

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.24.008

大鼠排泄物中 ZCY - 15 排泄特征分析*

陆嘉君, 陈冰, 林城江[△]

(上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海 200025)

摘要:目的 建立测定大鼠排泄物中 ZCY - 15 质量浓度的超高效液相色谱串联质谱(UPLC - MS/MS)法,并分析 ZCY - 15 在大鼠体内的排泄特征。方法 取 SD 大鼠 18 只,随机分为胆汁组、尿液组、粪便组,各 6 只,雌雄各半,均灌胃 2.25 mg/kg ZCY - 15,分别于给药后 0~2 h、2~4 h、4~6 h、6~8 h、8~12 h、12~24 h、24~36 h、36~48 h、48~72 h 收集排泄物。色谱柱为 Acquity UPLC BEH C₁₈ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm),流动相为甲醇 - 0.1% 甲酸水溶液(梯度洗脱),流速为 0.25 mL/min,柱温为 50 °C,进样量为 5 μL;采用电喷雾离子源(ESI),多反应监测(MRM)模式进行定量分析,正离子模式下检测,以卡利拉嗪为内标。结果 排泄物中 ZCY - 15 质量浓度在 1~200 ng/mL 范围内与峰面积线性关系良好($R^2 \geq 0.992$);准确度、精密度、提取回收率、基质效应、稳定性试验结果的 RSD 均在 ±15% 内。大鼠体内 ZCY - 15 经胆汁排泄率仅为(0.000 2 ± 0.000 09)%,经粪便排泄率为(0.99 ± 0.57)%,尿液中未检出 ZCY - 15 原形药物。结论 该研究中建立的方法灵敏、准确、快捷,可用于大鼠排泄物中 ZCY - 15 质量浓度的测定。仅少量 ZCY - 15 以原形药物经粪便排泄,其余主要以代谢产物的形式排出体外。

关键词: ZCY - 15; 大鼠; 超高效液相色谱串联质谱法; 排泄特征

中图分类号: R971; R965

文献标志码: A

文章编号: 1006 - 4931(2022)24 - 0033 - 06

Excretion Characteristics of ZCY - 15 in the Excreta of Rats

LU Jiajun, CHEN Bing, LIN Chengjiang

(Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China 200025)

Abstract: Objective To establish an ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the determination of the mass concentration of ZCY - 15 in the excreta of rats, and to analyze the excretion characteristics of ZCY - 15 in rats. **Methods** Eighteen SD rats were selected and randomly divided into the bile group, the urine group and the feces group, with six rats (half male and half female) in each group. The rats were given ZCY - 15 (2.25 mg/kg) by gavage, and the excreta was collected at 0-2 h, 2-4 h, 4-6 h, 6-8 h, 8-12 h, 12-24 h, 24-36 h, 36-48 h, 48-72 h after the administration. The chromatographic column was Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), the mobile phase was methanol - 0.1% formic acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 0.25 mL/min, the column temperature was 50 °C, and the injection volume was 5 μL. The positive ion detection was adopted with electron spray ionization (ESI) and multiple reaction monitoring (MRM) mode for quantitative analysis, with cariprazine as the internal standard (IS). **Results** The linear range of ZCY - 15 in the excreta was 1-200 ng/mL ($R^2 \geq 0.992$). The RSDs of accuracy test, precision test, extraction recovery rate, matrix effect and stability test were all within ±15%. The biliary excretion rate of ZCY - 15 in rats was only (0.000 2 ± 0.000 09)%, and the fecal excretion rate of ZCY - 15 was (0.99 ± 0.57)%. The prototype ZCY - 15 was not detected in the urine. **Conclusion** The method established in this study is sensitive, accurate and rapid, which can be used to determine the mass concentration of ZCY - 15 in the excreta of rats. Only a little of ZCY - 15 is excreted as prototype drug through the feces, and the rest ZCY - 15 is mainly excreted in the form of metabolites.

Key words: ZCY - 15; rats; UPLC - MS/MS; excretion characteristics

阿尔茨海默病(AD)是最常见的痴呆疾病,属进展缓慢的神经退行性疾病^[1],主要病理特征为神经细胞外的β-淀粉样蛋白(Aβ)聚集和细胞内的tau聚集或神经纤维缠结(NFTs)的形成^[2-3]。AD病例^[4]最早于1907年报道,但其发病机制仍未明晰。AD患者的认知功能进行性丧失可能由脑功能紊乱或中毒、感染和循环系统

异常等因素引起,导致大脑供氧减少、营养缺乏及肿瘤发生等^[5-6]。目前,尚无治愈方法,现有方法仅可改善症状^[7-8],治疗药物有乙酰胆碱酯酶抑制剂(AChEIs)^[9](包括多奈哌齐^[10]、加兰他明^[11]和利凡他明^[12])和应用于中重度AD的美金刚^[13]。沈阳药科大学药化教研室参照美金刚及其酰胺类似物的结构设计并

* 基金项目:国家自然科学基金[81973387]。

第一作者:陆嘉君,女,大学本科,主管药师,研究方向为药物代谢动力学,(电子信箱)Ljj04293@rjh.com.cn。

[△]通信作者:林城江,男,博士研究生,主管药师,研究方向为药物代谢动力学和临床药理学,(电子信箱)lcj04304@rjh.com.cn。

合成了系列芳香类美金刚类似物,同时,以AD模型大鼠为研究对象,通过Morris水迷宫试验、Y迷宫试验和新物体辨别等试验验证了ZCY-15[$N-(3,5-二甲基金刚烷-1-基)-N-(3-甲基苯基)脲$]具有显著的抗AD作用,改善学习和记忆能力的效果略优于美金刚,有成药潜力^[14]。目前国内外未见ZCY-15在大鼠体内的排泄研究。本研究中建立了测定大鼠排泄物中ZCY-15浓度的超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法,并分析了ZCY-15在大鼠体内的排泄特征。现报道如下。

1 仪器、试药与动物

1.1 仪器

I-CLASS型超高效液相色谱系统,Xevo TQ-S型三重四极杆质谱仪(美国Waters公司);5810R型全自动高速冷冻离心机,Mix-Mate型涡旋混匀器(德国Eppendorf公司);KS-250N型恒温超声仪(上海柯祁仪器设备有限公司);XP105DR型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.1 mg);MD200-2型氮气吹干仪(上海那艾仪器有限公司);HX2001T型体重秤(慈溪市天东衡器厂)。

1.2 试药

ZCY-15(由沈阳药科大学药物化学教研室提供,含量 $\geq 98.0\%$);卡利拉嗪[内标(IS),中国食品药品检定研究院,含量 $\geq 99.9\%$];醋酸铵(天津市大茂化学试剂厂,含量 $\geq 99.9\%$);甲醇、乙酸乙酯均为色谱纯;乙腈、甲酸均为质谱纯;水为纯净水。

1.3 动物

SD大鼠60只,雌雄各半,7~9周,体质量(220 ± 30)g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限责任公司,实验动物生产许可证号为SCXK(沪)2018-0006,实验动物使用许可证号为SYXK(沪)2019-0027。将同性别SD大鼠每笼4只地安置于空调恒温室进行适应性饲养,室温 $20 \sim 24\text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 $40\% \sim 70\%$,每日光照12 h,自由进食与饮水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件

色谱柱为Acquity UPLC BEH C_{18} 柱($100\text{ mm} \times 2.1\text{ mm}$, $1.7\text{ }\mu\text{m}$);流动相为甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0 min时70%A,1.0~2.5 min时95%A,2.6~4.0 min时70%A);流速为 0.25 mL/min ;柱温为 $50\text{ }^\circ\text{C}$;进样量为 $5\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.1.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),离子源温度为 $150\text{ }^\circ\text{C}$;雾化

气温度为 $350\text{ }^\circ\text{C}$;毛细管离子源电压为 $3\text{ }000\text{ V}$;检测方式为正离子检测;扫描方式为多反应监测(MRM)模式;定量分析的离子反应 m/z 分别为ZCY-15 $313.2 \rightarrow 163.1$,IS: $427.2 \rightarrow 382.0$ 。

2.2 排泄样品预处理

分别精密量取大鼠空白胆汁、尿液样品各 $50\text{ }\mu\text{L}$,称量空白粪便样品 50 mg ,精密称定,分别加水 $200\text{ }\mu\text{L}$,涡旋振荡 5 min ,加乙酸乙酯 $300\text{ }\mu\text{L}$,混匀,涡旋振荡 5 min , $13\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 5 min ,精密量取上清液 $260\text{ }\mu\text{L}$,用氮气吹干,加70%甲醇 $100\text{ }\mu\text{L}$ 复溶,涡旋振荡 5 min , $13\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 5 min ,精密量取上清液 $20\text{ }\mu\text{L}$,置EP管中,加流动相 $180\text{ }\mu\text{L}$,涡旋 15 s ,转移至进样瓶。

2.3 溶液制备

取ZCY-15适量,精密称定,配制成质量浓度为 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的ZCY-15贮备液,用乙腈逐级稀释制成质量浓度分别为 $1, 5, 10, 25, 50, 100, 200\text{ ng/mL}$ 的系列标准溶液和质量浓度分别为 $2, 20, 160\text{ ng/mL}$ 的质量控制溶液。 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待用。

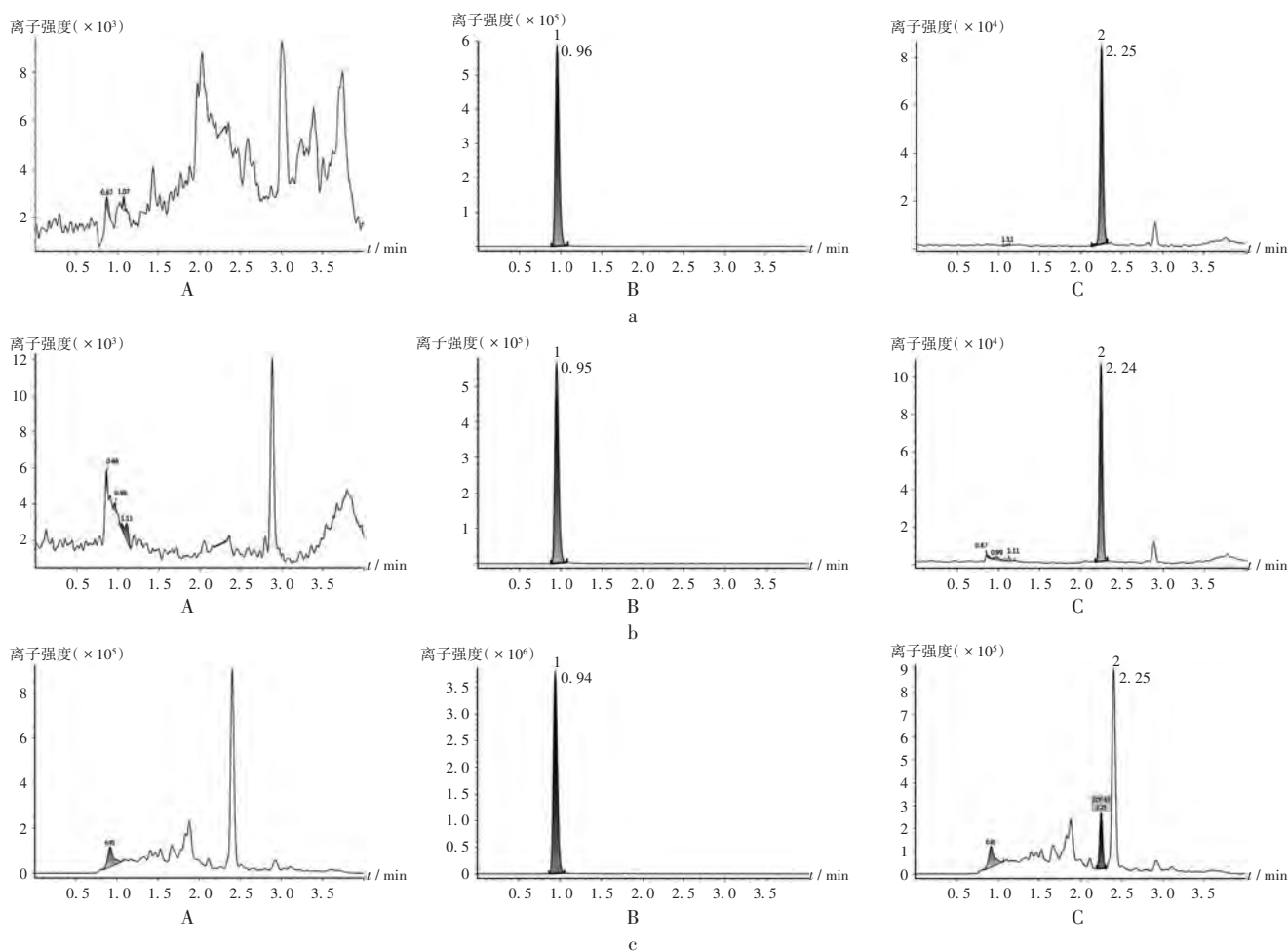
取IS适量,精密称定,配制成质量浓度为 $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的内标贮备液,用甲醇稀释并定容,反复摇匀,得质量浓度为 50 ng/mL 的IS工作液。 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待用。

2.4 方法学考察

专属性试验:ZCY-15为外源性物质,故采用大鼠的空白胆汁、尿液及粪便作为标准曲线基质。取大鼠空白胆汁、尿液、粪便适量;以及分别加入 $5\text{ }\mu\text{L}$ ZCY-15和IS工作液的 $50\text{ }\mu\text{L}$ 大鼠空白胆汁、尿液、粪便匀浆,按2.3项下方法操作,按2.1项下试验条件进样分析,记录质谱图。结果ZCY-15的保留时间为 2.24 min ,内标为 0.95 min 。大鼠的胆汁、尿液及粪便中的内源性成分不会干扰ZCY-15和内标的测定。详见图1。

线性关系考察:精密量取大鼠空白胆汁、尿液、粪便匀浆 $50\text{ }\mu\text{L}$,分别加入ZCY-15系列标准溶液 $5\text{ }\mu\text{L}$,制成质量浓度分别为 $1, 5, 10, 25, 50, 100, 200\text{ ng/mL}$ 的模拟梯度胆汁、尿液、粪便匀浆样品,按2.3项下方法操作,按2.1项下试验条件进样分析,以ZCY-15质量浓度($X, \mu\text{g/mL}$)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,每个质量浓度平行3次,结果见表1。ZCY-15质量浓度在 $1 \sim 200\text{ ng/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

准确度(RE)和精密度试验:取大鼠空白胆汁、尿液、粪便匀浆样品,按2.3项下方法操作,设定定量下限(LLQ)为 1.00 ng/mL ,低、中、高3种质量浓度($2, 20,$



1. 卡利拉嗪 2. ZCY-15
A. 空白样品 B. 空白样品 + IS C. 空白样品 + ZCY-15
a. 空白胆汁 b. 空白尿液 c. 空白粪便
图1 大鼠空白排泄物中ZCY-15和IS超高效液相色谱串联质谱图
1. Cariprazine 2. ZCY-15
A. Blank sample B. Blank sample + IS C. Blank sample + ZCY-15
a. Blank bile b. Blank urine c. Blank feces

Fig. 1 UPLC-MS/MS chromatograms of ZCY-15 and IS in the blank excreta of rats

表1 大鼠排泄物中ZCY-15的标准曲线(n=7)

Tab. 1 Standard curves of ZCY-15 in the excreta of rats (n=7)

排泄物	样品批次	回归方程	R ²
胆汁	1	$Y_1 = 0.147X_1 + 0.00412$	0.9989
	2	$Y_2 = 0.191X_2 - 0.00912$	0.9974
	3	$Y_3 = 0.135X_3 - 0.03170$	0.9921
尿液	1	$Y_4 = 0.191X_4 + 0.00960$	0.9963
	2	$Y_5 = 0.224X_5 - 0.00266$	0.9991
	3	$Y_6 = 0.155X_6 - 0.00478$	0.9979
粪便	1	$Y_7 = 0.0251X_7 - 0.000098$	0.9984
	2	$Y_8 = 0.0299X_8 - 0.0002180$	0.9978
	3	$Y_9 = 0.0303X_9 - 0.0013000$	0.9954

160 ng/mL), ZCY-15 每个质量浓度平行 6 份, 与“线性关系考察项”样本连续 3 d 同时进行测定。根据当日回归方程计算对应的质量浓度, 与实际制备的样品质

量浓度进行比较, 计算得 ZCY-15 的 LLQ 和低、中、高质量浓度的准确度和精密度, 详见表 2。结果准确度和精密度均符合生物样品测定的规定要求。

提取回收率: 取大鼠空白胆汁、尿液、粪便样品, 分别加入 2.2 项下 ZCY-15 低、高质量浓度 (2 ng/mL, 160 ng/mL; 下同) 质控溶液和 IS 工作液各 5 μL, 按 2.3 项下方法操作, 每个质量浓度平行 6 份, 按拟订试验条件进样分析, 记录对应的色谱峰面积。同时, 精密量取大鼠空白胆汁、尿液、粪便匀浆 50 μL, 分别加入低、高质量浓度 ZCY-15 质控溶液和 IS 工作液各 5 μL, 经处理, 每个浓度平行 6 份, 按拟订试验条件进样分析, 记录对应的色谱峰面积, 计算 ZCY-15 的提取回收率, 结果见表 3。可见, 提取回收率符合生物样品测定的规定要求。

表2 大鼠排泄物中ZCY-15精密度试验结果

Tab. 2 Results of the precision test of ZCY-15 in the excreta of rats

排泄物	质量浓度 (ng/mL)	日内精密度(n=6)		排泄物	质量浓度 (ng/mL)	日间精密度(n=18)	
		RSD(%)	RE(%)			RSD(%)	RE(%)
胆汁	1.00	2.14	109.00	胆汁	1.00	3.85	114.10
	2.00	10.07	99.11		2.00	6.85	104.00
	20.00	2.45	104.20		20.00	4.51	102.80
	160.00	7.08	109.20		160.00	5.92	104.90
尿液	1.00	6.94	99.06	尿液	1.00	5.97	105.00
	2.00	11.13	102.40		2.00	7.65	100.50
	20.00	7.88	101.10		20.00	6.09	99.15
	160.00	6.51	99.95		160.00	4.67	97.54
粪便	1.00	4.41	94.76	粪便	1.00	4.84	97.90
	2.00	7.84	94.65		2.00	7.50	99.68
	20.00	3.57	89.90		20.00	5.62	93.25
	160.00	8.19	95.12		160.00	6.71	96.53

表3 大鼠排泄物中ZCY-15的提取回收试验结果(n=6)

Tab. 3 Results of the extraction recovery test of ZCY-15 in the excreta of rats (n=6)

排泄物	质量浓度(ng/mL)	提取回收率(%)	RSD(%)
胆汁	2.00	82.40	8.41
	160.00	89.51	4.20
	2.00	85.12	4.84
尿液	160.00	87.19	7.12
	2.00	88.51	7.01
	160.00	91.02	7.16
粪便	160.00	91.02	7.16

基质效应:精密量取大鼠空白胆汁、尿液、粪便匀浆50 μL,分别加入2.2项下低、高质量浓度ZCY-15质控溶液和IS工作液各5 μL,涡旋10 s,按2.3项下方法操作,每个质量浓度平行6份进样分析,得色谱峰面积。用水代替匀浆,按2.3项下方法操作,每个质量浓度平行6份,按拟订试验条件进样分析,以基质存在下的色谱峰面积(由空白基质提取后加入ZCY-15和IS)与不含基质的色谱峰面积(ZCY-15和IS的纯溶液)比值,计算ZCY-15和IS的基质因子,进一步以ZCY-15基质因子与IS基质因子的比值,计算得内标归一化基质因子。ZCY-15和IS的基质效应见表4。结果表明,基质效应对排泄物匀浆样品的测定无明显影响,符合生物样品测定的规定要求。

稳定性试验:取大鼠空白胆汁、尿液和粪便匀浆样品,分别加入2.2项下低、高质量浓度ZCY-15质控溶液和IS工作液各5 μL,按2.3项下方法操作,每个质量浓度平行3份,按拟订试验条件进样分析,考察样品在室温下放置12 h、3次循环冻融、样品处理后在液相色谱仪自动进样器内放置24 h、-20℃冻存30 d的稳定

表4 大鼠排泄物中ZCY-15的基质效应(n=6)

Tab. 4 Matrix effects of ZCY-15 in the excreta of rats (n=6)

排泄物	质量浓度(ng/mL)	内标归一化基质因子	RSD(%)
胆汁	2.00	0.88	6.09
	160.00	0.87	7.09
尿液	2.00	0.69	8.80
	160.00	0.73	1.75
粪便	2.00	2.69	9.93
	160.00	1.37	8.48

表5 大鼠胆汁匀浆样品中ZCY-15的稳定性试验结果(n=3)

Tab. 5 Results of the stability test of ZCY-15 in bile homogenate samples of rats (n=3)

储存条件	ZCY-15 (ng/mL)	测得量 ($\bar{X} \pm s$, ng/mL)	准确度 RSD(%)	精密度 RSD(%)
室温放置12 h	2.00	2.12 ± 0.35	3.19	7.86
	160.00	168.4 ± 8.49	5.82	10.15
3次循环冻融	2.00	2.54 ± 0.12	-7.25	4.76
	160.00	158.2 ± 10.46	-10.98	5.74
进样器内放置24 h	2.00	2.48 ± 0.41	-8.41	3.85
	160.00	154.4 ± 9.66	-9.27	4.84
-20℃冷冻30 d	2.00	2.33 ± 0.25	-6.07	6.98
	160.00	152.8 ± 11.57	-10.23	7.12

性。结果含ZCY-15的排泄物匀浆样品具有良好的稳定性,符合生物样品测定的规定要求。结果见表5至表7。

稀释效应:取配制好的质量浓度为1 000 ng/mL ZCY-15的排泄物匀浆样品10 μL,再加入90 μL空白排泄物匀浆稀释,涡旋30 s,按2.3项下方法操作,每个质量浓度平行6份,按拟订试验条件进样分析,并与定量为100 ng/mL的实测值进行比较,得出稀释效应。当稀释

表6 大鼠尿液匀浆样品中ZCY-15的稳定性试验结果($n=3$)

Tab. 6 Results of the stability test of ZCY-15 in urine homogenate samples of rats ($n=3$)

储存条件	ZCY-15 (ng/mL)	测得量 ($\bar{X} \pm s$, ng/mL)	准确度 RSD(%)	精密度 RSD(%)
室温放置12 h	2.00	1.96 ± 0.51	4.98	8.49
	160.00	162.4 ± 4.85	6.14	9.75
3次循环冻融	2.00	1.84 ± 0.37	-8.95	7.44
	160.00	154.7 ± 9.76	-11.67	6.85
进样器内放置24 h	2.00	2.18 ± 0.26	-7.34	7.89
	160.00	154.1 ± 10.44	-10.51	9.62
-20℃冷冻30 d	2.00	2.86 ± 0.38	-9.63	10.47
	160.00	150.4 ± 12.51	-8.37	9.56

表7 大鼠粪便匀浆样品中ZCY-15的稳定性试验结果($n=3$)

Tab. 7 Results of the stability test of ZCY-15 in feces homogenate samples of rats ($n=3$)

储存条件	ZCY-15 (ng/mL)	测得量 ($\bar{X} \pm s$, ng/mL)	准确度 RSD(%)	精密度 RSD(%)
室温放置12 h	2.00	2.21 ± 0.42	4.58	9.21
	160.00	164.1 ± 7.89	6.23	11.74
3次循环冻融	2.00	2.35 ± 0.56	-8.94	6.82
	160.00	155.9 ± 9.08	-9.23	7.03
进样器内放置24 h	2.00	2.41 ± 0.31	-8.52	8.21
	160.00	162.7 ± 8.35	-8.71	7.34
-20℃冷冻30 d	2.00	2.22 ± 0.64	-7.25	7.28
	160.00	153.9 ± 10.69	-11.74	9.44

倍数为10倍时,稀释的ZCY-15溶液的精密度的RSD为3.95%~6.48%,准确度为5.24%~10.86%。故超出定量上限的ZCY-15样品可用空白排泄物匀浆稀释后制样检测。

2.5 ZCY-15在大鼠胆汁、尿液和粪便中的排泄特征

分组与排泄样品采集:称量ZCY-154.50 mg,精密称定,置10 mL离心管中,加入100 μ L二甲基亚砷完全溶解,依次加入160 μ L吐温-80、1.4 mL丙二醇、1.6 mL聚氧乙烯蓖麻油-EL,37℃恒温超声(功率2000 W,频率30 kHz,下同)混匀5 min,使化合物完全溶解,并转移至20 mL带塞玻璃试管中;精密加入16.74 mL生理盐水,37℃恒温超声处理5 min混匀,制成质量浓度为0.225 mg/mL的ZCY-15溶液。给药前,大鼠禁食12 h,可自由饮水。随机选取18只SD大鼠(雌雄各半),称定体质量、标记并计算给药量。随机分为胆汁组、尿液组和粪便组,各6只,雌雄各半。胆汁组大鼠以10%水合氯醛麻醉后迅速完成胆管插管,在大鼠清醒后缓慢灌胃ZCY-15(2.25 mg/kg),并于给药后0~2 h、2~4 h、4~6 h、6~

8 h、8~12 h、12~24 h收集胆汁样本;尿液组和粪便组分别于灌胃ZCY-15后0~2 h、2~4 h、4~6 h、6~8 h、8~12 h、12~24 h、24~36 h、36~48 h、48~72 h,收集尿液及粪便样本。收集的样本密封处理,-20℃冻存待用。

实际排泄匀浆样本测定及数据处理:采集大鼠胆汁、尿液和粪便样本,按2.3项下方法操作,按2.1项下试验条件检测,计算ZCY-15的浓度,绘制药物累积排泄量-时间曲线。

灌胃给药后,分别采集不同时间点大鼠的胆汁、尿液和粪便,测定ZCY-15浓度并计算各时间段内不同排泄样本的平均药物累积排泄量。结果所有采集的尿液样本中ZCY-15的浓度均低于LLQ,未能检出;胆汁、粪便样本中ZCY-15的平均药物累积排泄量及占比见表8和表9;胆汁和粪便匀浆中ZCY-15的排泄率分别为(0.0002 ± 0.00009)%和(0.99 ± 0.57)%。胆汁、粪便匀浆中ZCY-15的平均药物累积排泄量-时间曲线见图2。

表8 灌胃给药ZCY-15(2.25 mg/kg)后大鼠胆汁中平均药物累积排泄量及占比($\bar{X} \pm s, n=6$)

Tab. 8 Average cumulative excretions and proportions in bile of rats after the intragastric administration of ZCY-15 (2.25 mg/kg) ($\bar{X} \pm s, n=6$)

时间	胆汁排泄量(ng)	胆汁排泄量占比(%)
0~2 h	9.58 ± 5.16	64.88 ± 13.66
2~4 h	3.92 ± 1.67	26.91 ± 5.26
4~6 h	2.52 ± 1.15	14.72 ± 4.43
6~8 h	0.87 ± 0.12	5.09 ± 0.01
8~12 h	-	-
12~24 h	-	-
24~36 h	-	-
36~48 h	-	-
48~72 h	-	-

注:-为ZCY-15浓度低于LLQ。表9同。

Note:- indicates that the mass concentration of ZCY-15 is lower than the lower limit of quantification (for Tab. 8-9).

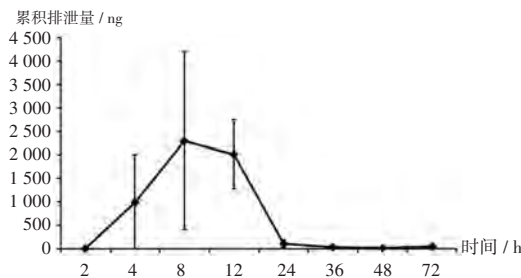
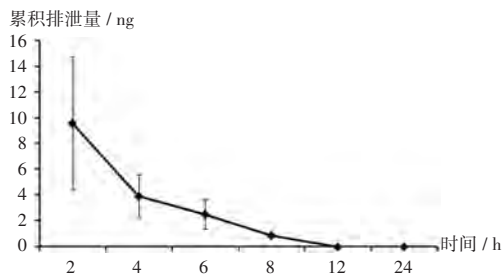
3 讨论

大鼠灌胃给药ZCY-15后,经胆汁排泄的量极少,且呈现时间依赖性,即胆汁匀浆中ZCY-15质量浓度逐渐减少并在给药后约12 h基本排泄结束,排泄率仅为(0.0002 ± 0.00009)%。由此推测,ZCY-15原形药物几乎不经胆汁代谢。收集大鼠口服ZCY-15后不同时间段的尿液样本,均未能检出ZCY-15,表明ZCY-15不能以原形经尿液排泄。根据以往ZCY-15药物代谢动力学研究结果可知,大鼠灌胃给药ZCY-15吸收量较

表9 灌胃给药ZCY-15(2.25 mg/kg)后大鼠粪便中平均药物累积排泄量及占比($\bar{X} \pm s, n = 6$)

Tab.9 Average cumulative excretions and proportions in feces of rats after the intragastric administration of ZCY-15 (2.25 mg/kg) ($\bar{X} \pm s, n = 6$)

时间	粪便排泄量(ng)	粪便排泄量占比(%)
0~2 h	-	-
2~4 h	1 000 ± 998.9	12.00 ± 11.98
4~6 h	-	-
6~8 h	2 296 ± 1 892	52.89 ± 28.68
8~12 h	2 011 ± 727.9	47.86 ± 35.44
12~24 h	111.1 ± 82.81	2.10 ± 0.92
24~36 h	35.51 ± 37.11	0.72 ± 0.64
36~48 h	22.85 ± 28.43	0.44 ± 0.43
48~72 h	43.35 ± 11.66	0.73 ± 0.08



A. 胆汁 B. 粪便

图2 灌胃给药ZCY-15(2.25 mg/kg)后大鼠胆汁、粪便中药物累积排泄量-时间曲线

A. Bile B. Feces

Fig.2 Cumulative excretion - time curves in bile and feces of rats after the intragastric administration of ZCY-15 (2.25 mg/kg) by gavage

低,生物利用度不高,故推测ZCY-15经粪便排泄量较大。给药后0~8 h,粪便中ZCY-15的排泄量逐渐升高,给药后6~8 h达排泄高峰;给药后8~24 h,排泄量逐步下降,给药后24 h排泄基本结束。但是经计算得ZCY-15经粪便排泄率仅为(0.99 ± 0.57)%。可见,ZCY-15通过胆汁、尿液和粪便的整体排泄率较低,主要排泄时间为给药后0~24 h。

综上所述,本研究中建立的UPLC-MS/MS法能

在4 min内准确测定大鼠胆汁、尿液和粪便中ZCY-15的质量浓度,仅少量ZCY-15以原形药物经粪便排泄,其余主要以代谢产物的形式排出体外。

参考文献

- [1] DENG XX, ZHAO SP, LIU XQ, et al. Polygala tenuifolia: a source for anti-Alzheimer's disease drugs [J]. Pharm Biol, 2020, 58(1): 410-416.
- [2] HAMPEL H, VASSAR R, DE STROOPER B, et al. The β -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease [J]. Biol Psychiatry, 2021, 89(8): 745-756.
- [3] ASHRAFIAN H, ZADEH EH, KHAN RH. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 167: 382-394.
- [4] ALZHEIMER A. Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde [J]. Allg Zeitschrift Psychiatr, 1907, 64: 146-148.
- [5] VASEFI M, GHABOOLIAN-ZARE E, ABDELWAHAB H, et al. Environmental toxins and Alzheimer's disease progression [J]. Neurochem Int, 2020, 141: 104852.
- [6] FRÖLICH L. Alzheimer's disease - the 'microbial hypothesis' from a clinical and neuroimaging perspective [J]. Psychiatry Res Neuroimaging, 2020, 306: 111181.
- [7] YIANNPOULOU KG, PAPAGEORGIU SG. Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update [J]. J Cent Nerv Syst Dis, 2020, 12: 1179573520907397.
- [8] LIVINGSTON G, HUNTLEY J, SOMMERLAD A, et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission [J]. Lancet, 2020, 396(10248): 413-446.
- [9] SINGH M, KAUR M, KUKREJA H, et al. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection [J]. Eur J Med Chem, 2013, 70: 165-188.
- [10] HWANG YT, ROCCHI L, HAMMOND P, et al. Effect of donepezil on transcranial magnetic stimulation parameters in Alzheimer's disease [J]. Alzheimers Dement (N Y), 2018, 4: 103-107.
- [11] MARQUES LA, MAADA I, KANTER FJ, et al. Stability-indicating study of the anti-Alzheimer's drug galantamine hydrobromide [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 55(1): 85-92.
- [12] EHRET MJ, CHAMBERLIN KW. Current Practices in the Treatment of Alzheimer Disease: Where is the Evidence After the Phase III Trials [J]. Clin Ther, 2015, 37(8): 1604-1616.
- [13] AGATONOVIC-KUSTRIN S, KETTLE C, MORTON DW. A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 553-565.
- [14] 王绍杰. N-(3,5-二甲基金刚烷-1-基)-N'-取代苯基脲类化合物及其制备方法和用途: CN, 107417578B [P]. 2020-02-07.

(收稿日期: 2021-12-10; 修回日期: 2022-06-15)