

血液环境并不相同,因此体外释放的测定的结果并不能完全真实反映该纳米晶体在体内的释放情况,故紫杉醇纳米晶体给药系统体内外释放的相关性还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] SCHIFF P B, FANT J, HORWITZ S B. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol [J]. *Nature*, 1979, 277(5698): 665-667.
- [2] SINGLA A K, GARG A, AGGARWAL D. Paclitaxel and its formulations [J]. *Int J Pharm*, 2002, 235(1): 179-192.
- [3] ZHENG Y, HUANG H, FU C X. Paclitaxel/MPEG-PCL nanoparticles: preparation, characterization and *in vitro* release [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1093-1097.
- [4] DORR R T. Pharmacology and toxicology of Cremophor EL diluent [J]. *Ann Pharmacother*, 1994, 28(5): S11-S14.
- [5] NAGARWAL R C, KUMAR R, DHANAWAT M, et al. Nanocrystal technology in the delivery of poorly soluble drugs: an overview [J]. *Curr Drug Deliv*, 2011, 8(4): 398-406.
- [6] XIA Y R, WANG J, ZHU J P, et al. Progress on the preparation techniques of drug nanocrystals [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2010, 41(2): 134-140.
- [7] YANG X L, YANG B, LI C L, et al. Preparation and *in vitro* transdermal diffusion characteristics of paclitaxel nanoliposomes gels [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2015, 32(2): 156-161.
- [8] 中国药典. 四部 [S]. 2015: 通则 121.
- [9] VAN EERDENBRUGH B, VAN DEN MOOTER G, AUGUSTIJNS P. Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products [J]. *Int J Pharm*, 2008, 364(1): 64-75.
- [10] RABINOW B E. Nanosuspensions in drug delivery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(9): 785-796.
- [11] WONG J, BRUGGER A, KHARE A, et al. Suspensions for intravenous (IV) injection: a review of development, preclinical and clinical aspects [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(8): 939-954.

收稿日期: 2016-03-28

葛根素固体脂质纳米粒抗肝损伤作用研究

刘娟¹, 郭宇¹, 胡孟洋², 翟美芳¹, 平洋¹, 张灵芝¹, 李雪欣¹, 于莲^{1*} (1.佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2.山东大学临床医学院, 济南 250000)

摘要: 目的 制备葛根素固体脂质纳米粒(puerarin solid lipid nanoparticles, Pue-SLN), 对 Pue-SLN 进行体外释药考察, 并探讨 Pue-SLN 对 CCl₄ 诱导的急性肝损伤大鼠的治疗作用。方法 采用乳化-超声分散法制备 Pue-SLN。大鼠腹腔注射 CCl₄ 造成急性肝损伤模型。48 只大鼠随机分成 6 组: 正常组、模型组、甘草酸二胺阳性对照组(13.5 mg·kg⁻¹)、Pue-SLN 高浓度组(27 mg·kg⁻¹)、中浓度组(13.5 mg·kg⁻¹)、低浓度组(6.75 mg·kg⁻¹)。分别测定大鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、天门冬氨酸转氨酶(AST)的活力, 肝组织匀浆中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)含量, 计算肝脏指数, 并对肝组织进行组织形态学检查。结果 Pue-SLN 各剂量组均能抑制肝损伤大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性, 降低肝匀浆中 MDA 含量, 增强 SOD、GSH-PX 活性, 改善肝组织的病理形态。结论 Pue-SLN 对 CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤具有治疗作用。

关键词: 葛根素; 固体脂质纳米粒; 四氯化碳; 急性肝损伤

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)09-1102-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.002

Effects of Puerarin Solid Lipid Nanoparticles on Liver Injury

LIU Juan¹, GUO Yu¹, HU Mengyang², ZHAI Meifang¹, PING Yang¹, ZHANG Lingzhi¹, LI Xuexin¹, YU Lian^{1*} (1.College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China; 2.Clinical Medicine, Shandong University, Jinan 250000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To research the therapeutic effect of puerarin solid lipid nanoparticles(Pue-SLN) on liver injury in rats, prepare Pue-SLN and investigate drug release of Pue-SLN. **METHODS** Pue-SLN was prepared by emulsification ultrasonic dispersion method. Acute liver injury was induced by intraperitoneal injection of carbon tetrachloride in rats. Rats

基金项目: 国家自然科学基金项目(81274101)

作者简介: 刘娟, 女, 教授, 硕士 Tel: 13945472340 E-mail: liujuan1949@163.com *通信作者: 于莲, 女, 教授, 硕士 Tel: 13845405552 E-mail: jdyulian@163.com

were randomly divided into 6 groups: normal control group, model group, glycyrrhizinate acid diamine positive control group($13.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Pue-SLN groups with high concentration($27 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), middle concentration($13.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and low concentration ($6.75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). ALT, ALP, AST in serum and MDA, SOD, GSH-PX in liver tissue homogenate were detected. And then, liver index and obtained histomorphology examination of liver tissue were calculated. **RESULTS** Pue-SLN groups could significantly inhibit the activities of ALT, AST, ALP in serum, decrease the content of MDA in liver homogenate and increase the activities of SOD, GSH-PX in liver homogenate. Pue-SLN groups could improve the pathological of liver tissue via observing confirm the pathological section histomorphology of liver tissue. **CONCLUSION** Pue-SLN have therapeutic effects on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats.

KEY WORDS: puerarin; solid lipid nanoparticles; carbon tetrachloride; acute liver injury

葛根素(puerarin, Pue)是从豆科植物野葛的干燥根中提取的一种异黄酮类化合物,大量实验研究表明,Pue可通过抗交感样作用、钙拮抗作用及广泛的 β 受体阻滞作用,扩张血管、降血糖、降血脂、抗氧化,保护心、肝、肾等,且不良反应少^[1]。但Pue难以被胃肠道等生物膜吸收,因而口服生物利用度较低,限制了临床的应用,因此前期实验中将Pue制备成固体脂质(solid lipid nanoparticle, SLN)纳米粒,并对其各项指标进行考察,以提高Pue的生物利用度,并且研究Pue-SLN体外释放特性。本实验采用腹腔注射 CCl_4 制备大鼠急性肝损伤模型,研究Pue-SLN对大鼠急性肝损伤的治疗作用,为Pue制剂的研究提供药理学依据。

1 材料

1.1 动物

Wistar大鼠,48只,♀,体质量为(220 ± 20)g,购于哈尔滨医科大学实验动物学部,合格证编号:2015092301。

1.2 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国Agilent);FA2004N电子分析天平(上海恒平科学仪器有限公司);ZRD6-B型药物溶出仪(上海黄海药检仪器厂);TGL-16M台式高速冷冻离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司);AD₂OFL型冷冻干燥机(美国VirTis);UV765紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.3 药品与试剂

Pue原料药(中国药品生物制品检定所,纯度:98%,批号:0752-9907);Pue对照品(中国食品药品鉴定研究院,纯度:99%,批号:110752-201514);甲醇(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20150304);无水乙醇(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20140408);单硬脂酸甘油酯(北京化学试剂公司);泊洛沙姆(南京威尔化工有限

公司,批号:20100901);天门冬氨酸转移酶(aspartate transaminase, AST)试剂盒(批号:20150909)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)试剂盒(批号:20150918)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号:20150918)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(批号:20150922)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)试剂盒(批号:20150921)、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(批号:20150916)均购于南京建成生物工程研究所; CCl_4 (天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20120929);甘草酸二胺注射液(正大天晴药业集团股份有限公司,批号:150430104)。

2 方法

2.1 Pue-SLN的制备

经单因素实验及 $\text{L}_9(3^4)$ 正交实验筛选得到最佳制备工艺:称取Pue 10 mg,加甲醇定容至10 mL,超声溶解;称取单硬脂酸甘油酯150 mg,加入适量无水乙醇将单硬脂酸甘油酯超声溶解;称取泊洛沙姆125 mg,加入蒸馏水溶解至25 mL量瓶,超声溶解,将上述3种溶液加热至 78°C ,将Pue甲醇溶液与单硬脂酸甘油酯溶液混合得到油相,再将水相泊洛沙姆溶液缓慢滴加至油相中并搅拌,搅拌速度为 $900 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,搅拌时间为10 min,将初乳超声,超声功率60%,超声破碎10 min,冰水浴固化,过 $0.45 \mu\text{m}$ 水系滤膜,即得Pue-SLN溶液。

2.2 体外释药考察

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Inertsil ODS-3C₁₈($250 \text{ mm}\times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);流动相为甲醇-水(40:60);流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温为室温;检测波长为250 nm;进样量为 $10 \mu\text{L}$ 。

2.2.2 标准曲线的制备 称取Pue对照品适量,用PBS(pH 7.4)的缓冲液作为溶剂,配置成6个不同浓度的一系列对照品溶液,记录峰面积。

2.2.3 精密度试验 分别取低、中、高(8, 64, 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3种浓度的对照品溶液各5份, 同一天内重复进样5次, 计算日内精密度; 将对照品溶液放置4℃冰箱内, 并每天进样1次, 连续进样5d, 计算日间精密度。

2.2.4 回收率试验 精密吸取不同体积Pue储备液于量瓶中, 用流动相稀释成3种不同浓度(16, 48, 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的Pue溶液, 记录峰面积。

2.2.5 体外释放行为的研究 量取适量Pue和Pue-SLN溶液, 分别平行3份, 置于透析袋内, 扎紧后缚于溶出仪浆液的底部。量取适量pH 7.4的PBS溶出介质6份, 置于溶出杯内。恒温(37±0.5)℃, 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 分别在0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h取样5 mL, 随后立即补加等量、同温的释放介质。取出的释放介质过0.45 μm 滤膜, 用HPLC测定药物的含量, 计算药物的累积释放百分率。体外释药数据分别采用零级方程、一级方程、Higuchi方程及Weibull方程进行拟合。

2.3 Pue-SLN对动物肝损伤的作用

2.3.1 动物分组及处理 取Wistar大鼠48只, 适应性喂养3d后随机分成6组: 正常组、模型组、阳性组(甘草酸二胺13.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及Pue-SLN高浓度组(27 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中浓度组(13.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、低浓度组(6.75 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。受试动物均通过尾静脉注射给药, 除正常组外其他各组动物在实验前一天腹腔注射 CCl_4 造成急性肝损伤模型, 剂量为1 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 于次日按以上剂量每天给药1次, 正常组注射等量的生理盐水, 各组连续给药7d, 末次给药后禁食不禁水, 次日取血及肝组织, 备用。

2.3.2 生化指标的测定 取大鼠全血, 室温静置30 min, 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min分离血清, 按各试剂盒说明书测定ALT、AST、ALP的活性。取大鼠肝脏并称重计算肝脏指数[肝脏指数=肝重(g)/体质量(g)×100%]。取适量大鼠肝脏, 用4℃生理盐水冲洗除去血液, 按1:9体积制备10%的肝组织匀浆, 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min, 取上清液按各试剂盒说明书测定各组肝组织MDA、GSH-PX、SOD活性。

2.3.3 形态学观察 肝组织以4%多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片, HE染色, 光镜下观察肝组织切片的病理形态学变化。

2.3.4 统计学分析 应用SPSS 17.0统计软件进行数据分析, 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用多组间单因素

方差分析进行比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 体外释药

3.1.1 标准曲线的制备 以Pue浓度(C)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线, 得标准曲线方程为 $A=34.708C-2.7964$ ($r=0.9994$), 在8~80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

3.1.2 精密度试验 不同浓度的样品日内精密度的RSD分别为2.48%, 1.89%, 1.75%, 日间精密度的RSD分别为1.33%, 1.84%, 1.77%。Pue对照品溶液的精密度均 $<3\%$, 符合方法学要求。

3.1.3 回收率试验 不同浓度的样品回收率的RSD分别为1.94%, 2.31%, 2.08%。结果表明, 该方法回收率均 $<3\%$, 符合方法学要求。

3.1.4 体外释放曲线 Pue-SLN在24 h释放了药物的60%左右, 说明Pue-SLN具有一定的缓释作用, 结果见图1。对Pue-SLN累积释药曲线进行释药模型的拟合, 结果见表1。

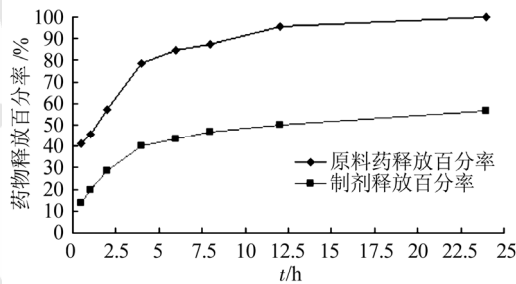


图1 葛根素、Pue-SLN在pH 7.4的缓冲溶液中的体外释放情况

Fig. 1 *In vitro* release profiles of puerarin and Pue-SLN in pH 7.4

表1 释药曲线拟合方程

Tab. 1 Results of release curve fitting

模型	方程	r
零级模型	$Q=1.6138t+25.826$	0.8301
一级模型	$\ln(1-Q)=-0.02721t-0.29571$	0.8791
Higuchi模型	$Q=10.065t^{1/2}+14.59$	0.9083
Weibull模型	$\ln[-\ln(1-Q)]=-0.46174\ln t-1.4689$	0.9823

r 越接近1, 说明拟合效果越好。由表1可知, Pue-SLN的释放符合Weibull模型的释放规律($r=0.9823$)。

3.2 Pue对急性肝损伤大鼠血清ALT、AST、ALP活性的影响

与正常组比较, 模型组大鼠血清中ALT、AST、ALP含量升高($P<0.01$), 说明大鼠急性肝损伤造模

成功。与模型组比较, Pue-SLN 高、中、低剂量组及阳性组大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活性均明显降低($P<0.01$), 随着给药剂量的加大抑制作用增强。说明 Pue-SLN 能显著抑制 ALT、AST、ALP 水平的升高, 减轻 CCl₄ 对大鼠肝组织的损伤程度。结果见表 2。

表 2 Pue-SLN 对 CCl₄ 肝损伤大鼠血清中 ALT、AST、ALP 活力的影响($n=6$, $\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Effect of Pue-SLN on the activity of ALT, AST, ALP in hepatic injury rat induced by CCl₄($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	ALT/U·gprot ⁻¹	AST/U·gprot ⁻¹	ALP/金氏单 位·(100 mL) ⁻¹
正常组	—	29.85±1.74	45.56±5.59	24.39±0.71
模型组	—	201.66±22.83 ¹⁾	235.36±33.88 ¹⁾	44.04±0.48 ¹⁾
阳性组	13.5	35.27±4.03 ²⁾	66.15±6.66 ²⁾	26.69±1.28 ²⁾
Pue-SLN				
高剂量组	27	46.05±6.37 ²⁾	57.29±2.01 ²⁾	29.79±1.39 ²⁾
中剂量组	13.5	77.53±7.72 ²⁾	111.96±13.11 ²⁾	35.53±2.03 ²⁾
低剂量组	6.75	164.69±10.85 ²⁾	166.11±14.31 ²⁾	40.61±3.06 ²⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$ 。
Notes: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$.

3.3 Pue 对急性肝损伤大鼠肝组织 MDA 含量、SOD、GSH-PX 活性和肝脏指数的影响
与正常组比较, 肝损伤模型组大鼠肝脏 MDA 活性升高($P<0.01$), GSH-PX、SOD 活性降低($P<0.01$), 说明大鼠急性肝损伤造模成功。与模型组比较, Pue-SLN 各剂量组和阳性组能不同程度

表 3 Pue-SLN 对 CCl₄ 肝损伤大鼠 MDA、SOD、GSH-PX 和肝脏指数的影响($n=6$, $\bar{x} \pm s$)
Tab. 3 Effect of Pue-SLN on MDA, SOD, GSH-PX and liver index in hepatic injury rat induced by CCl₄($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	MDA/nmol·mgprot ⁻¹	SOD/U·mgprot ⁻¹	GSH-PX	肝脏指数/%
正常组	—	4.61±0.21	266.28±17.08	170.17±12.80	2.81±0.07
模型组	—	20.71±2.26 ¹⁾	18.96±8.09 ¹⁾	72.05±5.98 ¹⁾	4.88±0.58 ¹⁾
阳性组	13.5	5.10±0.2 ²⁾	193.51±18.93 ²⁾	141.86±8.30 ²⁾	3.16±0.29 ²⁾
高剂量组	27	7.05±0.34 ²⁾	153.57±13.45 ²⁾	130.36±13.47 ²⁾	3.33±0.23 ²⁾
中剂量组	13.5	9.45±0.67 ²⁾	93.59±13.89 ²⁾	105.89±6.13 ²⁾	3.85±0.13 ²⁾
低剂量组	6.75	12.08±1.17 ²⁾	54.52±9.47 ²⁾	81.03±4.96	4.14±0.20 ²⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$ 。
Notes: compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$.

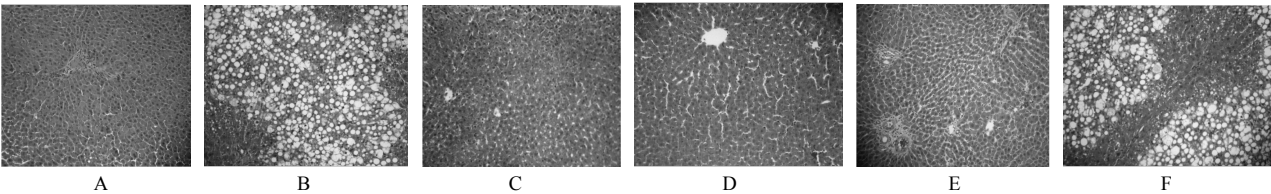


图 2 大鼠肝组织病理切片(100×)
A—正常组; B—模型组; C—阳性组; D—Pue-SLN 高剂量组; E—Pue-SLN 中剂量组; F—Pue-SLN 低剂量组。

Fig. 2 Pathological sections of rats liver tissue(100×)
A—normal group; B—model group; C—positive group; D—Pue-SLN high dose group; E—Pue-SLN middle dose group; F—Pue-SLN low dose group.

使 MDA 水平降低($P<0.01$), GSH-PX、SOD 水平升高($P<0.01$)。模型组大鼠肝脏指数显著高于空白组($P<0.01$), 说明模型组肝脏比正常组增大, Pue-SLN 各剂量组均能降低由 CCl₄ 引起的肝脏重量的增加($P<0.01$)。结果见表 3。

3.4 对急性肝损伤大鼠组织形态学的影响

肝组织切片经 HE 染色光镜观察后显示, 对照组肝组织结构清晰可见, 肝细胞结构及形态正常, 细胞核大小基本一致, 肝细胞未见坏死、变性、脂肪变性。模型组大鼠肝组织结构严重破坏, 肝细胞疏松化, 细胞核破碎, 明显浑浊, 有细胞坏死、变性, 炎症细胞广泛浸润并有大小不规则的空泡样结构。阳性组肝细胞结构较完整, 肝细胞炎症反应明显减轻, 可观察到较完整的细胞核, 无细胞坏死, 未见脂肪变性。与模型组比较, Pue-SLN 低剂量组有部分完整的细胞, 但数量较少, 有炎症细胞浸润, 但程度轻于模型组。中剂量组能看到部分完整的细胞, 肝细胞浑浊变性轻于模型组, 但仍可见部分炎症细胞浸润。高剂量组可见细胞基本上恢复完整形态, 细胞核明显, 炎症细胞浸润较少, 肝细胞浑浊程度明显消失, 与阳性组相似。结果见图 2。

4 讨论

活性氧自由基是机体内氧化还原反应的代谢产物, 生物体本身具有清除体内自由基的作用, 因此正常情况下自由基的产生和清除将维持在 1 个

动态平衡的水平,但是当肝脏受到一些有害物质的侵害时,自由基的代谢就会失去原有的平衡,在一定程度上会对机体造成损害^[2-4]。药效学研究表明,Pue注射液在 $0.15\sim 2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 均可清除羟自由基($\cdot\text{OH}$), $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时清除率达100%,并呈一定的量效关系^[5]。近年来有关自由基和脂质过氧化物对肝脏的影响作用备受研究人员的关注,探求肝病的治疗病因并寻求有效的治疗手段已经成为研究的热点。

CCl_4 为经典的肝毒物,在肝内经混合功能氧化酶作用形成三氯甲基自由基,导致脂质过氧化反应损伤肝细胞^[6]。本实验用 CCl_4 诱导大鼠急性肝损伤作为模型,并研究Pue-SLN对大鼠急性肝损伤的治疗作用。

CCl_4 具有很强的肝毒性,能破坏肝细胞膜的完整性,并损伤其结构和功能,最后导致胞质液内的酶类溢出,因此血清中ALT、AST、ALP是反应肝细胞损伤的指标,是肝脏受损的重要标志,本实验结果表明,给大鼠注射Pue-SLN 27, 13.5, $6.75\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后,大鼠血清中ALT、AST、ALP较模型组活性均明显降低,说明Pue-SLN各剂量组均能增强肝细胞的抗损伤能力。

SOD是氧自由基的清除剂,可抑制脂质过氧化反应。MDA是脂质过氧化的最终产物,可严重破坏细胞膜的结构,其含量反映了组织过氧化的损伤程度。GSH-PX是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。本实验结果表明,Pue-SLN高、中、低剂量可升高肝损伤模型SOD、

GSH-PX活性,同时降低MDA的含量,说明Pue-SLN具有增强肝细胞膜稳定性的作用,并可保护肝细胞膜结构和功能的完整性。

肝组织病理切片显示,模型组炎细胞浸润严重,看不到完整的细胞结构,呈现广泛的肝细胞坏死、变性,而各给药剂量组均能减轻病灶,改善肝细胞的坏死程度,减轻炎症细胞的浸润程度,进一步表明Pue-SLN对 CCl_4 所致的大鼠急性肝损伤具有一定的治疗作用。

综上所述,Pue-SLN具有较好的对抗肝损伤的作用,作用机制可能与其抗脂质过氧化作用有关,相关内容有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] 张小文. 葛根素的药理作用[J]. 科技信息, 2010(26): 360.
- [2] LIU Q, XIAO J. Protective effect of angelicasinensis polysaccharides in hepatic injuries by tetra-chloride intoxication [J]. Chin Med Res Clin(中国医学研究与临床), 2006, 4(3): 4-5.
- [3] WANG Z J, LUO D H. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphyllum* Makino [J]. Carbohydr Polym, 2007, 68(1): 54-58.
- [4] MOTTARAN E, STEWART S F, ROLLA R, et al. Lipid peroxidation contributes to immune reactions associated with alcoholic liver disease [J]. Free Radic Biol Med, 2002, 32(1): 38-45.
- [5] 邝枣园, 吴伟, 黄衍寿. 葛根素、丹参、川芎嗪注射液对羟自由基水平的影响[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(2): 92-93.
- [6] WANG W, PAN X W, SHAO Y D, et al. Protective effect of 18 α -glycyrrhizic acid solid lipid nanoparticles on acute liver injury in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(7): 798-802.

收稿日期: 2016-02-12

UFLC-MS/MS 测定人胎盘灌流液中齐多夫定浓度

王晶晶, 黄桦, 王晶, 周琼, 姚勤, 张峻* (昆明医科大学第一附属医院临床药学科, 昆明 650032)

摘要: 目的 建立UFLC-MS/MS法测定人胎盘灌流液中齐多夫定浓度。方法 以米氮平为内标,采用蛋白沉淀的前处理方法,使用Synergi 4u Hydro-RP 80A分析柱(50 mm $\times$ 2.00 mm, 4 μm),流动相A为含0.1%甲酸的水溶液,流动相B为甲醇,采用梯度洗脱,流速 $0.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。质谱采用电喷雾离子源(ESI)以多反应监测(MRM)扫描模式,在正离子电离模式下进行测定,齐多夫定和米氮平的定量分析离子分别为 m/z 268.1/127.1和266.2/195.0。结果 齐多夫定在 $25\sim 5\,000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好,平均方法回收率90.5%~96.7%,日内及日间精密度RSD均 $<15\%$,稳定性考察结果良好。

基金项目: 国家自然科学基金(81360108)

作者简介: 王晶晶,女,硕士,药师 Tel: (0871)65324888-2550 E-mail: wangjingjing024@163.com *通信作者: 张峻,女,硕士,主任药师 Tel: (0871)65324888-2550 E-mail: zhangjunyang@126.com