

本文引用: 牟晴蕊, 白璐, 赵洪庆, 谭喜平, 王宇红, 吴梦瑶. UPLC-MS/MS法测定大鼠血浆中妇科断红饮胶囊3种有效成分的含量及其药代动力学研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(6): 1035-1041.

# UPLC-MS/MS法测定大鼠血浆中妇科断红饮胶囊3种有效成分的含量及其药代动力学研究

牟晴蕊<sup>1</sup>, 白璐<sup>2</sup>, 赵洪庆<sup>1</sup>, 谭喜平<sup>2</sup>, 王宇红<sup>1\*</sup>, 吴梦瑶<sup>2\*</sup>

1. 湖南中医药大学科技创新中心, 湖南长沙 410208; 2. 株洲千金药业股份有限公司, 湖南株洲 412000

**[摘要]** **目的** 建立 UPLC-MS/MS 法测定大鼠血浆中妇科断红饮胶囊主要有效成分在大鼠血浆中的浓度, 并初步研究其在大鼠体内的药代动力学行为。**方法** 雌性 SD 大鼠单次或重复灌胃给药妇科断红饮胶囊内容物后, 收集 72 h 内的血液样本, 通过 UPLC-MS/MS 同时测定 3 种指标性成分的浓度, 由 Phoenix WinNonlin 8.1 计算药代动力学参数。**结果** 以苯海拉明为内标, 芍药苷、益母草碱、三七皂苷 R<sub>1</sub> 的检测范围分别为 2~2000、0.1~300、0.1~800 ng·mL<sup>-1</sup>。准确度分别在 85%~115% 之间, 日内精密度与日间精密度 RSD ≤ 15%。与单次给药组比较, 重复给药组大鼠 3 种成分的药时曲线下面积显著增大, 平均滞留时间 MRT<sub>(0-∞)</sub> 显著延长 (P < 0.01), 消除半衰期 t<sub>1/2</sub> 无明显变化。**结论** 该方法线性关系良好, 线性范围宽, 定量限低, 精密度、回收率等均符合生物样品定量要求, 提示该方法快速、灵敏、重复性好, 可用于妇科断红饮胶囊 3 种有效成分在大鼠体内的相关药代动力学研究。以其主要成分芍药苷、益母草碱和三七皂苷 R<sub>1</sub> 为代表, 妇科断红饮胶囊具有吸收快、分布广的优点。

**[关键词]** 妇科断红饮; 芍药苷; 益母草碱; 三七皂苷 R<sub>1</sub>; 药时曲线; 药代动力学; UPLC-MS/MS

**[中图分类号]** R284

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.06.011

## Pharmacokinetics and content of three active ingredients from Fuke Duanhongyin Capsule in rat plasma by UPLC-MS/MS

MOU Qingrui<sup>1</sup>, BAI Lu<sup>2</sup>, ZHAO Hongqing<sup>1</sup>, TAN Xiping<sup>2</sup>, WANG Yuhong<sup>1\*</sup>, WU Mengyao<sup>2\*</sup>

1. Technology Innovation Center, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. Zhuzhou Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd, Zhuzhou, Hunan 412000, China

**[Abstract]** **Objective** To establish an UPLC-MS/MS method to determine the concentration of the main active ingredients of Fuke Duanhongyin Capsule (FKDHYC) in rat plasma and to preliminarily study their pharmacokinetic behaviors in rats. **Methods** After single or repeated gavage administration of FKDHYC in female Sprague-Dawley (SD) rats, blood samples were collected within 72 h. The concentration of the three indicator ingredients were determined simultaneously by UPLC-MS/MS and pharmacokinetic parameters calculated by Phoenix WinNonlin 8.1. **Results** With diphenhydramine hydrochloride as the internal standard, the detection ranges of paeoniflorin, leonurine and notoginsenoside R<sub>1</sub> were 2~2000, 0.1~300, 0.1~800 ng·mL<sup>-1</sup> respectively. The accuracy was in the range of 85%~115%, and the intra-day and inter-day precisions were ≤ 15%. Compared with the single administration group, the area under the concentration-time curve of the three ingredients in the repeated administration group was significantly increased and the mean retention time (MRT<sub>(0-∞)</sub>) was significantly extended (P < 0.01), while the elimination half-life (t<sub>1/2</sub>) showed no significant change. **Conclusion** The method of UPLC-MS/MS has good linearity, wide linear range, and low limit of quantification. The precision and recovery meet the requirements for the quantification of biological samples, suggesting that the

**[收稿日期]** 2023-02-16

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目 (81874464); 湖南省研究生创新项目 (CX20210714); 湖南中医药大学产学研合作项目 (2020430102003702)。

**[第一作者]** 牟晴蕊, 女, 硕士研究生, 研究方向: 药代动力学研究。

**[通信作者]** \* 王宇红, 女, 研究员, 博士研究生导师, 博士, E-mail: wyh107@126.com; 吴梦瑶, 女, 硕士, E-mail: 1292184276@qq.com。

method is rapid, sensitive and reproducible, and can be used for the pharmacokinetic study of the three active ingredients of FKDHYC in rats. Represented by paeoniflorin, leonurine, and notoginsenoside R<sub>1</sub>, FKDHYC has the advantages of fast absorption and wide distribution.

[**Keywords**] Fuke Duanhongyin; paeoniflorin; leonurine; notoginsenoside R<sub>1</sub>; concentration-time curve; pharmacokinetics; UPLC-MS/MS

妇科断红饮胶囊由赤芍、益母草、三七、仙鹤草、地榆炭、蒲黄炭 6 味药材组成,有凉血、止血、化瘀的功效,可用于子宫功能性出血(dysfunctional uterine bleeding, DUB)的治疗。临床试验结果表明,妇科断红饮胶囊治疗 DUB 疗效显著,试验过程中没有明显不良反应,提示该药安全有效<sup>[1-3]</sup>。目前,该制剂药效良好,组方药物中益母草辛散苦泄,尤善治瘀血经产诸病,为妇科调经良药;赤芍苦能泄散,既清肝火凉血,又活血化瘀;三七微苦泄散,止血与化瘀力均强,有止血而不留瘀、活血而不耗气之优;仙鹤草苦涩收敛,止血力强,凡出血无论寒、热、虚、实皆宜;地榆炭味苦降泄,有凉血止血、消肿止痛之功效,善治下焦血热妄行诸证;蒲黄炭性平不偏,生行炒敛,炒炭后长于收涩,略兼化瘀,为化瘀止血之要药<sup>[4-8]</sup>。但由于复方成分的复杂性和多样性,该制剂的体内过程尚未明晰。

网络药理学分析结果显示,妇科断红饮胶囊可能通过多种活性成分发挥止血化瘀作用。体内实验结果显示,妇科断红饮胶囊亦可改善出血症状,调节多种蛋白表达<sup>[9-10]</sup>。前期文献调研发现,妇科断红饮胶囊治疗 DUB 的 3 个潜在活性成分,分别为赤芍中的芍药苷<sup>[11-12]</sup>、益母草中的益母草碱<sup>[13-16]</sup>与三七中的三七皂苷 R<sub>1</sub><sup>[17]</sup>。实验建立了同时测定妇科断红饮胶囊中 3 种有效成分的 UPLC-MS/MS 定量方法,用于该制剂的药代动力学研究。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器与试剂

Waters ACQUITY 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);AB Sciex QTRAP 5500 型三重四极杆质谱仪(美国 AB SCIEX 公司);Labconco CentriVap 型冷冻台式真空离心浓缩仪(美国 Labconco 公司);Sorvall ST8R 型高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Option R7 ultra AN 型超纯水系统(英国 ELGA LabWaters 公司);XS205DU 型十万分

之一分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);LC-DCY-24GP 型 48 孔干式氮吹仪(力辰科技有限公司);KQ-800DE 型中文液晶台式超声波清洗器(昆山美超声仪器有限公司)。甲醇(质谱纯,德国 Merck KGaA 公司,批号:204681)、乙腈(质谱纯,德国 Merck KGaA 公司,批号:204681);甲酸(质谱纯,德国 CNW 公司,批号:84890090)。

### 1.2 试药

供试品:妇科断红饮胶囊由株洲千金药业股份有限公司生产,国药准字:Z20090713,批号:20200702,规格:0.4 g×18 粒。

对照品:芍药苷(批号:1110736-202044;纯度>96.8%)、盐酸益母草碱(批号:111823-201704;纯度>94.3%)、三七皂苷 R<sub>1</sub>(批号:110745-201921;纯度>90.4%)均购自中国食品药品检定研究院。

### 1.3 动物

健康雌性 SD 大鼠,SPF 级,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司(质量合格证编号:4307272011016 98124),体质量(190±10) g;饲养于湖南中医药大学实验动物中心[许可证号:SCXK(湘)2019-0004]。本实验经湖南中医药大学实验动物伦理委员会审查通过(伦理审查号:LLBH-202012070002)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC®HSS T3 (2.1 mm×100 mm,1.8 μm)。流动相:0.1%甲酸水(A)-甲醇(B),梯度洗脱,0~2 min,95%~5% A;2~3 min,5% A;3~3.1 min,5%~95% A;3.1~5 min,95% A。体积流量 0.3 mL/min。柱温:40 ℃。样品温度:4 ℃。进样量:5 μL。

### 2.2 质谱条件

质谱条件:喷雾离子源;正、负离子模式同时扫描;多重反应监测模式;源喷射电压:5500、-4500 V;源温度:550 ℃;雾化气压力:50 psi(1 psi≈6.895 kPa);气帘气压力:50 psi(1 psi≈6.895 kPa);碰撞反应气:氮气。芍药苷、益母草碱、三七皂苷 R<sub>1</sub> 以及内标物苯海拉明的质谱参数见表 1。

表1 待测物及内标的质谱检测参数

检测离子	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	去簇电压/V	碰撞能/eV
芍药苷	525.3	449.1	-98.00	-21.00
益母草碱	312.0	114.1	108.0	27.00
三七皂苷 R <sub>1</sub>	955.5	775.6	120.0	63.40
苯海拉明	256.0	167.0	37.00	35.00

### 2.3 标准曲线样品与质控样品配制

对照品溶液配制:精密称取芍药苷、益母草碱、三七皂苷 R<sub>1</sub> 各对照品适量,加 50%甲醇定容到 5 mL 容量瓶中,制成浓度分别为 1.08、1.10、1.02 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品储备液。临用前,吸取一定量储备液,置于容量瓶中,甲醇稀释定容,用 50%甲醇按梯度稀释到所需要的浓度,即得混合系列对照品溶液,备用。

内标溶液的配制:精密称取苯海拉明标准品适量,置于 10 mL 容量瓶中,得到 1 mg·mL<sup>-1</sup> 的苯海拉明标准品溶液,加 50%甲醇逐渐稀释成 5 ng·mL<sup>-1</sup> 的苯海拉明标准品溶液。

### 2.4 血浆样品处理<sup>[18]</sup>

取 100 μL 血浆,加入 3 倍量冰甲醇,涡旋 2 min 混匀后冰浴 10 min。设置离心机温度为 4 ℃,以 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min(离心半径 6 cm),取上清液置 1.5 mL EP 管中,用氮吹仪挥干溶剂,用 50%甲醇(提前冰浴)复溶,在 4 ℃下以 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min(离心半径 6 cm),取上清液置于具内置插管的进样瓶中。

### 2.5 方法学考察<sup>[19-22]</sup>

2.5.1 专属性 取浓度为 25 ng·mL<sup>-1</sup> 的混标溶液与内标溶液进行混合,加入到大鼠空白血浆中,另取内标溶液加入含药血浆中,再取空白血浆,将上述 3 个样品分别按“2.4”项下条件处理,检测。3 种有效成分及内标物在扫描模式下得到的质谱色谱图专属性良好,待测物质在特定保留时间下无杂质及代谢产物响应干扰。详见图 1。

2.5.2 线性、检测限与定量限 分别取不同浓度系列混标溶液各 100 μL,等体积 1:1 与空白血浆混合后按“2.4”项下条件处理。LC-MS/MS 测定,记录峰面积,分别以血浆中各成分的浓度值为横坐标,以各成分和内标苯海拉明的峰面积比值为纵坐标作图,采用 1/x<sup>2</sup> 权重后得到各成分标准曲线。以标准曲线最低浓度做定量限,另取定量限浓度样品,平行样

品 5 个,操作同上,分别计算浓度,并得到平行样品浓度之间的 RSD。对血浆中各成分的线性关系和定量限进行考察。结果显示,3 个待测成分线性良好,范围较宽,均符合生物样品线性检测要求。同时,该方法检测限低,响应好。定量限较低且均 ≥70 S/N,平行样品浓度之间的 RSD ≤20%,符合《药物非临床药代动力学研究技术指导原则》<sup>[22]</sup>要求。详见表 2。

2.5.3 准确度与精密度 取配制好的低、中、高质量浓度的质控样品,按“2.4”项下条件处理,各平行 5 份,代入线性方程,计算测定值 C<sub>r</sub>,与加入的标示量 C<sub>z</sub> 比较,C<sub>r</sub>/C<sub>z</sub> 得准确度。同一日内,不同浓度的同一血浆样品平行进样 5 次,随行标曲计算日内精密度;每日每个浓度制备一个,连续 5 批,每日绘制随行标曲,计算实测浓度,计算日间精密度。结果显示,日内与日间精密度均 ≤15%,准确度为 85%~115%,符合生物样品要求。详见表 3。

2.5.4 稳定性 按照“2.4”项下条件,配制低、中、高质量浓度的质控样品,每个浓度各 3 组,每组 5 份。第 1 组样品室温放置 24 h,第 2 组于 4 ℃放置 5 d,第 3 组样品于 -80 ℃反复冻融 3 次,记录峰面积,计算稳定性。结果显示,3 种成分的日内稳定性、日间稳定性、血浆冻融稳定性均为 80%~120%,详见表 4。表明样品在 3 种不同条件下处理后,均对待测样品的测定无显著性影响。

2.5.5 基质效应与提取回收率 分别取平行 5 份配制低、中、高质量浓度的质控样品,按“2.4”项下条件处理,测定峰面积值 A<sub>r</sub>。另取低、中、高 3 个浓度的混标溶液与内标溶液混合,测定峰面积值 A<sub>z</sub>。再取平行 5 份空白血浆按“2.4”项下条件处理后加入低、中、高浓度去除溶剂的混标溶液和内标溶液,制备得标准对照样品,测定峰面积值 A<sub>s</sub>。A<sub>s</sub>/A<sub>z</sub> 得基质效应,A<sub>r</sub>/A<sub>s</sub> 得提取回收率。结果表明,芍药苷在低、中、高 3 个质量浓度中的基质效应为 90.46%~100.10%,提取回收率为 109.60%~114.10%,益母草碱在低、中、高 3 个质量浓度中的基质效应为 89.90%~93.63%,提取回收率为 88.00%~94.90%。提示基质效应很小,提取回收率较高,符合对生物样品的测定要求。三七皂苷 R<sub>1</sub> 提取回收率较低,且有较为明显的基质增强作用,查阅文献得知为三七皂苷 R<sub>1</sub> 入血后的普遍现象<sup>[19]</sup>,3 种成分在不同质量浓度样品的基质效应、回收率测定值趋于稳定。

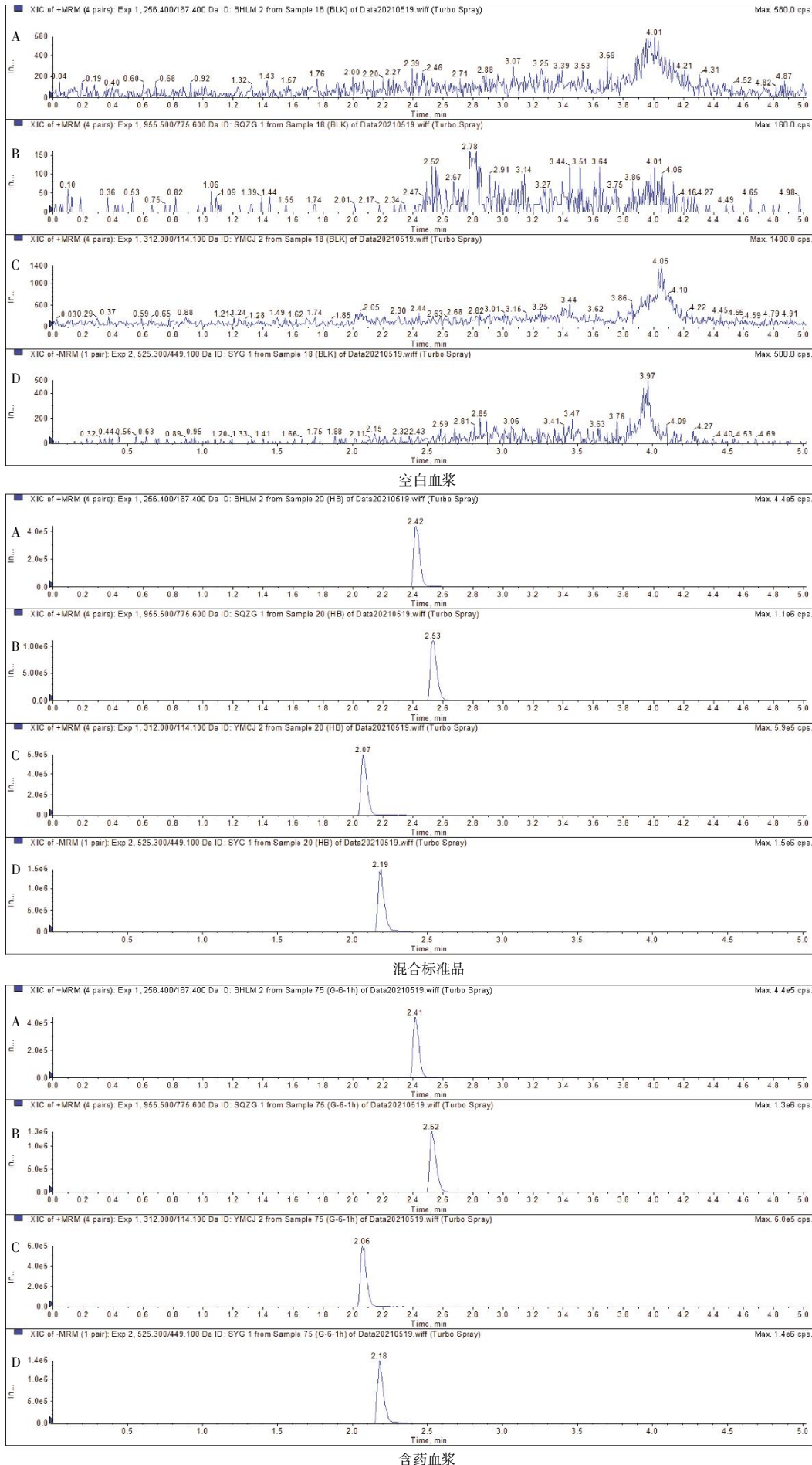


图 1 3 种成分及内标物色谱图

注: A. 苯海拉明; B. 三七皂苷 R<sub>1</sub>; C. 益母草碱; D. 芍药苷。

表2 3种成分的回归方程、相关系数、线性范围和定量限

化合物	线性方程	$R^2$	线性范围/(ng·mL <sup>-1</sup> )	定量限	
				浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%
芍药苷	$Y=3\ 786.955\ 56X+3.212\ 78e^4$	0.998 8	2.000~2 000.0	2.000 0	8.67
益母草碱	$Y=6.456\ 09e^3X+13\ 144.906\ 70$	0.997 1	0.1000~300.0	0.100 0	8.49
三七皂苷 R <sub>1</sub>	$Y=4\ 447.923\ 87X+1\ 691.338\ 94$	0.999 7	0.1000~800.0	0.100 0	2.14

表3 精密度和准确度考察( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

化合物	质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	日内精密度			日间精密度		
		平均值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	准确度/%	平均值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	准确度/%
芍药苷	50.00	55.32±3.438	6.214	110.60	50.10±4.837	9.654	100.20
	200.0	217.4±11.17	5.137	108.70	195.2±14.23	7.291	97.60
	800.0	821.4±36.86	4.487	102.70	829.9±28.54	3.439	103.70
益母草碱	5.000	4.758±0.100 6	2.114	95.15	4.752±0.081 0	1.702	95.04
	50.00	46.18±0.870 0	1.884	92.36	46.43±1.064	2.309	92.86
	200.0	186.1±2.557	1.374	93.07	185.5±2.170	1.167	92.75
三七皂苷 R <sub>1</sub>	25.00	26.10±0.779 5	2.986	104.40	24.78±0.51	2.096	99.12
	100.0	107.2±3.333	3.133	106.40	105.8±7.083	6.695	105.80
	300.0	342.8±6.396	1.869	114.10	292.2±17.53	5.999	97.40

表4 稳定性考察( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

化合物	质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	室温放置 24 h			4 °C放置 5 d			-80 °C反复冻融 3 次		
		测定值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	精密度 RSD/%	准确度/%	测定值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	精密度 RSD/%	准确度/%	测定值/(ng·mL <sup>-1</sup> )	精密度 RSD/%	准确度/%
芍药苷	50.00	48.73±5.946	12.23	84.15	52.67±1.442	2.738	105.3	54.00±2.121	3.928	108.0
	200.0	219.6±15.11	6.556	99.54	207.7±16.11	7.756	103.9	184.4±14.26	7.733	93.84
	800.0	816.6±89.59	10.82	89.54	777.4±17.52	2.254	97.18	785.9±25.01	3.182	98.74
益母草碱	5.000	5.800±0.256 9	4.056	108.6	5.075±0.108 6	2.140	101.5	5.088±0.046 2	0.908 2	101.8
	50.00	56.51±2.613	4.166	105.3	52.52±2.017	3.840	105.0	54.30±1.213	2.234	108.4
	200.0	214.9±21.17	9.843	92.62	192.4±13.91	7.230	96.20	194.7±14.99	7.699	97.35
三七皂苷 R <sub>1</sub>	25.00	25.35±0.605 8	2.054	97.86	25.33±1.801	7.110	101.3	24.55±1.104	4.497	98.19
	100.0	106.0±1.590	1.258	105.5	106.6±9.859	9.250	106.6	100.9±3.358	3.328	100.9
	300.0	296.7±9.010	2.594	97.44	304.4±3.807	1.251	101.5	296.5±8.183	2.760	98.85

## 2.6 妇科断红饮胶囊药代动力学研究

雌性 SD 大鼠 15 只,饲养于标准鼠笼中,保持室温(22±2) °C,相对湿度为 40%~70%,于实验前 12 h 禁食,动物在实验期间自由饮水,并于给药后 2 h 自由进食标准鼠粮。大鼠随机分成 3 组:单次给药组(1.944 g/kg 灌胃给药 1 d 受试药物,1 次,6 只)、重复给药组(1.944 g/kg 连续灌胃给药 5 d 受试药物,每日 1 次,6 只)、空白组(3 只)。分别于给药后 0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12、24、48、72 h 颈静脉采血约 0.3 mL,加入 0.5%肝素钠润洗干燥后的离心管中,设置离心机温度为 4 °C,以 4500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min (离心半径 6 cm)后,取上层血浆,储存于-80 °C 冰箱备用。按“2.4”项下方法进行血浆样品预处理,再按“2.1”和“2.2”项下条件进样测定。采用 UPLC-MS/

MS 法进行药物浓度分析测定,并用 Phoenix WinNonlin 8.1 药代动力学软件处理数据。根据血药浓度与时间的关系,以时间为横坐标,血药浓度为纵坐标绘制药时曲线。对药时曲线进行拟合,采用非房室模型计算各成分药代动力学参数。

2.6.1 芍药苷药时曲线及药代动力学参数 灌胃给药妇科断红饮胶囊内容物,经计算后得到芍药苷的给药剂量为 85 145 782.066 ng/kg,药时曲线见图 2,药代动力学参数见表 5。

2.6.2 益母草碱药时曲线及药代动力学参数 灌胃给药妇科断红饮胶囊内容物,经计算后得到益母草碱的给药剂量为 11 326 994.772 ng/kg,药时曲线见图 3,药代动力学参数见表 6。

2.6.3 三七皂苷 R<sub>1</sub> 药时曲线及药代动力学参数 灌

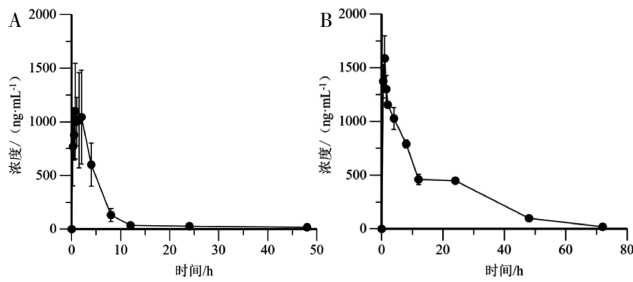


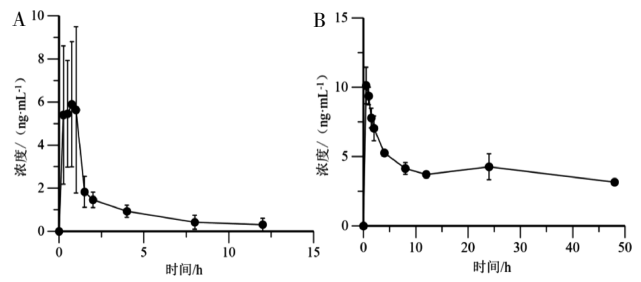
图2 大鼠单次、重复给药后芍药苷的平均药时曲线

( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

注:A.单次给药组;B.重复给药组。

表5 大鼠灌胃给药后芍药苷的药代动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	单次给药组	重复给药组
$T_{max}/h$	0.88±0.61	0.75±0.27
$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	1.30±0.42	1.65±0.15
$MRT_{(0-4)}/h$	6.72±1.01	21.49±0.49
$MRT_{(0-\infty)}/h$	9.83±3.28	21.50±0.50
$AUC_{(0-4)}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1})$	6.27±1.67	1.21±0.29
$AUC_{(0-\infty)}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1})$	6.57±1.63	1.23±0.24
$t_{1/2}/h$	12.38±7.05	10.57±0.69
$CL/(\text{mL} \cdot h^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})$	0.06±0.01	5.23±0.20

图4 大鼠单次、重复给药后三七皂苷 R<sub>1</sub> 的平均药时曲线( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

注:A.单次给药组;B.重复给药组。

表7 大鼠灌胃给药后三七皂苷 R<sub>1</sub> 的药动参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	单次给药组	重复给药组
$T_{max}/h$	1.04±0.62	0.50±0.12
$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	2.12±0.63	10.13±1.33
$MRT_{(0-4)}/h$	10.93±4.98	127.47±32.28
$MRT_{(0-\infty)}/h$	20.36±10.13	125.47±36.71
$AUC_{(0-4)}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1})$	15.52±6.86	56.29±9.63
$AUC_{(0-\infty)}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1})$	19.14±9.08	54.97±11.62
$t_{1/2}/h$	15.29±8.60	91.93±37.67
$CL/(\text{mL} \cdot h^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})$	26.53±17.00	3.49±0.21

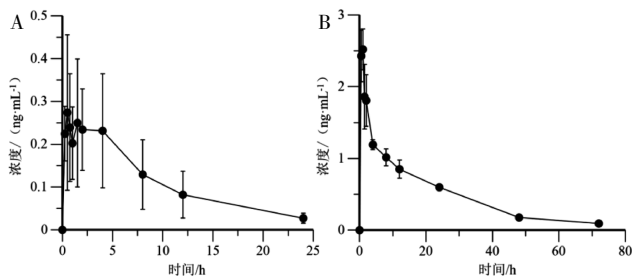


图3 大鼠单次、重复给药后益母草碱的平均药时曲线

( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

注:A.单次给药组;B.重复给药组。

表6 大鼠灌胃给药后益母草碱的药代动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	单次给药组	重复给药组
$T_{max}/h$	1.79±0.51	0.92±0.20
$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	0.57±0.35	2.53±0.30
$MRT_{(0-4)}/h$	7.83±6.52	24.33±1.57
$MRT_{(0-\infty)}/h$	22.86±9.01	24.09±1.66
$AUC_{(0-4)}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1})$	4.34±2.74	6.00±0.91
$AUC_{(0-\infty)}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1})$	2.53±2.23	5.44±0.76
$t_{1/2}/h$	19.06±7.61	17.53±0.96
$CL/(\text{mL} \cdot h^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})$	7.42±4.68	476.03±22.97

胃给药妇科断红饮胶囊内容物,经计算后得到三七皂苷 R<sub>1</sub> 的给药剂量为 386.618 ng/kg,药时曲线见图4,药代动力学参数见表7。

### 3 讨论

在探索预处理方法的过程中发现芍药苷在血浆中存在室温下降解的问题,通过查阅文献得知芍药苷的降解速率随温度的降低而降低,在 4℃时基本稳定<sup>[23]</sup>,故血浆样品处理过程均严格控制在 4℃下进行。本实验采用蛋白沉淀法处理血浆样本,在前期实验中分别用甲醇、乙腈两种溶剂作为沉淀溶剂,通过计算回收率发现,使用甲醇沉淀更适用于妇科断红饮胶囊中 3 种有效成分。

本研究首次建立了同时测定妇科断红饮胶囊中多种有效成分在大鼠血浆中的定量分析方法,该方法线性关系良好,线性范围宽,定量限低,方法稳定、灵敏,精密度、回收率等均符合生物样品定量要求。药代动力学结果显示,重复给药后芍药苷的  $C_{max}$ / $AUC$  明显升高,表明与单次给药相比芍药苷在体内的吸收程度显著下降,吸收速度加快。三七皂苷 R<sub>1</sub> 的  $CL$  下降、 $AUC_{(0-4)}$  和  $AUC_{(0-\infty)}$  降低、 $MRT_{(0-4)}$  显著提高,表明与单次给药相比,重复给药后三七皂苷 R<sub>1</sub> 在体内滞留时间延长,推测其生物利用度有明显提高。益母草碱的  $CL$  升高而其余参数无明显差异。结合药时曲线结果可知,大鼠单次给药后,三七皂苷 R<sub>1</sub> 吸收

快、消除快;益母草碱、芍药苷吸收快,消除较慢。多次给药后,大鼠体内没有芍药苷和益母草碱蓄积,有少量三七皂苷  $R_1$  积蓄。与单次给药相比,多次给药后主要药代动力学参数发生显著改变,其科学内涵仍待药理学实验验证。

中药复方所含化学成分复杂,药理作用具有多靶点、多途径、多环节的特点,致使中药复方研究往往遇到物质基础不清、作用机制不明、研究基础与临床应用脱节等问题<sup>[24]</sup>。而中药复方药代动力学就是连接中医药理论与临床应用的桥梁,是阐释中药如何发挥药效的数据支撑<sup>[25]</sup>。本文以妇科断红饮胶囊为载体,考察其主要活性成分在大鼠体内的时量关系,明确其体内处置过程,为后续妇科断红饮胶囊临床研究奠定基础,并为中药创制提供新思路。

## 参考文献

- [1] 谢智菲. 妇科断红饮胶囊治疗血热内扰型功能失调性子宫出血临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2022, 20(21): 45-47.
- [2] 钱雅丽, 张永存, 史慧星, 等. 妇科断红饮胶囊联合左炔诺孕酮治疗功能失调性子宫出血的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(3): 671-675.
- [3] 刘建武, 陶莉莉, 邱如卿, 等. 妇科断红饮胶囊治疗血热内扰证功能失调性子宫出血 324 例临床研究[J]. 中医药临床杂志, 2011, 23(7): 628-630.
- [4] 陈文鹏, 卢健棋, 庞延, 等. 仙鹤草化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(6): 118-122.
- [5] 高明亮, 蓝锦珊, 单鸣秋, 等. 中药炭药研究进展与研究策略思考[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 696-703.
- [6] 杨映映, 唐浚峰, 李青伟, 等. 炭类中药药理研究及临床应用[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(10): 186-190.
- [7] 张向阳, 刘春燕, 贾丽霞, 等. 炒地榆炭及烘地榆炭对小鼠出血、凝血时间的影响[J]. 河南中医, 2017, 37(12): 2109-2110.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 144-145.
- [9] 何 瓌, 赵洪庆, 吴梦瑶, 等. 基于网络药理学及实验验证探究妇科断红饮胶囊治疗功能失调性子宫出血的作用机制[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2022, 24(11): 4444-4454.
- [10] 何 瓌, 凌勇根, 赵洪庆, 等. 妇科断红饮胶囊改善大鼠功能失调性子宫出血的作用机制研究[J]. 中国药房, 2022, 33(23): 2840-2844.
- [11] 高 尚, 陈 秧, 彭彩云, 等. 止血调经颗粒 HPLC 指纹图谱研究及其主成分定量测定[J]. 中草药, 2019, 50(15): 3642-3647.
- [12] FANG Y S, WU L C, MA K L, et al. Paeoniflorin alleviates lipopolysaccharide-induced disseminated intravascular coagulation by inhibiting inflammation and coagulation activation[J]. Drug Development Research, 2020, 81(4): 517-525.
- [13] 代良萍. 益母草注射液缩宫止血的药效物质基础研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [14] 景茹草, 姜向阳. 益宫颗粒促进产后子宫复旧临床观察分析[J]. 中国医药指南, 2010, 8(1): 103-104.
- [15] 楼彩霞, 庞宗然, 崔 箭. 妇科出血病证的中药复方治疗[J]. 光明中医, 2009, 24(10): 2035-2037.
- [16] 李 霞. 益母草碱对药物致早孕大鼠不完全流产的影响及其部分机制的研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [17] 谭 亮, 汤秋凯, 王守章, 等. 三七皂苷  $R_1$  药理作用的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(5): 604-607.
- [18] 林美好, 曾 琪, 陈光宇, 等. UPLC-Q-TOF-MS 技术分析黑参在大鼠血清、尿液及粪便中的化学成分[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(10): 1394-1399.
- [19] 王 源. 复方血栓通胶囊主要有效成分的药代动力学研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [20] 李壮壮. 柴胡桂枝颗粒制剂工艺、质量标准及药物代谢动力学研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [21] 朱 清. 益母草碱在大鼠体内药代动力学及代谢研究[D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [22] CDE. 药物非临床药代动力学研究技术指导原则[EB/OL]. (2014-05-13) [2023-02-16]. <http://www.cde.org.cn/attachmentout.do?method=list&id=5264>.
- [23] 霍晓光, 胡欣彤, 陈丽霞, 等. 芍药苷稳定性研究[J]. 中国科技论文, 2017, 12(18): 2092-2097.
- [24] 袁 瑾, 钮英杰, 王 莹, 等. 中药复方药动药效相关性研究的方法与思考[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(4): 60-62.
- [25] 苏如玉, 张 磊, 张 玉, 等. 从药物代谢动力学角度探讨中药复方有效性的思路与方法[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(1): 111-115.

(本文编辑 周 旦)