

黄蜀葵花直服饮片与传统饮片中金丝桃苷在正常及肾病综合征大鼠体内的药代动力学比较研究



牛凯琳¹, 罗恒², 周静^{2,3}, 白筱璐², 文晴^{2,3}, 陈维², 吴燕², 张红¹, 孟慧心¹, 张磊^{2,3}

1. 成都中医药大学药学院 (成都 611137)
2. 四川省中医药科学院动物中心 (成都 610041)
3. 中药新药创制川渝共建重点实验室 (成都 610041)

【摘要】目的 建立液相色谱-三重四极杆质谱联用技术 (HPLC-QqQ/MS) 测定金丝桃苷在大鼠血浆中的含量, 对比分析黄蜀葵花直服饮片与传统饮片中的金丝桃苷在正常大鼠与肾病综合征 (NS) 大鼠体内的药代动力学特征。**方法** 血浆经乙酸乙酯萃取后, 采用 Agilent Poroshell 120 EC C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 3 mm, 2.7 μm), 以甲醇-0.1% 甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾离子化源负离子模式检测, 利用 DAS 2.0 软件计算达峰时间 (T_{max})、峰浓度 (C_{max})、药时曲线下面积 (AUC)、药物平均滞留时间 (MRT)、表观清除率 (CL/F) 等药代动力学参数。**结果** 与黄蜀葵花传统饮片比较, 灌胃直服饮片后正常组大鼠 T_{max} 显著缩短, C_{max} 显著升高, 模型组大鼠 C_{max} 显著降低 (P<0.05)。与正常组大鼠比较, 模型组大鼠灌胃黄蜀葵花直服饮片和传统饮片后 AUC₀₋₁ 和 AUC_{0-∞} 极显著升高, V/F 显著降低, CL/F 极显著降低 (P<0.05); 灌胃直服饮片后 T_{max} 极显著延长, 平均滞留时间 MRT₀₋₁ 显著延长 (P<0.05); 灌胃传统饮片后 C_{max} 极显著升高 (P<0.01)。**结论** 灌胃黄蜀葵花直服饮片或传统饮片后, 金丝桃苷在正常大鼠和 NS 大鼠体内药代动力学特征存在较大差异, 直服饮片在正常状态下吸收更迅速、达峰时间更短; 在 NS 模型状态下血药浓度峰值更低、波动更小, 安全性优于传统饮片; NS 模型可显著升高药物 AUC₀₋₁ 和 AUC_{0-∞}, 显著降低 CL/F 与 V/F, 推测与肾脏清除受损、血浆蛋白结合改变相关。

【关键词】 黄蜀葵花; 金丝桃苷; 肾病综合征; 直服饮片; 传统饮片; 液相色谱-三重四极杆质谱联用; 药代动力学; 药物代谢; 大鼠

【中图分类号】 R285.5

【文献标识码】 A

Comparative study of the pharmacokinetics of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic. flowers in directly taken decoction pieces and traditional decoction pieces of hyperoside in normal and nephrotic syndrome rats

NIU Kailin¹, LUO Heng², ZHOU Jing^{2,3}, BAI Xiaolu², WEN Qing^{2,3}, CHEN Chu², WU Yan², ZHANG Hong¹, MENG Huixin¹, ZHANG Lei^{2,3}

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Laboratory Animal Center, Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China

3. Sichuan-Chongqing Joint Key Laboratory of Innovation of New Drugs of Traditional Chinese Medicine,

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202504070

基金项目: 四川省科技成果转化示范项目 (2020ZHC00070); 四川省中医药管理局科学技术研究专项课题 (2024ZD01); 四川省岐黄学者能力提升项目

通信作者: 张磊, 博士, 研究员, Email: okok5151@163.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

Chengdu 610041, China

Corresponding author: ZHANG Lei, Email: okok5151@163.com

【Abstract】Objective To establish high-performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry (HPLC-QqQ/MS) for the determination of the content of hyperoside in rat plasma, and to compare and analyze the pharmacokinetic characteristics of hyperoside in *Abelmoschus manihot* (L.) Medic. flowers directly taken decoction pieces and traditional decoction pieces in normal and nephrotic syndrome (NS) rats. **Methods** After the plasma was extracted with ethyl acetate, the separation was performed on an Agilent Poroshell 120 EC C₁₈ chromatographic column (100 mm×3 mm, 2.7 μm), and the mobile phase was methanol 0.1% formic acid aqueous solution with a gradient elution. The detection was conducted in the negative ion mode of electric spray ion source. The pharmacokinetic parameters such as peak time (T_{max}), peak concentration (C_{max}), area under the drug time curve (AUC), mean drug retention time (MRT), clearance rate (CL/F) and other parameters were calculated using the DAS 2.0 software. **Results** Compared with the traditional decoction pieces, oral administration of the direct decoction pieces significantly shortened T_{max} and increased C_{max} in normal rats, whereas C_{max} was significantly decreased in NS model rats ($P<0.05$). Compared with normal rats, NS model rats showed significantly increased AUC_{0-t} and AUC_{0-∞}, along with decreased V/F and CL/F following oral administration of both direct and traditional decoction pieces ($P<0.05$). In addition, T_{max} was markedly prolonged and MRT_{0-t} was significantly extended after administration of the direct decoction pieces in NS model rats ($P<0.05$). After administration of the traditional decoction pieces, C_{max} was significantly increased in NS model rats ($P<0.01$). **Conclusion** The pharmacokinetic profiles of hyperoside differed markedly between normal and NS model rats following oral administration of both direct and traditional decoction pieces of *Abelmoschus manihot*. In normal rats, the direct decoction pieces exhibited faster absorption and a shorter T_{max}. In contrast, in NS model rats, the direct decoction pieces resulted in a lower peak plasma concentration and reduced fluctuation, suggesting a better safety profile compared with traditional decoction pieces. Moreover, the NS model significantly increased AUC_{0-t} and AUC_{0-∞}, while decreasing CL/F and V/F, which may be associated with impaired renal clearance and altered plasma protein binding.

【Keywords】 *Abelmoschus manihot* (L.) Medic.; Hyperoside; Nephrotic syndrome; Directly taken decoction pieces; Traditional decoction pieces; HPLC-QqQ/MS; Pharmacokinetics; Drug metabolism; Rats

肾病综合征 (nephrotic syndrome, NS) 是一种由肾小球滤过屏障通透性增加引起的肾脏疾病, 其临床特征表现为蛋白尿、低白蛋白血症、水肿和高脂血症^[1]。我国为 NS 高发地区, 常见于学龄儿童及青少年, 发病率为 3.0~16.9/10 万^[2]。NS 患者可能发生多种并发症, 包括血栓形成、感染、血脂异常和肾功能不全等^[3]。目前临床治疗 NS 的一线疗法为糖皮质激素, 然而长期应用激素类药物可能导致 NS 演变为激素依赖性 NS 和频复发性 NS, 结果导致患儿出现肥胖、生长抑制、白内障、高血压病、糖尿病、骨质疏松等不良反应^[4]。

黄蜀葵花为锦葵科植物黄蜀葵 [*Abelmoschus manihot* (L.) Medic.] 的干燥花冠。最早见于《嘉佑本草》, 具有利尿通淋、活血止血、消肿解毒的功效。黄蜀葵花在临床上被广泛应用于糖尿病

肾病^[5]、慢性肾小球肾炎^[6]、慢性肾病、肾小球硬化、NS^[7-8] 等肾脏疾病, 而以其为主要药物研制的中成药黄葵胶囊同样在治疗肾脏疾病中获得较好的疗效。黄蜀葵花治疗肾脏疾病主要的药效物质基础为总黄酮^[7], 其中占比最高的成分为金丝桃苷, 有研究表明金丝桃苷对糖尿病肾病大鼠的肾脏组织具有保护作用^[8], 对脂多糖所致的急性肾损伤同样具有保护作用^[9], 促进 NS 大鼠肾细胞自噬活性, 减轻 NS 大鼠足细胞损伤等^[10]。

黄蜀葵花直服饮片为传统的黄蜀葵花饮片经低温超微粉碎后可直接饮用的粉体, 经粉碎后粉体粒径可达到 1~10 μm^[11], 具有较好的溶解性、分散性、吸附性等特点。本研究以金丝桃苷为检测指标, 对比黄蜀葵花直服饮片与传统饮片的粉末在正常大鼠与 NS 模型大鼠体内的药代动力学。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

Shimadzu LC-40-AB SCIEX API 4500 液质联用系统（日本岛津公司）；Spectra Max190 型全自动酶标仪（美国 Molecular Devices 公司）；5804R 型台式低温离心机（德国 Eppendorf 公司）；CPA225D 型十万分之一电子天平（德国 Sartorius 公司）；Option S7+purelab flex 型超纯水系统（法国 Veolia 公司）；MD200-2 型氮吹仪（中国奥盛公司）。

1.2 主要药品与试剂

黄蜀葵花直服饮片与传统饮片购于扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司（产地：成都，批号：19042701），经四川省中医药科学院药理学研究所陈维研究员鉴定为锦葵科植物黄蜀葵 [*Abelmoschus manihot* (L.) Medic.] 的干燥花冠；金丝桃苷对照品（成都普斯生物科技有限公司，批号：PS013544，纯度 $\geq 98.5\%$ ）；内标大黄素对照品（成都普菲德生物科技有限公司，批号：18022605，纯度 $\geq 98\%$ ）；阿霉素（美国 MCE 生物科技有限公司，批号：251055）；Easy II Protein Quantitative Kit (BCA) 试剂盒（北京 TransGen 生物科技有限公司，批号：20230623）；甲醇和甲酸为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为超纯水（自制）。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠，鼠龄 7~8 周，体重（ 250 ± 20 ）g，由北京斯贝福生物技术有限公司提供，动物许可证号：SCXK（京）2019-0008，饲养四川省中医药科学院动物实验中心，温度为（ 20 ± 2 ） $^{\circ}\text{C}$ ，12 h 循环光照条件下饲养，使用许可证号：SYXK（川）2023-0100。本实验经四川省中医药科学院伦理委员会批准（伦理批号：DWSYLL-2024-102）。

1.4 方法

1.4.1 色谱与质谱条件

色谱条件：Agilent Poroshell 120 EC C_{18} 色谱柱（ $100 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ ， $2.7 \mu\text{m}$ ）；流动相：甲醇（A）-0.1% 甲酸水溶液（B），梯度洗脱（0~1 min，22% \rightarrow 28% B；1~5.5 min，28% \rightarrow 38% B；5.5~15 min，38% \rightarrow 60% B；15~20 min，60% \rightarrow 100% B；20~25 min，100% B；

25~30 min，22% B）；流速：0.4 mL/min；柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量：0.5 μL 。

质谱条件：采用电喷雾离子化源负离子多反应监测模式；喷雾电压：-4 500 V；离子源温度：550 $^{\circ}\text{C}$ ；气帘气：35 psi；雾化气：55 psi；加热气：55 psi。待检测成分及内标用于定量分析的离子分别为金丝桃苷 m/z 463.0 [M-H] $^{-}$ 、大黄素 m/z 269 [M-H] $^{-}$ 。

1.4.2 动物建模与分组

将 SD 大鼠尾静脉注射阿霉素溶液（6.5 mg/kg）构建 NS 模型。造模 10 d 后，收集大鼠 24 h 尿液，采用 BCA 法检测尿蛋白含量。若尿蛋白含量高于 100 mg/24 h，则判定为造模成功^[12]。取 20 只造模成功的大鼠随机分为 2 组：黄蜀葵花直服饮片模型组（NS1）和黄蜀葵花传统饮片模型组（NS2），每组 10 只。另取 20 只正常大鼠随机分为 2 组：黄蜀葵花直服饮片正常组（N1）和黄蜀葵花传统饮片正常组（N2），每组 10 只。鉴于造模过程中存在动物死亡情况，最终各组纳入统计学分析的有效样本量均为 6 只。

1.4.3 药液配制与对照品、内标溶液配制

本实验设计依据相同浓度的金丝桃苷在正常大鼠和 NS 大鼠体内药代动力学的变化。黄蜀葵花直服饮片药液：称取黄蜀葵花直服饮片适量，用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液配制成浓度分别为 0.072 5 g/mL 的药液。黄蜀葵花传统饮片药液：粉碎后过四号筛，取粉末适量煎煮浓缩为浓度 0.056 2 g/mL 的药液。二者的金丝桃苷含量均为 5 mg/kg，所制得的两种药液均用于后续灌胃实验。

精密称取金丝桃苷适量，加入甲醇稀释配制成浓度为 2、8、20、40、80、200、400 ng/mL 的金丝桃苷对照品溶液。称取内标大黄素适量，加入甲醇稀释配制成浓度为 10 ng/mL 的大黄素内标溶液。

1.4.4 颈静脉插管手术

麻醉后，依次用碘伏和酒精消毒颈部皮肤。随后，分别于颈前（近心端）和颈后（远心端）各剪开一小口，将插管的一端插入颈静脉，远心端以缝线结扎，另一端从颈后穿出，用伤口夹固定。手术结束后向插管内依次注入肝素溶液（抗凝）和甘油（封管），最后用鱼线封用管口。术后腹腔注射青霉素钠预防感染，大鼠单笼饲养。所有手术器械均于使用前经高压蒸汽灭菌处理。

1.4.5 给药和样品采集

颈静脉手术恢复3 d后,对N1与N2组大鼠给予5%羧甲基纤维素的PBS溶液,NS1与NS2组大鼠分别给予黄蜀葵花直服饮片药液或黄蜀葵花粉末药液进行灌胃给药,给药体积为10 mL/kg^[13]。给药前禁食12 h,给药前采集空白血浆,并于给药后0.083、0.16、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10、12 h经颈静脉插管采血300 μ L,置于肝素钠抗凝离心管中,于4℃条件下以1 000 \times g离心10 min,分离上层血浆,保存于-80℃冰箱备用。

1.4.6 样品处理

取血浆50 μ L,加入20 μ L大黄素溶液(10 ng/mL),再加入1.5 mL乙酸乙酯,涡旋30 s后离心10 min(1 000 \times g)取上清。重复上述乙酸乙酯提取步骤一次,合并两次上清液。合并液在40℃条件下用氮气吹干(气体流速10 L/min),然后再用200 μ L甲醇水(50:50)复溶,按“1.4.1”项下条件进行检测。

1.4.7 方法学考察

① 专属性。取给药前采集的空白血浆、加入金丝桃苷对照品的空白血浆,以及大鼠灌胃黄蜀葵花直服饮片与传统饮片后的含药血浆,按“1.4.6”项下方法处理,并按“1.4.1”项下条件进样检测。

② 标准曲线和定量限。取大鼠空白血浆50 μ L,分别加入50 μ L浓度为2、8、20、40、80、200、400 ng/mL的金丝桃苷对照品溶液,再加入20 μ L内标大黄素溶液(10 ng/mL),加入1.5 mL乙酸乙酯,涡旋30 s后离心10 min(1 000 \times g)取上清。重复上述乙酸乙酯提取步骤1次,合并两次上清液。合并液在40℃条件下用氮气吹干(气体流速10 L/min),然后再用200 μ L甲醇水(50:50)复溶,得到浓度为0.5、2、5、10、20、50、100 ng/mL的系列标准溶液,按“1.4.6”项下方法处理,并按“1.4.1”项下条件进样检测。采用加权最小二乘法(权重系数 $W=1/X^2$)拟合并计算标准曲线回归方程。以仪器信噪比为10时对照品浓度作为定量限。

③ 精密度与准确度。精密吸取空白血浆50 μ L,分别加入浓度为8、80、200 ng/mL的金丝桃苷对照品溶液,再各加入20 μ L内标大黄素溶液(10 ng/mL),加入1.5 mL乙酸乙酯,涡旋30 s后离心10 min(1 000 \times g)取上清。重

复上述乙酸乙酯提取步骤一次,合并两次上清液。合并液在40℃条件下用氮气吹干(气体流速10 L/min),然后再用200 μ L甲醇水(50:50)复溶,得到金丝桃苷浓度分别为2、20、50 ng/mL的低、中、高3个质量浓度水平的质控溶液,按“1.4.6”项下方法处理,并按“1.4.1”项下条件连续进样6次,连续测定3 d,分别计算日内精密度和日间精密度。将测定值代入随行标准曲线,分别计算各物质的浓度,并以实际测定浓度与理论浓度的比值表示准确度。

④ 基质效应与提取回收率。取大鼠空白血浆和给药血浆各50 μ L,按“1.4.6”项下方法处理,分别加入8、80、200 ng/mL的质控溶液,并按“1.4.1”项下条件进样检测,分别得到峰面积 A_1 和 A_2 ;分别取浓度为2、20、50 ng/mL的对照品溶液,按“1.4.1”项下条件进样检测,得到峰面积 A_3 。计算基质效应($A_1/A_3 \times 100\%$)和提取回收率($A_2/A_3 \times 100\%$)。

⑤ 稳定性。精密吸取空白血浆50 μ L,分别加入浓度为8、80、200 ng/mL的质控溶液,每个浓度平行制备3份。将溶液分别于室温放置6 h、-20℃冷冻放置72 h、自动进样器中(8℃)放置24 h,以及反复冻融3次。处理完毕后进样检测,考察溶液的稳定性。

1.5 统计学分析

采用DAS 2.0软件计算药代动力学参数。用SPSS 25.0软件进行统计分析,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,方差不齐则选用非参数检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用GraphPad Prism 8软件绘图。

2 结果

2.1 方法学考察

① 专属性结果。金丝桃苷和内标大黄素的保留时间分别为7.03 min和19.77 min。金丝桃苷和内标均未受到血浆中杂质及内源性物质的干扰,且金丝桃苷与内标可实现完全分离,表明所建立的方法专属性良好。具体见图1。

② 线性关系考察结果。金丝桃苷的标准曲线方程为 $Y=235.235\ 29X+13.000\ 81$ ($r=0.999\ 8$),结果表明金丝桃苷在0.5~100 ng/mL浓度范围内线性关系良好,定量限为0.5 ng/mL。

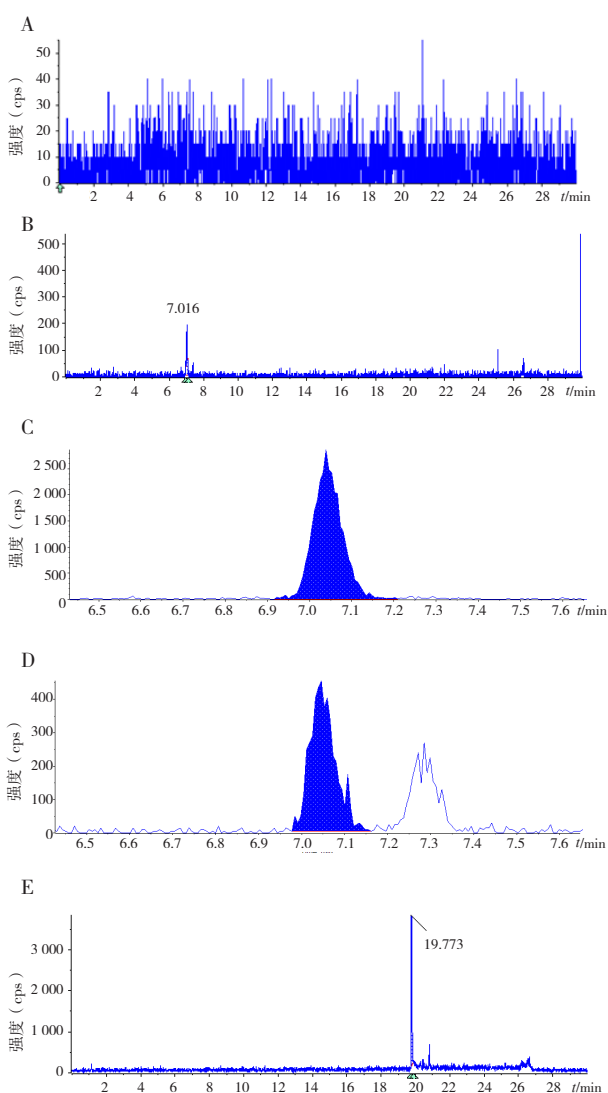


图1 专属性考察色谱图

Figure 1. Chromatogram for specific attribute examination
注：A. 空白血浆；B. 空白血浆+对照品；C. 含药血浆（黄蜀葵花直服饮片）；D. 含药血浆（黄蜀葵花传统）；E. 内标。

③ 精密度与准确度结果。精密度与准确度考察结果表明，金丝桃苷高、中、低质量浓度质控溶液的日内精密度 *RSD* 分别为 2.74%、2.29%、8.21% ($n=6$)，日间精密度为 3.28%、2.29%、1.07% ($n=6$)，日内、日间 *RSD* 均小于 10%，日内和日间准确度的相对误差均在 $\pm 15\%$ 之内，符合精密度、准确度生物样品定量分析指导原则的要求^[14]。

④ 基质效应与提取回收率。基质效应考察结果表明，高、中、低质控样品浓度的金丝桃苷的基质效应 *RSD* 分别为 5.17%、2.07%、9.89% ($n=6$)，均小于 15%，受内源性物质影响较小，符合相关指导原则要求^[14]。

提取回收率考察结果显示，高、中、低质控样品浓度的金丝桃苷提取回收率的 *RSD* 分别为 8.39%、11.33%、5.38% ($n=6$)，提取回收率 *RSD* $\leq 15\%$ ，说明该提取方法结果稳定，适用于本实验中生物样品处理。

⑤ 稳定性。稳定性考察结果显示，血浆中 3 种质控样品浓度的金丝桃苷在室温下放置 6 h、 -20°C 放置 72 h、在自动进样器 (8°C) 放置 24 h、反复冻融 3 次后 *RSD* 分别为 9.48%、9.18%、5.16%、5.27%，均小于 15%，说明血浆样品在上述条件下均稳定，符合相关指导原则要求。

2.2 NS模型鉴定

建模 10 d 后，对正常组大鼠和模型组大鼠进行观察，结果发现正常组大鼠毛色光滑、精神状态良好、体重持续增加，模型组大鼠则毛色无光泽、精神萎靡不振、出现腹泻导致体重降低，以及出现眼鼻部血性分泌物、尾部溃烂等现象。

大鼠尿液蛋白结果如表 1 所示，与正常组比较，模型组尿量明显增加 ($P < 0.05$)；尿蛋白显著高于正常组 ($P < 0.05$)，且 NS1、NS2 组 24 h 尿蛋白 $> 100 \text{ mg}$ ，提示 NS 模型造模成功。

2.3 药代动力学分析

正常与 NS 模型大鼠口服给予黄蜀葵花直服饮片及传统饮片后金丝桃苷的药代动力学参数见表 2。与黄蜀葵花传统饮片比较，直服饮片在正常组大鼠体内 T_{max} 显著缩短、 C_{max} 显著升高 ($P < 0.05$)，表明直服饮片在正常生理状态下吸收速度更快，吸收程度更高。直服饮片在模型组大鼠体内的 C_{max} 显著降低 ($P < 0.01$)，表明在 NS 模型状态下，直服饮片的血药浓度峰值显著低于传统饮片。

表1 各组大鼠24 h尿液蛋白 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1. 24 h urine protein of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

指标	正常组	模型组	<i>t</i>	<i>P</i>
尿量 (mL)	6.07 \pm 1.78	11.98 \pm 5.85	2.398	0.03
尿液蛋白 (mg)	85.03 \pm 5.70	499.32 \pm 141.43	-4.961	<0.001

表2 黄蜀葵花粉末及直服饮片中的金丝桃苷在正常组和模型组大鼠体内的药代动力学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 2. Pharmacokinetic parameters of hyperoside from directly taken decoction pieces and traditional decoction pieces of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic. flowers in normal and model groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

参数	正常组		模型组	
	N1	N2	NS1	NS2
AUC _{0-t} (μg·h/L)	10.779 ± 1.249	10.139 ± 1.718	20.530 ± 4.684 ^b	29.430 ± 10.136 ^b
AUC _{0-∞} (μg·h/L)	11.651 ± 1.969	10.635 ± 1.736	22.040 ± 4.300 ^b	31.356 ± 11.518 ^b
T _{max} (h)	0.160 ± 0.002	0.375 ± 0.209 ^c	0.458 ± 0.292 ^b	0.205 ± 0.049
t _{1/2} (h)	3.276 ± 2.032	3.060 ± 1.066	2.989 ± 1.277	2.631 ± 0.848
C _{max} (μg/L)	7.270 ± 0.835	5.730 ± 1.380 ^c	7.660 ± 2.075	13.376 ± 1.859 ^{bd}
MRT _{0-t} (h)	3.165 ± 0.627	2.789 ± 0.188	3.766 ± 0.419 ^a	3.388 ± 0.694
MRT _{0-∞} (h)	4.227 ± 1.744	4.935 ± 2.515	4.494 ± 0.539	3.933 ± 1.043
V/F (L/kg)	1.950 ± 0.909	2.137 ± 0.816	1.029 ± 0.540 ^a	0.655 ± 0.225 ^b
CL/F (L·h/kg)	0.440 ± 0.077	0.484 ± 0.098	0.234 ± 0.043 ^b	0.182 ± 0.076 ^b

注: AUC_{0-t}: 从给药开始到t时刻的药-时曲线下面积; AUC_{0-∞}: 从给药开始到所有原形药物全部消除为止时的曲线下总面积; T_{max}: 达峰时间; t_{1/2}: 半衰期; C_{max}: 峰浓度; MRT_{0-t}: 药物在体内的平均滞留时间, 计算范围是从给药开始到采样时间点结束; MRT_{0-∞}: 药物在体内的平均滞留时间, 计算范围是从给药开始到无限时间(即药物完全从体内清除); V/F: 表观分布容积与生物利用度比值; CL/F: 表观清除率; NS1与N1、NS2与N2比较, ^aP<0.05, ^bP<0.01; N2与N1、NS2与NS1比较, ^cP<0.05, ^dP<0.01。

与空白组比较, 模型组大鼠灌胃黄蜀葵花直服饮片和传统饮片后 AUC_{0-t} 和 AUC_{0-∞} 都极显著升高 ($P<0.01$), 表明 NS 模型状态下的体内系统暴露水平显著增加; V/F 都显著降低 ($P<0.05$ 和 $P<0.01$), 表明 NS 模型状态下的体内分布范围有所减小。CL/F 都极显著降低 ($P<0.01$), 表明 NS 模型状态下的体内清除速率显著减慢。灌胃直服饮片后 T_{max} 极显著延长 ($P<0.01$), 表明病理模型状态下直服饮片的吸收速度有所减慢, 平均滞留时间 MRT_{0-t} 显著延长 ($P<0.05$), 表明病理模型状态下直服饮片在体内的作用时间有所延长。灌胃传统饮片后 C_{max} 极显著升高 ($P<0.01$), 表明病理模型状态下传统饮片的吸收程度显著增加, 血药浓度峰值大幅上升。

2.4 药时曲线

正常与 NS 模型鼠口服给予黄蜀葵花直服饮

片/传统饮片后金丝桃苷的药时曲线见图 2, 但模型组大鼠的状态对黄蜀葵花直服饮片和传统饮片产生了不同程度的影响。黄蜀葵花直服饮片和传统饮片在正常组大鼠中均出现了双峰吸收现象, 进一步提示 NS 模型影响机体的吸收; 黄蜀葵花直服饮片在正常组大鼠体内 0.16 h 迅速到达第 1 个血药浓度高峰, 0.75 h 到达第 2 个高峰; 黄蜀葵花直服饮片在正常组大鼠体内 0.25 h 迅速到达第 1 个血药浓度高峰, 1 h 到达第 2 个高峰; 黄蜀葵花传统饮片在正常组大鼠体内 0.16 h 迅速到达第 1 个血药浓度高峰, 0.75 h 到达第 2 个高峰; 黄蜀葵花传统饮片在正常组大鼠体内 0.25 h 迅速到达血药浓度高峰; 与正常组相比, 模型状态下黄蜀葵花直服饮片和传统饮片的首吸收峰 T_{max} 延迟、次吸收峰出现时间延后, 提示病理状态可能延缓了饮片的早期溶出与吸收进程。

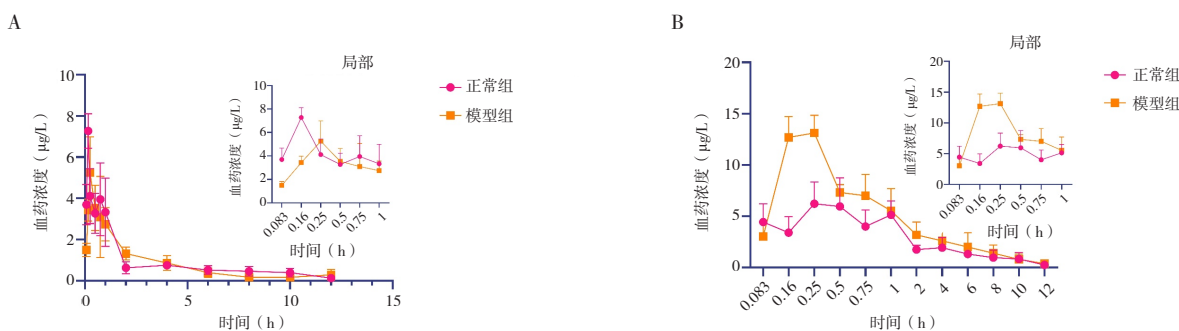


图2 黄蜀葵花直服饮片及传统饮片中的金丝桃苷在正常和模型大鼠体内的血药浓度-时间曲线

Figure 2. Blood concentration-time curve of hyperoside from directly taken decoction pieces and traditional decoction pieces of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic. flowers in normal and model rats

注: A. 黄蜀葵花直服饮片; B. 黄蜀葵花传统饮片。

3 讨论

目前临床治疗 NS 以糖皮质激素为一线药物, 根据患者的不同症状辅以血管紧张素转换酶抑制剂、利尿、降脂类药物, 然而长期服用激素类药物易出现并发症及副作用, 对患者的身心健康和生​​活带来压力。研究发现黄蜀葵花及其制剂黄蜀葵胶囊对 NS 疾病表现出较好的疗效^[15]。

已有研究发​​现金丝桃苷通过激活 AMP 活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/unc-51 样自噬激活激酶 1 (AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin/unc-51 like autophagy activating kinase 1, AMPK/mTOR/ULK1) 通路促进肾细胞自噬活性, 减轻 NS 大鼠的足细胞损伤等肾病变^[10]; 对内毒素所致的小鼠急性肾损伤也具有一定的保护作用^[16]; 降低胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate 1, IRS-1) 磷酸化水平, 激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 通路, 减轻糖尿病肾病大鼠肾组织病理损伤^[8]。因此, 本研究以金丝桃苷作为检测指标, 比较黄蜀葵花直服饮片与黄蜀葵花粉末在正常大鼠与 NS 大鼠体内药代动力学差异。

已有研究建立了测定黄蜀葵花中 7 种黄酮类成分含量的方法^[17]; 本研究建立了采用 HPLC-QqQ/MS 测定金丝桃苷在大鼠血浆中血药浓度的分析方法, 并对比分析了金丝桃苷在正常和 NS 大鼠体内的药代动力学特征。药代动力学参数表明, 黄蜀葵花直服饮片正常状态下吸收更快、达峰更早; 在 NS 病理状态下血药浓度峰值更低、波动更小, 在保证有效暴露的同时安全性更优; 且药代变化规律稳定、可预测性更强, 更利于临床给药方案的精准调整。此外病理模型可显著改变药物体内药代特征, 两种饮片均表现为 AUC 显著升高、CL/F 与 V/F 显著降低, 提示模型状态可能通过降低肾脏清除能力、改变血浆蛋白结合及影响胃肠道吸收功能, 导致药物体内暴露增加、分布减少、清除减慢。两种饮片消除半衰期无明显差异, 提示其核心消除通路未受模型显著影响。药时曲线进一步提示, 正常与 NS 模型大鼠口服黄蜀葵花直服饮片与传统饮片后, 病理状态对两种饮片的体内吸收行为产生了明显差异。黄蜀葵花直服饮片

与传统饮片在正常大鼠体内均呈现双峰吸收特征, 提示金丝桃苷在体内可能存在肝-肠循环过程; 此外模型状态下黄蜀葵花直服饮片和传统饮片的首吸收峰达峰时间延迟、次吸收峰出现时间延后, 提示病理状态可能延缓了饮片的早期溶出与吸收进程。综合可见, 黄蜀葵花直服饮片具有正常状态下吸收更快、达峰更早; NS 模型状态下血药峰值更低、波动更小, 安全性优于传统饮片, 更适合临床持续给药, 为其临床合理应用提供了可靠的药代动力学依据。

综上所述, 黄蜀葵花直服饮片与黄蜀葵花粉末代谢趋势一致, 但吸收程度、吸收、代谢的快慢以及在体内的滞留时间上表现出不同差异; 黄蜀葵花直服饮片总体评价优于黄蜀葵花粉末, 为临床用药指导提供一定参考; 其次, 正常组与模型组在吸收和代谢中也表现出了差异, 推测可能因为病理状态下体内环境改变进而导致吸收和代谢过程发生变化。

参考文献

- 1 Verma PR, Patil P. Nephrotic syndrome: a review[J]. *Cureus*, 2024, 16(2): e53923. <https://pdfs.semanticscholar.org/85bd/15a9e5d3ceafc7a5a92a154796834986f4a8.pdf>.
- 2 耿海云, 陈朝英, 涂娟, 等. 不同方案泼尼松治疗儿童原发性肾病综合征的疗效及复发危险因素分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2022, 24(8): 853-857. [Geng HY, Chen CY, Tu J, et al. Clinical effect of different prednisone regimens in the treatment of children with primary nephrotic syndrome and risk factors for recurrence[J]. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*, 2022, 24(8): 853-857.] DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2203029.
- 3 Tecile Prince Andolino M, Jessica Reid-Adam M. Nephrotic Syndrome[J]. *Pediatr Rev*, 2015, 3(36): 117-126. <https://scholars.mssm.edu/en/publications/nephrotic-syndrome-3/>.
- 4 刘春莹, 陈磊鑫, 尚乘, 等. 儿童激素依赖和频发复发性肾病综合征中西医结合治疗思路探析[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2023, 24(4): 352-354. [Liu CY, Chen LX, Shang C, et al. Exploring integrated traditional and western medical approaches for treating hormone-dependent and frequently relapsing nephrotic syndrome in children[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology*, 2023, 24(4): 352-354.] DOI: 10.3969/j.issn.1009-587X.2023.04.021k.
- 5 王玉, 曹东维, 万毅刚, 等. 基于 IRS1/PI3K/Akt 通路探究黄蜀葵花总黄酮改善糖尿病肾脏疾病胰岛素抵抗和足细胞转分化的作用和机制[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(10): 2646-2656. [Wang Y, Cao DW, Wan YG, et al. Effects and mechanisms of total flavones of *Abelmoschus manihot* in improving insulin resistance and podocyte epithelial-mesenchymal transition in diabetic kidney disease based on IRS1/PI3K/Akt pathway[J]. *China*

- Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(10): 2646–2656.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20221111.703](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20221111.703).
- 6 刘锋, 周广宇. 黄蜀葵花对慢性肾小球肾炎患者尿生化指标的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(3): 293–294. [Liu F, Zhou GY. *Abelmoschus manihot*'s effect on urine biochemical parameter in patients with chronic glomerulonephritis[J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2011, 27(3): 293–294.] DOI: [10.14148/j.issn.1672-0482.2011.03.011](https://doi.org/10.14148/j.issn.1672-0482.2011.03.011).
 - 7 陈佳鑫, 房其军, 万毅刚, 等. 黄蜀葵花总黄酮抑制糖尿病肾脏疾病足细胞坏死性凋亡和肾脏纤维化的作用和机制[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(15): 4137–4146. [Chen JX, Fang QJ, Wan YG, et al. Effects and mechanisms of total flavones of *Abelmoschus manihot* in inhibiting podocyte necroptosis and renal fibrosis in diabetic kidney disease[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(15): 4137–4146.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20230417.701](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20230417.701).
 - 8 张元丽, 王素利, 张宇, 等. 金丝桃苷调控胰岛素受体底物 1/磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路对糖尿病肾病大鼠肾组织损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(2): 241–245. [Zhang YL, Wang SL, Zhang Y, et al. Protective effect of hyperoside on renal tissue damage in rats with diabetic nephropathy by regulating the insulin receptor substrate 1/phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2023, 39(2): 241–245.] DOI: [10.13699/j.cnki.1001-6821.2023.02.019](https://doi.org/10.13699/j.cnki.1001-6821.2023.02.019).
 - 9 巩春智. 金丝桃苷对脂多糖所致小鼠急性肾损伤的保护作用及其机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2019. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10422-1019113653.htm>.
 - 10 孔露娇, 王心, 刘静, 等. 金丝桃苷通过 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路对肾病综合征大鼠自噬反应的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(11): 88–95. [Kong LJ, Wang X, Liu J, et al. Influence of hyperoside on autophagy in rats with nephrotic syndrome through AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2023, 33(11): 88–95.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-7856.2023.11.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-7856.2023.11.012).
 - 11 杨艳君, 邹俊波, 张小飞, 等. 超微粉碎技术在中药领域的研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5887–5891. [Yang YJ, Zou JB, Zhang XF, et al. Research progress on superfine grinding technique in field of Chinese materiamedica[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(23): 5887–5891.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.033](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.033).
 - 12 马晓雯, 范胜楠, 许在平, 等. 当归芍药散对肾病综合征大鼠水肿的改善作用及机制[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(6): 1172–1178. [Ma XW, Fan SN, Xu ZF, et al. Study on improvement effect of Danggui Shaoyao San on edema in rats with nephrotic syndrome and its mechanism[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2024, 40(6): 1172–1178.] DOI: [10.12360/CPB20231009](https://doi.org/10.12360/CPB20231009).
 - 13 魏世超, 徐丽君, 邹欣, 等. 比较研究黄连粉末及煎煮液中小檗碱、药根碱在 2 型糖尿病大鼠药动学特征[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(8): 698–702. [Wei SC, Xu LJ, Zou X, et al. Pharmacokinetics of berberine and jateorrhizine from *Rhizoma coptidis* powder and decoction in diabetic rats[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2015, 35(8): 698–702.] DOI: [10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacy.2015.08.08](https://doi.org/10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacy.2015.08.08).
 - 14 中国药典 2025 年版. 四部[S]. 2025: 363–387.
 - 15 赵沛东, 翟文生. 肾病综合征国内外指南或共识治疗方案分析[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(1): 108–116. [Zhao PD, Zhai WS. Analysis of domestic and international guidelines or consensus treatment plans for nephrotic syndrome[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2025, 43(1): 108–116.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2025.01.020](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2025.01.020).
 - 16 白鑫宇, 杨晓峰, 赵叶利, 等. 金丝桃苷对内毒素(LPS)诱导的小鼠急性肾损伤的保护作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(10): 799–803. [Bai XY, Yang XF, Zhao YL, et al. Protective effects of hyperoside on endotoxin (LPS)-induced acute kidney injury in mice[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2014, 31(10): 799–803.] DOI: [10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2014.10.009](https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2014.10.009).
 - 17 刘燕, 张清华, 郭小藤, 等. HPLC 法测定黄蜀葵花中 7 种黄酮类成分的含量[J]. 中国药师, 2021, 24(7): 373–376. [Liu Y, Zhang QH, Guo XT, et al. Determination of seven flavonoids in flowers of *Abelmoschus manihot* by HPLC[J]. China Pharmacist, 2021, 24(7): 373–376.] DOI: [10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.07.034](https://doi.org/10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.07.034).
- 收稿日期: 2025 年 04 月 20 日 修回日期: 2025 年 11 月 10 日
本文编辑: 马琳璐 钟巧妮