制 剂

# UHPLC-MS/MS 同时测定大鼠血浆中 6 种木脂素类成分及其药代动力学研究

王 青[1]， 王 莹[2]， 宋小妹[3]， 张伟东[2]， 王鹏远[2]， 顾 宜[2]， 王晓娟[2*]
(1. 陕西国际商贸学院，陕西 咸阳 712046；2. 第四军医大学口腔医院药剂科，陕西 西安 710032；
3. 陕西中医学院药学院，陕西 咸阳 712046)

**摘要：目的** 建立利用 UHPLC-MS/MS 法同时测定大鼠血浆中 Gomisin D、Gomisin E、五味子醇甲、五味子甲素、Gomisin R 和五味子乙素 6 种木脂素的分析方法，并研究大鼠灌胃给予五味子提取物后的药代动力学特征。**方法** 采用 Agilent Poroshell 120 EC-$C_{18}$ 色谱柱，流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱，采用电喷雾电离源（ESI），扫描方式为多反应离子监测（MRM）。**结果** 大鼠血浆中 6 种木脂素成分的校正曲线线性关系良好，日内、日间精密度和准确度符合要求，提取回收率 75.76%～88.82%。**结论** 该方法简便、快速、灵敏、稳定，适用于五味子提取物的体内分析，为其进一步研究奠定基础。

**关键词：** UHPLC-MS/MS；大鼠血浆；五味子；木脂素；药代动力学
**中图分类号：** R284.1 **文献标志码：** A **文章编号：** 1001-1528(2014)02-0266-06
**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2014.02.011

# Simultaneous determination of six lignans compounds in rat plasma and pharmacokinetics by UHPLC-MS/MS

WANG Qing[1]， WANG Ying[2]， SONG Xiao-mei[3]， ZHANG Wei-dong[2]， WANG Peng-yuan[2]，
GU Yi[2]， WANG Xiao-juan[2*]
(*1. Shaanxi Institute of International Trade and Commerce, Xiangyang 712046, China; 2. Department of Pharmacy, School of Stomatology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 3. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China*)

**ABSTRACT: AIM** To establish a UHPLC-MS/MS analytical method for simultaneous determination of six lignans compounds of Gomisin D, Gomisin E, schizandrol A, schizandrin A, Gomisin R and schizandrin B in rat plasma and to study the pharmacokinetic characteristics after oral administration of *Schisandra Chinensis Fructus*. **METHODS** Chromatographic separation was achieved on an Agilent Poroshell 120 EC-$C_{18}$ column, with gradient elution using a mobile phase that consisted of acetonitrile-0.1% formic acid in water. Detetion was performed by a triple-quadrupole tandem mass spectrometer in multiple reaction monitoring (MRM) mode using the electrospray ionization technique. **RESULTS** The calibration curve of six lignans compounds showed a good linear relationship, the intra-and inter-day precisions and accuracy met the requirements and the extraction recovery ranged between 75.76% ~88.82%. **CONCLUSION** This established method is simple, rapid, sensitive and stable and applicable to the analysis of *Schisandra Chinensis Fructus* for its further study.

**KEY WORDS:** UHPLC-MS/MS; rat plasma; *Schisandra Chinensis Fructus*; lignans; pharmacokinetics

五味子是木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis*（Turcz.）Baill. 的干燥成熟果实。习称“北五味子”。其味酸、甘，性温。有收敛固涩，益气生津，补肾宁心的功能，用于久嗽虚喘，梦遗滑精，遗尿尿频，久泻不止，自汗盗汗，津伤口渴，短气脉虚，内热消渴，心悸失眠等症[1]。五味子中含

收稿日期：2013-03-15
作者简介：王 青（1987—），女，硕士，从事中草药药效物质基础研究。E-mail：709225603@qq.com
* 通信作者：王晓娟（1962—），女，主任药师，从事天然药物化学与中药新制剂研究。E-mail：wxjyh231@fmmu.edu.cn

有多糖、挥发油和木脂素类成分[2-3]，其中木脂素类成分与五味子的抗肝脏损伤、抗氧化作用明显相关[4]。五味子中木脂素类成分在体内代谢研究，国内外文献已有报道，主要为五味子中单一成分血药浓度测定[5-8]或分别与黄芩、丹参配伍后对其成分在大鼠体内的药代动力学影响[9-10]。本实验采用 UHPLC-MS/MS 法同时测定五味子提取物中 6 种木脂素类成分的血药浓度，研究大鼠给予五味子提取物后的药代动力学特征，为五味子在临床上的合理应用提供理论依据[11]。

## 1 试药与仪器

1.1 试药 Gomisin D、Gomisin E、五味子醇甲、五味子甲素、Gomisin R、五味子乙素（中国科学院昆明植物研究所）；尼莫地平（Nimodipine，批号 100270—200002，中国食品药品检定研究院）；乙腈、甲醇（色谱纯，美国 Fisher 公司）；水为实验室自制三蒸水；其它试剂均为分析纯。五味子提取物粉末购自西安昊轩生物制品有限公司，其中 Gomisin D、Gomisin E、五味子醇甲、五味子甲素、Gomisin R、五味子乙素含有量分别为 0.222、0.008、9.311、0.816、1.466、2.040 mg/g。

1.2 仪器 1290—6460 型三重四极杆串联质谱仪（美国 Agilent technology 公司），配有电喷雾离子源（ESI）及 MassHunter VersionB.04.10 工作软件；Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱系统，配有 G4220A 二元泵、G1314E VWD 检测器、G1316C 柱温箱及 G4226A 自动进样器。

1.3 动物 Sprague-Dawley 大鼠，雄性，体质量（300 ± 20）g，第四军医大学实验动物中心提供，动物许可证号 SCXK（军 2011025）。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱：Agilent Poroshell 120 EC-$C_{18}$（2.7 μm，2.1 mm × 100 mm），流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱，体积流量 0.4 mL/min，柱温 35 ℃，进样量 1 μL。梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相洗脱梯度

Tab. 1 Mobile phase gradients

| 时间/min | 乙腈/% | 0.1% 甲酸水/% |
|---|---|---|
| 0 | 50 | 50 |
| 7 | 50 | 50 |
| 10 | 75 | 25 |
| 12 | 100 | 0 |
| 13 | 100 | 0 |

2.2 质谱条件 采用电喷雾电离源（ESI）；扫描方式为多反应监测模式（MRM）；喷雾气压 45 psi，雾化器温度 350 ℃；毛细管电压正离子 4 kV，负离子 3.5 kV；气流流量 10 L/min。扫描时间为23 min。用于定量分析的离子反应及质谱参数见表 2。

表 2 定量离子及质谱参数

Tab. 2 Quantitative ionand Mass spectrum parameters

| 化合物 | 母离子（m/z） | 子离子/（m/z） | 驻留时间/ms | 裂解电压/kV | 碰撞电压/kV |
|---|---|---|---|---|---|
| Gomisin D | 531.4 | 401.3 | 20 | 160 | 10 |
| Gomisin E | 515.1 | 385.0 | 20 | 145 | 17 |
| 五味子醇甲 | 433.1 | 384.3 | 20 | 85 | 15 |
| 五味子甲素 | 417.1 | 316.1 | 20 | 145 | 21 |
| Gomisin R | 401.4 | 339.3 | 20 | 120 | 19 |
| 五味子乙素 | 401.2 | 299.9 | 20 | 145 | 21 |
| 尼莫地平（IS） | 419.0 | 301.0 | 20 | 90 | 24 |

2.3 溶液的配制

2.3.1 对照品溶液的配制 精密称取 Gomisin D、Gomisin E、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素对照品 19.5、0.785、27.8、3.09、2.06 mg，加甲醇溶解，并定容至 10 mL 量瓶中，即为对照品贮备液①；再分别取对照品贮备液①1mL 及 Gomisin R 对照品 1.955 mg，加甲醇溶解定容至 50 mL 量瓶中，即为对照品贮备液②。

精密移取对照品贮备液②1 mL 至 10 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，制成含量分别为 Gomisin D 3 900 ng/mL、Gomisin E 157 ng/mL、五味子醇甲 5 560 ng/mL、五味子甲素 618 ng/mL、五味子乙素 412 ng/mL、Gomisin R 39100 ng/mL 的混合对照品溶液，摇匀，4 ℃保存备用。

2.3.2 内标溶液的配制 精密称取尼莫地平对照品适量，用甲醇溶解定容至 10 mL 量瓶中，作为内标贮备液。精密量取内标贮备液适量，用甲醇配成 2.176 μg/mL 的内标溶液，4 ℃保存备用。

2.3.3 五味子提取溶液配制 准确称取五味子提取物粉末 1.5 g，用生理盐水 20 mL 溶解混匀，配成 0.075 g/mL 的五味子提取物溶液。

2.4 给药方案与样品采集 健康雄性 SD 大鼠 5 只，给药前禁食 12 h，灌胃给予五味子提取物溶液 2.0 mL/只（相当于五味子提取物粉末 0.5 g/kg）。给药后于 0、5、10、15、30 min 和 1、2、3、4、6、8、12、24 h 自眼底静脉取血 0.5 mL 置肝素化的 EP 管中，3 000 r/min 离心 10 min，转移上层血浆贮存于 -20 ℃。

2.5 样品处理 精密吸取大鼠空白血浆 100 μL 血浆中，加入 10 μL 尼莫地平涡旋混合 1 min，加入

100 μL 甲醇涡旋混合 0.5 min，再加入 300 μL 乙腈涡旋混合 0.5 min，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液 400 μL 45 ℃氮气吹干，100 μL 甲醇复溶，高速离心后 1 μL 进样测定。

2.6 数据处理 应用 DAS 2.0 药代动力学软件求出药代动力学参数。

2.7 测定方法的建立

2.7.1 方法的专属性 空白血浆、空白血浆加分析物标准品及给药后的血浆样品色谱图见图 1。结果显示，空白血浆在与对照品对应的保留时间处没有色谱峰，血浆内源性物质、代谢产物及其他成分均不干扰 6 个目标成分的检出。

2.7.2 标准曲线及检测灵敏度 精密吸取混合对照品溶液 0.125、0.625、1.25、2.5、5.0、10.0 mL，分别置于 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，制得混合对照品系列液。取 100 μL 空白血浆依次加入 10 μL 内标液和 10 μL 的混合对照品系列液，涡旋混合 1 min，按“2.5”项下处理，1 μL 进样测定。以目标物和内标物的峰面积比 $Y$ 对目标物浓度 $X$ 用加权最小二乘法进行回归运算[12-13]。结果见表 3。6 个成分的定量限（LOQ）分别为 4.88、0.21、6.95、0.77、48.88、0.52 ng/mL。

2.7.3 准确度与精密度 用空白血浆配制低、中、高 3 个质量浓度的质控样品各 5 份，测得峰面积后带入随行标准曲线计算相应的药物浓度，与理论值相比，计算方法的准确度；同一质量浓度每隔 2 h 测定 1 次，平行测定 3 次，计算日内精密度；每隔 1 d 测定 1 次，平行测定 3 次，计算日间精密度。结果见表 4。日内精密度 RSD 值小于 10%，准确度在 89.71% ~98.82% 之间，日间精密度 RSD 值小于 12%，准确度在 90.58% ~98.74% 之间，均符合有关规范要求[14-15]。

2.7.4 提取回收率 用空白血浆配制低、中、高 3 个质量浓度的质控样品各 5 份，按样品处理项下的方法进行处理。测得峰面积后与同浓度对照品溶液直接进样所得峰面积进行比较，计算提取回收率。结果见表 5。结果显示高中低质控样品的提取回收率在 75.76% ~88.82% 之间，RSD 均小于 13%。

2.7.5 样品稳定性实验 配制低、中、高 3 个质量浓度的质控样品各 5 份，贮存于 -20 ℃冰箱中，反复冻融 3 次，每次间隔 24 h，按样品处理项下的方法进行处理后进样测定，测得实际值均在理论值的 85.31% ~97.93% 范围波动，RSD < 14%，表明样品可以耐受 3 次冻融。低、中、高质量浓度质控样品室温放置 24 h，在 -20 ℃冰箱中放置 30 d，测得实际值在理论值的 85.07% ~ 96.65%，

**图 1 空白血浆色谱图（A），加有混合对照品（Gomisin D、Gomisin E、五味子醇甲、五味子甲素、Gomisin R、五味子乙素）和内标的空白血浆色谱图（B），大鼠灌胃给药 0.5 h 后的血浆色谱图（C）**

**Fig. 1 Typical chromatograms of blank plasma (A), spiked plasma with reference subtances (Gomisin D, Gomisin, schizandrol A, schizandrin A, Gomisin R, and schizandrin B and the IS (B) and plasma from rats at 0.5 h after administration (C)**

表 3 标准曲线及线性范围

Tab. 3 Calibration curves and dynamic range

| 化合物 | 回归方程 | $r$ | 线性范围(ng·mL$^{-1}$) | LOQ(ng·mL$^{-1}$) | LOD(ng·mL$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|
| Gomisin D | $Y=0.0098X+0.0264$ | 0.9995 | 4.88 ~ 390.0 | 4.88 | 0.24 |
| Gomisin E | $Y=0.3123X+0.0329$ | 0.9913 | 0.21 ~ 15.7 | 0.21 | 0.039 |
| 五味子醇甲 | $Y=0.02X+0.0234$ | 0.9999 | 6.95 ~ 556.0 | 6.95 | 0.35 |
| 五味子甲素 | $Y=0.2225X-0.0141$ | 0.9998 | 0.77 ~ 61.8 | 0.77 | 0.039 |
| Gomisin R | $Y=2E-05X+0.0024$ | 0.9989 | 48.88 ~ 3 910 | 48.88 | 4.88 |
| 五味子乙素 | $Y=0.1363X-0.0064$ | 0.9997 | 0.52 ~ 41.2 | 0.52 | 0.026 |

表 4 准确度与精密度实验结果 ($n=5$)

Tab. 4 Results of accuracy and precision ($n=5$)

| 化合物 | 理论浓度/(ng·mL$^{-1}$) | 日内精密度 | | | 日间精密度 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 实测浓度/(ng·mL$^{-1}$) | RSD/% | 准确度/% | 实测浓度/(ng·mL$^{-1}$) | RSD/% | 准确度/% |
| Gomisin D | 195 | 186.74 | 4.81 | 95.77 | 187.79 | 5.16 | 96.30 |
| | 48.75 | 46.80 | 6.94 | 96.01 | 45.69 | 7.10 | 93.73 |
| | 4.88 | 4.57 | 7.41 | 93.67 | 4.59 | 8.22 | 94.03 |
| Gomisin E | 7.85 | 3.76 | 4.22 | 95.75 | 3.72 | 4.69 | 94.66 |
| | 1.96 | 0.92 | 5.60 | 94.08 | 0.93 | 6.03 | 95.39 |
| | 0.21 | 0.12 | 7.85 | 98.82 | 0.11 | 8.80 | 93.53 |
| 五味子醇甲 | 278 | 259 | 5.99 | 93.17 | 256.25 | 6.11 | 92.18 |
| | 69.5 | 62.98 | 7.17 | 90.63 | 66.13 | 4.74 | 95.15 |
| | 6.95 | 6.23 | 9.79 | 89.71 | 6.51 | 7.98 | 93.67 |
| 五味子甲素 | 30.9 | 29.38 | 6.38 | 95.09 | 29.21 | 5.13 | 94.53 |
| | 7.752 | 7.32 | 5.54 | 94.51 | 7.02 | 5.91 | 90.58 |
| | 0.7752 | 0.75 | 7.89 | 96.65 | 0.73 | 8.30 | 94.16 |
| Gomisin R | 1 955 | 1 862.78 | 6.96 | 95.28 | 1874.71 | 6.68 | 95.89 |
| | 488.75 | 482.61 | 6.30 | 98.74 | 482.59 | 6.52 | 98.74 |
| | 48.88 | 45.83 | 9.81 | 98.08 | 47.64 | 11.04 | 97.47 |
| 五味子乙素 | 20.6 | 20.26 | 4.14 | 98.36 | 20.21 | 5.48 | 98.14 |
| | 5.15 | 4.89 | 5.07 | 95.14 | 4.69 | 6.58 | 91.10 |
| | 0.515 | 0.49 | 8.83 | 96.01 | 0.47 | 7.15 | 91.42 |

表 5 回收率实验结果 ($n=5$)

Tab. 5 Results of recovery tests ($n=5$)

| 化合物 | 理论浓度/(ng·mL$^{-1}$) | 实测浓度/(ng·mL$^{-1}$) | 回收率/% | RSD/% |
|---|---|---|---|---|
| Gomisin D | 195 | 172.82 | 87.61 | 7.29 |
| | 48.75 | 39.17 | 80.34 | 5.36 |
| | 4.88 | 3.88 | 79.59 | 9.42 |
| Gomisin E | 3.93 | 3.49 | 88.82 | 5.16 |
| | 0.98 | 0.78 | 79.09 | 7.18 |
| | 0.1 | 0.09 | 75.76 | 5.64 |
| 五味子醇甲 | 278 | 237.60 | 85.46 | 5.57 |
| | 69.5 | 57.99 | 83.44 | 5.28 |
| | 6.95 | 5.74 | 82.55 | 12.48 |
| 五味子甲素 | 30.9 | 26.09 | 84.46 | 8.59 |
| | 7.75 | 6.21 | 80.14 | 8.13 |
| | 0.78 | 0.66 | 85.03 | 12.06 |
| Gomisin R | 1 955 | 1 646.64 | 84.23 | 8.47 |
| | 488.75 | 409.28 | 83.74 | 8.94 |
| | 48.88 | 38.92 | 79.63 | 7.83 |
| 五味子乙素 | 20.6 | 17.21 | 83.56 | 6.77 |
| | 5.15 | 4.39 | 85.34 | 7.53 |
| | 0.515 | 0.41 | 79.71 | 8.20 |

RSD < 12%；样品经处理后在自动进样器中放置 24 h 后，测定实际值在理论值的 85.05% ~ 96.01%，RSD < 13%，均符合相关规定，表明该 6 种成分在血浆样品中稳定性良好。

2.7.6 基质效应 取 6 份不同来源的大鼠空白血浆 100 μL，按样品处理项下的方法制得含尼莫地平内标液和低、中、高 3 个质量浓度的质控样品；另取流动相代替空白血浆，制得与上述标准品相同系列浓度的混合标准品溶液和内标物溶液，测得的相应峰面积比值用于评价基质效应，结果其比值均在 85.29% ~ 101.99% 之间，表明大鼠血浆生物基质不影响样品测定。

2.8 大鼠给药后的药代动力学 应用建立的 UH-PLC-MS/MS 方法，测定大鼠血浆药物浓度，各时间点平均药-时曲线见图 2。各组药代动力学参数见表 6。由图 2、表 6 可知，6 种成分中 Gomisin E 及五味子乙素的 $t_{1/2}$ 明显较长，表明此两种成分的消除较慢。

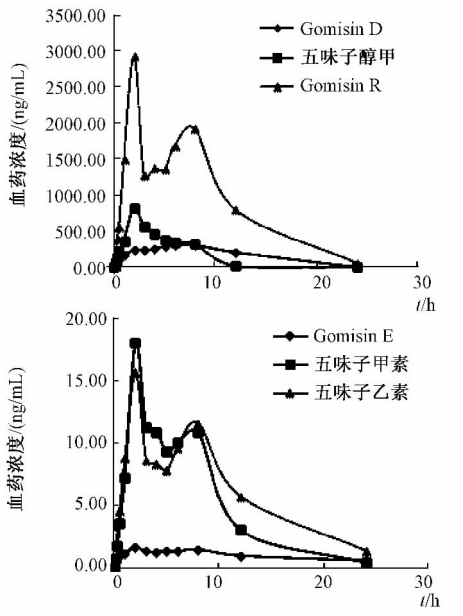


**图 2 大鼠灌胃给予五味子提取物后的平均药-时曲线（$n=5$）**

**Fig. 2 Mean concentration-time curve of rats after oral administration of schisandra extracts ($n=5$)**

## 3 讨论

本实验采用 UHPLC-MS/MS 同时测定大鼠灌服五味子提取物后血浆中 6 种木脂素类成分的量，以尼莫地平为内标，采用正离子模式检测。样品预处理采用了甲醇-乙腈沉淀蛋白方法，操作简便，血浆样品只需 100 μL，杂质不干扰测定，具有良好的精密度和准确度，有较高的灵敏度和专属性，重现性好，符合生物样品分析方法要求，适合大批量样品的分析测定。

实验结果显示，6 种被测成分在 10 min 时即可检测到且达峰时间除 Gomisin D 外均较短，提示这几种成分在胃部被很快吸收入血，与化合物结构差异有关；药时曲线呈现双峰，提示这 6 种成分在吸收过程中可能存在肠-肝循环、肠-肠循环或胃-肠循环。

本研究采用 UHPLC-MS/MS 系统建立了同时测定大鼠血浆样品中 6 种木脂素类成分特异、灵敏、可靠的定量分析方法，该方法较 HPLC 显著提高了定性分析的准确性以及定量分析的灵敏度，适于五味子的进一步药代动力学研究。

**表 6 大鼠灌胃给予五味子提取物后的药动学参数（$n=5$）**

**Tab. 6 Pharmacokinetics parameters of rats after oral administration of schisandra extracts ($n=5$)**

| 参数 | 单位 | Gomisin D | Gomisin E | 五味子醇甲 | 五味子甲素 | Gomisin R | 五味子乙素 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $t_{1/2}$ | h | 2.51 ± 0.29 | 14.62 ± 0.88 | 2.13 ± 0.47 | 4.00 ± 0.51 | 2.88 ± 0.43 | 15.03 ± 2.24 |
| $C_{max}$ | μg/L | 308.63 ± 11.44 | 1.61 ± 0.045 | 792.00 ± 35.05 | 17.31 ± 1.32 | 2 838.33 ± 199.19 | 14.72 ± 1.27 |
| $T_{max}$ | h | 8.01 ± 1.16 | 1.88 ± 0.23 | 2.01 ± 0.016 | 2.03 ± 0.024 | 1.96 ± 0.17 | 2.34 ± 0.43 |
| MRT(0 − $t$) | h | 7.40 ± 0.87 | 9.45 ± 1.11 | 4.41 ± 0.54 | 6.49 ± 0.48 | 7.12 ± 0.25 | 7.97 ± 1.03 |
| Vz/F | L/kg | 0.18 ± 0.024 | 5.12 ± 0.89 | 6.33 ± 0.70 | 35.52 ± 2.28 | 0.25 ± 0.034 | 197.38 ± 13.41 |
| CLz/F | L(h/kg) | 0.054 ± 0.01 | 0.22 ± 0.04 | 2.26 ± 0.18 | 5.99 ± 0.77 | 0.059 ± 0.01 | 8.71 ± 1.11 |

**参考文献:**

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社，2010: 61-62.

[2] 应国清，愈志明，单剑锋，等. 北五味子有效组分的研究进展[J]. 河南中医，2005，25(6): 84.

[3] 名延波，赵 华，周 丽，等. 五味子的研究进展[J]. 实用药物与临床，2007，10(6): 365-367.

[4] 杨 放，袁 军，付 平. 五味子的研究概述[J]. 华西药学杂志，2003，186(5): 438.

[5] 陈玮莹，李 慧，罗文鸿，等. LC-MS 法快速测定大鼠血浆五味子乙素及其药代动力学分析[J]. 中国现代医学杂志，2007，17(14): 1665-1669.

[6] Xu M，Wang G，Xie H，*et al*. Pharmacokinetic comparisons of schizandrin after oral administration of schizandrin monomer，*Fructus Schisandrae* aqueous extract and Sheng-Mai-San to rats[J]. *J Ethnopharmacol*，2008，115(3): 483-488.

[7] Mao S，Zhang H，Lv L，*et al*. Rapid determination and pharmacokinetics study of lignans in rat plasma after oral administration of Schisandra chinensis extract and pure deoxyschisandrin.[J]. *Biomed Chromatoqr*，2011，25(7): 808-815.

[8] 吴春涛，刘铁楠，张志斐. 大鼠血浆中五味子乙素浓度的 HPLC 测定法[J]. 华北煤炭医学院学报，2011，13(3): 310-311.

[9] 韩 敏，黄志芳，易进海，等. 黄芩与五味子配伍后对黄芩、五味子脂甲代谢动力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2012，18(2): 109-113.

[10] 王胜春，赵慧萍，皇甫孟军，等. 五味子与丹参配伍后对其成分五味子乙素、醇甲的药代动力学影响[J]. 中成药，2004，26(12): 987-991.

[11] 杨万军，张伟东，王 莹，等. 射干麻黄配伍对射干异黄酮类成分在大鼠体内药代动力学的影响[J]. 中成药，2012，34(11): 2094-2099.

[12] 郭宗儒. 药物化学总论[M]. 北京: 中国医药科技出版社，1994: 5.

[13] Obach R S, Baxter J G, Liston T E, *et al*. The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and *in vitro* metabolism data [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 283(1): 46-58.

[14] Shah V P, Midha K K, Hulse J D, *et al*. Bioanalytical methods validation—a revisit with a decade of progress [J]. *Pharm Res*, 2000, 17(12): 1551-1557.

[15] Karnes H T, March C. Precision, accuracy and data acceptance criteria in biopharmaceutical analysis [J]. *Pharm Res*, 1993, 10(10): 1420-1426.

# 磷脂组成对马钱子总生物碱隐形脂质体体外抗肿瘤作用的影响

彭 佩[1], 林爱华[1*], 陈 军[2], 王 咏[2], 顾 薇[2]
(1. 广州中医药大学第二临床医学院，广东 广州 510120; 2. 南京中医药大学药学院，江苏 南京 210046)

**摘要：目的** 比较 3 种不同磷脂，其组成为大豆磷脂（SPC）、氢化大豆磷脂（HSPC）、复合磷脂（SPC∶HSPC 为 3∶1，摩尔比）马钱子总生物碱隐形脂质体的体外肝癌细胞 SMM7721 的摄取特性与抗肿瘤作用。**方法** 硫酸铵梯度法制备马钱子总生物碱隐形脂质体并考察其基本药剂学性质，MTT 法比较马钱子总生物碱溶液和 3 种不同磷脂组成隐形脂质体的抗肿瘤效果，流式细胞仪技术测定肝癌细胞对香豆素-6 标记的 3 种不同磷脂组成隐形脂质体的摄取率。**结果** 不同磷脂组成马钱子总生物碱隐形脂质体的体外抗肿瘤效果与 SMMC-7721 细胞摄取量均具有显著差异，马钱子总生物碱溶液、复合磷脂隐形脂质体、SPC 隐形脂质体、HSPC 隐形脂质体的 $IC_{50}$ 分为 64.4、17.8、29.6、40.9 μg/mL，肝癌细胞对香豆素-6 标记的复合磷脂隐形脂质体、SPC 隐形脂质体、HSPC 隐形脂质体的转染率分别为 92.1%、86.2%、18.6%。**结论** 复合磷脂脂质体作为马钱子总生物碱的载体，能显著提高药物进入肝癌细胞的摄取量，增强体外抗肿瘤效果，为临床用药提供了理论依据。

**关键词：** 马钱子总生物碱；脂质体；抗肿瘤；细胞摄取
**中图分类号：** R969.1 **文献标志码：** A **文章编号：** 1001-1528(2014)02-0271-05
**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2014.02.012

# Influence of lipid composition on *in vitro* antitumor activity of stealth liposomes containing total alkaloids from seeds of *Strychno nux-vomica* L.

PENG Pei[1], LIN Ai-hua[1*], CHEN Jun[2], WANG Yong[2], GU Wei[2]
(*1. The Second Clinical Medical College, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China; 2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China*)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the phospholipids (hydrogenated-and unhydrogenated soybean phosphatides (HSPC, SPC), and their mixture (SPC/HSPC 3∶1), which constituted stealth liposomes containing total alkaloids (TA) from seed of *Strychnos nux-vomica* L., and influenced the uptake characters of human hepatocarcinoma cell line SMM7721 and antitumor of TA. **METHODS** TA-loaded stealth liposomes were prepared by ammonium sulfate transmembrane gradients. Physicochemical properties of liposomes such as particle size, potential and encapsulation efficiency were determined and compared. Inhibition rate of SMM7721was measured by MTT and uptake rate of coumarin-6 was used for a marker of antitumor. **RESULTS** There were significant differences in *in vitro* antitumor activity and uptake rate of SPC, HSPC and SPC/HSPC stealth liposomes had the significant differ-

**收稿日期：** 2013-05-07
**基金项目：** 南京中医药大学中药学一级学科开放课题资助（2011ZYX3-003）；江苏高校优势学科建设工程资助项目 [PAPD（ysxk-2010)]；国家自然科学基金项目（30701111，81001644）；广东省自然科学基金项目（10451040701004643）
**作者简介：** 彭 佩（1989—），女，硕士生，研究方向：药物新剂型与新技术。E-mail: pengpei2011@126.com
* **通信作者：** 林爱华（1976—），男，博士，研究员，研究方向：中药新剂型与药物动力学。Tel:（020）81887233，E-mail: linah76@163.com