

· 药物动力学研究 ·

知母皂苷 B-II 在比格犬体内的药代动力学研究

蔡 飞^{1,2}, 朱宏辉³, 孙 亮², 高守红², 王维泓¹, 陈万生² (1. 广州军区机关门诊部药械科, 广东 广州 510080; 2. 第二军医大学附属长征医院药学部, 上海 200003; 3. 南方医科大学附属南方医院介入科, 广东 广州 510515)

摘要: **目的** 建立比格犬血浆中知母皂苷 B-II 的 LC-MS/MS 测定方法, 并应用于知母皂苷 B-II 的药代动力学研究。**方法** 液相色谱分离采用 ODS 柱(150 mm × 2.1 mm, 5 μm), 以乙腈-0.05 % 甲酸溶液(35 : 65)为流动相, 质谱检测采用 ESI 离子源, MRM 负离子模式。将 6 只比格犬随机分成 2 组, 单剂量交叉静注或口服知母皂苷 B-II, 剂量分别为 2, 30 mg·kg⁻¹, 定时采集血样, 测定比格犬体内的血药浓度, 并计算药代动力学参数。**结果** 比格犬静注和口服知母皂苷 B-II 后的主要药代动力学参数如下: $C_{\max}$ 分别为 (21507±7307)、(313±149) ng·mL⁻¹; AUC_{0-4} 分别为 (19177±5692)、(1879±738) ng·h·mL⁻¹; $AUC_{0-\infty}$ 分别为 (19770±5879)、(2153±695) ng·h·mL⁻¹; $t_{1/2}$ 分别为 (7.81±2.61)、(6.01±5.28) h; MRT_{0-4} 分别为 (2.89±0.39)、(6.27±1.80) h; $MRT_{0-\infty}$ 分别为 (3.88±0.39)、(8.59±3.18) h。**结论** 该法可用于比格犬血浆中知母皂苷 B-II 的检测及其体内药代动力学研究, 比格犬口服知母皂苷 B-II 后的绝对生物利用度为 (0.72±0.29) %。

关键词: 知母皂苷 B-II; 药物动力学; 生物利用度; 液相色谱-串联质谱法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0066-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.018

Pharmacokinetic Study of Timosaponin B-II in Beagle Dogs

CAI Fei^{1,2}, ZHU Honghui³, SUN Liang², GAO Shouhong², WANG Weihong¹, CHEN Wansheng² (1. Department of Pharmacy, Command Outpatient Clinics for Guangzhou Military District of PLA, Guangzhou 510080 Guangdong, China; 2. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital Affiliated to the Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 3. Department of Interventional Radiology, Nanfang Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou 510515 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To develop a LC-MS/MS method for the determination of timosaponin B-II and to apply for its pharmacokinetic study. **Methods** The analytes were separated on an ODS column(150 mm×2.1 mm, 5 μm) with the mobile phase of acetonitrile-0.05 % formic acid(35 : 65) and detected by electrospray ionization mass spectrometry in the negative multiple reaction monitoring(MRM) mode. Six beagle dogs were randomized into two groups by crossover design. The animals were given intravenous administration of 2 mg·kg⁻¹ or oral use of 30 mg·kg⁻¹ of timosaponin B-II, respectively. The concentration of timosaponin B-II was determined after collection of the dog plasma, and then the main pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** The parameters in intravenous *vs* oral administration were as follows: $C_{\max}$ being(21507±7307) ng·mL⁻¹ *vs* (313±149) ng·mL⁻¹, AUC_{0-4} being(19177±5692) ng·h·mL⁻¹ *vs* (1879±738) ng·h·mL⁻¹, $AUC_{0-\infty}$ being(19770±5879) ng·h·mL⁻¹ *vs* (2153±695) ng·h·mL⁻¹, $t_{1/2}$ being (7.81±2.61) h *vs* (6.01±5.28) h, MRT_{0-4} being(2.89±0.39) h *vs* (6.27±1.80) h, and $MRT_{0-\infty}$ being(3.88±0.39) h *vs* (8.59±3.18) h. **Conclusion** The method has been successfully applied to determine the concentration of timosaponin B-II and assess the pharmacokinetics in beagle dogs, with the absolute bioavailability being(0.72±0.29) % after oral administration.

Keywords: Timosaponin B-II; Pharmacokinetics; Bioavailability; LC-MS/MS

收稿日期: 2012-09-08

作者简介: 蔡飞, 男, 博士, 主管药师, 研究方向: 中药药代动力学及配伍机制研究。Email: caifei_888@163.com。通讯作者: 陈万生, 教授, 博士生导师, 主要从事中药配伍机制、药物相互作用及天然产物的生物合成与调控研究。Email: chenwanshengsmmu@yahoo.com.cn。

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎。知母皂苷 B-II 是知母主要的活性成分,《中国药典》将其作为知母质量控制的指标性成分^[1]。药理研究表明,知母皂苷 B-II 及其苷元具有广泛的药理活性^[2],能够清除氧自由基^[3]、抗炎^[4]、抗血小板聚集^[5]、抗脑缺血损伤^[6]及改善学习和记忆障碍^[7]。知母皂苷 B-II 在比格犬体内的药代动力学研究尚未见报道。本研究建立了犬血浆中知母皂苷 B-II 含量的 LC-MS/MS 测定方法,测定比格犬静脉注射和口服知母皂苷 B-II 后不同时间的血药浓度,计算有关药代动力学参数,为知母皂苷 B-II 在体内的吸收和代谢研究积累基础研究资料。

1 材料与方法

1.1 仪器 安捷伦 1200 系列 HPLC 系统(美国 Agilent 公司),包括 G1311A 四元泵、G1322A 真空脱气机、G1329A 自动进样器和 G1316A 柱温箱;安捷伦 6410A 三重四级杆串联质谱仪(美国 Agilent 公司),配备 ESI 离子源,使用 MassHunter 软件控制及数据处理系统;BP211D 十万分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司);UNIVERSAL 32R 台式冷冻离心机(德国 Hettich 公司);VX200 涡旋振荡器(美国 Labnet 公司)。

1.2 药品与试剂 知母皂苷 B-II 由本实验室从知母中提取,经 HPLC-ELSD 峰面积归一化法检查,对照品纯度在 98 % 以上,受试品纯度在 90 % 以上;内标人参皂苷 Re(ginsenoside Re),中国药品生物制品检定所,纯度在 99 % 以上;乙腈为色谱级,德国 Merck 公司;甲酸为色谱级,美国 Tedia 公司;水为 Milli-Q 处理的纯净水;其他试剂均为分析纯。

1.3 动物 雄性健康比格犬,上海斯莱克实验动物有限责任公司,普通级,体质量 11~13 kg,标准饲料喂养,实验前禁食 12 h,自由饮水。

1.4 对照品及内标溶液的配制 精密称取知母皂苷 B-II 对照品适量,置于 10 mL 容量瓶中,加乙腈-水(80:20, V/V)溶解并稀释至刻度,制得浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的储备液;精密称取人参皂苷 Re 对照品适量,置于 25 mL 容量瓶中,以相同的溶剂溶解并稀释至刻度,制得浓度为 200 μg·mL⁻¹ 的储备液。精密移取知母皂苷 B-II 储备液适量,以乙腈-水(50:50, V/V)配成浓度为 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 300 μg·mL⁻¹ 的

工作溶液。将上述知母皂苷 B-II 系列工作溶液用空白血浆进行 1:20 稀释得到血浆标准曲线浓度为 5, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000, 15000 ng·mL⁻¹。质控样品同法稀释配制,浓度为 15, 500, 12000 ng·mL⁻¹。

1.5 色谱条件 色谱柱为 DIKMA Inertsil ODS-3 柱(150 mm×2.1 mm, 5 μm),采用 DIKMA C₁₈ 保护柱(10 mm×2.1 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(35:65, V/V),其中水相含 0.05 % 甲酸;流速为 0.25 mL·min⁻¹;柱温为 25 °C;进样体积为 10 μL;每个样品的分析周期为 3.0 min。

1.6 质谱条件 采用 ESI 离子源、多反应监测(MRM)负离子模式。雾化气与干燥气均为氮气;碰撞气为高纯氮气,压力为 0.1 MPa;雾化压力为 40 psi;干燥气温度为 350 °C,流速为 10 L·min⁻¹;毛细管电压为 4000 V。知母皂苷 B-II 和人参皂苷 Re 的 MRM 参数为:知母皂苷 B-II, m/z 919.5→757.4, 人参皂苷 Re, m/z 945.6→475.4, 最优 Fragmentor 电压均为 300 V, 最优碰撞能量分别为 53 eV 和 51 eV。

1.7 血浆样品处理 采用蛋白沉淀法对血浆样品进行前处理。100 μL 血浆置于 1.5 mL 塑料离心管内,准确加入 200 μL 含内标人参皂苷 Re(150 ng·mL⁻¹)的乙腈溶液进行蛋白沉淀,涡旋 2 min, 10000 r·min⁻¹ 高速离心 10 min, 移取离心后的上清液 150 μL, 加入 300 μL 水, 涡旋混匀 30 s, 样品溶液转移至 1.5 mL 进样小瓶进行 LC-MS/MS 分析。浓度超出定量上限的样品用空白血浆稀释 3 倍后进行处理。

1.8 专属性 将 6 个不同个体的空白血浆及标准添加血浆(5 ng·mL⁻¹)按照上述方法处理后进行 LC-MS/MS 分析,比较不同空白血浆和标准添加血浆的色谱图。观察在待测组分和内标的出峰位置,空白血浆中的内源性成分是否存在干扰。

1.9 线性范围和定量下限 以峰面积的比值 Y(知母皂苷 B-II/人参皂苷 Re)为纵坐标,血药浓度的比值 X(知母皂苷 B-II/人参皂苷 Re)为横坐标,采用 1/x² 加权最小二乘法进行线性回归,日内完成 5 条标准曲线的测定。定量下限是标准曲线上的最低浓度点,其响应值应为空白生物基质响应值的 5 倍以上,且精密度的相对标准偏差(RSD)应≤20 %,准确度的相对偏差(RE)应在±20 % 范围内。

1.10 基质效应和提取回收率 考察知母皂苷 B-II 在低、中、高 3 个质控浓度(15, 500, 12000 ng·mL⁻¹)下基质效应的影响, 以及该条件下的血浆提取回收率^[8]。配制知母皂苷 B-II 的血浆样品, 按照样品前处理操作后测定响应值(样品 1); 将 5 份不同来源的空白血浆蛋白沉淀后添加知母皂苷 B-II 测定响应值(样品 2); 用流动相配制相应浓度不含基质的纯样品溶液测定响应值(样品 3)。绝对基质效应的计算值为样品 2 与样品 3 的色谱峰面积比; 提取回收率的计算值为样品 1 与样品 2 的色谱峰面积比。同时考察内标人参皂苷 Re 在 150 ng·mL⁻¹ 时的基质效应和提取回收率。

1.11 精密度和准确度 采用 3 个不同分析日的数据对测定方法的精密度和准确度进行验证, 低、中、高 3 个质控浓度的标准血浆样品在每个分析日内进行 5 次测定, 求算每个分析日的日内精密度和准确度, 以及 3 批共 15 个数据的日间精密度和准确度。并在样品测定的不同批次中, 加入质控样品进行方法学质控。

1.12 稳定性 对分析样品的稳定性进行考察, 包括 3 次冻融循环后的稳定性, 室温下(25 ℃)放置 4 h 的短期稳定性, -20 ℃冷冻条件下保存 2 周的长期稳定性, 以及样品处理后在室温下置于自动进样器中 12 h 的稳定性。将浓度为 15, 500, 12000 ng·mL⁻¹ 的标准血浆样品在上述条件下保存后, 测得的样品浓度与新配制相应浓度的质控样品进行比较, 以相对偏差(RE)表示。

1.13 药代动力学研究 采用双周期交叉实验设计, 将 6 只比格犬随机分成 2 组: 一组静脉注射给予知母

皂苷 B-II 生理盐水溶液 2 mg·kg⁻¹; 另一组灌胃给予知母皂苷 B-II 生理盐水溶液 30 mg·kg⁻¹。两种给药方式间隔 1 周。于静注给药前及给药后 2, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h 前肢静脉采血约 1 mL; 于口服给药前及给药后 5, 10, 15, 30, 45 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 采血约 1 mL, 血液样品肝素抗凝, 4000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后取血浆, 于 -20 ℃保存待测。

1.14 数据分析 采用 DAS2.0 数据处理软件(中国药理学学会数学药理学专业委员会)的非房室模型法进行药代动力学参数 T_{max} 、 C_{max} 、AUC、 $t_{1/2}$ 、MRT 等的计算。知母皂苷 B-II 的口服生物利用度以下列公式计算。

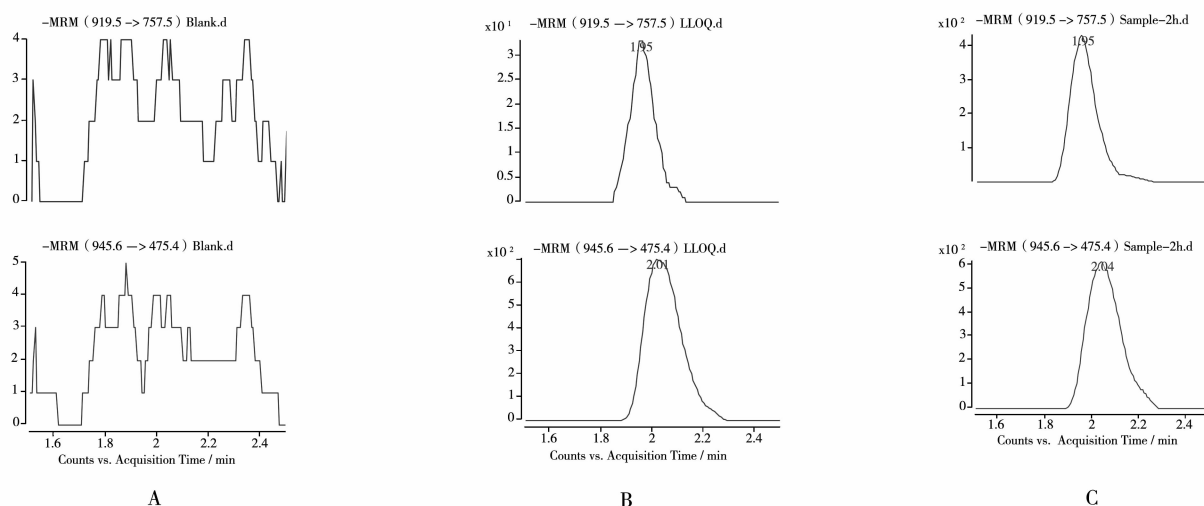
$$\text{Bioavailability}(F/\%) = \frac{\text{AUC}_{0-\infty}(\text{p.o.}) \times \text{Dose}(\text{i.v.})}{\text{AUC}_{0-\infty}(\text{i.v.}) \times \text{Dose}(\text{p.o.})} \times 100\%$$

2 结果

2.1 方法专属性 在上述分析条件下, 知母皂苷 B-II 和内标人参皂苷 Re 的保留时间均约为 2.0 min。在待测组分和内标的出峰位置, 空白血浆中的内源性成分对测定不造成干扰, 见图 1。

2.2 线性范围与定量下限 5 条标准曲线在 5~15000 ng·mL⁻¹ 浓度范围内线性关系良好($r > 0.997$), 平均标准曲线为 $Y = 0.00815X + 0.0133$ ($n=5$)。取空白血浆 5 份, 配制成浓度为定量下限的样品进行考察, 结果显示, 信噪比 (S/N) > 10, 5 ng·mL⁻¹ 浓度下精密度的 RSD 为 9.6%, 准确度 RE 为 10.3%。

2.3 基质效应和提取回收率 在 15, 500, 12000 ng·mL⁻¹ 3 个质控浓度下, 知母皂苷 B-II 的绝对基质



A. 空白血浆; B. 空白血浆添加对照品和内标; C. 比格犬口服给药后 2 h 的血浆样品

图1 比格犬血浆中知母皂苷 B-II 与内标的色谱图

Figure 1 Representative chromatograms of timosaponin B-II and internal standard in Beagle dog plasma

效应分别为 69.3 %、75.9 %和 72.4 %，内标人参皂苷 Re 在 150 ng·mL⁻¹ 时的绝对基质效应为 77.4 %。知母皂苷 B-II 的平均提取回收率 ($n=5$) 在 15, 500, 12000 ng·mL⁻¹ 3 个浓度下分别为 88.9 %、92.1 %、90.7 %，人参皂苷 Re 的平均提取回收率在 150 ng·mL⁻¹ 时达到 91.8 %，二者以蛋白沉淀的方法均取得了良好的提取回收率。

2.4 精密度和准确度 日内与日间精密度 RSD 分别为 3.1 %~8.6 %和 5.8 %~7.0 %，日内与日间准确度 RE 分别为 -7.7 %~3.9 %和 0.1 %~7.4 %，表明待测组分在犬血浆中的精密度和准确度均符合生物样品的分析要求，见表 1。

表 1 知母皂苷 B-II 在比格犬血浆中的精密度和准确度($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
Table 1 Precision and accuracy for timosaponin B-II in Beagle dog plasma

理论浓度 /ng·mL ⁻¹	日内				日间			
	测定浓度 /ng·mL ⁻¹	RSD /%	RE /%		测定浓度 /ng·mL ⁻¹	RSD /%	RE /%	
15	15.6 ± 1.3	8.6	3.9		16.1 ± 1.1	6.6	7.4	
500	461.5 ± 23.7	5.1	-7.7		500.5 ± 34.9	7.0	0.1	
12000	11390.4 ± 355.5	3.1	-5.1		12306.1 ± 716.0	5.8	2.6	

2.5 样品稳定性 标准血浆样品冻融稳定性、短期稳定性、长期稳定性及样品前处理后稳定性的结果显示，测定值 RE 均在 ±15 % 范围内，表明待测组分在犬血浆中的稳定性符合生物样品的分析要求。

2.6 药代动力学研究 比格犬分别静注和口服知母皂苷 B-II 后，采用所建立的方法对各时间点血浆样品进行分析，其主要药代动力学参数见表 2，平均血药浓度-时间曲线如图 2。由口服与静注给药后的 AUC_{0-∞} 计算出口服绝对生物利用度 F 值约为 0.72 %，表明知母皂苷 B-II 在比格犬体内的口服吸收差。

表 2 比格犬静注和口服知母皂苷 B-II 后的主要药代动力学参数($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 2 The main pharmacokinetic parameters of timosaponin B-II after intravenous and oral administrations to Beagle dogs

参数	静脉注射(2 mg·kg ⁻¹)	口服(30 mg·kg ⁻¹)
T_{max} /h		5.83±2.71
C_{max} /ng·mL ⁻¹	21507±7307	313±149
AUC ₀₋₄ /ng·h·mL ⁻¹	19177±5692	1879±738
AUC _{0-∞} /ng·h·mL ⁻¹	19770±5879	2153±695
$t_{1/2}$ /h	7.81±2.61	6.01±5.28
MRT ₀₋₄ /h	2.89±0.39	6.27±1.80
MRT _{0-∞} /h	3.88±0.39	8.59±3.18
F /%		0.72±0.29

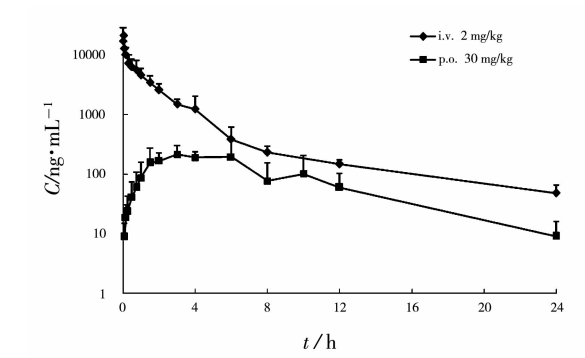


图2 比格犬静注和口服知母皂苷 B-II 后的平均血药浓度-时间曲线图($n=6$)
Figure 2 Mean plasma concentration-time profile of timosaponin B-II in Beagle dogs after intravenous and oral administrations

3 讨论

通过对知母皂苷 B-II 和内标人参皂苷 Re 进行一级质谱全扫描发现，尽管在正离子模式下二者有很强的 $[M+Na]^+$ 峰，但在二级质谱扫描中很难找到稳定的产物离子。在负离子模式下，二者形成的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 分别为 919.5 和 945.6，二级质谱扫描中产物离子显著而且稳定。因此，MRM 负离子模式被用于质谱检测。

对知母皂苷等呋喃甾醇型的皂苷类物质进行 LC-MS 分析时，应避免使用甲醇作为流动相，以防 C-22 位的羟基甲基化而影响测定，因而可以选择酸化的乙腈溶液作为流动相^[9]。为获取对称的色谱峰及良好的离子化效果，对流动相中加入不同浓度的甲酸(0 %、0.02 %、0.05 %、0.1 %、0.5 %) 进行了比较，发现水相中加入 0.05 % 的甲酸最为适宜。人参皂苷 Re 被选作知母皂苷 B-II 的内标是因为二者的化学结构非常相似，而且保留时间、提取回收率及离子裂解规律接近。如此，内标能有效补偿待测组分由于样品前处理、进样体积变化以及基质效应影响所引起的响应信号的改变，从而对知母皂苷 B-II 定量的精密度和可靠性有良好的改善作用。

Matuszewski 等^[8]提出绝对基质效应大于 100 % 说明存在离子增强作用，小于 100 % 则是离子抑制作用，数值在 85 %~115 % 之间基质效应的影响可以被忽略。实验结果表明基质的存在导致对知母皂苷 B-II 和内标有较强的离子抑制，但在低、中、高质控浓度下基质效应的程度基本一致，不随浓度发生变化，且变异程度符合要求；内标的使用并不能消除基质效应的影响，但其很好地跟踪了目标成分在离子源内的变化，减小了绝对基质效应对分析结果造成的偏移。因

此本实验中基质效应的存在不影响分析方法的重现性和准确性。

比格犬静注知母皂苷 B-II 后, $t_{1/2}$ 和 MRT_{0-4} 分别为 7.81, 2.89 h, 我们前期的实验结果显示 SD 大鼠静注知母皂苷 B-II 后, $t_{1/2}$ 和 MRT_{0-4} 分别为 1.63, 0.71 h^[10], 与 SD 大鼠相比, 比格犬给药后二者均显著延长, 表明知母皂苷 B-II 静注给药后在比格犬体内代谢更慢, 驻留时间更长, 并且知母皂苷 B-II 口服给药后情况与之类似^[10-11]。以上结果表明知母皂苷 B-II 在不同种属动物间代谢情况可能存在较大差异。知母皂苷 B-II 在比格犬体内的口服生物利用度仅为 0.72 %, 比 SD 大鼠的 1.1 % 更低^[10], 表明知母皂苷 B-II 在两种动物体内的口服吸收均较差, 其原因可能与首过效应、胃肠道降解及难以透过小肠黏膜层等有关, 将在后续实验中作进一步的研究。

本文根据新药非临床药代动力学的有关原则^[12], 在前期选用啮齿类动物 SD 大鼠的基础上, 再选用另一种非啮齿类动物比格犬作为实验对象, 对知母皂苷 B-II 的药代动力学规律进行了临床前研究, 结果表明其在两种动物体内的口服生物利用度均较低, 因此, 在选择新药剂型和给药方式时应充分考虑此特点。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 197-198.
- [2] 蔡飞, 王维泓, 高守红, 等. 知母皂苷及其苷元的药理作用研究进展[J]. 药学实践杂志, 2011, 29(5): 331-335.
- [3] 邓云, 马百平, 从玉文, 等. 知母皂苷 B-II 对 A β 25-35 诱导的原代大鼠神经细胞损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(2): 244-247.
- [4] Lu WQ, Qiu Y, Li TJ, et al. Timosaponin B-II inhibits pro-inflammatory cytokine induction by lipopolysaccharide in BV2 cells[J]. Arch Pharm Res, 2009, 32(9): 1301-1308.
- [5] Zhang J, Meng Z, Zhang M, et al. Effect of six steroidal saponins isolated from Anemarrhenae rhizoma on platelet aggregation and hemolysis in human blood[J]. Clin Chim Acta, 1999, 289(1-2): 79-88.
- [6] 原源. 知母防治缺血性脑中风的物质基础及品质评价[D]. 上海: 第二军医大学, 2005: 51-107.
- [7] Li TJ, Qiu Y, Yang PY, et al. Timosaponin B-II improves memory and learning dysfunction induced by cerebral ischemia in rats[J]. Neurosci Lett, 2007, 421(2): 147-151.
- [8] Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS[J]. Anal Chem, 2003, 75(13): 3019-3030.
- [9] Kite GC, Porter EA, Simmonds MS. Chromatographic behaviour of steroidal saponins studied by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2007, 1148(2): 177-183.
- [10] Cai F, Sun L, Gao S, et al. A rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the determination of timosaponin B-II in blood plasma and a study of the pharmacokinetics of saponin in the rat[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 48(5): 1411-1416.
- [11] 王莉, 贾彦波, 陈方, 等. HPLC-MS/MS 法测定大鼠血浆中的知母皂苷 B-II[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(8): 1064-1068.
- [12] 《化学药物非临床药代动力学研究技术指导原则》课题研究组. 化学药物非临床药代动力学研究技术指导原则 [EB]. <http://www.sda.gov.cn/gsz05106/15.pdf>.

(编辑: 梁进权)

LC-MS 法测定离体大鼠肝灌流模型中知母皂苷 B2 的含量及药动学研究

尤杰^{1, 2}, 赫蕾², 陈明苍², 季宇彬¹, 潘国宇²(1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江哈尔滨 150076; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: **目的** 建立简单、快速的测定 K-H 缓冲液中知母皂苷 B2 含量的 LC-MS 方法, 检验特定剂量知母皂苷 B2 在大鼠离体肝灌流模型中的肝脏提取率。**方法** 将 SD 大鼠离体肝灌流给予知母皂苷 B2, 取出不同时间点肝灌流液, LC-MS 法测定肝灌流液中知母皂苷 B2 的浓度。色谱条件: ACE C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1 μ m), 流动相为乙腈-0.05 % 甲酸水溶液 (V/V), 采用梯度洗脱。**结果** 知母皂苷 B2 在 0.125 ~ 2 μ g/mL 范围

收稿日期: 2012-10-17

作者简介: 尤杰, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理与药物代谢动力学。Email: staffyujay@hotmail.com。通讯作者: 潘国宇, 研究员, 研究方向: 药物安全评价与药物代谢动力学。Email: gypan@cdser.simm.ac.cn。

基金项目: 国家科技重大专项《重大新药创制》课题(2012ZX09301001-001)。