

- [22] Lin CC, Fan HY, Kuo CW, et al. Evaluation of Chinese-herbal-medicine-induced herb-drug interactions: focusing on organic anion transporter 1 [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 967182.
- [23] Lin SP, Wu PP, Hou YC, et al. Different influences on tacrolimus pharmacokinetics by coadministrations of zhi ke and zhi shi in rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 751671.
- [24] Zhang S, Morris ME. Effects of the flavonoids biochanin A, morin, phloretin, and silymarin on P-glycoprotein-mediated transport [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 304(3): 1258-1267.
- [25] Li C, Lee MY, Choi JS. Effects of silybinin, CYP3A4 and P-glycoprotein inhibitor in vitro, on the bioavailability of loratadine in rats[J]. *Pharmazie*, 2010, 65(7): 510-514.
- [26] Manov I, Bashenko Y, Hirsh M, et al. Involvement of the multidrug resistance P-glycoprotein in acetaminophen-induced toxicity in hepatoma-derived HepG2 and Hep3B cells[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2006, 99(3): 213-224.

(编辑: 梁进权)

天然冰片对甲氨蝶呤透过血肿瘤屏障的影响

郭军洽, 张 荣, 段美美, 邢燕梅(广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 探讨天然冰片对甲氨蝶呤(MTX)透过血肿瘤屏障的影响。方法 采用立体定向技术, 以 C6 胶质瘤细胞建立 C6 脑胶质瘤大鼠模型, 14 d 后, 将模型大鼠随机分为对照组(0.5% 羧甲基纤维素钠), 冰片高、低剂量组 (140, 35 mg·kg⁻¹)。灌胃给药 1 h 后, 3 组大鼠均尾静脉注射 MTX 20 mg·kg⁻¹, 于注射后不同时间点采集血样及脑组织, 高效液相色谱法测定血浆与脑组织中 MTX 的浓度, 并计算主要药动学参数。结果 与对照组比较, 冰片高、低剂量组的血浆中 MTX AUC₀₋₁, AUC_{0-∞} 均显著降低 ($P < 0.01$); 冰片高剂量组脑组织中 MTX AUC₀₋₁, AUC_{0-∞} 显著升高 ($P < 0.05$), 冰片低剂量组脑组织中 MTX AUC₀₋₁, AUC_{0-∞} 亦有升高趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 天然冰片可增加 MTX 在 C6 脑胶质瘤模型大鼠脑组织中的分布, 提高其在脑组织中的生物利用度。

关键词: 天然冰片; 甲氨蝶呤; 血肿瘤屏障; 药物动力学

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2015)01-0073-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.018

Effects of Natural Borneol on Methotrexate Penetrating Across Blood-tumor Barrier

GUO Junqia, ZHANG Rong, DUAN Meimei, XING Yanmei (Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a C6/SD glioma model and to explore the effects of natural borneol on the penetration of methotrexate(MTX) across blood tumor barrier. **Methods** Horseley-Clarke technique was used for the establishment of C6/SD glioma model. Fourteen days after the modeling, the model rats were randomly divided into control group(0.5% sodium carboxymethyl cellulose), low-dose borneol group(35 mg·kg⁻¹ borneol) and high-dose borneol group(140 mg·kg⁻¹). One hour after intragastrical administration, MTX(20 mg·kg⁻¹) were injected into the rats of the three groups through caudal vein. Plasma and brain tissue samples were collected at corresponding time after intravenous injection. The concentrations of MTX in the plasma and brain were determined by high performance liquid chromatography, and the main parameters were determined by software PK-solution 2.0. **Results** Plasma AUC_{0-t} and AUC_{0-∞} of MTX in the high- and low-dose borneol groups were obvious lower than the control group ($P < 0.01$). AUC₀₋₁

收稿日期: 2014-06-20

作者简介: 郭军洽, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药有效性与安全性评价。Email: 786966096@qq.com。通讯作者: 张荣, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 中药有效性与安全性评价。Email: zhangrong@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(81173379)。

and $AUC_{0-\infty}$ of MTX in the brain of high- and low-dose borneol groups were higher than control group, and the difference between high-dose group and control group was significant ($P < 0.01$), whereas between low-dose group and control group was insignificant ($P > 0.05$). **Conclusion** Natural borneol can increase the distribution of MTX in C6/SD glioma model, and improve the bioavailability of MTX in the brain.

Keywords: Natural borneol; Methotrexate; Blood-tumor barrier; Pharmacokinetics

甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)为叶酸类抗肿瘤药, 主要通过对二氢叶酸还原酶的抑制而达到阻碍肿瘤细胞 DNA 的合成, 从而抑制肿瘤细胞的生长与繁殖。MTX 具有广谱抗肿瘤活性, 可单独应用或与其他化疗药物联合使用, 常用于各种肿瘤的治疗, 如乳腺癌、肺癌、头颈部癌、消化道癌、宫颈癌及恶性淋巴瘤等, 但在头颈部癌治疗中, 由于血瘤屏障的存在, MTX 不易透过血瘤屏障, 从而影响其对颅内肿瘤的治疗。研究^[1-3]表明, 冰片作为小分子脂溶性单萜类物质, 具有较好的促透作用, 能够增加药物在脑组织中的浓度, 有效地提高其治疗效果。本实验探讨冰片对 C6 胶质瘤模型大鼠体内 MTX 的血液和脑组织中药动力学参数的影响, 分析冰片对 MTX 透血瘤屏障的作用, 为 MTX 用于治疗颅内肿瘤提供可能的新技术和新途径。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂 甲氨蝶呤(MTX)对照品, 广州市药品检验所, 批号: 100138-201104; 注射用 MTX, 广东岭南制药有限公司, 批号: 271026-1; 天然冰片, 吉安市林科天然冰片厂, 批号: 080922; 阿魏酸, 广州市药品检验所, 批号: 0773-9910; F12K 培养基(批号: 21127-022)、胎牛血清(批号: 16050-122)、马血清(批号: 10099-141), 美国 GIBCO 公司; 甲醇, 色谱纯, 北京迪马科技有限公司; 0.25% 胰酶、PBS 均为实验室自备; 水为自制超纯水; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 Dionex Summit 高效液相色谱仪(Chromeleon 色谱工作站、PDA-100 二极管阵列检测器、TCC-100 柱温箱、ASI-100 自动进样器、P680HPLC 泵), 美国戴安公司; Forma -80 °C 超低温冰箱, 美国 Thermo Scientific 公司; AEL-160 电子分析天平, 日本岛津公司; XW-BOA 涡旋混合器, 上海医科大学仪器厂。

1.3 细胞系及动物 C6 胶质瘤细胞系, 购自中科院上海细胞研究所, 常规培养于含 15% 马血清和 2.5% 胎牛血清的 F12K 培养基中。SD 大鼠, 雄性, 体质

量 230~250 g, 广东省医学实验动物中心, 许可证号: SCXK(粤)2008-0002。

1.4 动物模型的制备^[1] SD 大鼠禁食不禁水 12 h, 10% 水合氯醛($3.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉, 沿内眦连线中点向后纵向切开头皮 1 cm, 暴露颅骨, 在前凶冠状缝与矢状缝交点前 1.0 mm、右 3.0 mm 处注射 C6 胶质瘤细胞 2.5×10^6 ($25 \mu\text{L}$), 无菌骨蜡封闭骨孔, 缝合皮肤, 切口消毒, 常规饲养。

1.5 分组、给药及样品采集 大鼠 C6 脑胶质瘤细胞接种 2 周后, 随机抽取 5 只, 取瘤区脑组织做病理切片, 判断模型复制是否成功。若镜下见梭形细胞呈浸润性生长, 细胞异型性明显, 核分裂相易见, 肿瘤微血管丰富, 中心有明显的出血及栅栏状坏死, 则证明模型复制成功。随机将制备成功的模型大鼠分为对照组(0.5% 羧甲基纤维素钠, CMC-Na), 冰片高、低剂量组($140, 35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每组 28 只。灌胃给药, 给药体积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃 1 h 后, 3 组大鼠均尾静脉注射 MTX ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。于 MTX 注射后的不同的时间点取血(2, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 min)及取瘤区脑组织(15, 30, 45, 60, 90, 120, 240 min), 每个时间点大鼠样本量均为 4 只。

1.6 样品制备 各组大鼠尾静脉注射 MTX 后, 分别于相应时间点眼眶取血, 置于肝素抗凝管中, $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离血浆; 取瘤区脑组织, 生理盐水洗净, 称质量, 按脑组织: 生理盐水 = 1:4 (m/V) 匀浆, $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液。血浆及脑组织匀浆液样品置于 $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中储存备用。测定时, 取血浆或脑组织匀浆上清液 $180 \mu\text{L}$, 分别加入阿魏酸溶液 $20 \mu\text{L}$, 10% HClO_4 $70 \mu\text{L}$ 沉淀蛋白, 振荡 5 min, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 血浆样本取上清液 $20 \mu\text{L}$ 进样检测分析, 脑组织匀浆样本取上清液 $80 \mu\text{L}$ 进样检测分析。

1.7 样品测定方法的建立

1.7.1 色谱条件 色谱柱: Synergi Hydro-RP C_{18} ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $4 \mu\text{m}$); 流动相: 甲醇-0.3% 冰醋酸/0.25% 三乙胺溶液 (26:74); 流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;

自动进样器温度：4 ℃；柱温：35 ℃；检测波长：302 nm；进样量：血浆 20 μL，脑组织匀浆液上清 80 μL。

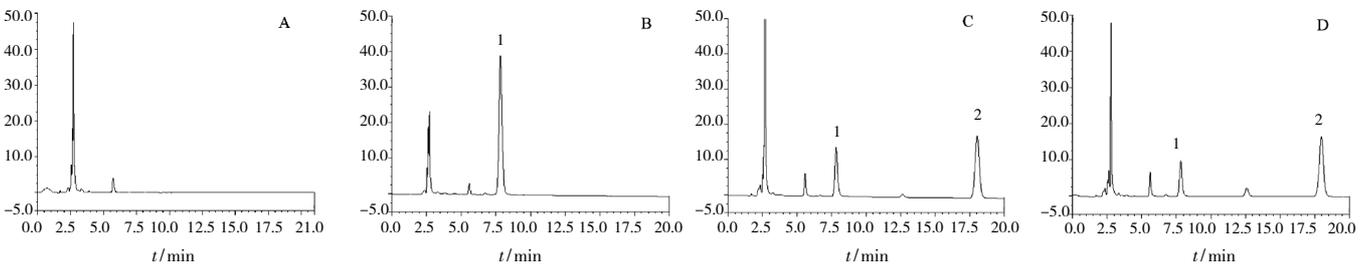
1.7.2 对照品溶液的配制 精密称取 MTX 对照品 20.0 mg，置于 10 mL 容量瓶中，0.2 mol·L⁻¹ Na₂CO₃ 溶液溶解，超纯水稀释至刻度，摇匀，即得 2000 mg·L⁻¹ 的 MTX 标准储备液；精密称取内标阿魏酸 6 mg，置于 50 mL 容量瓶中，甲醇溶解稀释至刻度，摇匀，即得 120 mg·L⁻¹ 的阿魏酸标准储备液；两者均置于 4 ℃ 冰箱，避光保存备用。

1.8 统计学处理方法 绘制时间 - 血药浓度曲线图，

拟合房室模型并使用药动力学处理软件 PK-solution2.0 计算药动力学参数。所得数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 SPSS10.0 软件进行统计学分析，两组间比较采用 *t* 检验，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 专属性 精密吸取对照品溶液、血浆样品、脑组织样品溶液，在上述选定的色谱条件下进行测定，MTX 与内标的保留时间分别为 7.81，17.99 min，两者分离完全，峰形对称，血浆和脑组织中其他成分不干扰测定，见图 1。



A. 空白血浆；B. 空白血浆 + MTX；C. 血浆样品 + 内标；D. 脑组织样品 + 内标。1. MTX；2. 阿魏酸

图 1 MTX 高效液相色谱图

Figure 1 HPLC chromatography of MTX

2.2 标准曲线制备 精密吸取空白血浆及脑组织匀浆液，分别加入不同浓度的 MTX 标准品溶液，使空白血浆中 MTX 的终浓度分别为 100.00，80.00，50.00，10.00，5.00，1.00，0.20 mg·L⁻¹，脑组织匀浆液 MTX 的终浓度分别为 12.00，6.00，4.00，2.00，1.00，0.50，0.10 mg·L⁻¹，各管分别加入内标阿魏酸溶液 20 μL。按 1.6 项下处理，平行操作 2 次，以 MTX 峰面积与内标峰面积的比值为横坐标 (*X*)，MTX 浓度为纵坐标 (*Y*, mg·L⁻¹) 绘制标准曲线，得回归方程。血浆： $Y=9.5744X+0.1256$ ， $r=0.9992$ ，在 0.20 ~ 100.00 mg·L⁻¹ 浓度范围内呈良好的线性关系。脑组织匀浆液： $Y=3.2511X-0.0712$ ， $r=0.9986$ ，在 0.10 ~ 12.00 mg·L⁻¹ 浓度范围内呈良好的线性关系。

2.3 检测限 精密量取 2.2 项下血浆及脑组织对照品溶液定量稀释，按信噪比 *S/N*=3，测得本方法中 MTX 在血浆和脑组织中的最低检测浓度分别为 0.052，0.016 mg·L⁻¹。

2.4 方法回收率 分别取空白血浆和空白脑组织匀浆液加入 MTX 标准溶液配成低、中、高浓度的血浆样品 (1.00，10.00，100.00 mg·L⁻¹) 和脑匀浆液样品

(0.50，6.00，12.00 mg·L⁻¹)，按 1.6 项下方法处理测定，测得 MTX 和内标峰面积之比，代入标准曲线计算浓度，用测得量与加入量之比，计算方法回收率，结果见表 1。

表 1 MTX 血浆、脑组织样品回收率 ($\bar{x} \pm s$, *n*=5)

Table 1 The recovery of MTX in plasma and brain

样品	加入浓度 / mg·L ⁻¹	检测浓度 / mg·L ⁻¹	回收率 / %	RSD / %
血浆	1.00	1.05 ± 0.02	105.00	1.91
	10.00	9.53 ± 0.30	95.30	3.15
	100.00	96.06 ± 4.34	96.06	4.52
脑组织	0.50	0.52 ± 0.03	105.00	5.76
	6.00	5.50 ± 0.30	91.66	5.46
	12.00	12.3 ± 0.20	102.50	1.63

2.5 精密度实验 取空白血浆及空白脑组织匀浆液，分别配置低、中、高浓度的 MTX 溶液，按 1.6 项下方法处理，分别于同日内测定 5 次，1 周内每天取样测定 1 次，以 MTX 峰面积与内标峰面积比值 (*X*) 代入标准曲线，求得浓度，计算其日内和日间精密度，结果见表 2。

2.6 稳定性考察 将 MTX 血浆样品及脑组织匀浆液样品分别于 4 ℃ 放置 12 h、24 h，-20 ℃ 放置 2

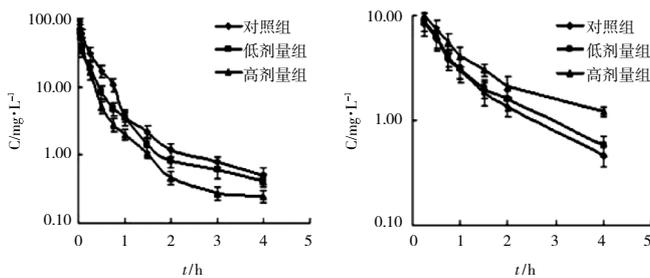
表 2 血浆、脑组织样品中 MTX 精密度(n=5)

Table 2 The precision of MTX in plasma and brain

血浆			脑组织		
浓度 /mg·L ⁻¹	日内 RSD/%	日间 RSD/%	浓度 /mg·L ⁻¹	日内 RSD/%	日间 RSD/%
1.00	4.52	2.91	0.50	4.39	5.27
10.00	3.24	2.37	6.00	2.86	2.56
100.00	4.53	2.49	12.00	1.70	2.07

周,取出后,按 1.6 项下方法进行处理,进样测定,结果显示血浆中 MTX 含量的 RSD 均小于 6.18%,脑组织中 MTX 含量的 RSD 均小于 6.53%,表明样品在 4℃放置 24 h 内稳定,在 -20℃放置 2 周内稳定。

2.7 冰片对 MTX 药物动力学的影响 3 组大鼠灌胃冰片诱导 1 h 后,尾静脉注射 MTX,其血浆、脑组织中 MTX 的浓度-时间曲线见图 2,药代动力学参数见表 3 和表 4。



(A) 血浆中 MTX 药-时曲线图 (B) 脑组织中 MTX 药-时曲线图

图 2 MTX 在血浆、脑组织的药时曲线图

Figure 2 Concentration-time curves of MTX in plasma (A) and brain (B)

表 3 冰片对 MTX 血浆药代动力学参数的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 3 Effect of bonenol on pharmacokinetic parameters of MTX in plasma

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	t _{1/2} β/h	AUC ₀₋₄ /mg·h·L ⁻¹	AUC _{0-∞} /mg·h·L ⁻¹
对照组	0.5% CMC-Na	1.36 ± 0.08	24.21 ± 1.28	25.27 ± 1.32
冰片低剂量组	35	7.55 ± 0.74**	15.54 ± 2.02**	21.26 ± 1.02**
冰片高剂量组	140	9.00 ± 0.43**	15.13 ± 0.98**	18.38 ± 1.13**

注:与对照组比较,**P < 0.01。

表 4 冰片对 MTX 脑组织中药代动力学参数的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 4 Effect of bonenol on pharmacokinetic parameters of MTX in brain

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	t _{1/2} β/h	AUC ₀₋₄ /mg·h·L ⁻¹	AUC _{0-∞} /mg·h·L ⁻¹
对照组	0.5% CMC-Na	4.12 ± 0.28	3.50 ± 0.32	3.75 ± 0.22
冰片低剂量组	35	3.16 ± 0.17*	4.11 ± 0.28	4.43 ± 0.19
冰片高剂量组	140	4.42 ± 0.20	5.61 ± 0.23*	6.10 ± 0.32*

注:与对照组比较,*P < 0.05。

3 讨论

MTX 具有酸碱两性,实验中甲醇不能使其完全溶解,采用适量的 0.2 mol·L⁻¹ Na₂CO₃ 溶解,然后加超纯水定容至一定浓度^[4]。在内标的选取方面,曾根据分子量接近,分子结构相似,出峰时间和目标物差别不大的原则,尝试使用了对氨基苯甲酸、甲硝唑等,但在实验色谱条件下均有内源性杂质干扰内标的测定。结合本实验研究具体情况,选取阿魏酸作内标,能与 MTX 达基线分离,且峰型尖锐对称,内源性物质不干扰测定,满足分析检测的要求^[5]。本实验中建立的 MTX 高效液相色谱法经方法学考察,显示该分析方法操作简单,灵敏可靠,可用于血浆或生物组织中 MTX 的检测分析。

由于血液与脑肿瘤之间存在着血肿瘤屏障(blood-tumor barrier, BTB),从而限制了大分子的非脂溶性药物包括抗肿瘤药物进入脑肿瘤组织。研究^[6]表明,若肿瘤组织的药物浓度提高 2 倍,其治疗效应则增加 10 倍。因此,有效增加肿瘤组织中抗肿瘤药物的浓度是提高疗效的关键。MTX 为疗效确切的广谱抗肿瘤药物,但由于其不易透过血肿瘤屏障,影响了其在脑内肿瘤治疗中的疗效。有研究^[7-8]报道,中药冰片可以促进某些大分子亲水性物质透过血脑屏障,提高药物在脑内的生物利用度。但冰片是否能促进 MTX 通过血肿瘤屏障,提高其脑肿瘤治疗效果,目前鲜有文献报道。

本实验研究结果显示,与对照组比较,冰片高、低剂量(140, 35mg·kg⁻¹)均能显著降低 MTX 的血浆生物利用度,且高剂量冰片能显著提高 MTX 的瘤区脑组织生物利用度。表明冰片与 MTX 合用,在改善血肿瘤屏障通透性,增加 MTX 进入脑内药量的同时,还能降低血浆中 MTX 的浓度,这为保证 MTX 颅脑肿瘤治疗效果,降低其毒副作用,提高临床疗效提供了有力的实验依据。至于冰片增加 MTX 通过血瘤屏障通透性的靶点及其具体作用机制,尚有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 张荣,段美美. C6 大鼠脑胶质瘤动物模型建立及病理观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(1): 73-75.
- [2] 郑晓晖,赵欣,房敏峰,等. 复方丹参方中使药冰片对君药丹葑代动力学的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2007, 28(2): 170-173.
- [3] 高晨,高旻,史卫忠,等. 冰片对甲氧蝶呤透过血脑屏障影响的实验研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2009, 25(2): 134-138.

- [4] 高科攀, 王峰, 蒋新国, 等. 大鼠血浆和脑脊液中甲氨蝶呤浓度测定及其应用[J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 14(1): 23-26.
- [5] 霍晶, 袁盛华, 方芸, 等. 反相高效液相色谱法测定人血浆中甲氨蝶呤的浓度[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(5): 390-392.
- [6] Samoto K, Perng GC, Ehtesham M, et al. A herpes simplex virus type 1 mutant deleted for gamma 34.5 and LAT kills glioma cells in vitro and is inhibited for in vivo reactivation[J]. Cancer Gene Ther, 2001, 8(4): 269-277.
- [7] 王宁生, 梁美蓉, 刘启德, 等. 冰片“佐使则有功”之实验研究[J]. 中医杂志, 1994, 35(1): 46-47.
- [8] 许碧莲, 王晖, 许卫铭. 冰片对盐酸川芎嗪促透作用的研究[J]. 中成药, 2001, 23(12): 864-867.

(编辑: 梁进权)

LC-MS/MS 法同时测定大鼠血浆中士的宁及其代谢物

苏晓纯, 余丹, 邱昆成, 何倩梅, 林爱华(广州中医药大学附属广东省中医院, 广东 广州 510120)

摘要: 目的 建立 LC-MS/MS 法同时测定士的宁及其代谢物士的宁氮氧化物在大鼠血浆中的浓度。方法 以盐酸麻黄碱为内标, 甲醇沉淀法处理血浆样品。采用 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 柱(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm) 分离, 以甲醇-10 mmol·L⁻¹ 乙酸铵(用甲酸调 pH=4)为流动相进行梯度洗脱, 流速 0.2 mL·min⁻¹, 用电喷雾离子化和正离子多离子反应监测(MRM)模式检测士的宁和士的宁氮氧化物。结果 士的宁及其氮氧化物的线性范围分别为 0.510~306.3 ng·mL⁻¹ 和 0.102~306.0 ng·mL⁻¹, 定量下限分别为 0.510, 0.102 ng·mL⁻¹, 日内、日间相对标准偏差(RSD)均 < 15%, 准确度分别为 (89.44 ± 3.43)%~(97.45 ± 6.25)% 和 (95.86 ± 5.19)%~(106.41 ± 7.43)%。结论 该方法准确、灵敏、特异、简便, 适用于血浆中士的宁及其代谢物士的宁氮氧化物含量的同时测定。

关键词: 士的宁; 士的宁氮氧化物; 血药浓度; 液相-质谱联用法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0077-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.019

Simultaneous Determination of Strychnine and Its Metabolite in Rat Plasma by LC-MS/MS

SU Xiaochun, SHE Dan, QIU Kuncheng, HE Qianmei, LIN Aihua (Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish a liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the simultaneous analysis of strychnine and strychnine N-oxide in rat plasma. **Methods** Ephedrine hydrochloride was used as the internal standard (IS). The protein precipitation by methanol was used to extract the analytes from plasma. Chromatographic separation was carried out on ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column (2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm) by gradient elution with phase A 10 mmol·L⁻¹ ammonium acetate (adjusted to pH 4.0 with formic acid) and phase B methanol. The flow rate was 0.2 mL·min⁻¹. The quantification of the analytes was performed by mass spectrometry with electrospray ionization (ESI) inlet and positive ion multiple reaction monitoring (MRM) mode. **Results** The calibration curves of strychnine and strychnine N-oxide in the plasma were linear in the range of 0.510~306.3 ng·mL⁻¹ and 0.102~306.0 ng·mL⁻¹, respectively. The lower limit of quantitation was 0.510 ng·mL⁻¹ for strychnine and 0.102 ng·mL⁻¹ for strychnine N-oxide. The inter-day and intra-day relative standard deviation (RSD) was less than 15%. The accuracy of strychnine was (89.44 ± 3.43)%~(97.45 ± 6.25)% and that of strychnine N-oxide was (95.86 ± 5.19)%.

收稿日期: 2014-07-11

作者简介: 苏晓纯, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药新剂型与新技术。Email: 365880344@qq.com。通讯作者: 林爱华, 博士, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 药物制剂及其生物有效性。Email: linah76@163.com。

基金项目: 广东省科技厅资助项目(2011B010500016); 2014 广东省中医院拔尖人才科研专项“中药马钱子有效成分在毒性剂量下体内代谢动力学研究”。