

· 药物代谢 ·

基于自动采血系统与 HPLC-QQQ-MS 的青藤碱药动学分析

赵小亮¹, 李涛¹, 刘洋¹, 张美玉¹, 陈跃², 崔月¹, 张莹¹, 孙丹丹¹, 王志国¹, 王丹巧^{1*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京市中医药防治重大疾病基础研究重点实验室, 北京 100700;

2. 山东省分析测试中心, 济南 250014)

[摘要] 目的:建立灵敏、简便、准确的自动采血系统采集大鼠血浆样本,高效液相色谱-三重四级杆质谱联用技术(HPLC-QQQ-MS)测定血浆中青藤碱含量的方法,并应用于其体内药代动力学研究。方法:SD大鼠颈总静脉插管,待清醒后按 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射青藤碱,应用自动采血系统在大鼠自由活动状态下采集样品。血浆样品中加入内标(磷酸可待因),乙腈沉淀蛋白,流动相乙腈-水(含0.1%甲酸铵)梯度洗脱。质谱采用电喷雾电离源(ESI),扫描方式为多反应离子监测模式(MRM),定量分析离子对分别为青藤碱 m/z 330.0,磷酸可待因 m/z 300.0。利用WinNonlin软件计算药代动力学参数。结果:血浆中青藤碱在 $5.0\sim 500.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好,定量下限 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,样品处理方法的提取回收率 $>88\%$,日内及日间准确度 $101.08\%\sim 111.08\%$,RSD均 $<10\%$,稳定性良好。血浆中青藤碱的达峰时间(t_{\max}),药峰浓度(C_{\max}),药时曲线下面积($\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$),表观分布容积(V_z/F),清除率(CL/F),平均驻留时间($\text{MRT}_{0-24\text{ h}}$)分别为(1.65 ± 1.48)h, (210.43 ± 96.35) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, ($1\ 053.80\pm 427.69$) $\text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, (252.65 ± 57.36) $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$, (30.37 ± 11.85) $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$, (5.15 ± 2.47)h。结论:建立的方法有效控制了采血过程对药动学分析结果的影响,样品用量少,简便、准确、可靠,能够满足自由活动大鼠体内青藤碱连续定量分析和药代动力学研究。

[关键词] 青藤碱;自动采血系统;自由活动大鼠;药代动力学;高效液相色谱-三重四级杆质谱联用技术

[中图分类号] R969.1;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)14-0066-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015140066

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150527.1027.004.html>

[网络出版时间] 2015-05-27 10:27

Pharmacokinetic Analysis of Sinomenine Based on Automatic Blood Sampling System and HPLC-QQQ-MS

ZHAO Xiao-liang¹, LI Tao¹, LIU Yang¹, ZHANG Mei-yu¹, CHEN Yue², CUI Yue¹, ZHANG Ying¹, SUN Dan-dan¹, WANG Zhi-guo¹, WANG Dan-qiao^{1*}

(1. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Basic Research on Prevention and Treatment of Major Disease, Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Shandong Analysis and Test Center, Jinan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a sensitive and accurate automatic blood sampling system and HPLC-QQQ-MS method for determining the content of sinomenine and its pharmacokinetic characteristics in rat plasma.

Method: SD rats were jugular vein cannula and intraperitoneal injected with $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sinomenine after sober, blood samples were collected in rats at freely moving state by automatic blood sampling system. Codeine phosphate was used as the internal standard calibration in $20\text{ }\mu\text{L}$ sample, acetonitrile for protein precipitation. Gradient elution was performed on a Zorbax XBD-C₁₈ column, mobile phase was consisted of 0.1% ammonium formate and acetonitrile. The analyte was detected using electrospray ionization (ESI) in multiple reaction monitoring (MRM) modes. Reaction selected ions were m/z 330.0 for sinomenine and m/z 300.0 for internal standard.

[收稿日期] 20141024(011)

[基金项目] 国家科技部国际科技合作项目(2010DFA31890);中国中医科学院自主选题(zz2012006)

[第一作者] 赵小亮,博士,助理研究员,从事中药化学及中药代动力学研究,Tel:010-64089530,E-mail:zhaoxiaoliang1218@aliyun.com

[通讯作者] *王丹巧,博士,研究员,从事中药药理学研究,Tel:010-64089529,E-mail:dqwang_@sohu.com

Pharmacokinetic parameters were calculated by Phoenix WinNonlin software. **Result:** Linear ranges of sinomenine was $5.0\text{--}500.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, extract recovery of this method was more than 88%, the lower limit of quantification was $1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, intra-day and inter-batch accuracy was 101.08% ~ 111.08% with RSD were less than 10%. Stability was well. Main pharmacokinetic parameters of t_{\max} , C_{\max} , $\text{AUC}_{0\text{--}24\text{h}}$, V_z/F , CL/F and $\text{MRT}_{0\text{--}24\text{h}}$ were $(1.65 \pm 1.48)\text{ h}$, $(210.43 \pm 96.35)\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $(1\ 053.80 \pm 427.69)\ \text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $(252.65 \pm 57.36)\ \text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$, $(30.37 \pm 11.85)\ \text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $(5.15 \pm 2.47)\text{ h}$, respectively. **Conclusion:** It is first time to establish a method using automatic blood sampler and HPLC-QQQ-MS to collect blood sample and determine the concentration of sinomenine in rat plasma. This method needs less sample quantity. It is so easy, accurate and sensitive for using in *in vivo* quantitative analysis of sinomenine.

[Key words] sinomenine; automatic blood sampling system; freely moving rats; pharmacokinetics; HPLC-QQQ-MS

青藤碱来源于防己科植物青藤的根茎及蝙蝠葛的叶,结构与吗啡类似,具有抗炎、免疫抑制、镇痛镇静、降血压等作用,对阿片类依赖有防治作用,但其本身无成瘾性^[1]。药理学研究表明青藤碱可显著抑制细胞环氧酶-2 的表达,达到抗炎目的从而发挥镇痛作用^[2];可下调单核/巨噬细胞系统炎症介质和肿瘤坏死因子,通过调节免疫,发挥抗炎、抗风湿作用^[3]。前期研究发现青藤碱腹腔注射可调节大鼠脑内去甲肾上腺素、多巴胺及 5-羟色胺 3 种单胺类神经元通路,抑制疼痛中枢内兴奋性氨基酸谷氨酸的释放,发挥对神经源性疼痛的治疗作用^[4-5]。

自动采血系统是近年兴起的临床及实验室血液采集及管理系统,可替代人工采血方法并优化采血作业流程,可有效控制采血过程对药代动力学分析结果的影响。自动采血系统建立在精确的蠕动泵基础上,有效控制流体的输送,搭配同轴感应器确保收集到的是纯血样品。低漏失模式可把先采集的稀释血液重新回补到动物体内,最大程度地减少动物血液量的丢失。自动采血系统可在动物清醒自由活动状态下完成连续在线取血,既降低了动物在取血过程中的紧张性,又保证了动物良好的生命状态。大鼠血样采集及检测系统见图 1。

关于青藤碱体内药代动力学的研究已有报道^[6-10],给药方式常采用口服、静脉注射、肌肉注射和皮肤给药等,分析方法多采用 HPLC, LC-MS 法等。但生物样品的处理方法,操作相对复杂,样品使用量大,分析方法的灵敏度有待提高;生物样品的采集多采用传统的眼眶取血、大鼠尾静脉取血等,存在采集样品不连续,易损失,采集的血液可能溶血、凝血,动物失血过多导致状态欠佳等问题;药动学结果分析则普遍采用经典房室模型作为模型拟合方法。本实验采用自动采血技术从清醒自由活动大鼠颈静脉取血,结合 HPLC-QQQ-MS 检测方法分析大鼠单次腹腔注射青藤碱后血浆中药物浓度,利用非房室模型模拟青藤碱在大鼠体内的药动学过程,提供客观真实的药代动力学参数,为青藤碱药效-药动学研究提供实验依据。

1 材料

6410 型高效液相色谱-三重四级杆质谱联用技术 (HPLC-QQQ-MS, 美国 Agilent 公司), Arium 61316/611VF 型超纯水处理器和 BT25S 型分析天平 (德国赛多利斯公司), DC12 型氮吹仪 (上海安谱科学仪器有限公司), ABS 型自动采血仪 (美国 Instech Solomon Scientific 公司), 5417R 型台式低温高速离心机 (德国 Eppendorf 公司), AB Dancer 型混匀仪 (德国 IKA 公司)。

青藤碱、磷酸可待因对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110774-200507, 171203-200303, 纯度均 > 98%), 乙腈、甲酸铵为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

清洁级 SD 大鼠, 雄性, 体重 200 ~ 220 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2012-0001。

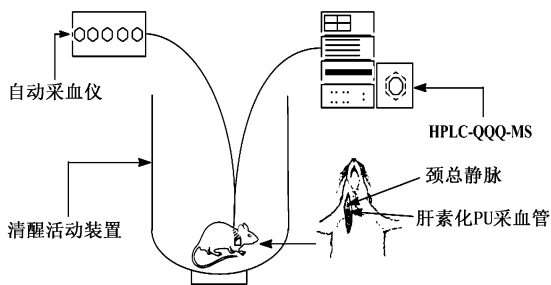


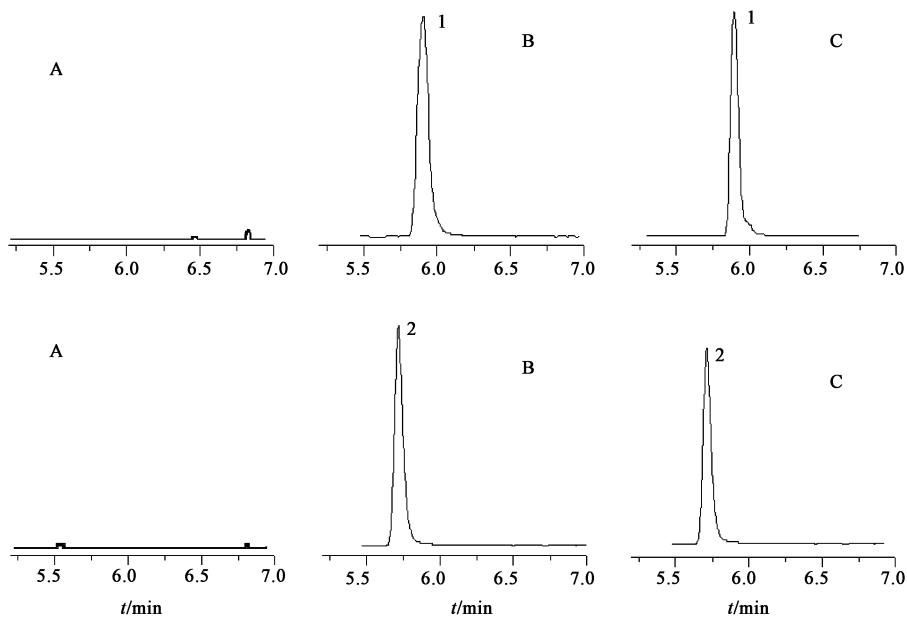
图 1 自由活动大鼠血样采集及检测系统
Fig.1 Blood collection and detection system for freely moving rats

2 方法与结果

2.1 给药与采样 大鼠实验前禁食 > 12 h, 自由饮水。将长约 15 cm 的肝素化聚乙烯采血管一端切为 45 度斜面。大鼠按 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射水合氯醛麻醉, 仰卧位固定, 颈部近锁骨位置切开长约 1.5 cm 切口, 钝性分离结缔组织和肌肉, 暴露颈总静脉, 用线结扎远心端, 并在近心端预置 1 根结扎用线, 用止血钳牵拉远心端线, 使血管充盈, 显微剪剪开小口, 插管, 确定可顺利抽血后, 结扎, 并将采血管充满肝素后封闭。用眼科剪在大鼠插管侧颈部、肩部各做一切口, 用止血钳经颈部切口在皮下穿行至大鼠肩部后夹住采血管末端, 将其牵引至肩部切口处, 利用大鼠采血马甲将采血管连接并固定。待大鼠恢复清醒状态后, 依据前期实验的给药方法及剂量^[5], 腹腔注射给予高剂量 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 青藤碱后, 将大鼠自动采血装置采血管路连接至采血马甲接口, 并应用自动采血装置分别于给药后 5, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 720, 1 440 min 从大鼠颈总静脉取血并置于肝素化试管中, 仪器同时自动补充相同体积的肝素钠生理盐水 ($10 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$), 于 $3 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冻存, 备用。实验过程中观察大鼠的状态, 严密监测青藤碱的毒副作用。

2.2 血浆样品前处理 精密称取磷酸可待因对照品适量, 用乙腈定容, 配成 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内标溶液。取血浆样品, 室温下涡旋震荡, 混匀。精密吸取血浆样品 $20 \text{ } \mu\text{L}$ 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内标溶液 $20 \text{ } \mu\text{L}$ 和乙腈 $60 \text{ } \mu\text{L}$, 涡旋震荡 1 min, 于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $15 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液 $50 \text{ } \mu\text{L}$, 置于 1.5 mL 离心管中, 常温水浴氮气流下吹干, 残渣用流动相初始比例 $200 \text{ } \mu\text{L}$ 复溶, 涡旋震荡混匀 1 min, 即可。

2.3 检测条件 色谱条件为 Zorbax XBD- C_{18} 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$, $1.8 \text{ } \mu\text{m}$), 流动相乙腈-水 (含 0.1% 甲酸铵) 梯度洗脱 (0 ~ 1.5 min, 10% ~ 30% A; 1.5 ~ 2 min, 30% ~ 70% A; 2 ~ 3.5 min, 70% ~ 90% A; 3.5 ~ 5.5 min, 90% A; 5.5 ~ 5.6 min, 90% ~ 10% A; 5.6 ~ 10 min, 10% A), 流速 $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。质谱条件为 ESI 离子源, MRM 模式, 干燥气温度 $350 \text{ }^\circ\text{C}$, 流速 $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 雾化电压 5.5 kV, 鞘气 206.85 kPa, 载气 N_2 。碎裂电压 38 eV (青藤碱) 和 48 eV (内标), 采集离子对青藤碱 m/z 330.0, 内标 m/z 300.0。见图 2。结果显示青藤碱与内标分离较好, 血浆中内源性物质不干扰青藤碱的测定, 本方法具有较好的专属性。



A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 青藤碱或内标; C. 供试品; 1. 青藤碱; 2. 磷酸可待因

图2 腹腔注射青藤碱后 24 h 的大鼠含药血浆 HPLC-MS/MS

Fig. 2 HPLC-MS/MS of sinomenine in rat plasma after intraperitoneal injection of 24 h

2.4 溶液配制 精密称取青藤碱对照品, 加少量甲醇溶解, 用乙腈定容, 配制成 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品母液; 精密吸取该母液适量, 用乙腈稀释为 500, 200,

50, 10, 5 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。分别取高、中、低 3 个质量浓度的对照品溶液 (500, 200, 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 $100 \text{ } \mu\text{L}$, 常温水浴氮气流下吹

干,各加入空白血浆 100 μL ,混匀,得质量控制 (quality control, QC) 样品。

2.5 线性范围 精密吸取空白血浆 20 μL ,分别加入 **2.4** 项下系列对照品溶液 20 μL ,各加入 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 内标溶液 20 μL 和乙腈 40 μL ,配成青藤碱血浆质量浓度约 500,200,50,10,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,内标质量浓度约 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的模拟生物样品。按 **2.2** 项下自“涡旋震荡 1 min”开始操作,取 5 μL 进样分析,以质量浓度为横坐标,青藤碱峰面积与内标峰面积比值为纵坐标,得回归方程 $Y = 1.3547X + 0.0934 (r = 0.9986)$,线性范围 5.0 ~ 500.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,定量下限 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.6 提取回收率与基质效应 取高、中、低质量浓度的 QC 样品 (500,200,10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,下同) 各 20 μL ,按 **2.2** 项下方法操作,每个质量浓度样品平行制备 5 份,进样分析得各成分色谱峰面积 A。另取空白血浆样品,按 **2.2** 项下方法操作,蛋白沉淀后,上清液加入相应等质量浓度的对照品溶液,同法得色谱峰面积 B。取等质量浓度对照品溶液,常温水浴氮气吹干,残渣用流动相 200 μL 复溶,涡旋震荡混匀

1 min,进样得各成分色谱峰面积 C。A 与 B 的比值为提取回收率,B 与 C 的比值为基质效应。结果 3 个质量浓度样品的提取回收率在 88.20% ~ 93.52%,基质效应在 96.21% ~ 118.79%,RSD 均 < 10.0%;内标的提取回收率 (93.12 \pm 3.12)%,基质效应 (108.55 \pm 5.11)%,RSD 分别为 3.4%,4.7%。表明此样品处理方法适用。

2.7 精密度与准确度 取高、中、低质量浓度的 QC 样品各 20 μL ,按 **2.2** 项下方法操作 ($n = 5$),取 5 μL 进样分析,连续测定 3 d。计算准确度与日内、日间精密度,见表 1。结果表明准确度和精密度试验结果符合生物样品分析方法的要求。

2.8 稳定性试验 取高、中、低质量浓度的 QC 样品各 20 μL ,按 **2.2** 项下方法操作,取 5 μL 进样分析,考察青藤碱在不同处理条件下的稳定性,包括经历 2 次冻融 (-30 $^{\circ}\text{C}$ 冻存 24 h,室温融化),室温放置 3 h,处理后的样品进样室中放置 24 h。所有样品平行制备 3 份,结果见表 2。表明稳定性均基本良好。

表 1 大鼠血浆中青藤碱的精密度及准确度 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Accuracy and precision of sinomenine in rat plasma ($\bar{x} \pm s$)

质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	日内 ($n = 5$)			日间 ($n = 3$)		
	实测质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	准确度/%	精密度/%	实测质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	准确度/%	精密度/%
10	11.11 \pm 1.04	111.08 \pm 10.40	9.4	10.67 \pm 1.01	106.67 \pm 10.11	9.5
200	207.02 \pm 3.11	103.51 \pm 1.55	1.5	210.02 \pm 5.98	105.01 \pm 2.99	2.9
500	505.39 \pm 11.00	101.08 \pm 2.20	2.2	507.47 \pm 7.06	101.49 \pm 1.41	1.4

表 2 不同处理条件下大鼠血浆中青藤碱的稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Stability of sinomenine in rat plasma under different pre-processing conditions ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	冻融 1 次/%	冻融 2 次/%	室温放置 3 h/%	进样室放置 24 h/%
10	112.17 \pm 38.57	113.36 \pm 82.29	109.36 \pm 7.78	86.08 \pm 23.3
200	108.32 \pm 23.06	95.40 \pm 2.99	104.56 \pm 29.29	114.57 \pm 4.18
500	110.07 \pm 10.53	113.98 \pm 12.3	112.41 \pm 14.09	109.95 \pm 9.31

2.9 青藤碱药代动力学研究 实验过程中未发现青藤碱有明显的毒副作用。应用建立的 HPLC-QQQ-MS 测定各时间点血药浓度,数据用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,药时数据采用 Phoenix WinNonlin 6.2 药代动力学软件处理,非房室方法计算药代动力学参数,见图 3 和表 3。结果显示青藤碱在大鼠各时间点血浆中均能检测到,有完整的体内过程,但药代参数显示个体差异较大。

3 讨论

应用自动采血系统采血全过程中,未观察到大

鼠有明显不适反应,仪器对红细胞比容 (Hct) 监测的结果显示,同一只大鼠连续采血的 24 h 内,Hct 无明显下降,提示大鼠血液红细胞体积比未因采血受到明显影响,采集血液样本为不含稀释血的纯血样本。运用自动采血系统对大鼠进行血样采集与传统的大鼠眼眶取血和尾静脉取血相比,具有采样精度高、人为因素影响小、样本易保存等优势,使药代动力学过程更真实准确。

关于青藤碱血浆浓度的测定已有文献报道,但样本使用量较大,均 > 100 μL ;处理方法相对复杂,

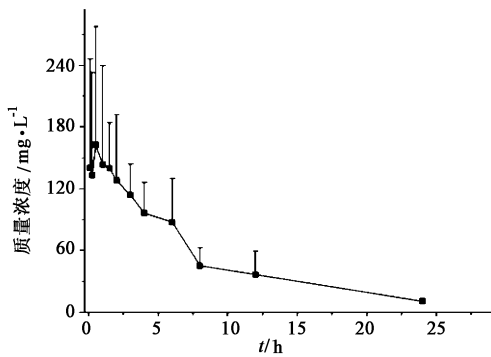


图 3 大鼠腹腔注射青藤碱后血浆浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Mean concentration-time profiles of sinomenine in rat plasma after intraperitoneal injection ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 3 青藤碱在大鼠体内的药代动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of sinomenine in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	青藤碱	个体差异值范围
$HL_{\lambda z}$	h	6.73 ± 3.50	2.5 ~ 13.1
t_{max}	h	1.65 ± 1.48	0.1 ~ 3.0
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	210.43 ± 96.35	93.1 ~ 346.9
$AUC_{0-24\text{h}}$	$\text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$1\ 053.80 \pm 427.69$	580.2 ~ 1 494.2
V_z/F	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	252.65 ± 57.36	158.3 ~ 334.8
CL/F	$\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	30.37 ± 11.85	14.8 ~ 45.3
$MRT_{0-24\text{h}}$	h	5.15 ± 2.47	1.6 ~ 8.4

如 Long 等^[7]处理血浆样本时,先加入无水甲醇沉淀蛋白,离心后加入硫酸锌,再离心取上清;Liu 等^[6]则对血浆样本先离心 6 min,在上清中加入 4.5% 高氯酸水溶液,震荡 5 min 后再离心 10 min 分离变性蛋白。本文中血浆样本的用量仅 20 μL ,样本处理方法简单,且提取回收率高,方法稳定性好,灵敏度高,内源性杂质未见干扰。为准确定量,选择了与青藤碱理化性质相近的可待因作为内标,虽与青藤碱出峰时间较接近,但不影响质谱检测。

在房室模型拟合时,有些个体数据拒绝拟合。由于非房室模型不受经典房室模型限制,具有限制性假设较少,只要求药-时曲线的尾端符合指数消除的优点,且解决了不可应用相同房室模型拟合全部数据的问题^[11]。故本文药时数据采用非房室模型进行拟合。前期依据神经源性疼痛病因病机特点的药效学试验结果表明,腹腔按 $40\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 注射青藤

碱可在 0.5 ~ 4 h 内明显减轻大鼠的神经源性疼痛敏感行为^[5]。药代参数结果显示青藤碱在大鼠体内达峰时间 1.65 h,体内滞留时间 5.15 h,这也对前期药效学结果进行了解释。

[参考文献]

[1] 王彩云,莫志贤,朱和双,等. 青藤碱对吗啡依赖大鼠吗啡戒断症状及单胺类神经递质的影响[J]. 中药材,2002,25(5):337-339.

[2] 陈炜,沈悦娣,赵光树,等. 青藤碱对脂多糖诱导的神经细胞环氧酶-2 表达的影响[J]. 中国中药杂志,2004,29(9):900-903.

[3] 李晓娟,王培训,刘良,等. 青藤碱抗炎抗风湿作用机理研究[J]. 广州中医药大学学报,2004,21(1):34-36.

[4] 张美玉,李鹏,王丹巧,等. 青藤碱对 SSNI 模型大鼠镇痛效应和纹状体细胞外液单胺类递质的影响[J]. 中国中药杂志,2013,38(4):597-604.

[5] 李鹏,张美玉,王丹巧,等. 青藤碱对 SSNI 模型大鼠镇痛效应及脑内兴奋性氨基酸递质的影响[J]. 中国药理学通报,2012,28(10):1365-1369.

[6] Liu Z Q, Chan K, Zhou H, et al. The pharmacokinetics and tissue distribution of sinomenine in rats and its protein binding ability *in vitro* [J]. Life Sci, 2005, 77(25):3197-3209.

[7] Long L H, Wu P F, Chen X L, et al. HPLC and LC-MS analysis of sinomenine and its application in pharmacokinetic studies in rats [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2010, 31(11):1508-1514.

[8] 张斯汉,周远大,何海霞. 正清风痛宁肠溶片的生物等效性研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(6):683-685.

[9] 惠先,徐坤,豆婧婧,等. 青藤碱传递体经皮给药的药动学和药效学研究 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(5):374-377.

[10] Xie Y, Jiang Z H, Zhou H, et al. The pharmacokinetic study of sinomenine, paeoniflorin and paeonol in rats after oral administration of a herbal product Qingfu Guanjiessu capsule by HPLC [J]. Biomed Chromatogr, 2014, 28(9):1294-1302.

[11] 王广基. 药物代谢动力学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005:103.

[责任编辑 刘德文]