

高原低氧环境下盐酸二甲双胍在2型糖尿病及正常大鼠体内的药动学差异

罗林¹, 黄冬², 张晓静², 李文斌², 王荣^{1, 2*}

1. 兰州大学药学院, 甘肃兰州 730000

2. 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院药剂科, 甘肃兰州 730050

摘要: 目的 建立LC-MS/MS方法研究高原低氧环境下盐酸二甲双胍在2型糖尿病(T2DM)大鼠体内的药动学特征, 并与正常大鼠体内的药动学特征进行差异分析。方法 高糖高脂饲料喂养合并ip链脲佐菌素(STZ)制备T2DM大鼠模型; 采用Gemini C₁₈ (75 mm×3 mm, 3 μm)色谱柱分离, 乙腈-水-甲酸(85:15:0.1)为流动相等度洗脱, 质谱正离子多反应模式下定性定量分析; T2DM大鼠与正常大鼠分别单次ig给予二甲双胍后, 采集血样, 测定血浆药物浓度, 采用DAS2.0药动学软件计算药动学参数。结果 二甲双胍质量浓度在25~16 000 ng·mL⁻¹内线性关系良好($r=0.9992$), 定量下限为25 ng·mL⁻¹; 大鼠单次ig二甲双胍后, 与正常大鼠组相比, T2DM大鼠二甲双胍药时曲线下面积(AUC)增加了25.15%, 峰浓度(C_{max})增加了28.28%, 清除率($CL_{z/F}$)减小了20.00% ($P<0.05$)。结论 高原低氧环境下, 与正常大鼠相比, 二甲双胍在T2DM模型大鼠体内的AUC、 C_{max} 、 $CL_{z/F}$ 变化具有显著性差异。

关键词: 高原低氧环境; 2型糖尿病; 盐酸二甲双胍; 药动学; 链脲佐菌素

中图分类号: R285.51 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)10-2054-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.10.016

Pharmacokinetic difference of metformin hydrochloride in T2DM and normal rats under high-altitude hypoxic environment

LUO Lin¹, HUANG Dong², ZHANG Xiaojing², LI Wenbin², WANG Rong^{1,2}

1. School of Pharmacy, Lanzhou university, Lanzhou 730000, China

2. Department of Pharmacy, The 940th Hospital of Joint Logistics Support Force, PLA, Lanzhou 730050, China

Abstract: Objective To study the pharmacokinetic difference of metformin hydrochloride in type 2 diabetes mellitus (T2DM) rats and normal rats under high-altitude hypoxic condition based on LC-MS/MS. **Methods** T2DM rat model was established by using high-sugar and high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozocin (STZ). The metformin was separated with Gemini C₁₈ column (75 mm × 3 mm, 3 μm) and using acetonitrile-water-formic acid (85 : 15 : 0.1) as mobile phase for isometric elution. Qualitative and quantitative analysis was performed in positive ion multiple reaction mode. After a single intragastric administration of metformin in T2DM rats and normal rats, blood samples were collected, plasma drug concentration were determined by LC-MS/MS, and the pharmacokinetic parameters were calculated by DAS2.0 pharmacokinetics software. **Results** The results suggested that the mass concentration of metformin in plasma had a great linear relationship at the range of 25—16 000 ng·mL⁻¹ ($r = 0.9992$), and the lower limit of quantification was 25 ng·mL⁻¹. After single administration of metformin, the area of concentration-time curve (AUC) increased by 25.15%, peak concentration (C_{max}) increased by 28.28% and clearance rate ($CL_{z/F}$) decreased by 20.00% in T2DM group compared with normal group ($P < 0.05$). **Conclusion** Compared with normal group, the three pharmacokinetic parameters of AUC, C_{max} and $CL_{z/F}$ in T2DM group were significantly different.

Key words: high-altitude hypoxic environment; type 2 diabetes mellitus; metformin hydrochloride; pharmacokinetics; streptozocin

2型糖尿病(T2DM)主要特征为胰岛素抵抗合 且其发病率逐年上升^[1-2]。盐酸二甲双胍为经典的 治疗 T2DM 的口服降糖药,一直是国内外权威指南 并胰岛β细胞功能受损,为目前的高发糖尿病类型

收稿日期: 2022-04-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82173738)

第一作者: 罗林,男,硕士研究生,研究方向为高原药物药动学。E-mail: windguy@163.com

*通信作者: 王荣,男,主任药师,教授,博士生导师,研究方向为高原药理学。E-mail: wangrong-69@163.com

推荐的治疗 T2DM 的首选药物且为相关联合用药的基础用药^[3-4]。

高原环境主要的特点是低压、低氧,其中低氧对机体的代谢影响最大^[5]。根据课题组前期研究^[6]发现,大鼠从平原急进到高原低氧环境后,会对一些药物在体内的代谢产生吸收加快或清除减慢的影响,可能造成药物的蓄积或难以达到治疗效果,从而一定程度上影响药物疗效。药动学研究是正确用药的基础,具有一定指导作用。平原环境下(海拔<2 500 m)二甲双胍及其联合用药在 T2DM 大鼠模型中的药动学研究已有相关研究报道^[7],而在高原低氧环境^[8](海拔>2 500 m)下二甲双胍在 T2DM 大鼠体内的药动学研究尚未见报道。故本研究主要探讨高原低氧环境下二甲双胍在 T2DM 大鼠体内的药动学特征,并与正常大鼠体内药动学特征进行比较,为二甲双胍在高原环境下临床精准应用提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

UFLC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);API3200 三重四级杆串联质谱仪(美国应用生物系统公司);SH8200H 超声波清洗器(上海科导超声波仪器有限公司);Microfuge22R 型冷冻离心机(BECKMAN COULTER 公司);ME-240 型万分之一电子天平(上海梅特勒-托利多有限公司);卓越型罗氏血糖仪(罗氏血糖健康医护公司)。

1.2 试剂

甲醇(色谱纯,德国 MERCK 公司,批号:I1108107033);乙腈(色谱纯,德国 MERCK 公司,批号:JA107230);甲酸(色谱纯,美国 DIMA 公司,批号:14117);灭菌注射用水(四川科伦药业有限公司,批号:M21041807C);二甲双胍对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100664-201805,质量分数:99.9%);雷尼替丁对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:Y29D7C27738,质量分数≥98%);盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司,批号:ABZ4043);高糖高脂饲料(北京博泰宏达生物技术有限公司,批号:2021070601);链脲佐菌素(STZ,德国 Bio Froxx 公司,批号:EZ6789D136);50% 葡萄糖注射液(中国大冢制药有限公司,批号:0L96J2);胰岛素 ELISA 测试盒(南京建成生物工程研究所,批号:20210630)。

1.3 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 16 只,6 周龄,体质量为

180~220 g,北京斯贝福生物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物相关实验已获中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院伦理委员会审批通过(审批编号:2021KYLL189)。

2 方法与结果

2.1 液相色谱串联质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Gemini C₁₈ (75 mm×3 mm, 3 μm),以乙腈-水-甲酸为流动相(85:15:0.1),体积流量为 0.4 mL·min⁻¹,进样量为 2 μL,分析时间为 3 min。

2.1.2 质谱条件 用正离子多反应(MRM)模式、电喷雾离子源(ESI)进行检测,喷雾电压(IS)为 400 V,温度(TEM)为 350 °C。二甲双胍的碰撞能量(CE)为 193.06 kPa (28.0 psi),去簇电压(DP)为 151.69 kPa (22.0 psi);雷尼替丁的 CE 为 144.80 kPa (21.0 psi),DP 为 103.43 kPa (15.0 psi)。

2.2 对照品溶液及内标溶液的配制

精密称取 0.002 0 g 二甲双胍对照品,溶于甲醇中,配成质量浓度为 200 μg·mL⁻¹的二甲双胍储备液。使用前以大鼠空白血浆将其稀释成质量浓度为 16 000、8 000、4 000、2 000、1 000、500、250、100、50、25 ng·mL⁻¹的血浆溶液,即二甲双胍对照品溶液。

精密称取 0.002 0 g 雷尼替丁对照品,溶于甲醇中,配制质量浓度为 200 μg·mL⁻¹的雷尼替丁储备液,用纯溶剂将其稀释为 500 ng·mL⁻¹的溶液,即内标溶液。

2.3 血浆样品的前处理

取大鼠血浆 50 μL 于离心管内,加入 20 μL 的内标溶液,同时加入 150 μL 的乙腈,涡旋震荡 20 s 后,4 °C、12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,吸取 50 μL 上清进样分析。

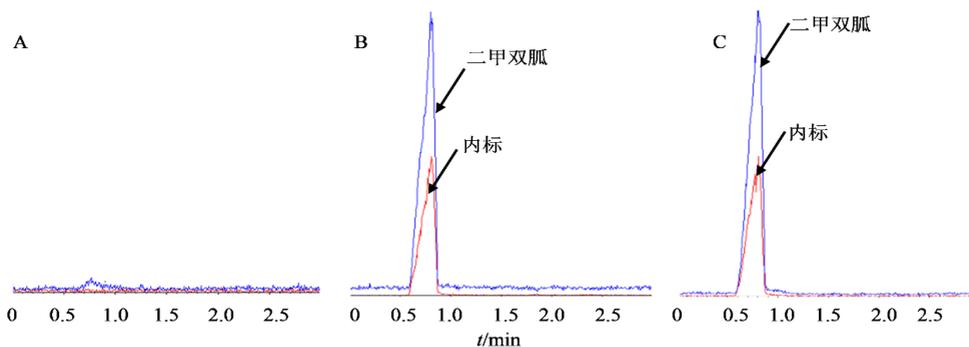
2.4 二甲双胍及内标雷尼替丁质谱扫描结果

通过考察二甲双胍及内标雷尼替丁的断裂方式和质谱扫描响应情况,确定二甲双胍对照品的离子对为 m/z 130.2→71.0,内标雷尼替丁对照品的离子对为 m/z 315.2→176.0。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察 取空白血浆、空白血浆配制的二甲双胍对照品及二甲双胍给药后采集的血浆样品,按“2.3”项方法处理分析,谱图见图 1。样品中未见二甲双胍及其内标物质的干扰峰,表明该方法选择性好,专属性强。

2.5.2 线性范围、检测下限及定量下限 通过“2.3”项方法处理已配制的二甲双胍对照品溶液,进行样品分析。以峰面积对对照品质量浓度做线性回归,得



A-空白血浆; B-空白血浆+二甲双胍对照品; C-给药后二甲双胍血浆样品
A-blank plasma; B-blank plasma+metformin reference substance; C-metformin plasma samples after administration

图 1 二甲双胍及内标 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of metformin and internal standard substance

标准曲线方程: $Y=0.003\ 07X+0.047\ 9(r=0.999\ 2)$ 。结果表明,二甲双胍对照品在 $25\sim 16\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好,定量下限为 $25\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ [信噪比 $(S/N)>10$]。

2.5.3 精密度及准确度的考察 用空白血浆配制质量浓度为 $16\ 000$ 、 $1\ 000$ 、 $25\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,按“2.3”项方法前处理后进样分析。根据样品测定时长,选择 1 d 内的 3 个不同时间点及连续 2 d 在相同时间点进行样品测定,以考察样品日内与日间的精密度与准确度,每个样品测定 5 次。结果(表 1)表明血浆中二甲双胍的日内准确度 RE 在 $\pm 1.6\%$ 以内,精密度(RSD)为 $0.9\%\sim 4.3\%$; 日间准确度 RE 在 $\pm 2.8\%$ 以内,精密度 RSD 为 $1.7\%\sim 6.3\%$,可用于样品分析。

表 1 大鼠血浆中二甲双胍的准确度和精密度 ($n=5$)

Table 1 Accuracy and precision for detection of metformin in rat plasma ($n=5$)

质量浓度/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	日内		日间	
	RE/%	RSD/%	RE/%	RSD/%
25	-1.6	4.3	2.8	6.3
1 000	-0.2	1.4	-0.3	1.6
16 000	0.6	0.9	-0.5	1.7

2.5.4 基质效应和提取回收率 取大鼠空白血浆按“2.3”项方法进行前处理得到空白基质,配制质量浓度分别为 $16\ 000$ 、 $1\ 000$ 、 $25\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的空白血浆对照品溶液,并加入内标溶液,测定待测物峰面积为 A_1 ; 同时用甲醇配制相同质量浓度的对照品溶液,加入内标溶液,测定待测物峰面积为 A_2 。基质效应 = A_1/A_2 。通过对比二甲双胍和内标雷尼替丁的响应值,判断是否对其测定产生干扰。结果(表 2)表明,血浆中二甲

表 2 大鼠血浆样品中二甲双胍的提取回收率与基质效应 ($n=5$)

Table 2 Recoveries and matrix effect of metformin in rat plasma sample ($n=5$)

质量浓度/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%		基质效应/%	
	数值	RSD	数值	RSD
25	98.9	3.1	85.4	2.5
1 000	99.2	2.5	90.4	1.4
16 000	99.9	1.8	98.9	0.6

双胍基质效应在 $85.4\%\sim 98.9\%$, RSD 小于 2.5% ,被测物二甲双胍及内标的质谱响应值受干扰程度低。

用大鼠空白血浆配制 $16\ 000$ 、 $1\ 000$ 、 $25\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 3 个质量浓度空白血浆对照品溶液,加入内标溶液,样品前处理后,测定待测物峰面积为 A_1 ; 另取大鼠空白血浆,前处理后,配制相同质量浓度的空白血浆对照品样品,加入内标溶液,测定待测物峰面积为 A_2 ,提取回收率 = A_1/A_2 。结果表明提取回收率在 $98.9\%\sim 99.9\%$, RSD 均小于 3.1% ,测定方法符合生物样品检测要求。

2.5.5 样品稳定性考察 用大鼠空白血浆配制二甲双胍对照品溶液,以室温放置 24 h, $-80\ ^\circ\text{C}$ 反复冻融 3 次及 $-80\ ^\circ\text{C}$ 放置 10 d 考察样品稳定性。按“2.3”项方法处理并分析,结果见表 3,经上述条件保存后,二甲双胍的准确度 RE 均在 $\pm 3.3\%$ 以内,精密度 RSD 小于 3.6% 。

2.6 T2DM 模型制备与药理学实验

2.6.1 T2DM 大鼠模型制备 将 16 只 Wistar 雄性大鼠随机分为 T2DM 模型组与对照组,每组各 8 只。根据文献报道^[9-12]的 T2DM 模型建立方法, T2DM 模型组大鼠给予高糖高脂饲料(蛋白质 24.2%、碳水化合物 42.1%、脂肪 25.4%,其他 8.3%) 喂养 28 d 后,禁

表3 大鼠血浆样品中二甲双胍稳定性结果 ($n=5$)Table 3 Stability of metformin in rat plasma ($n=5$)

条件	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RE/%	RSD/%
室温放置24 h	25	1.3	3.3
	1 000	-0.5	0.9
冻融循环3次	25	2.7	3.6
	1 000	1.4	1.2
-80 °C放置10 d	25	3.3	2.9
	1 000	-0.7	0.5

食不禁水12 h, ip STZ 30 mg·kg⁻¹, 3 d后禁食不禁水12 h, 测定大鼠空腹血糖。当空腹血糖值 ≥ 11.1 mmol·L⁻¹, 出现多饮、多食、多尿且葡萄糖耐量受损及胰岛素抵抗时, 表明模型制备成功。对照组大鼠给予普通饲料正常饲养。

2.6.2 口服葡萄糖耐量(OGTT)实验 T2DM模型组与对照组大鼠禁食不禁水10 h后, ig给予2 g·kg⁻¹的50%葡萄糖溶液, 分别于给予葡萄糖前及给予葡萄糖后30、60、120 min尾部采血, 测定大鼠的血糖值。

2.6.3 胰岛素抵抗检测 T2DM模型组与对照组大鼠分别禁食不禁水10 h, 尾尖取血, 血糖仪测定空腹血糖值。大鼠分别眼眶采血, 静置30 min后, 4 °C、8 000 r·min⁻¹离心10 min得血清样本, 使用胰岛ELISA试剂盒测定血清样品中的胰岛素水平, 计算

胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。

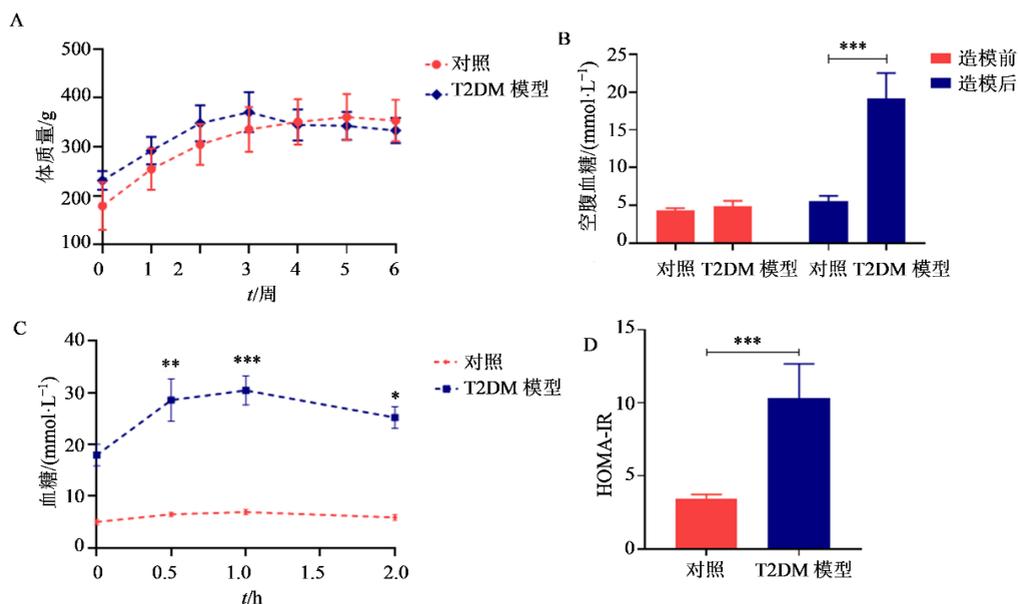
$$\text{HOMA-IR} = (\text{空腹胰岛素值} \times \text{空腹血糖值}) / 22.5$$

2.6.4 二甲双胍在大鼠体内药动学实验 将T2DM模型组与对照组大鼠从甘肃兰州(海拔为1 500 m)通过航空及陆运急进高原至青海省玉树藏族自治州玉树市巴塘乡(海拔为4 010 m)进行实验。T2DM模型组与对照组大鼠分别禁食不禁水12 h后开始药动学实验。称取盐酸二甲双胍片(研钵研磨至粉末状, 溶于适量灭菌注射用水中), T2DM模型组与对照组大鼠分别给予二甲双胍80 mg·kg⁻¹(相当于成人用药量850 mg·d⁻¹), ig给药, 分别于给药后0、0.083、0.25、0.50、0.75、1.00、1.50、2.00、4.00、6.00、8.00、12.00、24.00 h眼眶取血, 4 °C、5 000 r·min⁻¹离心10 min, 吸取上层血浆样本, 置于-80 °C冰箱中保存待测。

2.6.5 数据处理 将所得血药浓度-时间数据用DAS 2.0软件分析计算药动学参数, 采用SPSS 21.0软件统计处理数据, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2.7 T2DM模型评价及药动学实验结果

2.7.1 T2DM模型建立成功指标 以大鼠ip STZ前后空腹血糖、OGTT及HOMA-IR变化来评价模型建立成功与否, 结果见图2。高脂或正常饲料喂养4周期间, 对照组与T2DM模型组大鼠体质量随时间而增加, 当第4周T2DM模型组大鼠ip



A-体质量; B-空腹血糖; C-OGTT; D-HOMA-IR; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$
A-body weight; B-fasting glucose; C-OGTT; D-HOMA-IR; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group

图2 T2DM模型不同评价指标 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 2 Different evaluation indicators of T2DM model ($\bar{x} \pm s, n=8$)

STZ 后体质量开始出现下降,对照组大鼠体质量保持上升趋势,结果见图 2-A。注射 STZ 前,对照组与 T2DM 模型组大鼠空腹血糖水平差异无显著性;注射 STZ 后, T2DM 模型组大鼠空腹血糖值显著上升 ($P < 0.001$),结果见图 2-B。OGTT 试验 ig 50% 葡萄糖注射液后,对照组大鼠血糖值上升不明显,且给予葡萄糖后 2 h 血糖值与给予葡萄糖前血糖值比较无明显变化; T2DM 模型组大鼠血糖值在给予葡萄糖 1 h 内显著增加, 2 h 时血糖值较 1 h 下降,但较给予葡萄糖前相比显著增加 ($P < 0.05$),结果见图 2-C。ip STZ 后,与对照组大鼠相比, T2DM 模型组大鼠 HOMA-IR 显著升高 ($P < 0.001$),结果见图 2-D。结果均表明 T2DM 大鼠模型建立成功。

2.7.2 二甲双胍平均血药浓度-时间曲线 T2DM 模型组及对照组大鼠 ig 二甲双胍后体内的血药浓度-时间曲线见图 3。

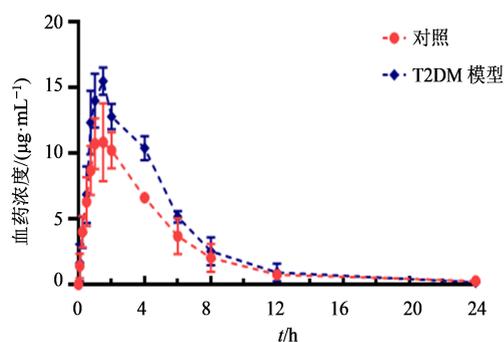


图 3 高原低氧环境下正常大鼠与 T2DM 大鼠二甲双胍药时曲线 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 3 Concentration-time curve of metformin in Control and T2DM rats under plateau ($\bar{x} \pm s, n=8$)

2.7.3 药动学参数比较 测得二甲双胍血药浓度,采用 DAS 2.0 药动学软件计算二甲双胍在 T2DM 模型组与对照组大鼠体内的药动学参数,结果见表 4。分析结果可知,高原低氧环境下,与对照组大鼠相比, T2DM 模型组大鼠二甲双胍药时曲线下面积 (AUC) 显著增加 ($P < 0.05$),峰浓度 (C_{max}) 也显著增加 ($P < 0.05$),清除率 ($CL_{z/F}$) 显著减小 ($P < 0.05$)。

3 讨论

为提高测定的准确度,分别考察了不同比例的乙腈 (70%、80%、85%、90%) 对二甲双胍及内标雷尼替丁的分离效果及响应能力,结果表明当乙腈的体积分数在 85% 时,二者能得到较好分离。但峰形存在拖尾现象,因此考察了

表 4 高原条件下二甲双胍在正常大鼠与 T2DM 大鼠体内主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Main pharmacokinetic parameters of metformin in control and T2DM model rats under plateau ($\bar{x} \pm s, n=8$)

参数	单位	对照	T2DM 模型
AUC _{0~t}	h·μg·L ⁻¹	61 009.24±5 064.11	76 354.17±7 471.49*
AUC _{0~∞}	h·μg·L ⁻¹	61 847.21±6 169.73	77 311.57±7 494.27*
MRT _{0~t}	h	4.75±1.02	4.52±0.79
MRT _{0~∞}	h	5.06±1.45	4.83±0.92
t _{1/2z}	h	3.12±1.39	3.89±0.57
t _{max}	h	1.50±0.50	1.25±0.28
C _{max}	μg·L ⁻¹	11 731.67±2 195.05	15 050.00±3 481.61*
CL _{z/F}	L·kg ⁻¹ ·h ⁻¹	1.30±0.13	1.04±0.09*
V _{z/F}	L·kg ⁻¹	5.69±1.99	5.86±1.13

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

0.1%、0.2%、0.3% 不同比例的甲酸^[13]对拖尾的改善效果。结果表明,当加入 0.1% 甲酸时,改善峰形拖尾效果最好且不影响二甲双胍的响应信号。因此最终选择以乙腈-水-甲酸溶液 (85:15:0.1) 作为流动相。

同时本研究采用了蛋白沉淀法处理血浆样品,由于二甲双胍几乎不与血浆蛋白结合,因此考察了血浆样品与蛋白沉淀剂乙腈^[14-15]比例分别为 1:2、1:3、1:4 时对二甲双胍的提取效率的影响。结果表明,当血浆样品与乙腈比例为 1:3 时提取效果好且对二甲双胍稀释作用小,结果最终选择血浆样品与乙腈比例为 1:3。

STZ 能选择性破坏胰岛 β 细胞,被广泛用于诱导糖尿病模型的建立。本研究采用高糖高脂饲料合并注射 STZ 的方法,可先致大鼠产生一定的胰岛素抵抗,可使药物使用剂量减少,降低对外周组织的毒性,成模率高且稳定^[16]。如图 4-B,当大鼠注射 STZ 后,其空腹血糖急剧升高且 HOMA-IR 增加显著,表明 T2DM 模型建立的成功。

二甲双胍口服经肠道吸收后,不经肝脏代谢,以原型形式经肾脏排泄。在高原低氧环境下, T2DM 大鼠单次 ig 二甲双胍后,与正常大鼠相比,其 AUC 增加, $CL_{z/F}$ 减小,说明其在体内的代谢减慢,存在药物蓄积。这可能是由缺氧导致肾组织损伤及相关代谢转运体表达变化所引起的^[17-18]。同时机体组织处于高糖环境下,可能会对药物在体内的生物转化有所影响^[19]。

这些都可能是导致高原低氧环境下二甲双胍在T2DM大鼠体内消除减慢的原因。

本研究结果表明,高原环境下二甲双胍在T2DM大鼠体内消除减慢,其在体浓度升高,抑制肝糖异生作用增强,可能会引发乳酸水平升高,反向抑制二甲双胍的降糖作用。因此在保证有效的药物治疗浓度下,可延长二甲双胍的用药时间间隔。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sanchez-Rangel E, Inzucchi S E. Metformin: Clinical use in type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1586-1593.
- [2] Zhou T T, Xu X, Du M F, et al. A preclinical overview of metformin for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1227-1235.
- [3] Hostalek U, Gwilt M, Hildemann S. Therapeutic use of metformin in prediabetes and diabetes prevention [J]. *Drugs*, 2015, 75(10): 1071-1094.
- [4] Kawanami D, Takashi Y, Tanabe M. Significance of metformin use in diabetic kidney disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4239.
- [5] Li W B, Wang R, Xie H, et al. Effects on pharmacokinetics of propranolol and other factors in rats after acute exposure to high altitude at 4, 010 m [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 72(1): 27-36.
- [6] Lu H, Wang R, Jia Z P, et al. Effects of high altitude exposure on physiology and pharmacokinetics [J]. *Curr Drug Metab*, 2016, 17(6): 559-565.
- [7] 段好刚,魏玉辉,李波霞,等.玉泉丸对盐酸二甲双胍在糖尿病大鼠体内药动学的影响[J].*中国中药杂志*, 2008, 33(18): 2133-2135, 2139.
Duan H G, Wei Y H, Li B X, et al. Effects of Yuquan pills on pharmacokinetics of metformin hydrochloride in diabetic rats [J]. *China J Chin Mater Med*, 2008, 33(18): 2133-2135, 2139.
- [8] Luks A M, Swenson E R, Bärtsch P. Acute high-altitude sickness [J]. *Eur Respir Rev*, 2017, 26(143): 160096.
- [9] 吕秋军.新药药理学研究方法[M].北京:化学工业出版社,2007:300-303.
LV Q J. *The Methods of New Drug Pharmacology* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 300-303.
- [10] Islam M S, Loots D T. Experimental rodent models of type 2 diabetes: A review [J]. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2009, 31(4): 249-261.
- [11] Goyal S N, Reddy N M, Patil K R, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes-A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 244: 49-63.
- [12] Nath S, Ghosh S K, Choudhury Y. A murine model of type 2 diabetes mellitus developed using a combination of high fat diet and multiple low doses of streptozotocin treatment mimics the metabolic characteristics of type 2 diabetes mellitus in humans [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2017, 84: 20-30.
- [13] 刘艳琴,张璇,彭莹莹,等.稳定同位素稀释-液相色谱串联质谱法测定血清中的25-羟基维生素D2和25-羟基维生素D3含量[J].*分析仪器*, 2021(6): 32-38.
Liu Y Q, Zhang X, Peng Y Y, et al. Determination of 25-hydroxyvitamin D2 and 25-hydroxyvitamin D3 in serum by stable isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Instrum*, 2021(6): 32-38.
- [14] 覃冬杰,李萍,吴婧,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定新生儿血浆中氟康唑的浓度[J].*中国医药导报*, 2022, 19(1): 35-38, 55.
Qin D J, Li P, Wu J, et al. Determination of Fluconazole concentration in neonatal plasma by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *China Med Her*, 2022, 19(1): 35-38, 55.
- [15] 付信珍,谢则平,李志,等.大鼠血浆中大麻二酚超高效液相色谱-三重四极杆质谱法检测及代谢动力学研究[J].*药物分析杂志*, 2021, 41(9): 1513-1518.
Fu X Z, Xie Z P, Li Z, et al. Determination of cannabidiol and its pharmacokinetics in rat plasma by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2021, 41(9): 1513-1518.
- [16] 韩旭,王璇,余芝,等.STZ制备糖尿病大鼠模型影响因素的研究进展[J].*中国实验动物学报*, 2020, 28(5): 716-725.
Han X, Wang X, Yu Z, et al. Research progress on

- factors influencing streptozotocin-induced diabetic rat models [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*, 2020, 28(5): 716-725.
- [17] Zhou S X, Zhao P, Li Y F, et al. Renoprotective effect of atorvastatin on STZ-diabetic rats through attenuating kidney-associated dysmetabolism [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740((9): 9-14.
- [18] Wang J C, Wang L, Zhou J, et al. The protective effect of formononetin on cognitive impairment in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1250-1257.
- [19] Maruthur N M, Tseng E, Hutfless S, et al. Diabetes medications as monotherapy or metformin-based combination therapy for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis [J]. *Ann Intern Med*, 2016, 164 (11): 740-751.

[责任编辑 刘东博]