

超高效液相色谱-串联质谱法测定去氢骆驼蓬碱衍生物 DH-330 血药浓度及其在大鼠体内的药动学评价^Δ

高惠静^{1*}, 阿尔斯兰·艾合买提², 许兆辉³, 范文玺³, 陈国儒⁴, 赵军^{1#}(1.新疆医科大学第一附属医院药学部, 乌鲁木齐 830054; 2.新疆维吾尔自治区食品药品检验所, 乌鲁木齐 830002; 3.新疆华世丹药业股份有限公司, 乌鲁木齐 830011; 4.新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)12-1590-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.12.02

摘要 目的:建立大鼠血浆中去氢骆驼蓬碱衍生物 DH-330 的测定方法,并对大鼠灌胃 DH-330 后的药动学行为进行评价。方法:以替硝唑为内标,血浆样品以乙腈沉淀蛋白处理后,采用超高效液相色谱-串联质谱法测定血药浓度。色谱分析采用色谱柱为 Waters ACQUITY BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm),流动相为乙腈-甲醇-0.5% 甲酸水溶液(15:55:30, V/V/V),流速为 0.4 mL/min,柱温为 30 ℃,进样量为 5 μL;质谱分析采用电喷雾电离源,正离子扫描,离子源温度为 124 ℃,DH-330 检测质荷比(*m/z*)为 335.8→334.8,内标 *m/z* 为 247.0→81.0。取 6 只 Wistar 大鼠,灌胃 DH-330 混悬液(50 mg/kg),分别于给药前(0 h)及给药后 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24 h 时于大鼠眼底静脉丛采血,测定 DH-330 血药浓度并绘制血药浓度-时间曲线,并采用 Kinetic 5.0 软件计算其药动学参数。结果:DH-330 血药浓度的线性范围为 25.05~2 004 ng/mL(*r*=0.999 8),定量下限为 25.05 ng/mL;日内、日间精密度 RSD 均小于 10%;准确度相对误差(RE)为-9.76%~4.55%,提取回收率大于 85%(RSD<5%);稳定性 RE 为-2.53%~2.29%;不受基质效应或进样残留效应的影响。大鼠灌胃 DH-330 后达峰浓度为(1 162.43±241.72)ng/mL,药-时曲线下面积为(3 242.93±652.31)ng·h/mL,半衰期为(1.93±0.61)h,平均滞留时间为(3.23±0.30)h,清除率为(16.80±5.30)L/(h·kg),稳态表观分布容积为(54.78±19.64)L/kg。结论:本研究建立的方法具有操作简便,专属性强,灵敏度、精密度及回收率高等优点,可用于大鼠血浆中 DH-330 血药浓度的测定。大鼠灌胃给药后, DH-330 的半衰期短,吸收迅速,表观分布容积大,表明其具有高的亲脂性,可能主要集中分布于组织中。

关键词 去氢骆驼蓬碱衍生物;DH-330;超高效液相色谱-串联质谱法;血药浓度;药动学;大鼠

Determination of Plasma Concentration of Harmine Derivative DH-330 by UPLC-MS and Its Pharmacokinetics Evaluation in Rats

GAO Huijing¹, Arslan·Ahmat², XU Zhaohui³, FAN Wenxi³, CHEN Guoru⁴, ZHAO Jun¹(1. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China; 2. Xinjiang Institute for Food and Drug Control, Urumqi 830002, China; 3. Xinjiang Huashidan Pharmaceutical Co., Ltd., Urumqi 830011, China; 4. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

参考文献

- [1] 国家统计局.2017 年全国科技经费投入统计公报[EB/OL].(2018-10-09)[2019-01-22]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/tjgb/rdpcgb/qgkjffrtjgb/201810/t20181012_1627451.html.
- [2] 徐秋雨,何苗,蔡琳敏.创新药能力不足 仿制药大而不强 中国医药该怎么和世界比?[EB/OL].(2018-05-04)[2019-01-22]. <https://www.jiemian.com/article/2110060.html>.
- [3] 王琪.基于超效率 DEA 方法下的中部重点城市创新效率评价[J].价值工程,2019(1):20-22.
- [4] 吴文江.用超效率综合 DEA 模型来研究 DEA 有效性[J].数学的实践与认识,2012,42(4):158-165.
- [5] 江雯雯,王东宇,陈玉文.我国医药制造业出口贸易活动与研发资金投入关系研究:基于 VAR 模型[J].科技管理研究,2018,43(5):97-104.
- [6] 陈素琴.研发投入与企业财务绩效的相关性[J].开发研究,2018(3):144-152.
- [7] 吴丹丹,席晓宇,徐怀伏.研发投入的滞后效应研究:基于医药制造业的分析[J].中国卫生事业管理,2018(11):830-861.

(收稿日期:2019-03-10 修回日期:2019-05-11)

(编辑:孙冰)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of harmine derivative DH-330 in rat plasma and to use it for pharmacokinetic behavior evaluation of DH-330 in rats after intragastric administration. METHODS: Using tinidazole as internal standard, after pre-treatment of acetonitrile precipitated protein, UPLC-MS method was adopted to determine the plasma concentration of DH-330. UPLC analysis was performed on Waters ACQUITY BEH C₁₈ column (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-methanol-0.5% formic acid aqueous solution(15:55:30, V/V/V) at flow rate of 0.4 mL/min, while the column temperature was 30 °C, and sample size was 5 μL. MS analysis was conducted by electrospray ionization source, positive ion scanning, ion source temperature at 124 °C, DH-330 detection of mass to charge ratio (*m/z*) of 335.8→334.8, and internal standard *m/z* of 247.0→81.0. Six Wistar rats were given DH-330 suspension (50 mg/kg) intragastrically. Blood samples were collected from fundus venous plexus capillary before administration (0 h) and 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h after administration. Plasma concentration of DH-330 was determined and plasma concentration-time curves were drawn. Pharmacokinetic parameters were calculated by using Kinetica 5.0 software. RESULTS: The linear ranges of DH-330 were 25.05-2 004 ng/mL (*r*=0.999 8), and the limits of quantitation was 25.05 ng/mL. RSDs of intra-day and inter-day were all less than 10%. The accuracy RE was -9.76% to 4.55%. The extraction recovery was higher than 85% (RSD<5%). Stability RE was -2.53% to 2.29%. They were not affected by matrix effect or residual effect of injection. The pharmacokinetic parameters of DH-330 in rats after intragastric administration included that *c*_{max} was (1 162.43 ± 241.72)ng/mL, AUC_{0-∞} was (3 242.93 ± 652.31)ng·h/mL, *t*_{1/2} was (1.93 ± 0.61)h, MRT was (3.23 ± 0.30)h, CL was (16.80 ± 5.30)L/h·kg, *V*_{ss} was (54.78 ± 19.64)L/kg. CONCLUSIONS: The established method is simple, specific, sensitive, precise and recovery, which can be used for the plasma concentration determination of DH-330 in rats. DH-330 has short half-life, rapid absorption and large apparent distribution volume after intragastric administration in rats, which indicates that it has high lipophilicity and may be mainly distributed in tissues.

KEYWORDS Harmine derivative; DH-330; UPLC-MS; Plasma concentration; Pharmacokinetics; Rats

骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)系蒺藜科多年生草本植物,在我国主要分布于西北部的新疆、甘肃、内蒙古、宁夏等干旱地区^[1],是我国维吾尔族、蒙古族、哈萨克族等民族沿用已久的民族药,已被列入维吾尔药卫生部药品标准。骆驼蓬的药用部位主要是其种子,即骆驼蓬籽。骆驼蓬籽中含有大量生物碱,其中主要为骆驼蓬碱(Harmaline)和去氢骆驼蓬碱(Harmine)^[2]。

骆驼蓬生物碱和去氢骆驼蓬生物碱具有广泛的药理作用,如抗炎、镇痛、止痒、调节免疫、抗银屑病^[3]、抗包虫^[4]、抗肿瘤^[5-6]等,但由于其具有明显的神经毒性而未能成功开发并应用于临床。为此,本课题组对去氢骆驼蓬碱的β-咪啉环上第9位进行了结构改造,合成了无神经毒性并具有较高抗肿瘤活性的去氢骆驼蓬碱衍生物DH-330^[7],其药动学行为是影响其能否开发成新药的重要因素之一。

超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS)联用技术集液相色谱法的高分辨能力和质谱法的高灵敏度、高选择性于一体,近年来被广泛应用于医药领域,包括药物及其代谢产物分析、天然产物化学成分分析等方面^[8],而且无需复杂的样品处理过程,在药动学研究中发挥了很大作用^[9]。基于此,本研究采用UPLC-MS联用技术建立了一种简便、快速的测定大鼠血浆中DH-330浓度的方法,并对该衍生物在大鼠体内的药动学特征进行研究,旨在为DH-330的开发和应用以及下一步其体内代谢物的研究提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY H-Class型超高效液相色谱仪(美国Waters公司);FJY1002-UVF基因研究型超纯水机(青岛富勒姆科技有限公司);BP211D型十万分之一天平(德国Sartorius公司);DS-671型电子天平(上海寺冈电子有限公司);KQ-200VDE型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);IKA MS3型数显涡旋振荡器(德国IKA公司);HC-2518型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);BYN100-1型氮吹仪(上海秉越电子仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

DH-330原料药(新疆华世丹药业股份有限公司,批号:170815,纯度:98%);替硝唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100336-201704,纯度:>98%);聚山梨酯80(湖南尔康制药有限公司,批号:20100801);羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津市光复精细化工研究所,批号:20100409);无水甲酸、甲醇、乙腈均为色谱纯,水为超纯水。

1.3 动物

清洁级Wistar大鼠,雌雄各半,体质量为(200 ± 20)g,由新疆医科大学实验动物中心提供,实验动物生产合格证号:SYXK(新)2016-0004。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 DH-330混悬液 精密称取DH-330原料药80.00 mg,置于10 mL离心管中,加20%聚山梨酯80溶液适量

使药物完全润湿,涡旋混匀,然后再加入0.5%CMC-Na溶液定容至8 mL,配制成质量浓度为10 mg/mL的DH-330混悬液。

2.1.2 DH-330工作溶液 精密称取DH-330原料药25.05 mg,加甲醇溶解并定容至25 mL,配制成质量浓度为1.002 mg/mL的DH-330贮备液;精密吸取该贮备液适量,加甲醇稀释配成质量浓度为10.02 μg/mL的DH-330工作溶液。

2.1.3 内标溶液 精密称取替硝唑对照品10.20 mg,置于10 mL棕色量瓶中,加甲醇溶解并定容,配制成质量浓度为1.02 mg/mL的内标贮备液;精密吸取该贮备液适量,加甲醇稀释配成质量浓度为2.04 μg/mL的内标溶液,置于4 °C冰箱中保存,备用。

2.2 血浆样品的预处理

在离心管中加入内标溶液25 μL,40 °C下氮气吹干,加入血浆样品100 μL,超声(功率:200 W,频率:80 kHz)5 min,涡旋震荡30 s后,加入乙腈200 μL,涡旋震荡3 min,以12 000 r/min离心10 min,取上清液进样分析。

2.3 色谱条件与质谱条件

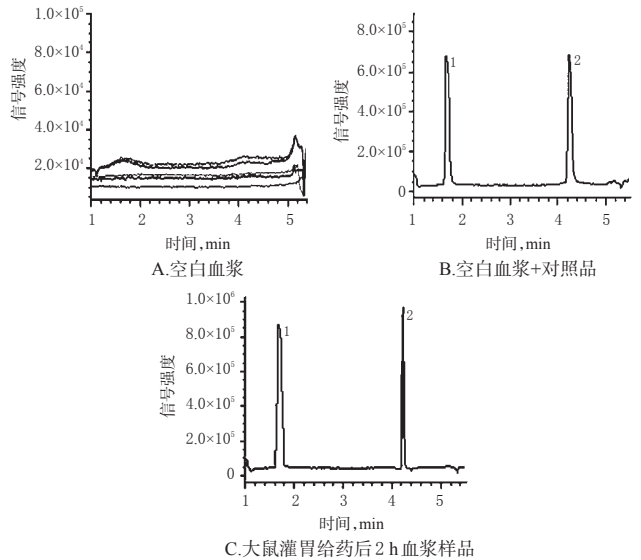
2.3.1 色谱条件 色谱柱:Waters ACQUITY BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:乙腈-甲醇-0.5%甲酸水溶液(15:55:30,V/V/V);流速:0.4 mL/min;进样量:5 μL;柱温:30 °C。

2.3.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI);扫描模式:正离子模式;锥孔电压:15 V;毛细管电压:0.8 kV;离子源温度:124 °C;DH-330检测质荷比(*m/z*)为335.8→334.8,替硝唑*m/z*为247.0→81.0。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性 分别取大鼠空白血浆、空白血浆+DH-330对照品、大鼠灌胃给药后2 h后的血浆样品,按照“2.2”项下方法预处理,再按“2.3”项下色谱与质谱条件进样分析,记录色谱图,详见图1。结果显示,DH-330和内标(替硝唑)的保留时间分别为4.25、1.70 min,峰形良好,血浆中的内源性物质对待测物的测定无干扰,表明所建方法专属性良好。

2.4.2 线性范围、定量下限与检测限考察 取“2.1.2”项下DH-330工作溶液,以甲醇稀释制成质量浓度分别为100.2、200.4、601.2、1 202.4、3 006、4 008、8 016 ng/mL的系列DH-330对照品溶液。精密吸取上述系列DH-330对照品溶液和内标溶液各25 μL,40 °C下氮气吹干后,分别加入大鼠空白血浆100 μL,制成质量浓度为25.05、50.1、150.3、300.6、751.5、1 002、2 004 ng/mL的DH-330血浆样品,分别按“2.2”项下方法预处理后,再按“2.3”项下色谱与质谱条件进样分析,记录峰面积。以DH-330血药浓度(*x*,ng/mL)为横坐标、DH-330峰面积与内标峰面积比值(*y*)为纵坐标,进行线性回归分析,得回归方程为 $y=0.002x-0.037$ ($r=0.9998$)。另同法配制质量浓度为25.05 ng/mL的DH-330血浆样品,平行操作5次,



注:1.内标;2.DH-330

Note: 1. internal standard; 2. DH-330

图1 UPLC-MS 色谱图

Fig 1 UPLC-MS chromatograms

同法预处理后进样测定,结果RSD为8.21%($n=5$)。这表明,DH-330血药浓度在25.05~2 004 ng/mL范围内线性关系良好,定量下限(LLOQ)为25.05 ng/mL。另取质量浓度为25.05 ng/mL的DH-330血浆样品,以流动相倍比稀释,同法预处理后进样测定,以信噪比为3:1求得DH-330的检测限(LOD)为5 ng/mL。

2.4.3 精密度和准确度 按“2.4.2”项下方法配制低、中、高质量浓度(50、500、2 000 ng/mL)的DH-330质控样品,平行操作5次,分别按“2.2”项下方法预处理后进样测定,考察日内精密度;各质量浓度的5份平行样品连续测定5 d,考察日间精密度。同时,以DH-330峰面积和内标峰面积的比值代入随行标准曲线计算实测浓度,与理论浓度相比较,以相对误差(RE)来表示方法准确度[$RE=(\text{实测质量浓度}-\text{理论质量浓度})/\text{理论质量浓度} \times 100\%$]。结果显示,DH-330日内、日间精密度的RSD和准确度RE绝对值均小于10%,均符合生物样品定量分析的相关要求^[10],详见表1。

表1 精密度和准确度试验结果

Tab 1 Results of precision and accuracy tests

理论质量浓度, ng/mL	日内($n=5$)			日间($n=25$)		
	实测质量浓度 ($\bar{x} \pm s$), ng/mL	精密度 RSD, %	准确度 RE, %	实测质量浓度 ($\bar{x} \pm s$), ng/mL	精密度 RSD, %	准确度 RE, %
50	47.28 ± 0.99	2.09	-5.44	51.62 ± 3.80	7.37	3.24
500	454.34 ± 6.70	1.48	-9.13	451.18 ± 5.45	1.21	-9.76
2 000	2 091.02 ± 3.04	0.15	4.55	2 074.53 ± 14.60	0.70	3.73

2.4.4 提取回收率 按“2.4.3”项下方法配制低、中、高质量浓度(50、500、2 000 ng/mL)的DH-330血浆样品,平行操作5次,分别按“2.2”项下方法预处理后进样测定;另取乙腈沉淀蛋白后的空白血浆,加入DH-330工作溶液适量,并以乙腈稀释配制成与样品相同浓度的对照溶液,进样分析。将上述血浆样品与对照溶液分别测得的

DH-330峰面积进行比较,计算提取回收率。结果显示,各质量浓度样品中DH-330的提取回收率均大于85%,详见表2。

表2 提取回收率试验结果($n=5$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=5$)

理论质量浓度,ng/mL	提取回收率($\bar{x}\pm s$),%	RSD, %
50	89.04±3.23	3.63
500	92.84±1.13	1.22
2 000	96.26±1.99	2.06

2.4.5 稳定性 按“2.4.2”项下方法配制低、中、高质量浓度(50、500、2 000 ng/mL)的DH-330质控样品,分别在室温放置24 h、4℃放置5 d,反复冷冻(-20℃)-融化3次,平行操作3次,按“2.2”项下方法预处理后进样测定,考察不同条件下的样品稳定性。当测定质量浓度与理论质量浓度的RE值在±15%范围内时,则表明样品稳定性良好^[10]。结果显示,DH-330血浆样品在上述条件下RE绝对值均小于3%,符合稳定性要求,详见表3。

表3 稳定性试验结果($n=3$)

Tab 3 Results of stability tests($n=3$)

理论质量浓度,ng/mL	室温放置24 h		4℃放置5 d		反复冷冻-融化3次	
	实测质量浓度,ng/mL	RE, %	实测质量浓度,ng/mL	RE, %	实测质量浓度,ng/mL	RE, %
50	49.96	-0.11	51.11	0.59	50.39	0.97
	48.21		50.34		51.51	
	51.66		49.44		49.56	
500	481.01	-2.53	472.12	-2.00	490.08	-1.24
	472.12		509.98		488.89	
	508.98		487.87		502.43	
2000	2 057.76	2.29	2 099.78	-1.48	1 950.01	-1.33
	2 033.89		1 998.23		1 949.34	
	2 045.56		1 812.89		2 021.00	

2.4.6 基质效应 分别取6只大鼠空白血浆各100 μL,按“2.2”项下方法预处理后,加入DH-330工作溶液适量,配制成低、中、高质量浓度(50、500、2 000 ng/mL)的基质效应样品,进样分析,记录峰面积(A_1);另取DH-330工作溶液,用甲醇稀释配制对应浓度的基质效应对照溶液,进样分析,记录峰面积(A_2)。各平行操作3次,并按公式计算基质效应因子(MF): $MF=A_1/A_2\times 100\%$ 。另同法操作,测得内标的MF值。然后以DH-330与内标的MF比值计算得内标归一化基质效应因子为(98.64±3.15)%,RSD为3.19%($n=3$)。结果表明,在本方法的色谱与质谱条件下,可忽略基质效应的影响^[10]。

2.4.7 进样残留效应 按“2.4.2”项下方法配制质量浓度为2 000 ng/mL的DH-330质控样品,按“2.2”项下方法预处理后进样测定;随后进样空白血浆预处理后的样品液,平行操作3次。将空白血浆样品色谱中DH-330残留峰面积分别与“2.4.2”项下LLOQ样品所得色谱中的DH-330峰面积、内标峰面积进行比较,考察进样残留效应。结果显示,空白血浆样品的DH-330残留峰面积为LLOQ样品中DH-330峰面积的5.43%(小于LLOQ样品

主峰面积的20%),为LLOQ样品中内标峰面积的0.81%(小于LLOQ样品内标峰面积的5%),表明血浆中DH-330的测定无进样残留效应^[10],详见表4。

表4 进样残留效应试验结果($n=3$)

Tab 4 Results of injection residual effect tests($n=3$)

样品	DH-330峰面积($\bar{x}\pm s$)	内标峰面积($\bar{x}\pm s$)	有无残留
质控样品(2 000 ng/mL)	9 056 367.33±12 488.65	2 277 308.33±7 029.05	无
LLOQ样品	336 274.67±7 399.41	2 277 211.00±33 404.42	无
空白样品	18 335.67±5 030.62	13 056.33±2 635.87	无

2.5 药动学研究

取大鼠6只,适应性喂养1周后,禁食不禁水12 h,分别灌胃“2.1.1”项下DH-330混悬液(50 mg/kg,剂量根据本课题组前期药效学研究结果制定)。分别于给药前(0 h)及给药后0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24 h时于大鼠眼底静脉丛采血0.4 mL,置于肝素钠抗凝的离心管中,以3 500 r/min离心15 min,分离上层血浆,于-35℃保存,备用。

取大鼠血浆,按“2.2”项下方法预处理后,再按“2.3”项下色谱与质谱条件进样测定,代入随行标准曲线计算DH-330血药浓度,并绘制其平均血药浓度-时间曲线,详见图2。应用Kinetic 5.0药动学软件对所测数据进行非房室模型拟合并计算药动学参数,详见表5。

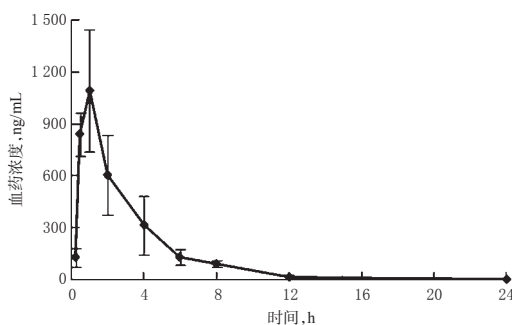


图2 DH-330在大鼠体内的平均血药浓度-时间曲线($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig 2 Average concentration-time curves of DH-330 in rats($\bar{x}\pm s, n=6$)

表5 DH-330在大鼠体内的药动学参数($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab 5 Pharmacokinetic parameters of DH-330 in rats($\bar{x}\pm s, n=6$)

药动学参数	DH-330
达峰浓度(c_{max}),ng/mL	1 162.43±241.72
达峰时间(t_{max}),h	0.90±0.20
药-时曲线下面积(AUC ₀₋₇),ng·h/mL	3 194.55±630.50
药-时曲线下面积(AUC _{0-∞}),ng·h/mL	3 242.93±652.31
半衰期($t_{1/2}$),h	1.93±0.61
平均滞留时间(MRT),h	3.23±0.30
清除率(CL),L/(h·kg)	16.80±5.30
稳态表观分布容积(V_z),L/kg	54.78±19.64

由表5可见,大鼠灌胃给予DH-330混悬液后,在1 h内血药浓度即达到峰浓度(1 162.43±241.72)ng/mL,然后被快速消除, $t_{1/2}$ 为(1.93±0.61)h,CL为(16.80±5.30) L/(h·kg),表明DH-330在血浆中清除速度较快;MRT为

(3.23 ± 0.30)h, 即 DH-330 从体内消除 63.2% 时需要 3.23 h; V_{ss} 为 (54.78 ± 19.64)L/kg, 大于大鼠体液总体积 (约 0.7 L/kg^[11]), 表明 DH-330 血浆药物浓度相对较低, 具有较高的组织亲和力, 这一特点可能与其高度亲脂性有关。

3 讨论

去氢骆驼蓬碱具有广泛的药理作用, 学者们对其药效学、药动学、制剂学进行了大量研究^[12-15], 但未能实现其开发及临床应用, 其根本原因是由于该生物碱具有较大的神经毒性, 人或动物大量给药后会出现震颤、运动失调、呕吐等神经中毒症状, 以及体温升高和心血管系统紊乱等^[13]。由于 β -咪唑类生物碱的结构与 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶 (MPTP, 强黑质毒素, 可诱发帕金森病)^[16] 相似, 因此这类化合物可能具有类似的内源性神经毒素的毒性作用。

为降低去氢骆驼蓬碱的毒性作用, 学者们致力于改造其化学结构^[17-18], 获得大量候选化合物, 然后再通过体内外药效学、药动学等研究筛选出目标化合物。其中, 药动学在新药开发过程中发挥着重要的作用。药动学性质不理想可造成药物缺乏体内活性, 如首先消除较强或难以通过肠黏膜被吸收, 生物利用度太低; 或代谢太快, 半衰期太短; 或难以通过生物膜, 从而使药物难以进入靶器官等。据文献报道, 约有 40% 的候选化合物是由于药动学方面的原因而被淘汰的^[19]。因此, 本实验进行了去氢骆驼蓬碱衍生物 DH-330 在大鼠体内的药动学研究, 可为其后续开发和应用以及下一步其体内代谢物的研究提供参考。

为准确检测大鼠血浆中 DH-330 的质量浓度, 本研究在预试验中考察了不同的流动相体系、流速、柱温、锥孔电压、毛细管电压等因素对其定量分析的影响。结果发现, 当流动相为甲醇-乙腈-甲酸 (55:15:30, $V/V/V$)、流速为 0.4 mL/min、锥孔电压为 15 V、毛细管电压为 0.8 kV 时, DH-330 的保留时间合适、峰形较好, 且不受内源性物质的干扰, 故选择该条件为最终测定条件。方法学考察结果显示, 本研究建立的 UPLC-MS 方法具有操作简便, 专属性强, 灵敏度、精密度及回收率高等优点, 可用于大鼠血浆中 DH-330 血药浓度的测定。

在体药动学研究结果显示, 对大鼠灌胃给予 DH-330 后, 其半衰期短、吸收迅速、表观分布容积大 (大于液体积 0.7 L/kg), 表明其具有高的亲脂性, 可能主要集中分布于组织中。但 DH-330 在组织中具体如何分布, 有待于进一步研究证实。

参考文献

[1] 宋红健. 天然产物骆驼蓬碱和去氢骆驼蓬碱及其衍生物的合成、生物活性和构效关系研究[D]. 天津: 南开大学, 2014.
[2] 史小媛, 刘伟, 张磊, 等. 骆驼蓬总生物碱中骆驼蓬碱、去氢骆驼蓬碱及其代谢产物大鼠体内药代动力学研究[J].

中成药, 2014, 36(6): 1169-1175.
[3] 张义英, 王俊儒, 李越鲲, 等. 骆驼蓬生物碱生物活性的研究进展[J]. 动物医学进展, 2006, 27(10): 37-40
[4] 李红玲, 赵军, 马运芳, 等. 去氢骆驼蓬碱抗细粒棘球蚴原头节作用研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(11): 995-999.
[5] 李船. 去氢骆驼蓬碱诱导人胃癌细胞 MGC-803 及 SGC-7901 自噬及凋亡的机制研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2017.
[6] GENG XR, REN YC, WANG FF, et al. Harmines inhibit cancer cell growth through coordinated activation of apoptosis and inhibition of autophagy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(1): 99-104.
[7] 郭亮, 孙洁, 范文玺, 等. 去氢骆驼蓬碱衍生物的合成和抗肿瘤活性研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(5): 385-388.
[8] 贺平. LC/MS 方法检测大鼠血浆中黄连素和酮康唑及药代动力学应用[D]. 天津: 天津医科大学, 2015.
[9] 刘祥东, 梁琼麟, 罗国安, 等. 液质联用技术在医药领域中的应用[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(1): 110-116.
[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 通则 363-364.
[11] 爱德华·克恩斯, 邸力. 类药性质: 概念、结构设计与方法: 从 ADME 到安全性优化[M]. 钟大放, 译. 北京: 科学出版社, 2010: 216.
[12] 王长虹, 孙殿甲, 高炜玮. 大鼠静脉注射和灌胃盐酸去氢骆驼蓬碱的药物动力学[J]. 中国临床药学杂志, 2002, 11(3): 159-161.
[13] 岳佳琪. 去氢骆驼蓬碱和骆驼蓬碱在羊体内外代谢与药代动力学研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2016.
[14] 马亭云, 姜继宗, 张刘红, 等. 去氢骆驼蓬碱醇质体的制备及处方优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 34-39.
[15] 丁志荣, 滕亮, 戴秀勇, 等. 盐酸去氢骆驼蓬碱乳膏处方筛选及其止痒药效学研究[J]. 中成药, 2010, 32(5): 753-757.
[16] FRISON G, FAVRETTO D, ZANCANARO F, et al. A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract[J]. *Forensic Sci Int*, 2008, 179(2): 37-43.
[17] 曹日晖, 武嘉林, 于富生, 等. 去氢骆驼蓬碱衍生类化合物及其应用, 中国: CN200710180027.3[P]. 2004-12-08.
[18] 顾月清, 王阿琴, 陈玉祺. 具有靶向特性的去氢骆驼蓬碱衍生物的抗肿瘤前药, 中国: CN201210521152.7[P]. 2013-03-20.
[19] 颜锐思. 大鼠体内 (3aRS, 4S, 7R, 7aS)-4, 7-环氧六氢-2-(三环[3.3.1.1.3, 7 癸烷]-1H-异吲哚-1, 3(2H)-二酮 (SU2162) 药物动力学及组织分布研究[D]. 广州: 广东药学院, 2015.

(收稿日期: 2018-10-23 修回日期: 2019-04-23)

(编辑: 段思怡)