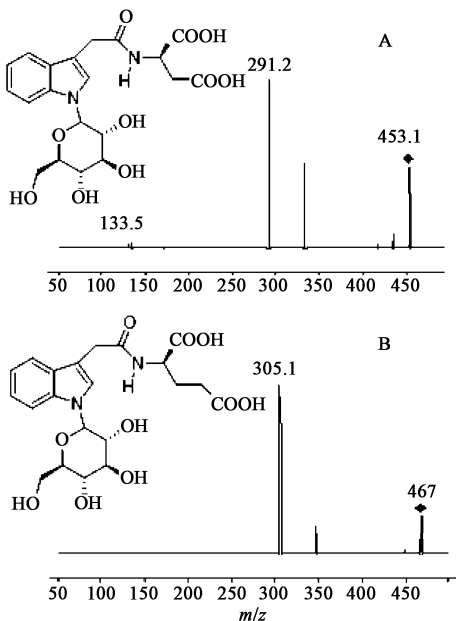


图 1 GK-A(A)和 GK-2(B)的化学结构与二级质谱  
Fig. 1 Chemical structures and MS<sup>2</sup> spectra of GK-A(A) and GK-2(B)

从中药及其他天然产物中获得的有效成分是多新药前体化合物的重要来源<sup>[6]</sup>。药代动力学在

( $0.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 中( $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 高( $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 3 个质量浓度水平的尿液 QC 样品。分别精密吸取  $0.24, 1.2, 12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液  $50 \mu\text{L}$ , 于  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  氮气吹后加入空白胆汁  $50 \mu\text{L}$ , 涡旋  $1 \text{ min}$ , 即得低( $0.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 中( $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 高( $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 3 个质量浓度水平的胆汁 QC 样品。

**2.3 对照品溶液和内标溶液的制备** 精密量取 GK-A 储备液适量, 依次稀释, 得质量浓度分别为  $15.00, 7.50, 3.00, 1.50, 0.60, 0.30, 0.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的系列对照品溶液。精密量取内标储备液适量, 置于  $25 \text{ mL}$  量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得质量浓度为  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的内标溶液。

## 2.4 色谱与质谱条件

**2.4.1 色谱条件** Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  色谱柱 ( $2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}, 1.8 \mu\text{m}$ ), 流动相  $0.1\%$  甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 ( $0 \sim 1 \text{ min}, 95\% \text{ A}; 1 \sim 3 \text{ min}, 95\% \sim 85\% \text{ A}; 3 \sim 7.5 \text{ min}, 85\% \sim 40\% \text{ A}; 7.5 \sim 8 \text{ min}, 40\% \text{ A}$ ), 流速设定  $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温  $35 \text{ }^\circ\text{C}$ , 进样量  $0.5 \mu\text{L}$ 。

**2.4.2 质谱条件** 离子源为电喷雾离子源 (ESI), 雾化器温度  $400 \text{ }^\circ\text{C}$ , 雾化器流速  $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 喷嘴压力  $310 \text{ } 266 \text{ Pa}$ , 鞘气温度  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ , 鞘气流速  $11 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 毛细管电压  $3.5 \text{ kV}$ 。GK-A 和内标在正模式下测定, 选择多重反应监测 (MRM) 方式测定, 二者的定量离子对分别为  $m/z$   $453.1 \sim 291.1, 467.0 \sim 305.1$ , 裂解电压分别为  $85, 75 \text{ V}$ , 碰撞能量分别为  $9, 5 \text{ V}$ 。

## 2.5 样品采集与处理

**2.5.1 尿液样品的采集与处理**<sup>[10-11]</sup> 取健康雄性 SD 大鼠 6 只, 禁食不禁水  $12 \text{ h}$  后, 按剂量  $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给大鼠灌胃 GK-A 生理盐水溶液。给药后收集  $0 \sim 6, 6 \sim 12, 12 \sim 24, 24 \sim 36, 36 \sim 48, 48 \sim 60, 60 \sim 72 \text{ h}$  时间段的尿液, 记录尿液的体积后置于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。精密吸取大鼠尿液  $100 \mu\text{L}$ , 加入内标  $40 \mu\text{L}$ , 加入甲醇 (含  $0.1\%$  甲酸)  $900 \mu\text{L}$ , 置于涡旋混合器上涡旋混合  $4 \text{ min}$ , 于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $12 \text{ } 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $10 \text{ min}$ , 取上清液适量置于自动进样小瓶中进行分析。

**2.5.2 胆汁样品的采集与处理**<sup>[8, 12]</sup> 取健康雄性 SD 大鼠 6 只, 禁食不禁水  $12 \text{ h}$ , 按剂量  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给大鼠灌胃 GK-A 生理盐水溶液, 按剂量  $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射  $10\%$  水合氯醛麻醉, 待动物麻醉后沿腹中线打开腹腔, 实施胆管插管手术。给药后收集  $0 \sim 1, 1 \sim 2, 2 \sim 4, 4 \sim 6, 6 \sim 8, 8 \sim 10, 10 \sim 12, 12 \sim 24 \text{ h}$

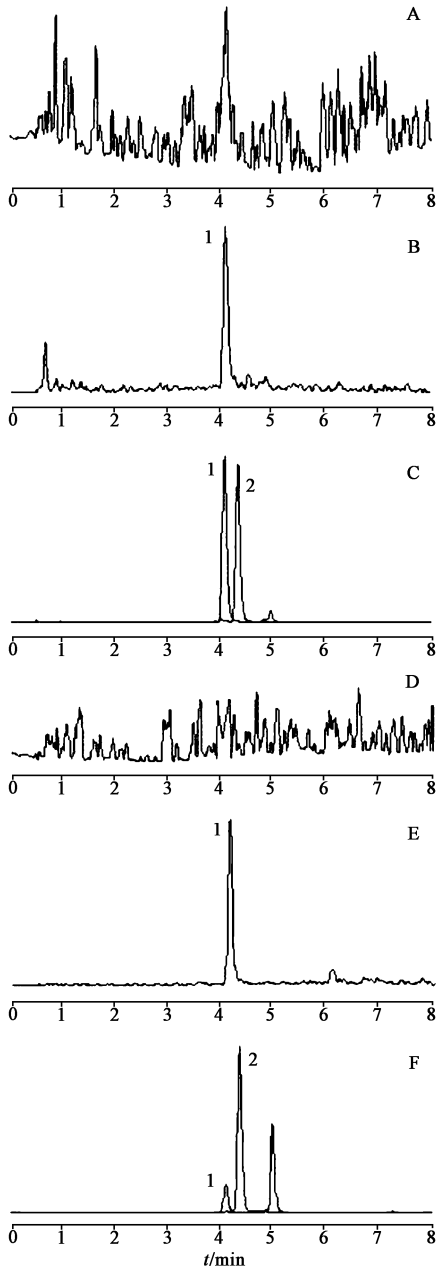
时间段的胆汁, 记录胆汁体积后置于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。精密吸取胆汁  $50 \mu\text{L}$ , 加入内标  $20 \mu\text{L}$ , 加入甲醇 (含  $0.1\%$  甲酸)  $550 \mu\text{L}$ , 置于涡旋混合器上涡旋混合  $4 \text{ min}$ , 于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $12 \text{ } 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $10 \text{ min}$ , 将上清液转移至  $5 \text{ mL}$  离心管中,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  氮气吹干后加入甲醇 (含  $0.1\%$  甲酸)  $500 \mu\text{L}$  复溶, 于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $12 \text{ } 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $10 \text{ min}$ , 取上清液适量置于自动进样小瓶中进行分析。

## 2.6 方法学验证

**2.6.1 专属性考察** 分别取大鼠空白尿液、加入 GK-A 的空白尿液、给药后的  $0 \sim 6 \text{ h}$  的尿液样品适量, 按 **2.5.1** 项下方法处理后按 **2.4** 项下条件进样分析, 记录典型的 MRM 色谱图, 见图 2。另外, 分别取大鼠空白胆汁、加入 GK-A 的空白胆汁、给药后的  $4 \sim 6 \text{ h}$  的胆汁样品适量, 按 **2.5.2** 项下方法处理后按 **2.4** 项下条件分别进样分析, 记录典型的 MRM 色谱图, 见图 2。结果表明该方法专属性好, 尿液和胆汁中内源性物质对 GK-A 的测定无干扰。

**2.6.2 标准曲线与定量下限** 精密吸取系列质量浓度的 GK-A 对照品溶液  $100 \mu\text{L}$ , 置于  $5 \text{ mL}$  离心管中, 于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  氮气吹干, 加入空白尿液  $100 \mu\text{L}$ , 置于涡旋混合器上涡旋  $2 \text{ min}$ , 加入内标溶液  $40 \mu\text{L}$ , 按 **2.5.1** 项下方法进行处理, 按 **2.4** 项下条件进样分析, 记录 GK-A 与内标的峰面积。以待测物与内标峰面积的比值为纵坐标, 待测物的质量浓度为横坐标, 利用加权最小二乘法 ( $W = 1/X^2$ ) 进行线性回归计算。定量下限 (LLOQ) 为标准曲线上最低质量浓度。所得标准曲线方程为  $Y = 0.986X + 0.019$  ( $R^2 = 0.997$ ),  $\text{LLOQ} = 0.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 线性范围  $0.12 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。另精密吸取系列质量浓度的 GK-A 对照品溶液  $50 \mu\text{L}$ , 置于  $5 \text{ mL}$  离心管中,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  氮气吹干, 加入空白胆汁  $50 \mu\text{L}$ , 置于涡旋混合器上涡旋  $2 \text{ min}$ , 加入内标溶液  $20 \mu\text{L}$ , 按 **2.5.2** 项下方法进行处理, 按 **2.4** 项下条件进样分析, 记录 GK-A 与内标的峰面积。以待测物与内标的峰面积比值为纵坐标, 待测物的质量浓度为横坐标, 利用加权最小二乘法 ( $W = 1/X^2$ ) 进行线性回归计算。得标准曲线方程为  $Y = 0.6X - 0.002$  ( $R^2 = 0.998$ ),  $\text{LLOQ} = 0.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 线性范围  $0.12 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.6.3 精密度与准确度** 分别制备质量浓度为  $0.12, 1.2, 12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的尿液 (或胆汁) QC 样品, 每个质量浓度 6 份, 分别按 **2.5** 项下方法进行样品处理, 按 **2.4** 项下条件进样分析, 根据标准曲线测定 QC 样品的质量浓度, 连续检测  $3 \text{ d}$ , 分别计算日内、



A. 空白尿液; B. 空白尿液 + 对照品; C. 大鼠给药后 0~6 h 的尿液样品; D. 空白胆汁; E. 空白胆汁 + 对照品; F. 大鼠给药后 4~6 h 的胆汁样品; 1. GK-A; 2. GK-2(内标)

图 2 大鼠给药不同时间段后尿液和胆汁样品的典型 MRM 色谱  
Fig. 2 Typical MRM chromatograms of urine and bile samples of rats at different time periods after administration

日间精密度和准确度,见表 1。结果表明尿液样品中日内精密度的 RSD 均  $\leq 7.0\%$ ,准确度 RE 处于  $0.5\% \sim 7.7\%$ ;日间精密度的 RSD 均  $\leq 3.5\%$ ,准确度 RE 处于  $0 \sim 5.3\%$ 。胆汁样品中日内精密度的 RSD 均  $\leq 5.7\%$ ,准确度 RE 处于  $-3.2\% \sim 13.2\%$ ;日间精密度的 RSD  $\leq 3.7\%$ ,准确度 RE 处于  $-4.4\% \sim 12.0\%$ 。结果表明建立的测定尿液和胆汁样品中

GK-A 含量的方法准确度高、精密度高,符合生物样品分析的要求。

表 1 大鼠不同生物样品中 GK-A 含量测定的精密度和准确度考察  
Table 1 Precision and accuracy of determination of GK-A in different biological samples of rats %

生物样品	质量浓度 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	日内 ( $n=6$ )		日间 ( $n=3$ )	
		精密度的 RSD	准确度的 RE	精密度的 RSD	准确度的 RE
尿液	0.24	7.0	0.5	0	0
	1.20	6.8	2.3	3.5	0
	12.00	3.0	7.7	2.5	5.3
胆汁	0.24	5.1	-3.2	3.5	-4.2
	1.20	5.7	-0.5	3.7	-4.4
	12.00	4.9	13.2	1.5	12.0

2.6.4 提取回收率和基质效应考察 分别用甲醇制备与尿液(或胆汁)QC 样品 ( $0.24, 1.2, 12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 质量浓度相同的对照品溶液,按 2.5 项下方法进行处理,按 2.4 项下条件测定所得分析物的峰面积记为 A;分别用空白尿液(或胆汁)处理后的基质溶液制备与质控样品 ( $0.24, 1.2, 12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 相同质量浓度的样品,按 2.5 项下方法进行处理,按 2.4 项下条件进样分析后所得分析物的峰面积记为 B;分别取尿液(或胆汁)QC 样品 ( $0.24, 1.2, 12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 按 2.5 项下方法进行处理,按 2.4 项下条件进样分析后所得分析物的峰面积记为 C。分别计算 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中的回收率和基质效应,其中回收率 =  $C/B \times 100\%$ ,基质效应 =  $B/A \times 100\%$ ,见表 2。结果说明所建立的检测方法回收率高 ( $> 85\%$ ),且无明显的基质效应,符合生物样品分析的要求。

表 2 大鼠不同生物样品中 GK-A 含量测定的提取回收率与基质效应考察

Table 2 Extraction recovery and matrix effect of determination of GK-A in different biological samples of rats %

生物样品	质量浓度 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	提取回收率		基质效应	
		数值	RSD	数值	RSD
尿液	0.24	87.5	10.2	86.7	3.7
	1.20	97.7	2.5	101.8	1.8
	12.00	98.2	2.7	102.5	1.9
胆汁	0.24	93.5	4.6	84.9	5.5
	1.20	98.2	3.5	103.8	3.1
	12.00	96.9	3.1	94.3	1.3

**2.6.5 稳定性考察** 分别制备质量浓度为 0.24, 1.2, 12 mg·L<sup>-1</sup> 的尿液(或胆汁)QC 样品, 每个质量浓度平行 6 份, 按 2.5 项下方法进行处理后按 2.4 项下条件进样分析。分别考察尿液(或胆汁)

QC 样品处理后在室温放置 24 h, 4 °C 放置 24 h, 以及反复冻融 3 次和 -20 °C 冻存 30 d 的稳定性, 见表 3。结果表明 GK-A 在上述 4 种条件下稳定性良好。

表 3 大鼠生物样品在不同条件下放置后 GK-A 的稳定性考察

Table 3 Stability of GK-A in different biological samples of rats under different conditions

生物样品	质量浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	室温放置 24 h		4 °C 放置 24 h		冻融 3 次		-20 °C 冻存 30 d	
		测得值/mg·L <sup>-1</sup>	RSD/%	测得值/mg·L <sup>-1</sup>	RSD/%	测得值/mg·L <sup>-1</sup>	RSD/%	测得值/mg·L <sup>-1</sup>	RSD/%
尿液	0.24	0.23	9.3	0.22	7.5	0.27	7.4	0.22	8.5
	1.20	1.16	4.2	1.14	5.6	1.35	3.7	1.09	4.1
	12.00	11.85	2.4	12.08	3.0	11.91	5.3	11.55	2.8
胆汁	0.24	0.22	11.9	0.23	8.3	0.22	6.3	0.21	7.0
	1.20	1.09	3.9	1.15	5.1	1.08	5.8	1.03	5.2
	12.00	13.15	7.7	13.04	6.6	12.50	4.9	12.48	8.5

**2.7 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中的排泄特征分析**

灌胃给予 GK-A 后分别收集不同时间段大鼠的尿液和胆汁, 按 2.5 项下方法进行处理, 按 2.4 项下条件进样分析, 测定各时段尿液和胆汁样品中 GK-A 的质量浓度, 分别计算 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中累积排泄量和累积排泄率。以时间为横坐标, 累积排泄量为纵坐标, 绘制累积排泄量-时间曲线<sup>[12-13]</sup>; 以时间为横坐标, 累积排泄率为纵坐标, 得累积排泄率-时间曲线; 见图 3~6。结果表明灌胃 72 h 后 GK-A 在大鼠尿液中的累积排泄量(12.35 ± 2.69) μg, 累积排泄率(0.58 ± 0.13)%; 在给药 24 h 后 GK-A 在大鼠胆汁中的累积排泄量(55.16 ± 29.22) μg, 累积排泄率(1.57 ± 0.83)%。提示灌胃给药 72 h 后 GK-A 在大鼠尿液中的排泄量已基本达到平衡, 其中在 0~24 h 内 GK-A 从大鼠尿液中的排泄较快; 而在给药 24 h 后 GK-A 在胆汁中的排泄量还未达到平衡, 其中在 6~24 h 内 GK-A 从大鼠胆汁中的排泄较快。由图 3~6 可知, GK-A 从尿液和胆汁中排泄的速度均较慢, 其中的原因还需要进一步研究。

**3 讨论**

本研究首次建立了 UPLC-MS/MS 测定大鼠尿液和胆汁中 GK-A 含量的方法, 该方法简便、快速、可靠, 并成功应用于研究灌胃给药后 GK-A 在大鼠尿液和胆汁中的排泄特征。结果表明灌胃给予大鼠 GK-A 后其原型成分从尿液和胆汁中累积排泄率均 < 3%, 说明 GK-A 原型经尿液和胆汁排泄的途径不是其主要的消除途径。本研究仅分析了 GK-A 原型经胆汁和尿液的排泄特征, 不足以说明 GK-A 从

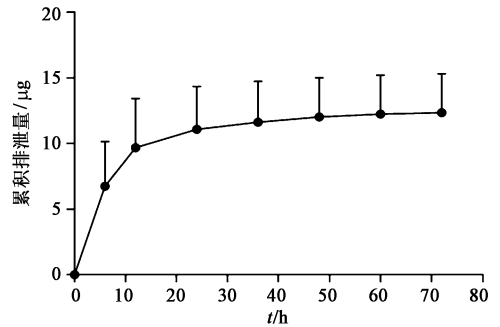


图 3 GK-A 在大鼠尿液中的累积排泄量-时间曲线( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Fig. 3 Cumulative excretion-time curve of GK-A in rat urine after administration( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

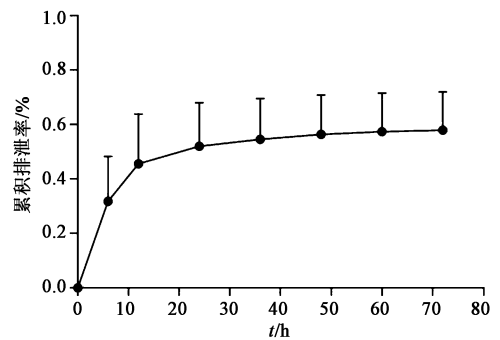


图 4 GK-A 在大鼠尿液中的累积排泄率-时间曲线( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Fig. 4 Cumulative excretion rate-time curve of GK-A in rat urine after administration( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

体内消除的全部特征, 因此, 需要进一步研究灌胃给药后 GK-A 从其他途径排泄的特征。

药物经口服进入体内后会在肠道和肝脏发生代谢反应, 因此, 阐明 GK-A 在体内的代谢反应及代谢物的排泄特征, 有助于完善 GK-A 在体内的消除

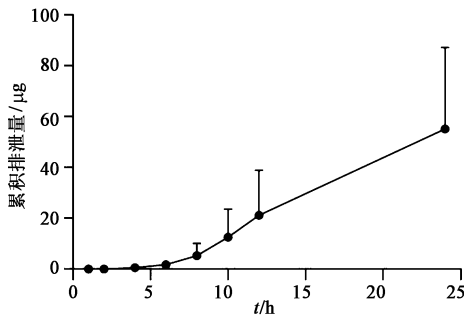


图 5 GK-A 在大鼠胆汁中的累积排泄量-时间曲线( $\bar{x} \pm s, n=6$ )  
Fig. 5 Cumulative excretion-time curve of GK-A in rat bile after administration( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

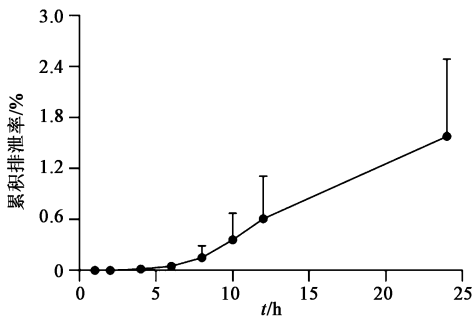


图 6 GK-A 在大鼠胆汁中的累积排泄率-时间曲线( $\bar{x} \pm s, n=6$ )  
Fig. 6 Cumulative excretion rate-time curve of GK-A in rat bile after administration( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

信息。有文献报道,给药剂量<sup>[14]</sup>和动物性别<sup>[15]</sup>会影响药物的排泄情况,本研究中仅考察了雄性大鼠单剂量灌胃 GK-A 后在胆汁和尿液中的排泄特征,后续将进一步研究 GK-A 的排泄与动物的性别和给药剂量是否有密切的关系,以完善 GK-A 的体内过程。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:108.  
[2] 周桂生. 银杏种子资源化学研究[D]. 南京:南京中医药大学,2013.  
[3] 单舒筠. 药食两用白果种仁和南非叶的化学成分研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2018.

[4] Wada K, Ishigaki S, Ueda K, et al. Studies on the constitution of edible and medicinal plants. I. Isolation and identification of 4-O-methylpyridoxine, toxic principle from the seed of *Ginkgo biloba* L. [J]. Chem Pharm Bull(Tokyo), 1988, 36(5):1779-1782.  
[5] 崔文金. 白果有效部位提取纯化工工艺研究[D]. 南昌:江西中医药大学,2017.  
[6] 史清文,李力更,霍长虹,等. 天然药物化学研究与新药开发[J]. 中草药,2010,41(10):1583-1589.  
[7] 江力宣,闫海英,阳盛洪,等. 药代动力学研究在新药研发中的应用[J]. 药学实践杂志,2006,24(5):260-263.  
[8] 王蓉,胡巍,吴松,等. 静脉注射不同内酯型比例的羟基喜树碱后原形药物经小鼠尿液和粪便排泄的研究[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(7):593-596.  
[9] 马聪,熊耀坤,马诗瑜,等. 洋川芎内酯 I 在大鼠尿液和胆汁中的排泄[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(19):75-79.  
[10] 刘史佳,冯丽雯,戴国梁,等. 柠檬苦素在大鼠体内的排泄途径分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):91-94.  
[11] 刘晓晨,闫文英,王鑫,等. HPLC-MS/MS 法测定鸡骨草与毛鸡骨草中主要成分在大鼠尿液和胆汁中的浓度及其排泄动力学比较研究[J]. 药物分析杂志,2018,38(3):406-417.  
[12] 樊雪艳,王鑫,刘晓晨,等. HPLC-MS/MS 同时测定广金钱草中 8 种成分在大鼠胆汁中的浓度及其排泄动力学研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(19):3795-3801.  
[13] 王磊,刘二伟,韩立峰,等. 续断中有效成分木通皂苷 D 大鼠胆汁内排泄研究[J]. 天津中医药,2013,30(11):681-684.  
[14] 周四元,刘新友,滕增辉,等. 不同剂量染料木黄酮及其代谢产物在大鼠胆汁中的排泄动力学[J]. 药学学报,2006,41(8):752-755.  
[15] 董棒,尤晓亲,文红梅,等. UPLC-PDA 法研究 Liguzinediol 在大鼠体内的排泄[J]. 南京中医药大学学报,2016,32(5):475-478.

[责任编辑 刘德文]