

雷公藤内酯醇在 Beagle犬体内的药代动力学

邵 凤, 王广基*, 孙建国, 谢海棠, 张 荣, 诸晓燕

(中国药科大学 药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要: 雷公藤内酯醇 (triptolide, TP)是雷公藤的主要有效成分之一。研究不同剂量 TP在 Beagle犬灌胃给药时的绝对生物利用度和药代动力学,可望为其临床研究提供参考。以泼尼松龙作内标,用乙酸乙酯液液萃取,建立 LC-APCI/MS选择性离子监测方法测定血浆 TP浓度。Beagle犬分别静脉注射 TP 0.05 mg·kg⁻¹、灌胃 TP 0.05, 0.08和 0.1 mg·kg⁻¹进行药代动力学和绝对生物利用度研究。结果表明,TP在 1~200 ng·mL⁻¹呈良好线性关系 ($r=0.9997$),批内和批间精密度的 RSD均小于 10%,准确度在 95.0%~105.0%,提取回收率大于 75%。静注 0.05 mg·kg⁻¹ TP后, $T_{1/2\beta}$ 为 (2.5±0.8) h。3个剂量灌胃组, T_{max} , $T_{1/2\alpha}$ 和 $T_{1/2\beta}$,经检验无统计学差异。AUC和 C_{max} 与剂量之间线性相关。灌胃 0.05 mg·kg⁻¹后,TP在 Beagle犬体内绝对生物利用度为 (75±17)%。可见,LC-APCI/MS法灵敏、可靠、专属性强,可用于测定 Beagle犬血浆 TP的浓度;TP在 Beagle犬体内消除较快,灌胃给药生物利用度较高。

关键词: 雷公藤内酯醇;液相色谱-质谱联用;药代动力学;绝对生物利用度

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2007)01-0061-05

Pharmacokinetics of triptolide in Beagle dogs

SHAO Feng, WANG Guang-ji*, SUN Jian-guo, XIE Hai-tang, ZHANG Rong, ZHU Xiao-yan

(Key Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: The aim of this paper is to develop and validate a rapid and sensitive LC-APCI/MS method for the determination of triptolide (TP) in plasma and to study the pharmacokinetic properties of TP in Beagle dogs. Sample preparation consisted of liquid-liquid extraction of interests with ethyl acetate from dog plasma. The analytes and internal standard prednisolone were well separated on a Zorbax Extend-C₁₈ analytical column. Plasma TP was detected by selected-ion monitoring (SIM) of LC-APCI/MS as its deprotonated molecular ions [M - H]⁻ at m/z 358.9. Pharmacokinetic studies were undertaken in dogs following an iv dose of 0.05 mg·kg⁻¹ of TP or an ig dose of 0.05, 0.08, 0.1 mg·kg⁻¹, separately. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS software. Calibration curves were linear over the concentration range of 1 - 200 ng·mL⁻¹ of TP with the within- and between-batch precisions less than 10%. The within and between-batch accuracy was 95.0% to 105.0%. Recovery of LC-MS method for TP in plasma was over 75%. The $T_{1/2\beta}$ was (2.5±0.8) h after intravenous administration of TP at the dose of 0.05 mg·kg⁻¹. There were no significant differences in T_{max} , $T_{1/2\alpha}$ and $T_{1/2\beta}$ among the three ig dosage groups. AUC and C_{max} increased proportionally with doses. The absolute bioavailability of TP after ig administration of 0.05 mg·kg⁻¹ was (75±17)%. The LC-MS method for determination of triptolide in dog plasma was sensitive and rapid. It was showed that the elimination of triptolide was rapid. The absolute bioavailability of triptolide given orally was high.

Key words: triptolide; LC-MS; pharmacokinetics; absolute bioavailability

收稿日期: 2006-04-20.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (12003AA2Z347A, 2005AA2Z3C70); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK2005098).

* 通讯作者 Tel: 86 - 25 - 83271544, Fax: 86 - 25 - 85306750, E-mail: guangjiwang@hotmail.com

雷公藤属卫矛科雷公藤属植物的一种,多个制剂(片剂、缓释片、软膏剂、巴布剂、栓剂和擦剂等)相继上市,用于治疗类风湿性关节炎、红斑狼疮、皮肤病和肾脏疾病等 50 多个病种,临床使用达 30 多年。新近发现其在器官移植术后抗排斥反应方面具有广阔应用前景^[1-3]。雷公藤内酯醇 (triptolide, TP)是从雷公藤中分离出的活性较高的环氧化二萜内酯化合物,是雷公藤的主要有效成分之一,其相关效价比雷公藤总苷高 100~200 倍,同时也是雷公藤总苷片的质控指标。现代药理及临床研究^[4-6]证实,TP 具有显著的抗炎、抗肿瘤、抗生育及免疫调节作用。但是 TP 的药代动力学的研究报道极少,且犬体内的药代动力学研究未见报道。本研究先建立了 LC-MS 测定犬血浆 TP 浓度的方法,并参照 2005 年 SFDA 颁布的《化学药物非临床药代动力学研究技术指导原则》对本方法进行验证,在此基础上进行了 TP 在 Beagle 犬体内高、中和低 3 个剂量的药代动力学及绝对生物利用度的研究,可望为其临床研究提供参考。

材料和方法

实验仪器 日本岛津 LC-MS 2010A 高效液相色谱-质谱联用仪(含两台 ADVP 泵,在线真空脱气机,恒温自动进样器,柱温箱,APCI 离子源,四极杆质谱检测器以及 LC-MS solution 2.04 色谱工作站)。

药品和主要试剂 TP 对照品及原料药(中国医学科学院皮肤病研究所提供,纯度均大于 98%);内标泼尼松龙(中国生物制品检定所提供);甲醇、乙腈为色谱纯(Fisher 公司)。

实验动物 Beagle 犬 18 只,体重(10.4 ± 1.1) kg,由上海市新冈试验动物厂提供。试验前驯养观察 2 周。

液相色谱条件 色谱柱: Zorbax Extend-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm ID, 5 μm)(美国 Agilent 公司);柱温: 40 °C;流动相: 0.05% 三乙胺-乙腈-甲醇(20:30:50);流速: 0.75 mL · min⁻¹。

质谱检测条件 大气压化学离子化(APCI);选择性离子监测(selected-ion monitoring, SIM);曲型脱溶剂装置(CDL)温度 200 °C;加热块温度 200 °C;APCI 探针温度 400 °C;探针电压 4.5 kV;CDL 电压: 5.0 V;检测电压: 1.6 kV;检测离子 [M - H]⁻: TP(*m/z* 358.9);泼尼松龙(*m/z* 358.9);雾化气体流速 2.5 L · min⁻¹。

溶液的配制 精密称定 TP 及泼尼松龙对照品

于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解定容,配成质量浓度为 1 mg · mL⁻¹ 的贮备液,置 4 °C 冰箱保存待用。精密称定 TP 原料药于 10 mL 量瓶中,乙醇溶解定容,配置成质量浓度为 1 mg · mL⁻¹ 的母液,取适量母液用生理盐水稀释成质量浓度分别为 0.025, 0.04 和 0.05 mg · mL⁻¹ 的溶液供 Beagle 犬灌胃使用(灌胃体积: 2 mL · kg⁻¹);另取适量母液用注射用生理盐水稀释成质量浓度为 0.1 mg · mL⁻¹ 的溶液供 Beagle 犬静注使用(静注体积: 0.5 mL · kg⁻¹)。

血浆样品处理 含药犬血浆 1 mL,加入内标溶液(2 μg · mL⁻¹) 50 μL,混匀,加入乙酸乙酯 6 mL,涡旋混合 2 min, 4 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,上清液 4 mL 转入玻璃管中,45 °C 减压旋转蒸干,甲醇 100 μL 溶解残渣,20 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液 50 μL 于进样瓶中,进样 10 μL。

标准曲线 于试管中精密加入不同量的 TP 贮备液,挥干后再加入空白犬血浆 1 mL,混匀,配成 TP 浓度为 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 和 200 ng · mL⁻¹ 的系列溶液,混匀后加入内标(2 μg · mL⁻¹)溶液 50 μL,按“血浆样品处理”项下操作,每种浓度测定 5 份样品,记录峰面积。

精密度和准确度 于试管中精密加入不同量的 TP 贮备液,再加入空白血浆 1 mL,配成 TP 质量浓度分别为 2, 20 和 100 ng · mL⁻¹,混匀后加入内标溶液(2 μg · mL⁻¹) 50 μL,按“血浆样品处理”项下操作,记录 TP 与内标峰面积,计算两者比值,代入随行标准曲线计算相应的药物浓度,按此法制备不同天 3 个分析批内的样品,每种浓度做 5 份样品,分别测定批内和批间的精密度和准确度。

提取回收率 取试管加入空白犬血浆 1 mL,加入内标(2 μg · mL⁻¹) 50 μL,按“血浆样品处理”项下操作,用含有 2, 20 和 100 ng · mL⁻¹ TP 甲醇液 100 μL 溶解残渣,20 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液 50 μL 于进样瓶中,进样 10 μL,每种浓度做 5 份样品,记录 TP 的峰面积与内标的峰面积的比值 f_i ;另取试管,精密加入不同量的 TP 贮备液,再加入空白血浆 1 mL,配成 TP 质量浓度为 2, 20 和 100 ng · mL⁻¹ 的系列溶液,混匀后加入内标(2 μg · mL⁻¹) 50 μL,按“血浆样品处理”项下操作,每种浓度做 5 份样品,记录 TP 峰面积与内标峰面积的比值 f_k 。血浆中 TP 提取回收率(绝对回收率)为: $R_i \% = f_i / f_k 100\% \times N$ 。其中 $N = 6/4$ (N 为萃取液体积校正值)。

离子抑制率 取犬空白血浆 1 mL,按“血浆样

品处理”项下的方法处理,分别用含有 2, 20 和 100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 TP 甲醇液 100 μL 溶解残渣, 20 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液 50 μL 于进样瓶中, 进样 10 μL , 每种浓度做 5 份样品, 记录 TP 的峰面积 A_x ; 另分别直接取 2, 20 和 100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 TP 甲醇液 50 μL 于进样瓶中, 进样 10 μL , 每种浓度做 5 份样品, 记录 TP 峰面积 A_s 。血浆中内源性杂质对 TP 的离子抑制率为: $I\% = (1 - A_x / A_s) \times 100\%$ 。

样品稳定性 取不同量的 TP 贮备液, 再加入犬空白血浆 1 mL, 配成 TP 质量浓度为 2, 20 和 100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列溶液, 放置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$, 反复冻融 3 次, 1 周后取出或放置 4 周后取出, 分别考察冻融稳定性和长期稳定性; 取出的样品于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴融解, 混匀后加入内标, 按“血浆样品处理”项下处理样品, 测定血浆 TP 浓度。为了考察 TP 进样时稳定性, 将处理好 3 种浓度样品放入自动进样器中 ($4\text{ }^\circ\text{C}$), 各浓度在 10 h 内每 2 h 进样 1 次, 分析比较样品中 TP 浓度。

绝对生物利用度实验 Beagle 犬 6 只 (雌雄各半) 随机均分为 A 和 B 组, 实验前 12 h 禁食, 给药 4 h 后统一进食。采用 $0.05\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 单剂量双周期灌胃和静脉给药交叉实验。第 1 周期 A 组 Beagle 犬灌胃给药, B 组静脉给药; 第 2 周期两组交叉, B 组灌胃给药, A 组静脉给药。试验间隔 2 周。Beagle 犬在给药前 12 h 开始禁食不禁水, 服药 4 h 后统一进食。灌胃给药犬于给药前及给药后 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h 和 12 h, 犬前肢静脉采集血液 2.5 mL, 肝素抗凝, 离心得血浆 1 mL; 静脉给药的犬于给药前及给药后 2 min, 7 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h 和 12 h, 犬前肢对侧静脉采集血液 2.5 mL, 肝素抗凝, 离心得血浆 1 mL。所得血浆 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。

药代动力学实验 Beagle 犬 12 只 (雌雄各半), 随机分为两组, 分别按 0.08 和 $0.1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量灌

胃给药。所有犬均在给药前 12 h 开始禁食不禁水, 服药 4 h 后统一进食。于给药前及给药后 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h 和 12 h, 犬前肢静脉采集血液 2.5 mL, 肝素抗凝, 离心得血浆 1 mL; 所得血浆 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。

数据统计分析 用 DAS (Drug and Statistics) 药代动力学软件进行数据分析。

结果

1 方法专属性

在本实验条件下, TP 和内标有较大的质谱峰和较好的分离度, 血浆中杂质不干扰样品峰。TP 和内标泼尼松龙的保留时间分别为 3.3 min 和 4.0 min (图 1)。说明该方法专属性较高。

2 标准曲线

以血浆 TP 浓度 (X) 为横坐标, TP 与内标的峰面积比 (Y) 为纵坐标, 得标准曲线回归方程为 $Y = 0.0077X - 0.0029$ ($r = 0.9997$, $n = 5$), 线性范围为 $1 \sim 200\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。最低检测浓度为 $1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3 精密度、准确度和回收率

当血浆 TP 质量浓度为 2, 20 和 $100\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 批内及批间精密度 $\text{RSD} < 10\%$ 、准确度在 $95.0\% \sim 105.0\%$ (表 1)。当血浆 TP 浓度为 2, 20 和 $100\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 提取回收率分别为 $(77.5 \pm 2.3)\%$, $(86 \pm 5)\%$ 和 $(80 \pm 4)\%$ 。可见该法可靠且重现性好。

4 离子抑制率

LC-MS 方法定量测定生物样本中药物浓度时, 其离子强度常常受到内源性杂质的抑制, 本研究考察了 6 个不同来源的犬空白血浆经提取后, 内源性杂质对 TP 的离子抑制情况。在 2, 20 和 $100\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TP 3 个浓度下, 离子抑制率均在 $\pm 2\%$ 之间, 说明在本实验条件下, 无离子抑制现象。

5 样品稳定性

经考察血浆 TP 浓度测定在反复冻融 3 次、

Table 1 Accuracy and precision of LC-MS method for determining triptolide concentrations in plasma samples

Nominal concentration / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	Within ($n = 5$)			Between ($n = 3$)		
	Concentration found / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	Precision ^a / %	Accuracy ^b / %	Concentration found / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	Precision ^a / %	Accuracy ^b / %
2	2.1 ± 0.2	9.5	105.0	2.1 ± 0.2	9.5	105.0
20	20.3 ± 1.6	7.9	101.5	20.8 ± 1.8	8.7	104.0
100	96 ± 5	5.4	95.7	101 ± 7	6.9	100.8

^a Expressed as % RSD; ^b Calculated as (mean concentration found / nominal concentration) $\times 100\%$

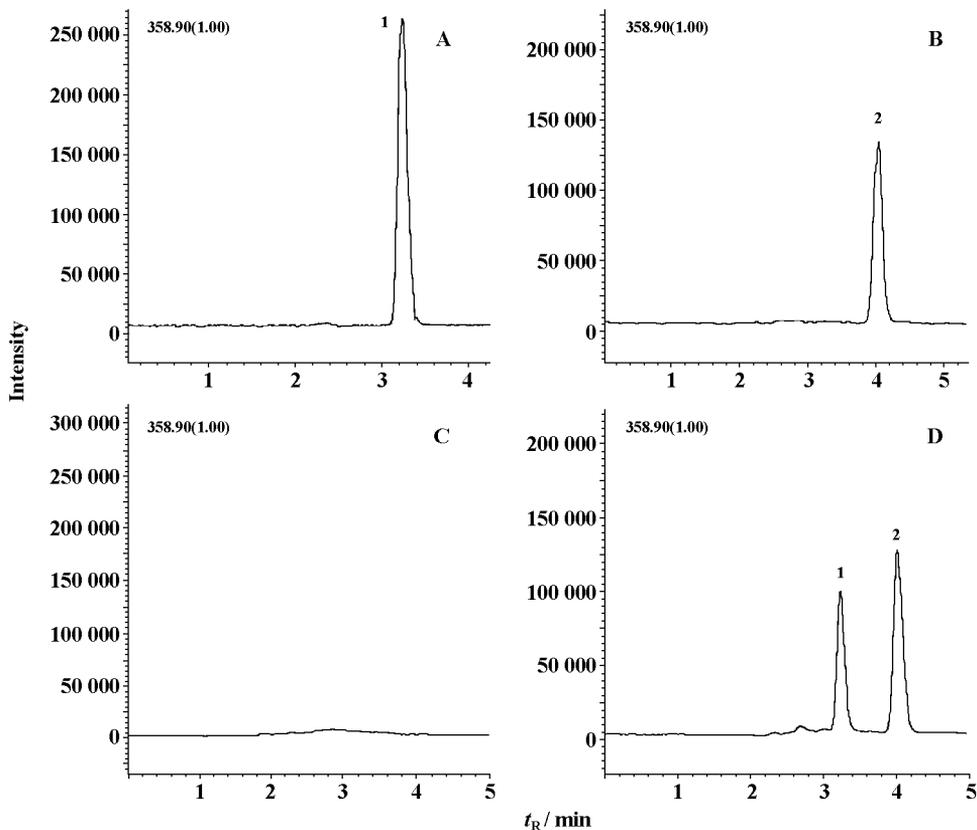


Figure 1 Typical SIM chromatograms of plasma sample spiked with triptolide (A), plasma sample spiked with prednisolone (B), blank dog plasma (C), and plasma sample obtained from a Beagle dog at 0.5 h after administration of 0.05 mg·kg⁻¹ triptolide (D). 1: Triptolide (TP); 2: Prednisolone (IS)

- 20 °C 贮存 4 周和 4 °C 放置 10 h 等 3 种条件下, 准确度分别在 102.0% ~ 105.3%, 100.0% ~ 106.5% 和 103.7% ~ 110.0% 之间, 说明在测定条件下样品稳定性好。

6 TP 在 Beagle 犬体内绝对生物利用度研究

将测得的血浆 TP 浓度按统计矩法计算 AUC, 灌胃组所得的 AUC 与静注组的 AUC 之比即为绝对生物利用度 F(%)。在实验过程中, Beagle 犬 6 只进行对照, 所得 F(%) 为 (75 ± 17)%。

7 TP 在 Beagle 犬体内药动学研究

Beagle 犬分别 iv TP 0.05 mg·kg⁻¹ 及 ig TP 0.05, 0.08 和 0.1 mg·kg⁻¹ 后, 血浆 TP 浓度随时间变化的情况如图 2 所示。采用 DAS 药动学软件对血药浓度-时间数据进行分析, 以理论浓度值与测得值相关性最好, 及 AIC 最小为判别标准。结果表明 iv 给药后, TP 在动物体内代谢过程符合一级动力学消除的二室模型, 按此模型拟合得出药代动力学参数如表 2 所示, T_{1/2β} 为 (2.5 ± 0.8) h; ig 给药后, TP 在动物体内代谢过程也符合二室模型, 其药代动力

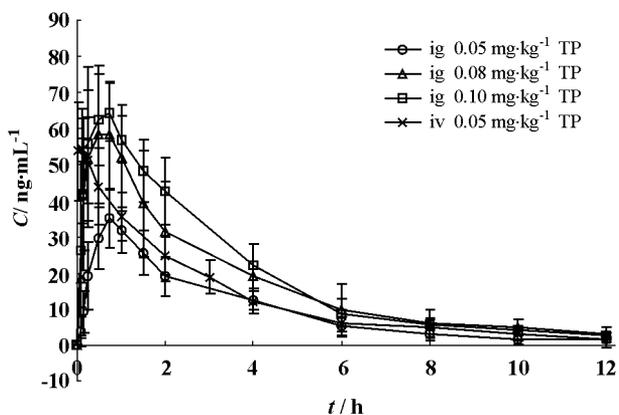


Figure 2 Mean plasma concentration-time profiles of triptolide after iv and ig administration of different doses to the Beagle dogs (n = 6, $\bar{x} \pm s$)

学参数见表 3。将 3 个剂量灌胃后 Beagle 犬的 T_{1/2α}, T_{1/2β} 和 T_{max} 进行方差分析, 结果无统计学差异。大、中、小剂量组所得的 AUC 和 C_{max} 的平均值与剂量存在一定线性关系。

Table 2 Pharmacokinetic parameters for triptolide in Beagle dogs after intravenous administration of triptolide at the dose of $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Parameter	Value
A	34 ± 23
α	1.6 ± 2.3
B	26 ± 17
β	0.30 ± 0.09
K_{10} / h^{-1}	0.43 ± 0.07
K_{12} / h^{-1}	0.6 ± 1.2
K_{21} / h^{-1}	0.9 ± 1.0
$V_1 / F / L \cdot \text{kg}^{-1}$	0.88 ± 0.23
$V / F / L \cdot \text{kg}^{-1}$	1.3 ± 0.4
$T_{1/2\alpha} / \text{h}$	1.1 ± 0.7
$T_{1/2\beta} / \text{h}$	2.5 ± 0.8
$CL / F / L \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.36 ± 0.05
$AUC_{0-t} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	150 ± 30
$AUC_{0-\infty} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	162 ± 18

Table 3 Pharmacokinetic parameters for triptolide in Beagle dogs after ig administration of triptolide at different doses ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Parameter	Dose / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		
	0.05	0.08	0.1
$T_{1/2\alpha} / \text{h}$	1.5 ± 0.6	1.4 ± 0.8	1.6 ± 0.4
$T_{1/2\beta} / \text{h}$	2.5 ± 0.7	2.6 ± 1.0	2.4 ± 1.2
$T_{\text{max}} / \text{h}$	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.3
$C_{\text{max}} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	35 ± 8	64 ± 16	74 ± 7
$AUC / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	87 ± 22	199 ± 84	225 ± 39

讨论

TP的分析测定方法有多种,但测定血浆 TP浓度的方法仅有高效液相色谱法、气相色谱法^[7,8]。本文建立了测定血浆 TP浓度的 LC-APCI/MS方法。在方法建立过程中发现,TP在电喷雾离子源(ESI)条件下,电离效率低,换用 APCI源后信号较强,经过进一步对 MS条件、流动相组成及比例进行优化,建立了 HPLC-APCI/MS方法,采用液液萃取,操作方便,分析时间仅为 5 min,灵敏度达 $1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,经验证该法分离效率高、稳定、准确且重现性好,满足药代动力学研究的需要。内标泼尼松龙与 TP结构及极性相似,价廉易得,稳定性好, $[M-H]^{-}$ 分子离子峰 m/z 与 TP一致均为 358.9,且与 TP峰较好分离,进一步增加了血浆 TP测定的稳定性与重复性。

小鼠急性毒性研究^[9,10]表明,灌胃给予 TP后, LD_{50} 约为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,因此分别以 $1/10 LD_{50}$ 和 $1/20 LD_{50}$ 即 0.1 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为高、低剂量,并

取 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为中剂量,进行犬的药代动力学研究。Beagle犬静脉给予 TP后,在体内代谢过程符合二室模型,消除半衰期为 $(2.5 \pm 0.8) \text{ h}$,表明 TP在 Beagle体内消除较迅速。不同剂量 ig给药后,TP在 Beagle犬血浆中清除过程亦符合二室模型,平均消除半衰期分别为 $(2.5 \pm 0.7) \text{ h}$, $(2.6 \pm 1.0) \text{ h}$ 和 $(2.4 \pm 1.2) \text{ h}$,与静脉给药结果无统计学差异,符合药物代谢规律。随着 ig剂量的增加, C_{max} 和 AUC存在明显剂量依赖性,且 C_{max} 和 AUC增加的比例与剂量增加的比例一致,说明在 $0.05 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量下,TP在 Beagle犬血浆中清除符合线性动力学过程。本实验中灌胃给予 TP的平均绝对生物利用度为 $(75 \pm 17)\%$,表明 TP经消化道给药的生物利用度较高。

References

- [1] Li XW, Weir MR. Radix *Tripterygium wilfordii* — a Chinese herbal medicine with potent immunosuppressive properties [J]. Transplantation, 1990, 50: 82 - 86.
- [2] Ho LJ, Chang DM, Chang ML. Mechanism of immunosuppression of the antirheumatic herb TWHf in human T cells [J]. J Rheumatol, 1999, 26: 14 - 24.
- [3] Tao X, Lipsky PE. The Chinese anti-inflammatory and immunosuppressive herbal remedy *Tripterygium wilfordii* Hook F [J]. Rheum Dis Clin North Am, 2000, 26: 29 - 50.
- [4] Liu J, Wu QL, Feng YH. Triptolide suppresses CD80 and CD86 expressions and IL-12 production in THP-1 cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26: 223 - 227.
- [5] Yang S, Chen J, Guo Z. Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. Mol Cancer Ther, 2003, 2: 65 - 72.
- [6] Gao XP, Li BG, Zhou J, et al. Antitumor activities and induction of apoptosis by triptolide [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2000, 12: 18 - 21.
- [7] Yang LL, Zhang X, Yuan YS. Determination of triptolide in human plasma by gas chromatography electron capture detection [J]. Chin J Chromatogr (色谱), 2001, 19: 58 - 59.
- [8] Wang Z, Wen J, Xing J, et al. Determination of triptolide and triptonide in human plasma by high-performance liquid chromatography [J]. Biomed Chromatogr, 2005, 19: 60 - 62.
- [9] Liu L, Wang ZY, Huang GZ, et al. The influence of triptolide sub-chronic intoxication on kidney and testicle in mice [J]. Acta Univ Med Tongji (同济医科大学学报), 2001, 30: 214 - 217.
- [10] Ding H, Wu JY, Tong J. The study of triptolide acute toxicity and its mechanism [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2004, 27: 115 - 118.