

# 基于 UPLC-MS/MS 探讨枳实中黄酮类化合物与辛弗林药动学的相互影响<sup>△</sup>

张 硕<sup>1\*</sup>, 徐俊达<sup>2</sup>, 石敬依<sup>3</sup>, 蔡文君<sup>4</sup>, 刘长利<sup>1</sup>, 罗 容<sup>1#</sup>(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 北京市石景山区市场监督管理局药品监管科, 北京 100041; 3. 北京市隆福医院药剂科, 北京 100010; 4. 北京大学第一医院药剂科, 北京 100034)

中图分类号 R932;R969.1 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2024)06-0641-07

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2024.06.001



**摘 要** 目的: 基于超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱(UPLC-MS/MS), 探讨枳实中黄酮类化合物与辛弗林药动学的相互影响, 为引入黄酮类化合物作为枳实的质量定量控制指标提供科学依据。方法: 取 24 只 SD 大鼠, 随机分为 6 组( $n=4$ ), A 组为辛弗林+6 种黄酮类化合物(新橙皮苷、柚皮苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素和野漆树苷), B 组为辛弗林单独给药, C 组为辛弗林+柚皮苷, D 组为辛弗林+新橙皮苷, E 组为 6 种黄酮类化合物单独给药, F 组采用等体积的 0.9% 氯化钠溶液处理, 均灌胃给药。取给药后不同时间点的血浆, 测定血浆中柚皮苷、新橙皮苷和辛弗林含量, 应用 DAS 2.0 软件计算药动学参数。利用 UPLC-MS/MS 方法测定血药浓度。结果: A 组大鼠新橙皮苷清除率为( $9\ 337.88\pm 8\ 373.94$ ) L/(h·kg), 显著高于 E 组的( $2\ 558.22\pm 610.87$ ) L/(h·kg), 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。A 组、D 组大鼠新橙皮苷的分布体积分别为( $2\ 549.72\pm 1\ 381.42$ )、( $1\ 668.41\pm 394.73$ ) L/kg, 均明显低于 E 组的( $23\ 388.87\pm 6\ 089.53$ ) L/kg, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。A 组大鼠辛弗林的平均停留时间为( $2.50\pm 0.63$ ) h, 较 B 组、C 组和 D 组[( $1.62\pm 0.11$ )、( $1.70\pm 0.17$ )和( $1.57\pm 0.08$ ) h] 更长, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。结论: 辛弗林对新橙皮苷的消除率和分布影响较大, 枳实中的黄酮类化合物可延长辛弗林的平均停留时间。

**关键词** 枳实; 黄酮类化合物; 辛弗林; 药动学

## Exploration on Interactions of Pharmacokinetics Between Flavonoids and Synephrine in Fructus Aurantii Immaturus Based on UPLC-MS/MS<sup>△</sup>

ZHANG Shuo<sup>1</sup>, XU Junda<sup>2</sup>, SHI Jingyi<sup>3</sup>, CAI Wenjun<sup>4</sup>, LIU Changli<sup>1</sup>, LUO Rong<sup>1</sup>(1. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Dept. of Drug Administration, Market Supervision and Administration of Shijingshan District, Beijing 100041, China; 3. Dept. of Pharmacy, Beijing Longfu Hospital, Beijing 100010, China; 4. Dept. of Pharmacy, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To probe into the interactions of pharmacokinetics between flavonoids and synephrine in fructus aurantii immaturus based on ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), so as to provide scientific basis for the introduction of flavonoids as a quality and quantitative control index of fructus aurantii immaturus. **METHODS:** A total of 24 SD rats were extracted to be randomly divided into six groups ( $n=4$ ), group A was administrated with synephrine + six kinds of categories of flavonoids (neohesperidin, naringin, narirutin, hesperidin, nobiletin and rhoifolin), group B was administrated with synephrine alone, group C was administrated with synephrine + naringin, group D was administrated with synephrine + neohesperidin, group E was administrated with six categories of flavonoids alone, group F was administrated with an equal volume of 0.9% NaCl solution, all administered by gavage. The plasma was taken at different time points after administration, the contents of naringin, neohesperidin and synephrine in plasma were determined, and DAS 2.0 software was used to calculate the pharmacokinetic parameters. The blood concentration was determined by using

<sup>△</sup> 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 81973431)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药材及饮片质量评价研究。E-mail: zsboluo@mail.ccmu.edu.cn

# 通信作者: 教授。研究方向: 中药质量评价、中药研究性传承、中药鉴定方法学研究。E-mail: luorong@ccmu.edu.cn

UPLC-MS/MS method. RESULTS: Clearance rate of neohesperidin in group A was (9 337.88±8 373.94) L/(h·kg), significantly higher than (2 558.22±610.87) L/(h·kg) in group E, with statistically significant difference ( $P<0.05$ ). The distribution volume of neohesperidin in group A and group D were respectively (2 549.72±1 381.42) L/kg and (1 668.41±394.73) L/kg, significantly lower than (23 388.87±6 089.53) L/kg in group E, with statistically significant differences ( $P<0.05$ ). The mean detention time of synephrine in group A was (2.50±0.63) h, in comparison with (1.62±0.11) h, (1.70±0.17) h and (1.57±0.08) h of groups B, C and D, the differences were all statistically significant ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: Synephrine has great effect on the clearance rate and distribution of neohesperidin, and the flavonoids in fructus aurantii immaturus can prolong the mean detention time of synephrine.

**KEYWORDS** Fructus aurantii immaturus; Flavonoids; Synephrine; Pharmacokinetics

枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种或甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck 的干燥果,是应用历史悠久的常用理气类中药<sup>[1]</sup>。黄酮类化合物被认为是枳实的主要生物活性成分之一<sup>[2]</sup>。柚皮苷和新橙皮苷作为枳实的质量控制标志物,含量高且已被证明具有保肝、抗溃疡和抗氧化等作用<sup>[2-6]</sup>。《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)中,枳实的定量质量评价指标只规定了辛弗林的成分含量(即按干燥品计算,含辛弗林不得少于0.30%)和70%乙醇浸出物含量(即醇溶性浸出物测定法项下的热浸法测定,用70%乙醇作溶剂,不得少于12.0%),而以枳实为君药的中药复方如枳术颗粒、枳实导滞丸,均以黄酮类成分为定量质控指标,与枳实药材定量质控指标不一致。《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)中,枳实药材质量控制体系还未明确将柚皮苷和新橙皮苷等黄酮类化合物纳入定量指标,仅将70%乙醇浸出物含量纳入质量评价指标。目前,枳实药材的质量控制体系尚不完善,也不利于含枳实的复方制剂的质量控制。本研究建立并验证了一种快速、灵敏的超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱(UPLC-MS/MS)方法,用于同时测定大鼠血浆中的柚皮苷、新橙皮苷和辛弗林的含量,并将其应用于药动学研究中,比较辛弗林单独给药和与黄酮类化合物联合给药的大鼠体内药动学参数差异,探讨黄酮类化合物与辛弗林联合给药对药动学参数的影响,以期以柚皮苷和新橙皮苷为代表的黄酮类化合物纳入枳实定量评价体系提供更多依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF级SD大鼠24只,雄性,6周龄,体重(220±10)g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,合格证号:SCXK(京)2019-0008。饲养于首都医科大学实验动物中心屏障环境中,室温22~24℃,相对湿度55%~60%,每日光照12h,普通饲料,自由摄食水。大鼠于颈静脉插管后在独立的笼中饲养。动物实验符合首都医科大学伦理委员会的标准,动物实验伦理编号为IACUC(IACUC-20190321-01)。

### 1.2 仪器

Agilent 6460 QQQ LC-MS分析系统,由美国Agilent UPLC 1260液相色谱仪及Agilent 6460 QQQ三重四级杆质谱检测器组成;Mass-hunter工作站,均购自美国Agilent公司。

### 1.3 药品与试剂

辛弗林对照品(批号:P8DK-XHFW)和新橙皮苷对照品(批号:E4P4-SJJZ)纯度均>98%,购自中国食品药品检定研究院;柚皮苷对照品(批号:AK30B010,纯度>98%)购自成都普思生物科技股份有限公司;替米沙坦对照品(批号:Y20A7C13363,纯度>98%)用作内标,购自上海源叶生物科技有限公司。

灌胃用药物:辛弗林(批号:L950S62,纯度>98%)、柚皮苷(批号:L560R60,纯度>98%)和橙皮苷(批号:LH70R100,纯度>97%)购自北京百灵威科技有限公司;新橙皮苷(批号:H03A6K2068,纯度>95%)、野漆树苷(批号:Z13M10X82680,纯度>98%)、川陈皮素(批号:H12A9K58561,纯度>95%)和芸香柚皮苷(批号:P25J9L66553,纯度>98%)购自上海源叶生物科技有限公司;羧甲基纤维素钠(批号:20161125)购自天津市永大化学试剂有限公司;0.9%氯化钠注射液(批号:1810102009)购自石家庄四药有限公司。

色谱级甲醇(批号:179097)和色谱级乙腈(批号:181005)购自美国Fisher Chemical公司;醋酸铵(HPLC级,批号:A0397842)购自美国Sigma公司;蒸馏水购自广州屈臣氏食品饮料有限公司。

## 2 方法

### 2.1 含不同药效组分血样的制备

2.1.1 动物分组与给药:24只SD大鼠被随机分为6组( $n=4$ ),按照灌胃给药的药效组分不同分成5组,A组为辛弗林+6种黄酮类化合物(新橙皮苷、柚皮苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素和野漆树苷),B组为辛弗林单独给药,C组为辛弗林+柚皮苷,D组为辛弗林+新橙皮苷,E组为6种黄酮类化合物单独给药,均灌胃给药。大鼠颈静脉插管手术过程按照Kano等<sup>[7]</sup>的方法进行。所有大鼠在灌胃前禁食12h,不禁水。各样品的配制浓度比例依据课题组前期实验(采用高效液相色谱法测定样品中新橙皮苷、柚皮苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、野漆树苷和辛弗林的含量)进行<sup>[8]</sup>,计算出各组药液中7个主要成分的灌胃剂量。实验时的配制溶液是质量浓度0.50%的羧甲基纤维素钠水溶液。A—E组分别按1 mL/100 g给予相应的药物溶液,F组采用等体积的0.9%氯化钠溶液处理,见表1。

2.1.2 血样的采集:A—F组大鼠中,于给药前和给药后

表1 实验分组及给药浓度

组别	浓度/(mg/mL)						
	新橙皮苷	柚皮苷	芸香柚皮苷	橙皮苷	川陈皮素	野漆树苷	辛弗林
A组(n=4)	136.80	127.21	10.51	9.37	0.90	0.83	5.84
B组(n=4)	—	—	—	—	—	—	5.84
C组(n=4)	—	127.21	—	—	—	—	5.84
D组(n=4)	136.80	—	—	—	—	—	5.84
E组(n=4)	136.80	127.21	10.51	9.37	0.90	0.83	—

注:“—”表示未使用。

10 min、30 min、1 h、1.5 h、2 h、3 h、4 h、6 h 及 8 h,从颈静脉采集血液样本 200  $\mu$ L。实验过程中给大鼠注射 0.9% 氯化钠溶液,以维持体液平衡。将血液样品收集于肝素化的 EP 管中并在 4  $^{\circ}$ C 下以 3 500 r/min(离心半径 6.6 cm)离心 10 min,移取血浆于 EP 管中,-80  $^{\circ}$ C 保存备用。

## 2.2 色谱-质谱条件

2.2.1 色谱条件:色谱柱为 Atlantis T3 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 3  $\mu$ m)。流动相为(A)乙腈-(B)5 mmol/L 醋酸铵水溶液。梯度洗脱,0~1 min,20% A;1~2 min,20%~90% A;2~4 min,90% A;4~6 min,90%~20% A;6~12 min,20% A。柱温 35  $^{\circ}$ C,流速 0.3 mL/min,进样量 5  $\mu$ L。

2.2.2 质谱条件:ESI 离子源,多反应监测(MRM)模式,气体温度 350  $^{\circ}$ C;气流流速 10 L/min;鞘气为 N<sub>2</sub>,鞘气温度 320  $^{\circ}$ C,鞘气流速 11 L/min;毛细管电压+3 500 V,-4 000 V。辛弗林采用正离子扫描模式,柚皮苷、新橙皮苷和替米沙坦采用负离子扫描模式。各化合物的母离子与子离子信息见表 2。

表2 三种化合物及内标化合物的母离子与子离子信息

化合物	扫描模式	母离子	子离子	碰撞能量/eV
辛弗林	[M+H] <sup>+</sup>	168	135	17
柚皮苷	[M-H] <sup>-</sup>	579	271	29
新橙皮苷	[M-H] <sup>-</sup>	609	301	32
替米沙坦	[M-H] <sup>-</sup>	513	469	16

## 2.3 对照品及内标溶液的配制

精密称取辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷和替米沙坦对照品适量置于 10 mL 容量瓶中,加入甲醇溶解,分别配制成浓度为 1 mg/mL 的辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷和替米沙坦的对照品储备液,并储存在-20  $^{\circ}$ C 冰箱中。

## 2.4 标准曲线样品和质控样品的制备

将辛弗林、柚皮苷和新橙皮苷对照品储备液与甲醇溶液按一定的比例稀释,得到辛弗林、柚皮苷和新橙皮苷质量浓度为 2、5、20、50、100、500、1 500 和 2 000 ng/mL 的系列混合对照品溶液。取空白血浆加入系列混合对照品溶液,得到系列基质标准曲线样品。取 50  $\mu$ L 空白血浆,加入系列浓度混合对照品溶液低、中及高 3 个浓度的样品,得到含对照品的质控样品,按照血浆样品处理方法处理后,进行 UPLC-MS 分析。

## 2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察:比较空白血浆、对照品加样血浆样品及给药后血浆样品的色谱图,考察是否存在内源性杂质的干扰。

2.5.2 标准曲线与线性范围:以样品浓度(X)对待测成分峰面积与内标峰面积的比值(Y)进行线性回归,权重 1/X<sup>2</sup>,得到回归方程,即为标准曲线。

2.5.3 精密度与准确度:制备低(5 ng/mL)、中(500 ng/mL)及高(1 500 ng/mL)3 个质量浓度的质控样品。每个浓度条件

下取 5 份样本,1 d 内分别检测 5 份样本;分别取 1 份样品,连续测定 3 d,计算日内、日间精密度的,以相对标准偏差(RSD)表示;准确度以  $\bar{x}\pm s$  表示。

2.5.4 回收率与基质效应:制备低(5 ng/mL)、中(500 ng/mL)、高(1 500 ng/mL)3 个质量浓度的质控样品。每个浓度条件下取 5 份样本。进样,得各成分峰面积 A。取空白血浆 50  $\mu$ L,依照“2.1.2”项下处理后,改用低、中及高 3 个浓度的混合对照品溶液复溶后进样,每个浓度条件下制备 5 份样本,得各成分峰面积 B;取相同浓度的混合对照品溶液直接进样所得的峰面积为 C。提取回收率为 A/B,基质效应为 B/C。

2.5.5 稳定性实验:制备低(5 ng/mL)、中(500 ng/mL)及高(1 500 ng/mL)3 个质量浓度的质控样品。每个浓度条件下取 5 份样本。分别于室温(25  $^{\circ}$ C)下放置 4 h,4  $^{\circ}$ C 下放置 24 h,考察样品的短期稳定性;-20  $^{\circ}$ C 下冻融 3 次,考察样品的冻融稳定性;-20  $^{\circ}$ C 下冷藏 30 d,考察样品的长期稳定性。计算结果以 RSD 表示。

## 2.6 药动学参数计算

使用 DAS 2.0 药动学程序计算药动学参数,包括血药浓度-时间曲线下面积[AUC(0-t)、AUC(0- $\infty$ )]、平均停留时间(MRT)、半衰期( $t_{1/2}$ )、清除率(CL)、峰值浓度( $C_{max}$ )、分布体积( $V_d$ )和峰值时间( $T_{max}$ ),结果以  $\bar{x}\pm s$  表示。使用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析来比较药动学参数, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 专属性考察

经考察,辛弗林、柚皮苷和新橙皮苷与内标化合物替米沙坦均不受内源性物质的干扰,方法特异性良好,适用于 4 种物质的含量测定,见图 1—3。

### 3.2 标准曲线及线性范围

血浆中 3 种化合物的标准曲线、相关系数、线性范围、定量限及检测限见表 3。

表3 血浆中 3 个化合物的标准曲线、相关系数、线性范围、定量限和检测限

化合物	回归方程	相关系数(r)	线性范围/(ng/mL)	定量限/(ng/mL)	检测限/(ng/mL)
柚皮苷	$Y=0.018 X-0.014$	0.9991	2~2 000	2.00	0.70
新橙皮苷	$Y=0.027 X-0.014$	0.998 9	2~2 000	2.00	0.70
辛弗林	$Y=0.168 X+0.054$	0.998 6	2~2 000	2.00	0.70

### 3.3 日内、日间精密度和准确度实验

3 种化合物的日内、日间精密度和准确度的 RSD 均<5%,该方法可稳定进行实验,见表 4。

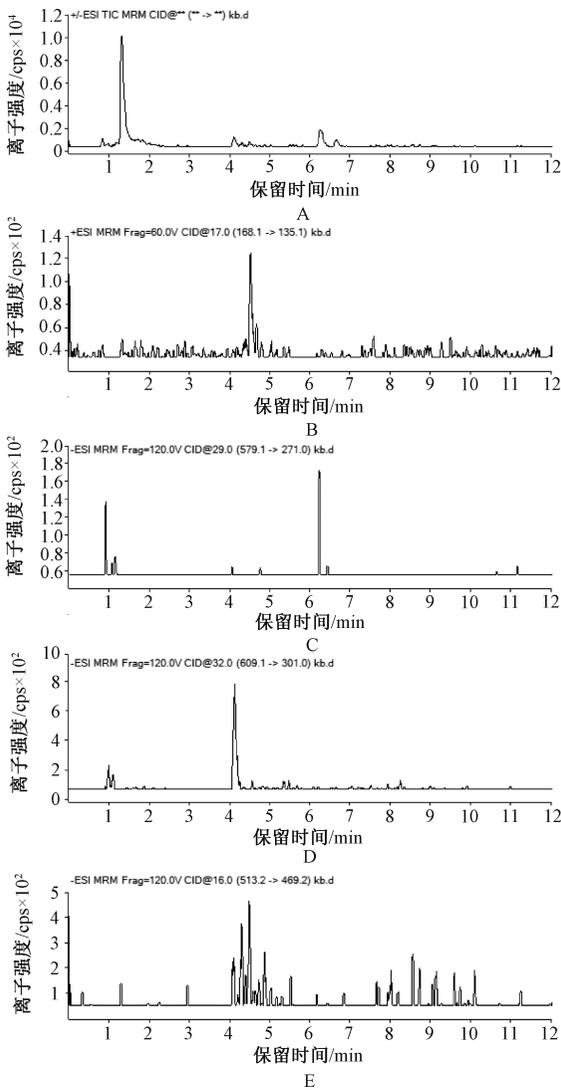


图 1 空白血浆样本中各成分的 UPLC-MS/MS 色谱图  
A. 空白血浆的总离子流图; B. 辛弗林 (MRM 模式); C. 柚皮苷 (MRM 模式); D. 新橙皮苷与内标化合物 (MRM 模式); E. 替米沙坦 (MRM 模式)。

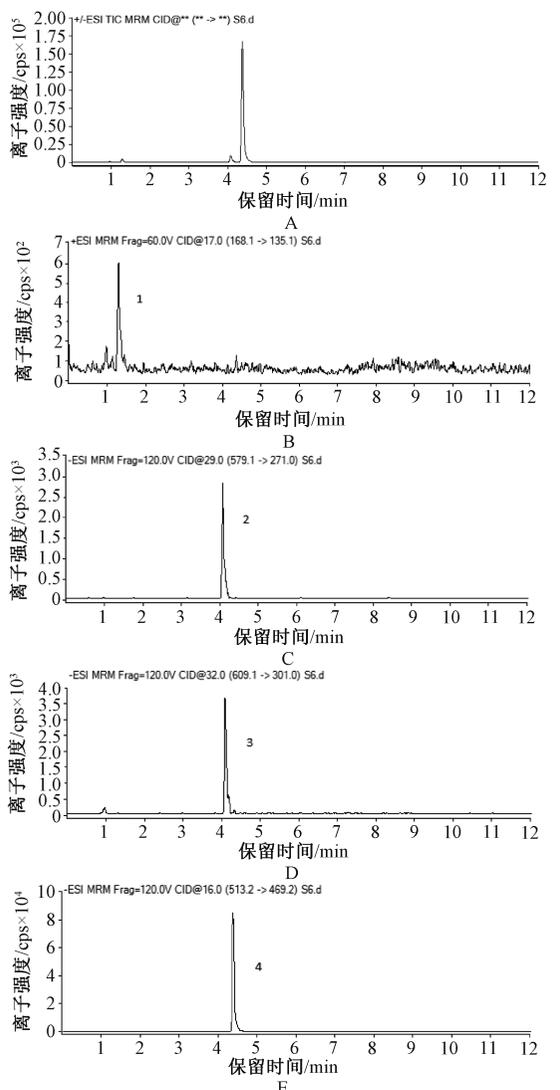


图 2 加入混合对照品血浆样本中各成分的 UPLC-MS/MS 色谱图  
A. 加入混合对照品血浆的总离子流图; B. 辛弗林 (MRM 模式); C. 柚皮苷 (MRM 模式); D. 新橙皮苷与内标化合物 (MRM 模式); E. 替米沙坦 (MRM 模式); 1. 辛弗林; 2. 柚皮苷; 3. 新橙皮苷; 4. 替米沙坦。

表 4 日内、日间精密度和准确度实验 ( $n=5$ )

分析物	标准 (参考)		日内		日间		
	质量浓度/ (ng/mL)	质量浓度/ ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)	精密性/ (RSD, %)	准确度/ ( $\bar{x} \pm s$ , %)	质量浓度/ ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)	精密性/ (RSD, %)	准确度/ ( $\bar{x} \pm s$ , %)
柚皮苷	5	5.02±0.07	1.38	100.48±1.39	5.05±0.13	2.63	101.07±2.66
	500	496.62±7.12	1.43	99.32±1.42	496.72±10.26	2.07	99.34±2.05
	1 500	1 478.17±55.25	3.74	98.54±3.68	1 477.86±37.31	2.52	98.52±2.49
新橙皮苷	5	4.89±0.10	1.99	97.80±1.94	4.85±0.17	3.45	97.00±3.35
	500	496.02±11.19	2.26	99.20±2.24	489.86±13.90	2.84	97.97±2.78
	1 500	1 477.10±17.34	1.17	98.47±1.16	1 476.22±35.23	2.39	98.41±2.35
辛弗林	5	5.11±0.10	2.02	102.24±2.07	5.08±0.16	3.07	101.55±3.11
	500	511.74±7.11	1.39	102.35±1.42	505.16±13.23	2.62	101.03±2.65
	1 500	1 508.97±13.57	0.90	100.60±0.90	1 507.87±24.80	1.64	100.52±1.65

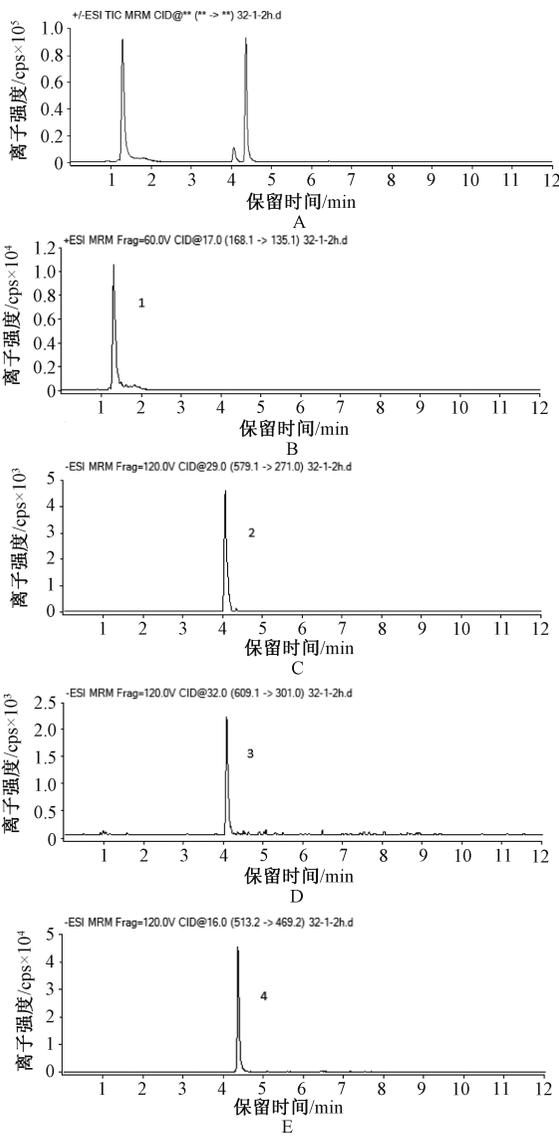
### 3.4 基质效应与回收率实验

3 种物质的基质效应在 98.93%~102.07% 区间内, 提取回收率在 97.50%~102.02% 区间内, 提示该提取方法稳定, 不受基质干扰, 基本符合生物样品的分析方法要求, 见

表 5。

### 3.5 稳定性实验

3 种物质稳定性实验的 RSD 均 < 5%, 提示该方法稳定可行, 适用于生物样品的分析, 见表 6。



A. 给药后血浆样品的总离子流图; B. 辛弗林 (MRM 模式); C. 柚皮苷 (MRM 模式); D. 新橙皮苷与内标化合物 (MRM 模式); E. 替米沙坦 (MRM 模式); 1. 辛弗林; 2. 柚皮苷; 3. 新橙皮苷; 4. 替米沙坦。

图 3 给药后血浆样本中各成分的 UPLC-MS/MS 色谱图

表 5 基质效应与回收率实验 ( $n=5$ )

分析物	质控样品浓度/ (ng/mL)	基质效应		提取回收率	
		基质效应/ $(\bar{x}\pm s, \%)$	RSD/%	回收率/ $(\bar{x}\pm s, \%)$	RSD/%
柚皮苷	5	98.93±1.34	1.35	100.82±1.83	1.81
	500	100.71±1.16	1.15	98.17±1.59	1.62
	1 500	101.08±1.74	1.72	97.50±2.94	3.01
新橙皮苷	5	99.65±3.30	3.31	98.39±2.56	2.61
	500	100.28±1.89	1.89	98.89±2.43	2.46
辛弗林	5	100.41±0.66	0.66	98.05±1.25	1.28
	500	102.07±3.29	3.22	101.31±1.86	1.84
	1 500	99.56±1.25	1.25	102.02±1.47	1.44
		99.29±1.00	1.00	100.66±1.24	1.23

### 3.6 药动学参数

柚皮苷、新橙皮苷和辛弗林的药动学参数见表 7—9。(1)由表 7 可见, E 组新橙皮苷的 MRT 明显高于 D 组,  $t_{1/2}$  明显长于 D 组; A 组新橙皮苷的 MRT 明显低于 E 组,  $t_{1/2}$  明显短于 E 组; A 组新橙皮苷的 CL 显著高于 E 组, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 表明辛弗林对新橙皮苷消除率的影响远大于其他 5 种黄酮类化合物。A 组、D 组新橙皮苷的  $V_d$  明显低于 E 组, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 表明辛弗林降低了新橙皮苷和其他 5 种黄酮类化合物的分布。(2)由表 8 可见, C 组、D 组辛弗林的 AUC 和  $C_{max}$  均高于 B 组, 说明柚皮苷和新橙皮苷可在一定程度上增加辛弗林的吸收。A 组辛弗林的 MRT 与 B 组、C 组和 D 组相比, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 表明 6 种主要黄酮类化合物可明显延长辛弗林的 MRT。(3)由表 9 可知, C 组柚皮苷的  $V_d$  明显高于 A 组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

### 4 讨论

柚皮苷和新橙皮苷在体内经肠道菌群脱糖基化反应, 产物柚皮素和橙皮素在肝脏或肠壁细胞色素 P450 (CYP450) 的作用下逐渐发生氧化反应, 继而在 II 相酶催化下发生葡萄糖醛酸化或硫酸化等结合反应<sup>[9-10]</sup>。柚皮苷和新橙皮苷还可以抑制单胺氧化酶的活性<sup>[11]</sup>。辛弗林在人和大鼠体内主要由位于肝脏细胞线粒体外膜上的单胺氧化酶 A 进行代谢反应, 其产物主要为 *p*-羟基扁桃酸<sup>[12-13]</sup>。辛弗林还可以抑制 CYP450 的活性<sup>[14]</sup>。以上研究结果表明, 柚皮苷和新橙皮苷与辛弗林可

表 6 稳定性实验 ( $n=5$ )

分析物	质控样品浓度/ (ng/mL)	室温 4 h 稳定性		4 °C, 24 h 稳定性		冻融稳定性		长期稳定性	
		稳定性/ $(\bar{x}\pm s, \%)$	RSD/%						
柚皮苷	5	99.40±2.05	2.06	99.44±2.12	2.13	98.20±1.65	1.68	99.08±1.40	1.41
	500	100.19±1.20	1.20	99.18±2.22	2.24	99.74±1.87	1.88	99.54±3.03	3.05
	1 500	100.31±1.05	1.05	99.56±1.17	1.18	99.33±1.38	1.38	99.74±1.39	1.39
新橙皮苷	5	99.80±2.44	2.44	98.84±1.98	2.00	98.12±3.43	3.49	97.48±2.33	2.39
	500	99.42±2.38	2.40	97.05±2.72	2.80	97.47±2.87	2.95	98.85±1.90	1.92
	1 500	99.76±1.04	1.04	98.63±1.36	1.38	98.77±1.22	1.23	99.71±1.15	1.15
辛弗林	5	98.72±2.24	2.27	97.88±3.13	3.19	98.12±1.99	2.03	97.48±2.61	2.67
	500	97.87±2.79	2.85	97.80±2.08	2.13	98.07±1.98	2.02	98.85±1.99	2.01
	1 500	100.28±0.30	0.30	101.27±1.92	1.89	102.30±1.68	1.64	102.20±1.45	1.42

能会通过影响彼此代谢酶的作用, 进而影响彼此的吸收和代谢。目前, 柚皮苷和新橙皮苷的药动学已得到广泛研究。文献报道, 采用高效液相色谱串联质谱可以同时测定大鼠体内枳实中的柚皮苷、新橙皮苷和其他黄酮类化合物的含量<sup>[15]</sup>。辛弗林的药动学已在大鼠<sup>[16]</sup>、生物样品<sup>[17]</sup>和人类<sup>[18]</sup>中进行了研

究。但是, 目前对于同时测定辛弗林和黄酮类化合物药动学参数的研究较少, 如果枳实中的黄酮类化合物能够影响枳实中明确的药效成分辛弗林的吸收和代谢, 那么, 控制黄酮类化合物的含量对于控制枳实的有效性和安全性显得更为重要。

本研究通过大鼠单独灌胃给予辛弗林、辛弗林+6 种黄酮

**表 7 新橙皮苷在 A 组、C 组和 E 组中的药动学参数 ( $\bar{x}\pm s, n=4$ )**

参数	A 组	D 组	E 组
$AUC_{(0-t)}$ /(ng·h/mL)	261.57±219.06	420.81±45.00	247.07±19.22
$AUC_{(0-\infty)}$ /(ng·h/mL)	261.57±219.06	420.81±45.00	267.87±20.00
$MRT_{(0-t)}$ /h	1.61±0.44*	1.17±0.04*	4.02±0.28*●
$t_{1/2}$ /h	0.46±0.27*	0.35±0.04*	6.35±0.66*●
$T_{max}$ /h	0.54±0.34*	0.42±0.17*	2.00±0.71*●
表观清除率( $CL/F$ )/ [L/(h·kg)]	9 337.88±8 373.94*	3 281.41±381.02	2 558.22±610.87*
$C_{max}$ /(ng/mL)	151.27±108.39	296.80±58.31	44.24±4.98
表观分布容积( $V_d/F$ )/(L/kg)	2 549.72±1 381.42*	1 668.41±394.73*	23 388.87±6 089.53*●

注:与 A 组比较,\* $P<0.05$ ;与 D 组比较,● $P<0.05$ ;与 E 组比较,\* $P<0.05$ 。

**表 8 辛弗林在 A 组、B 组、C 组和 D 组中的药动学参数 ( $\bar{x}\pm s, n=4$ )**

参数	A 组	B 组	C 组	D 组
$AUC_{(0-t)}$ /(ng·h/mL)	373.08±202.44	419.73±35.53	519.15±105.53	494.05±41.78
$AUC_{(0-\infty)}$ /(ng·h/mL)	378.00±199.35	425.21±40.40	521.00±42.44	502.34±42.44
$MRT_{(0-t)}$ /h	2.50±0.63*■●	1.62±0.11*	1.70±0.17*	1.57±0.08*
$t_{1/2}$ /h	2.86±1.57	2.74±2.13	1.41±0.29	3.86±2.78
$T_{max}$ /h	0.54±0.34	0.42±0.17	0.42±0.17	0.42±0.17
( $CL/F$ )/[L/(h·kg)]	157.98±56.00●	132.90±14.05	113.51±20.81	110.76±8.25*
$C_{max}$ /(ng/mL)	174.73±94.74	267.01±25.36	299.47±38.11	305.80±57.91
( $V_d/F$ )/(L/kg)	712.99±542.56	505.96±360.89	229.63±64.07	604.75±414.69

注:与 A 组比较,\* $P<0.05$ ;与 B 组比较,◆ $P<0.05$ ;与 C 组比较,■ $P<0.05$ ;与 D 组比较,● $P<0.05$ 。

**表 9 柚皮苷在 A 组、C 组和 E 组中的药动学参数 ( $\bar{x}\pm s, n=4$ )**

参数	A 组	C 组	E 组
$AUC_{(0-t)}$ /(ng·h/mL)	403.84±55.56	264.05±25.39	352.42±53.70
$AUC_{(0-\infty)}$ /(ng·h/mL)	419.41±47.75	406.19±198.66	373.53±55.27
$MRT_{(0-t)}$ /h	3.02±0.26	3.47±0.18	2.90±0.21
$t_{1/2}$ /h	6.38±5.86*	23.98±18.29*	10.14±1.66
$T_{max}$ /h	0.42±0.17	0.25±0.17	0.42±0.17
( $CL/F$ )/[L/(h·kg)]	2 216.92±629.72	1 645.98±1 083.37	1 809.29±171.90
$C_{max}$ /(ng/mL)	119.32±18.97	72.88±9.88	151.30±63.38
( $V_d/F$ )/(L/kg)	17 098.43±10 322.96■	35 624.38±6 766.94*	26 411.77±4 471.06

注:与 A 组比较,\* $P<0.05$ ;与 C 组比较,■ $P<0.05$ 。

代谢又包括 II 相代谢,多种酶与底物因素的影响导致血浆中组分的含量差异较大,进而使计算出的部分药动学参数存在标准差较大的情况。

综上所述,辛弗林对新橙皮苷的消除率和分布影响较大,枳实中的黄酮类化合物可延长辛弗林的平均停留时间。

## 参考文献

- [1] 中国柑橘学会. 中国柑橘品种 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 5-15.
- [2] 许姗姗,许浚,张笑敏,等. 常用中药陈皮、枳实和枳壳的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药,2018,49(1):35-44.
- [3] ALI M M, EL KADER M A A. The influence of naringin on the oxidative state of rats with streptozotocin-induced acute hyperglycaemia[J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2004, 59(9/10): 726-733.
- [4] PARI L, AMUDHA K. Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 650(1): 364-370.
- [5] GALATI E M, MONFORTE M T, D' AQUINO A, et al. Effects of naringin on experimental ulcer in rats[J]. Phytomedicine, 1998, 5(5): 361-366.
- [6] HAMDAN D I, MAHMOUD M F, WINK M, et al. Effect of hesperidin and neohesperidin from bitter-sweet orange (*Citrus aurantium*

类化合物(新橙皮苷、柚皮苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素和野漆树苷)、辛弗林+柚皮苷、辛弗林+新橙皮苷及 6 种黄酮类化合物单独给药,取给药后不同时间点的血浆,对血浆中的柚皮苷、新橙皮苷和辛弗林的含量进行测定,比较辛弗林单独给药和与黄酮类化合物联合给药的大鼠体内药动学参数的差异,初步探讨了柚皮苷、新橙皮苷与辛弗林吸收和代谢的相互影响。

研究结果显示,部分药动学参数存在标准差较大的情况,可能是黄酮类化合物在大鼠体内的代谢途径复杂,既包括 I 相

- var. *bigaradia*) peel on indomethacin-induced peptic ulcers in rats [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2014, 37(3): 907-915.
- [7] KANO S, KOMADA H, YONEKURA L, et al. Absorption, metabolism, and excretion by freely moving rats of 3,4-DHPEA-EDA and related polyphenols from olive fruits (*olea europaea*) [J]. J Nutr Metab, 2016, 2016: 9104208.
- [8] 贾富霞,王秀娟,罗容. 酸橙枳实 HPLC 指纹图谱方法研究及 6 种黄酮类药效组分的含量测定[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12): 2917-2920.
- [9] 樊慧蓉,李全胜,张爱杰,等. 柚皮素在大鼠体内的代谢途径研究[J]. 中草药, 2017, 48(10): 2093-2099.
- [10] BREINHOLT V M, OFFORD E A, BROUWER C, et al. *In vitro* investigation of cytochrome P450-mediated metabolism of dietary flavonoids[J]. Food Chem Toxicol, 2002, 40(5): 609-616.
- [11] DHIMAN P, MALIK N, SOBARZO-SÁNCHEZ E, et al. Quercetin and related chromenone derivatives as monoamine oxidase inhibitors: targeting neurological and mental disorders[J]. Molecules, 2019, 24(3): 418.
- [12] SUZUKI O, MATSUMOTO T, OYA M, et al. Oxidation of synephrine by type A and type B monoamine oxidase[J]. Experientia, 1979, 35(10): 1283-1284.
- [13] HENGSTMANN J H, AULEPP H. Pharmacokinetics and metabolism of 3H-synephrine (author's transl) [J]. Arzneimittelforschung, 1978, 28(12): 2326-2331.
- [14] TIESJEMA B. Risk assessment of synephrine[J]. RIVM Report, 2017, 11: 69.
- [15] TONG L, ZHOU D D, GAO J, et al. Simultaneous determination of naringin, hesperidin, neohesperidin, naringenin and hesperetin of *Fractus aurantii* extract in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 58: 58-64.

(下转第 650 页)