

基于LC-MS/MS的肾康注射液在正常和肾衰大鼠体内药动学差异研究

李廷昱¹, 史鹏², 侍晓萍¹, 孙鹏远^{3*}

1. 大连医科大学附属大连市儿童医院 药学部, 辽宁 大连 116012

2. 大连医科大学附属大连市中心医院 药学部, 辽宁 大连 116033

3. 大连医科大学 药学院, 辽宁 大连 116044

摘要: 目的 研究肾康注射液在正常和慢性肾衰大鼠体内的药动学, 为肾康注射液的临床安全合理用药提供科学参考。方法 选择黄芪甲苷和大黄酸作为肾康注射液的药动学标记物, 建立液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法检测其血药浓度, 并进行专属性、精密度、准确度、回收率、基质效应、稳定性考察; 采用连续21 d ig 腺嘌呤(250 mg/kg)诱导大鼠慢性肾衰模型, 观察并记录两组大鼠的体质量、肾质量、尿量; 全自动生化仪检测血清肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平, 观察肾脏外观并进行组织切片HE染色处理。正常和慢性肾衰大鼠静脉滴注肾康注射液(2 mL/kg), 采用LC-MS/MS法测定大鼠血浆中黄芪甲苷和大黄酸的药动学浓度。结果 LC-MS/MS法采用Hypersil BDS-C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm)色谱柱; 流动相为乙腈-0.1%甲酸水(8:2); 体积流量0.8 mL/min; 柱温30℃; 进样量为10 μL; 电喷雾离子源(ESI), 负离子扫描检测方式, 动态多反应监测模式(MRM)。方法学验证结果表明, LC-MS/MS测定方法快速、灵敏、特异。ig 腺嘌呤21 d后, 与对照组比较, 造模组肾脏肥大, 颜色苍白, 造模组组织切片的肾小体数量减少、肾小球囊腔增大、肾小管内有棕色的腺嘌呤沉积。与对照组比较, 从造模10 d起慢性肾衰大鼠的体质量显著减轻($P<0.05$); 造模结束后, 肾质量显著增加、24 h尿量显著增加、血清肌酐和尿素氮水平显著升高($P<0.05$), 慢性肾衰大鼠模型成功建立。大鼠药动学实验结果发现, 与对照组比较, 慢性肾衰大鼠体内黄芪甲苷的药时曲线下面积(AUC_{0-t})和最大血药浓度(C_{max})分别下降了28.6%和21.6%, 黄芪甲苷和大黄酸的清除半衰期($t_{1/2\alpha}$)分别缩短了23.5%和43.7%, 均具有统计学差异($P<0.05$)。结论 慢性肾衰大鼠对肾康注射液的清除加快, 药物作用时间缩短。

关键词: 肾康注射液; 黄芪甲苷; 大黄酸; LC-MS/MS; 药动学

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)04-0695-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.04.003

Pharmacokinetics of astragaloside IV and rhein in normal and chronic nephrotic rats after intravenous administration of Shenkang Injection

LI Tingyu¹, SHI Peng², SHI Xiaoping¹, SUN Pengyuan³

1. Department of Pharmacy, Dalian Children's Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116012, China

2. Department of Pharmacy, Dalian Municipal Central Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116033, China

3. College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

Abstract: Objective Pharmacokinetics of astragaloside IV and rhein in normal and chronic renal failure rats were studied after intravenous injection of Shenkang Injection to provide useful information for the clinical rational drug use. **Methods** Astragaloside IV and rhein were selected as the pharmacokinetic markers of Shenkang Injection. A liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was established to detect the plasma concentration of Shenkang injection, and the specificity, precision, accuracy, recovery, matrix effect and stability were investigated. Chronic renal failure was induced by adenine (250 mg/kg) in rats. Rats received Shenkang Injection (2 mL/kg) intravenously. The body weight, kidney weight and urine volume of the two groups were observed and recorded, and the levels of serum creatinine (Cr) and urea nitrogen (BUN) were detected by automatic biochemical analyzer, and the appearance of kidney was observed and the tissue sections were stained with HE. Plasma concentrations of astragaloside IV and rhein were determined by LC-MS/MS. **Results** Hypersil BDS-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)

收稿日期: 2020-12-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81302838, 81903706)

第一作者: 李廷昱(1987—), 女, 辽宁大连人, 主管药师, 硕士, 主要研究方向为药理学及临床药学。E-mail: litingyu135@126.com

*通信作者: 孙鹏远 E-mail: pysun@dmu.edu.cn

column was used. The mobile phase was acetonitrile -0.1% formic acid water (8:2); volume flow rate was 0.8 mL/min; column temperature 30 °C; injection volume was 10 μL; electrospray ion source (ESI), negative ion scanning mode, dynamic multi reaction monitoring mode (MRM). The results showed that LC-MS/MS was rapid, sensitive and specific. After ig adenine for 21 days, compared with control group, the kidney of the model group was hypertrophy and pale, the number of renal corpuscles in the tissue section of model group was reduced, the glomerular capsule cavity was enlarged, and there was brown adenine deposition in the renal tubules. Compared with control group, the body weight of CRF rats was significantly reduced from the 10th day of modeling ($P < 0.05$). After modeling, the kidney weight, 24 h urine volume, serum creatinine and urea nitrogen levels were significantly increased ($P < 0.05$), and the CRF rat model was successfully established. In CRF rats, area under the plasma concentration-time curve (AUC_{0-24}) and maximum plasma concentration (C_{max}) of astragaloside IV were significantly decreased by 28.6% and 21.6%, respectively ($P < 0.05$). The half-life ($t_{1/2}$) of astragaloside IV and rhein were significantly reduced by 23.5% and 43.7%, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** Shenkang Injection exhibited an accelerated clearance in CRF rats, which might shorten effective period.

Key words: Shenkang Injection; astragaloside IV; rhein; LC-MS/MS; pharmacokinetics

慢性肾衰已成为威胁人类健康的一种主要疾病^[1-2]。肾康注射液是临床常用的治疗慢性肾衰的中药注射液,可以缓解慢性肾衰的临床症状,延缓疾病的进展,保护残余肾功能^[3-6]。肾康注射液由大黄、丹参、红花和黄芪4味药材制成,具有肾保护活性的成分主要是黄芪甲苷和大黄酸等^[6-8]。同时,黄芪甲苷和大黄酸也是肾康注射液中含量较高的化学成分,分别达到23.2~30.0、9.9~11.2 μg/mL^[8]。

药动学研究药物的体内过程,是药物开发过程中必须阐明的关键环节^[9]。药物的药动学属性,关系到药物的靶器官分布,是决定药物有效性和安全性的重要因素^[10]。作为复方制剂,肾康注射液的化学成分复杂,药动学尚不明确。同时,肾脏是药物代谢的重要器官,慢性肾衰对肾康注射液药动学的影响尚未充分研究。这些未知因素加大了肾康注射液体内不良反应的风险,限制了其进一步的临床应用。由于中药成分复杂,在进行中药药动学测定时,往往寻找中药注射液的药动学标记物,用以表征其相关药动学参数。大黄酸是肾康注射液组方中君药大黄的主要活性成分,黄芪甲苷是肾康注射液中含量最高的化学成分^[8]。而且,黄芪甲苷和大黄酸均有显著的肾保护活性^[6-8]。因此,黄芪甲苷和大黄酸代表了肾康注射液的主要药理活性成分和化学组成成分,本研究选择黄芪甲苷和大黄酸作为肾康注射液的药动学标记物,通过正常大鼠和慢性肾衰大鼠体内实验探讨肾康注射液中2种代表性活性成分的药动学变化,为肾康注射液临床的安全合理应用提供科学参考。

1 材料

1.1 主要仪器

Agilent 1200液相色谱系统(美国安捷伦公司)

串联API 3200型三重四级杆质谱仪(美国AB公司)。

1.2 主要试剂

黄芪甲苷(批号J0426A)、大黄酸(批号J0601A)、甘草苷(批号J1110AS,内标),质量分数均大于99%,供含量测定用。肾康注射液购自西安世纪盛康药业有限公司,批号为201606021。腺嘌呤(批号M0515A)购自大连美仑生物技术有限公司。

1.3 动物

雄性SD大鼠,SPF级,8周左右,体质量180~220 g,购自大连医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(辽)2018-0003。大鼠标准条件下喂养,自由进食与饮水,保持环境温度20~25 °C,湿度55%~65%,维持12 h昼夜节律。实验前禁食12 h,自由饮水。

2 方法

2.1 液相和质谱条件

色谱条件:采用Hypersil BDS-C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm)色谱柱;流动相为乙腈-0.1%甲酸水(8:2);体积流量0.8 mL/min;柱温30 °C;进样量为10 μL。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),负离子扫描检测方式,动态多反应监测模式(MRM)。离子化电压(IS)-4.5 kV;温度为600 °C;喷雾气(GS1, N₂)压力为344.73 kPa;辅助加热气(GS2, N₂)压力为413.69 kPa;气帘气体(CUR)压力为82.74 kPa;碰撞气(CAD)设置为68.95 kPa;监测离子及其他参数见表1。

2.2 标准曲线样品和质控样品的制备

精密称取适量的黄芪甲苷和大黄酸对照品,用甲醇制备0.2 mg/mL的标准储备液,4 °C保存。取

表1 待测物的质谱参数
Table 1 MRM parameters of analytes

待测物	加合方式	母离子 m/z	碎片离子 m/z	DP/V	EP/V	CE/V	CXP/V
黄芪甲苷	$[M+HCOO]^-$	829.3	783.3	-120	-10	-36	-11
大黄酸	$[M-H]^-$	283.0	239.0	-40	-10	-20	-13
甘草苷(内标)	$[M-H]^-$	417.1	254.9	-110	-10	-25	-8

适量储备液,用甲醇稀释,制备一系列浓度的黄芪甲苷工作液(25、50、250、500、2 500、5 000 ng/mL)和大黄酸工作液(2、10、20、100、200、1 000、2 000 ng/mL)。各取50 μ L工作溶液在EP管中,用氮气吹干,加入50 μ L空白大鼠血浆,涡旋,得到标准曲线样品。

重新称取黄芪甲苷和大黄酸对照品适量,按上述方法配制低、中、高3个浓度的质量控制(QC)样品,质量浓度为10、200、4 000 ng/mL(黄芪甲苷)和4、80、1 600 ng/mL(大黄酸)。

2.3 血浆样品处理

取50 μ L血浆样品,加入10 μ L内标溶液和200 μ L甲醇。涡旋30 s后16 000 \times g离心10 min,取上清液200 μ L,37 $^{\circ}$ C水浴中氮气挥干,200 μ L流动相复溶,取上清用LC-MS/MS测定。

2.4 专属性

黄芪甲苷、大黄酸和内标的保留时间分别为2.0、2.4、2.0 min,在给药后血浆中,没有干扰峰出现,分析方法专属,内源性物质不干扰测定。MRM提取离子色谱图见图1。

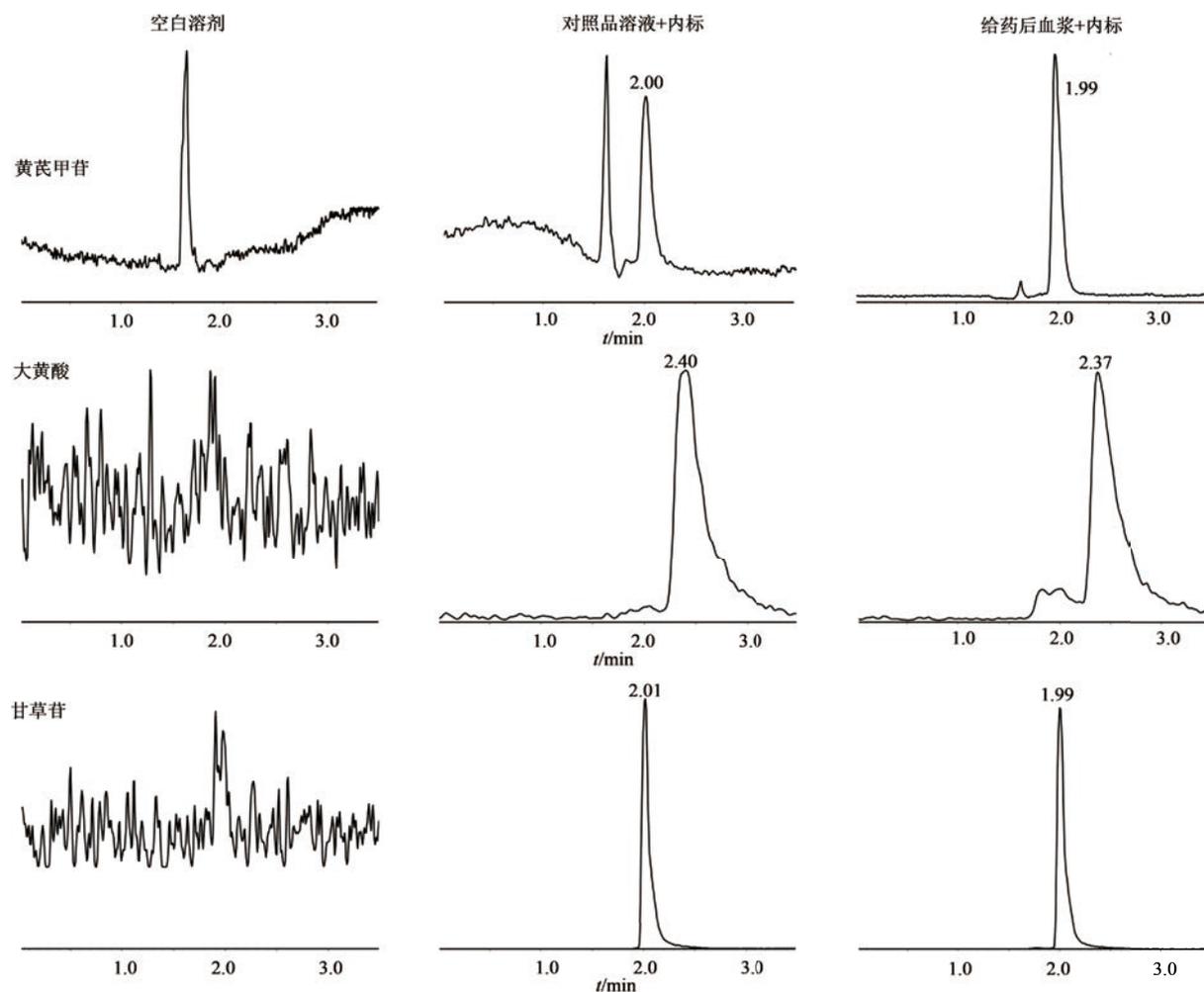


图1 黄芪甲苷、大黄酸、甘草苷的代表性LC-MS/MS色谱图

Fig. 1 Representative MRM chromatograms of astragaloside IV, rhein, and liquiritin

2.5 线性和灵敏度

为了研究实验方法的线性和灵敏度,新配制3条标准曲线,1 d内同批次处理并做分析,连续检测3 d。同时分析只加入内标的不含药物的空白血浆,确认内标对目标成分的检测没有干扰。根据方法验证的要求绘制标准曲线,并计算线性回归系数 R^2 。黄芪甲苷、大黄酸分别在5~5 000、2~2 000 ng/mL线性良好, R^2 均>0.995,线性回归方程分别为 $Y=155X-177$ 和 $Y=54.6X-36$,定量下限分别为5、2 ng/mL,方法灵敏,线性关系良好。

2.6 精密度和准确度试验

制备3个质量浓度的QC样品,每个浓度1 d内同批次处理并进行6样本分析,连续检测3 d,根据当日的标准曲线,计算QC样品的测得浓度,结果进行方差分析,计算日内精密度和日间精密度,以确定分析方法的准确度与精密度。方法的精密度和准确度见表2。黄芪甲苷和大黄酸的精密度(RSD)分别小于10.1%和7.4%,准确度分别在-4.7%~12.0%和-7.4%~4.0%,方法的精密度和准确度良好。

表2 待测物的精密度和准确度

待测物	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内(n=6)		日间(n=3)	
		精密 度(RSD)%	准确 度(RE)%	精密 度(RSD)%	准确 度(RE)%
黄芪甲	10	10.1	12.0	9.9	8.4
苷	200	3.2	-4.7	6.0	-3.2
	4 000	2.1	-1.6	0.4	-0.7
大黄酸	4	7.4	-7.4	4.7	-4.7
	80	4.6	-0.9	2.3	4.0
	1 600	2.9	-1.0	2.3	1.1

2.7 回收率和基质效应

制备3个质量浓度的QC血浆样品,进行6样本分析,记为峰面积I;取大鼠空白血浆50 μL按“2.3”项方法进行样品处理,流动相复溶后,加入适量QC工作液,LC-MS/MS测定,记为峰面积II;取对应浓度工作液,直接进样,进行6样本分析,记为峰面积III。回收率=峰面积I/峰面积II;基质效应=峰面积II/峰面积III。黄芪甲苷和大黄酸的回收率和基质效应见表3,回收率分别为74.6%~82.6%和89.4%~93.5%,在各浓度水平恒定。基质效应的范围为83.8%~91.2%和94.5%~98.4%。离子抑制效应不显著,不影响检测。

表3 待测物的基质效应和回收率

待测物	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	基质效 应/%	RSD/%	回收 率/%	RSD/%
黄芪甲	10	88.5	4.2	78.0	3.1
苷	200	91.2		74.6	
	4 000	83.8		82.6	
大黄酸	4	98.4	4.3	90.0	8.1
	80	94.5		89.4	
	1 600	97.0		93.5	

2.8 稳定性试验

通过比较新配制样品和经过以下存放的样品的分析结果考察分析方法的稳定性。存放条件:黄芪甲苷和大黄酸的血浆样品在室温下2 h;经处理后的待测样品在自动进样器上放置24 h(4 °C);反复冻融循环和血浆样品长期放置(-20 °C冷冻30 d)。结果见表4。黄芪甲苷和大黄酸血浆样品在室温下2 h、自动进样器存放24 h、反复冻融循环和长期保存后,RE值分别在-5.2%~9.4%和-3.5%~3.6%范围内。血浆样品在上述存放条件下稳定。

2.9 慢性肾衰大鼠药动学研究

SD大鼠随机分为对照组和慢性肾衰组,每组6只,正常饮食,不限饮水。慢性肾衰组每天ig腺嘌呤(250 mg/kg,水混悬液),对照组给予等体积水,连续21 d^[11]。末次给药后禁食过夜,收集24 h尿液。药动学实验当日,麻醉大鼠,暴露双侧颈静脉,一侧静滴肾康注射液(2 mL/kg,20 min注射完毕,相当于黄芪甲苷40 μg/kg,大黄酸24 μg/kg),另一侧在给药前和给药后1、5、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480、600、720 min取血100 μL,置于肝素化的EP管内,以3 500 r/min离心10 min,取上层血浆于1.5 mL EP管中并储存于-20 °C冰箱内。测定黄芪甲苷和大黄酸的血药浓度,绘制血药浓度-时间曲线,并计算药动学参数。

实验结束后处死大鼠,取肾脏,储存于-20 °C冰箱内。观察并记录两组大鼠的体质量、肾质量、尿量;全自动生化仪检测血清肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平,观察肾脏外观并进行组织切片HE染色处理。

2.9.1 慢性肾衰模型的制备 SD大鼠ig腺嘌呤(250 mg/kg)21 d后,肾脏外观和石蜡切片HE染色见图2。与对照组比较,造模组肾脏肥大,颜色苍白,造模组组织切片的肾小体数量减少、肾小球囊

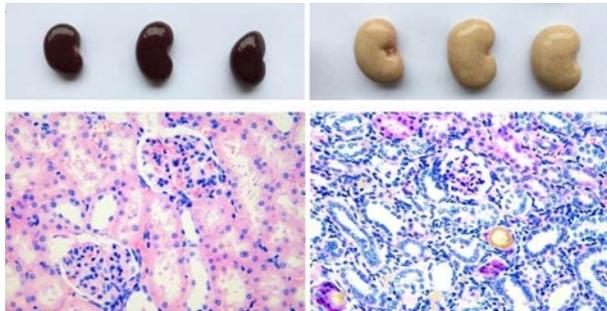
表4 待测物的稳定性

Table 4 Stability of analytes

待测物	加入质量 浓度/(ng· mL ⁻¹)	处理稳定性 ^a		自动进样器 ^b			冻融稳定性 ^c			长期稳定性 ^d			
		测得浓度/(ng· mL ⁻¹)	RS D/%	RE/ %	测得浓 度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/ %	RE/ %	测得浓 度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/ %	RE/ %	测得浓度/(ng· mL ⁻¹)	RSD/ %	RE/ %
黄芪甲 苷	10	10.9	8.2	9.4	10.3	5.5	4.1	10.2	4.3	1.2	10.5	8.4	4.5
	200	189.0	4.8	-5.2	205.0	3.0	2.3	206.0	1.0	3.0	210.0	3.1	4.9
	4 000	4 184.0	3.9	4.5	4 045.0	2.2	1.1	4 255.0	2.2	6.4	3 833.0	3.1	-4.2
大黄酸	4	3.95	4.9	-0.6	4.0	5.0	2.3	3.9	4.4	-3.5	4.2	4.3	2.9
	80	78.90	2.9	-1.9	79.4	3.7	-1.1	82.4	5.0	3.0	82.5	4.5	2.6
	1600	1 641.00	4.6	2.6	1 620.0	2.3	1.3	1 657.0	6.4	3.6	1 558.0	2.0	-2.6

a-室温(25℃)放置2h; b-自动进样器(4℃)放置24h; c-反复冻融3次; d-20℃放置30d

a - place at room temperature (25 °C) for 2 h; b - automatic sampler (4 °C) placed for 24 h; c - repeated freeze-thaw three times; d-place at 20 °C for 30 days



对照

慢性肾衰

图2 正常和慢性肾衰大鼠的肾脏外观及HE染色(×400)
Fig. 2 Gross observation and HE staining of kidney from control and CRF rats (×400)

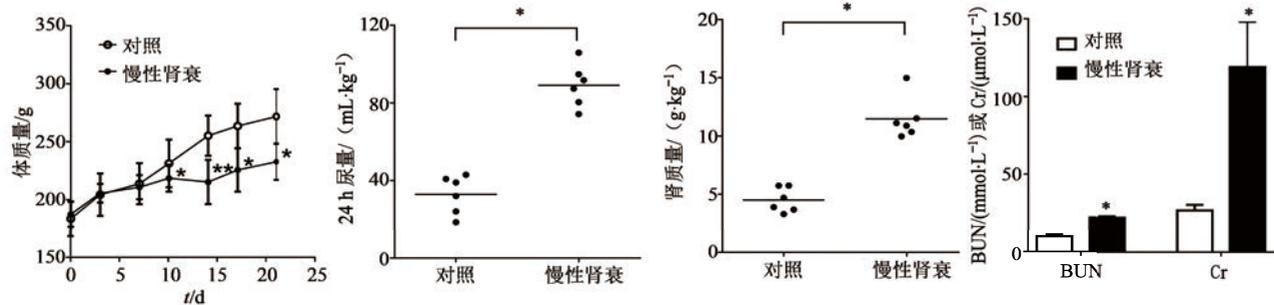
腔增大、肾小管内有棕色的腺嘌呤沉积。此外,与对照组比较,从造模10 d起慢性肾衰大鼠的体质量显著减轻($P < 0.05$);造模结束后,肾质量显著增加、24 h尿量显著增加、血清Cr和BUN水平显著升高($P < 0.05$),见图3。慢性肾衰大鼠模型造模成功。

2.9.2 药动学实验结果 对照与慢性肾衰大鼠静脉滴注肾康注射液后,黄芪甲苷和大黄酸的药时曲

线见图4,药动学参数见表5。药动学实验结果表明,与对照组比较,给药后30~240 min慢性肾衰大鼠体内黄芪甲苷的血药浓度显著下降($P < 0.05$);AUC和 C_{max} 分别下降了28.6%和21.6%,差异显著($P < 0.05$); $t_{1/2\alpha}$ 缩短了23.5%,差异显著($P < 0.05$);CL显著增大($P < 0.05$)。此外,大黄酸也表现出相似的药动学行为,与对照组比较,给药后30 min慢性肾衰大鼠体内大黄素的血药浓度显著下降($P < 0.05$), $t_{1/2\alpha}$ 缩短了43.7%,差异显著($P < 0.05$); t_{max} 显著提前($P < 0.05$)。

3 讨论

不同于化学药物成分单一,中药具有复杂的化学成分。因此,中药药动学的研究通常寻找中药中代表性的药动学标记物,用以表征整体中药的药动学。肾康注射液中黄芪甲苷、大黄酸、羟基红花黄色素和毛蕊异黄酮葡萄糖苷4种天然成分含量较高^[6-8],其中黄芪甲苷和大黄酸具有治疗各种肾脏疾病的药理作用^[12-14],因此黄芪甲苷和大黄酸不仅是



与对照组比较:* $P < 0.05$

* $P < 0.01$ vs control group

图3 对照组与慢性肾衰组大鼠体质量、尿量、肾质量及血清Cr和BUN水平比较

Fig. 3 Body weight, urine volume, kidney weight, and serum Cr and BUN of control and CRF rats

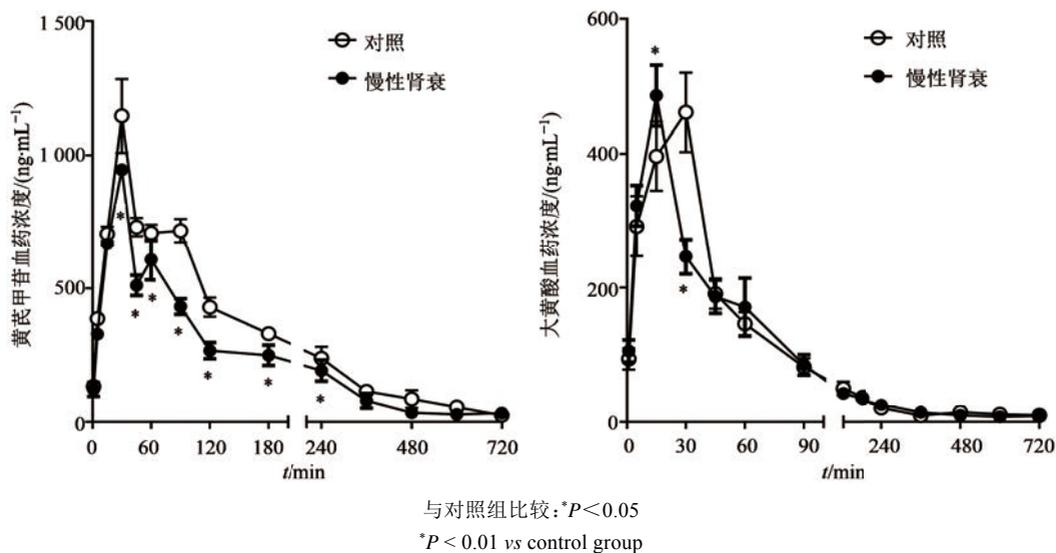


图4 正常与慢性肾衰大鼠静脉滴注肾康注射液后黄芪甲苷和大黄酸的药时曲线

Fig. 4 Mean plasma concentration-time profiles of astragaloside IV and rhein after intravenous drip of Shenkang Injection in control and CRF rats

表5 正常大鼠与慢性肾衰大鼠iv肾康注射液后黄芪甲苷和大黄酸的药动学参数

Table 5 Pharmacokinetic parameters of astragaloside IV and rhein after intravenous injection of Shenkang Injection in control and CRF rats

参数	单位	黄芪甲苷		大黄酸	
		对照	慢性肾衰	对照	慢性肾衰
AUC _(0-t)	ng·L ⁻¹ ·h	2 768±316	1 976±243*	554±67.6	515±49.5
AUC _(0-∞)	ng·L ⁻¹ ·h	2 795±302	2 036±255*	617±71.4	558±51.6
t _{1/2z}	min	136.0±11.0	104.00±6.27*	284±37.5	160±33.0*
t _{max}	min	30±0	36.2±4.9	23.8±3.0	17.20±2.05*
CL _z	L·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	1.59±0.15	2.24±0.25*	2.91±0.30	3.23±0.42
C _{max}	ng/L	1 194±135	936.0±19.3*	490.0±46.5	460±40.6

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.01$ vs control group

肾康注射液的主要化学成分,同时也是主要活性成分,可以作为肾康注射液的指标成分,用于肾康注射液的质量控制和药动学的研究。本研究考察了正常和慢性肾衰大鼠静脉滴注肾康注射液后,黄芪甲苷和大黄酸2种活性成分的药动学差异,发现慢性肾衰大鼠对黄芪甲苷和大黄酸的清除加快,血药浓度降低。通过本研究的结果,期待为肾康注射液治疗肾脏疾病的临床应用提供有益的参考。

首先,本研究建立了大鼠血浆中黄芪甲苷和大黄酸同时测定的LC-MS/MS方法,选择甘草苷作为内标。研究乙腈-水和甲醇-水作为流动相对每种分析物的影响,两者之间没有显著差异。考虑到肾康注射液的成分较复杂,受干扰的化合物较多,而乙腈较甲醇的洗脱能力更强,因此选择具有更好分离效果的乙腈-水作为流动相。在流动相的水相中添

加甲酸后,不仅可以改善待测化合物的峰形,抑制拖尾,还具有较高的离子化效率便于质谱定量,最后选择乙腈-0.1%甲酸作为流动相,从而实现更好的分离效果和峰型。

经过方法学验证,建立的黄芪甲苷和大黄酸同时测定的LC-MS/MS方法在5~5 000 ng/mL和2~2 000 ng/mL线性良好,满足大鼠体内药动学的测定要求。而且,方法的精密度和准确度、回收率和基质效应等指标均符合要求,表明成功建立了灵敏高效的LC-MS/MS方法。

应用建立的LC-MS/MS方法,本研究考察了对照和慢性肾衰大鼠静脉滴注肾康注射液后,黄芪甲苷和大黄酸2种活性成分的药动学。大鼠ig腺嘌呤是一种常用的制备慢性肾病、慢性肾功能衰竭动物模型的方法^[15]。组织学及生化指标结果显示,大鼠

显示出明显的慢性肾衰症状。应用这一模型,研究发现,慢性肾衰大鼠静脉滴注肾康注射液后,黄芪甲苷和大黄酸的血药浓度均低于对照组。这2种活性成分在慢性肾衰大鼠体内消除加快, $t_{1/2\alpha}$ 缩短。肾衰状态下,肾脏清除功能异常,机体代谢紊乱,会对药物的吸收、分布、代谢和排泄均产生影响。例如艾瑞昔布,在肾衰患者体内的 C_{max} 和AUC均显著下降,可能原因是代谢增强,导致原型药物清除加速^[16]。在本研究中,肾衰和对照大鼠中黄芪甲苷和大黄酸的药动学改变可能与肾功紊乱导致的机体代谢清除功能失常相关。首先,肾衰状态下,由于低蛋白血症和血中蓄积大量成分竞争等原因,药物的血浆蛋白结合率下降,导致整体清除率升高^[17]。黄芪甲苷和大黄酸均为高血浆蛋白结合率化合物,分别高达85%和95%。在肾衰大鼠中,存在由于血浆蛋白结合率下降而加快滤过黄芪甲苷和大黄酸的可能。同时,肾衰状态下,肾脏转运体的表达变化也会影响药物的肾脏清除。腺嘌呤诱导的慢性肾衰大鼠和顺铂诱导的急性肾衰大鼠中,肾脏P-gp、Mrp2等外排转运体表达上调,从而加速将底物药物外排至尿液^[18-19]。黄芪甲苷和大黄酸与P-gp和Mrp2均存在相互作用,清除率增大可能是这些外排转运体上调导致的。由于药物疗效需要达到最低起效浓度,清除过快可能导致有效药物浓度不能达到或者起效时间较短,从而影响治疗效果。

本研究首次建立了一种快速、灵敏、准确的LC-MS/MS分析方法,同时测定大鼠血浆中的黄芪甲苷和大黄酸,并且成功应用于肾康注射液在对照和慢性肾衰大鼠体内药动学研究。慢性肾衰大鼠对肾康注射液的清除加快,药物作用时间缩短。在临床应用中,需要根据肾功状况,合理确定用药间隔。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Khan Z, Pandey M. Role of kidney biomarkers of chronic kidney disease: an update [J]. Saudi J Biol Sci, 2014, 21(4): 294-299.
- [2] Ruiz-Ortega M, Rayego-Mateos S, Lamas S, et al. Targeting the progression of chronic kidney disease [J]. Nat Rev Nephrol, 2020. doi: 10.1038/s41581-019-0248-y.
- [3] 孟祥燕, 陈凤, 汪靓雯, 等. 肾康注射液联合西医治疗慢性肾衰竭Meta分析 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(9): 149-154.
- [4] Meng X, Chen F, Wang L, et al. Meta analysis on the treatment of chronic renal failure with renkang injection and western medicine [J]. Asia-Pac Tradit Med, 2019, 15(9): 149-154.
- [5] 宋乾. 肾康注射液治疗慢性肾脏病老年患者的疗效及安全性 [J]. 临床医药文献杂志: 电子版, 2019, 6(75): 69.
- [6] Song Q. Efficacy and safety of Shenkang Injection in the treatment of elderly patients with chronic kidney disease [J]. Electron J Clin Med Lit, 2019, 6(75): 69.
- [7] 王存良, 施亚敏, 付智慧, 等. 基于网络药理学的肾康注射液治疗慢性肾功能衰竭作用机制研究 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(1): 1-8.
- [8] Wang C L, Shi Y M, Fu Z H, et al. Research on treatment of chronic renal failure mechanism of Shenkang Injection based on network pharmacology [J]. Drug Clin, 2021, 36(1): 1-8.
- [9] 孙小萌, 笔雪艳, 曲范娜, 等. 肾康注射液指纹图谱的研究 [J]. 药学实践杂志, 2019, 37(6): 543-547, 576.
- [10] Sun X, Bi X, Qu F, et al. Studies on fingerprint of Shenkang injection [J]. J Pharm Pract, 2019, 37(6): 543-547, 576.
- [11] 刘芳, 郭丝影, 柴士伟, 等. 肾康注射液中化学成分的上PLC-Q-TOF-MS分析 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(6): 975-977.
- [12] Liu F, Guo S Y, Chai S, et al. Analysis on chemical constituents in Shenkang Injection by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Drug Clin, 2017, 32(6): 975-977.
- [13] 支旭然, 刘洪涛, 吴茵, 等. UPLC-MS/MS法同时测定肾康注射液中7个有效成分 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(1): 37-42.
- [14] Zhi X R, Liu H T, Wu Y, et al. Simultaneous determination of 7 active constituents in Shenkang injection by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(1): 37-42.
- [15] 刘克辛. 转运体介导的药物相互作用与临床安全用药 [J]. 大连医科大学学报, 2012, 34(1): 1-8.
- [16] Liu K. Transporter-mediated drug-drug interaction and safe medication in clinic [J]. J Dalian Med Univ, 2012, 34(1): 1-8.
- [17] 霍晓奎, 刘克辛. ATP结合盒转运体介导的肝癌多耐药研究进展 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(1): 1-5.
- [18] Huo X, Liu K. Advances in studies on ATP-binding cassette transporter-mediated multidrug resistance in liver cancer [J]. Drug Eval Res, 2012, 35(1): 1-5.
- [19] Zhang Z H, Vaziri N D, Wei F, et al. An integrated lipidomics and metabolomics reveal nephroprotective effect and biochemical mechanism of Rheum officinale in chronic renal failure [J]. Sci Rep, 2016, 6: 22151.
- [20] Xu W J, Shao X H, Tian L, et al. Astragaloside IV ameliorates renal fibrosis via the inhibition of mitogen-

- activated protein kinases and antiapoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 350(3): 552-562.
- [13] Zhang Q, Liu L, Lin W J, et al. Rhein reverses Klotho repression via promoter demethylation and protects against kidney and bone injuries in mice with chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2017, 91(1): 144-156.
- [14] Liu Z H, Jia Y M, Wang C Y, et al. Organic anion transporters 1 (OAT1) and OAT3 mediated the protective effect of Rhein on methotrexate-induced nephrotoxicity [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(41): 25461-25468.
- [15] Huo X K, Liu K X. Renal organic anion transporters in drug-drug interactions and diseases [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 112: 8-19.
- [16] Pei Q, Xie J L, Huang J, et al. Pharmacokinetic study of imrecoxib in patients with renal insufficiency [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2019, 75(10): 1355-1360.
- [17] Verbeeck R K, Musuamba F T. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with renal dysfunction [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2009, 65(8): 757-773.
- [18] Komazawa H, Yamaguchi H, Hidaka K, et al. Renal uptake of substrates for organic anion transporters Oat1 and Oat3 and organic cation transporters Oct1 and Oct2 is altered in rats with adenine-induced chronic renal failure [J]. *J Pharm Sci*, 2013, 102(3): 1086-1094.
- [19] Liu T, Meng Q, Wang C Y, et al. Changes in expression of renal Oat1, Oat3 and Mrp2 in cisplatin-induced acute renal failure after treatment of JBP485 in rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 264(3): 423-430.

【责任编辑 兰新新】