

• 药代动力学 •

精制冠心巴布膏 3 种主要成分的药代动力学研究

侯瑞¹, 王岚², 杜茂波², 梁日欣^{2*}, 刘淑芝², 王彦礼², 张建永²

(1. 首都医科大学, 北京 100069; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立家兔血浆中精制冠心巴布膏 3 种主要成分丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸 B 和芍药苷 LC-MS/MS 测定方法, 测定精制冠心巴布膏经皮给予后 3 种主要成分丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸 B 和芍药苷的血药浓度, 计算药代动力学参数。方法: 家兔按 15 g·kg⁻¹ 生药经皮给药, LC-MS/MS 测定血浆中 3 种主要成分的浓度, 用软件 WinnonLin 拟合, 并计算主要药动学参数。结果: 血浆中丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸 B、芍药苷分别在 1~100, 50~1 000, 10~1 000 μg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r > 0.999$), 平均回收率分别为 96.57%、91.90%、95.93%。日内差异 RSD 小于 15%。家兔透皮给药精制冠心巴布膏后丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸 B 和芍药苷的主要药动学参数分别为: C_{max} (20.85 ± 12.68), (636.25 ± 386.91), (787.80 ± 395.64) μg·L⁻¹; T_{max} (0.49 ± 0.28), (0.44 ± 0.27), (0.46 ± 0.30) h。结论: LC-MS/MS 选择性好, 灵敏度高, 适用于血浆样品成分含量测定, 丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸 B 和芍药苷 3 种主要成分的药代动力学特征适于评价精制冠心巴布膏的体内透皮吸收行为。

[关键词] 精制冠心巴布膏; 丹参酮Ⅱ_A; 丹酚酸 B; 芍药苷; 药代动力学; 液质联用

心血管疾病是威胁人类健康最常见的疾病之一, 其中冠心病的发病率及病死率均占心血管疾病首位, 且有上升趋势。目前, 临床对于冠心病的治疗, 主要采用药物治疗、介入疗法及手术治疗。经皮给药系统 (transdermal therapeutic system, 简称 TTS) 是经皮肤敷贴方式用药, 药物由皮肤吸收进入全身血液循环达到有效的血药浓度, 实现疾病的治疗或预防的一类制剂^[1]。精制冠心方又称冠心 II 号方由丹参、赤芍、川芎、红花和降香 5 味中药组成, 因具有活血化瘀之功效, 主要用于瘀血内停所致的胸痹, 症见胸闷、心前区刺痛; 即心血瘀阻之冠心病、心绞痛^[2]。精制原方为水提后直接进粒, 出膏率高, 服用量大, 患者依从性较差; 近年来, 大孔吸附树脂逐步用于中药有效成分和复方制剂的分离纯化。为降低其得膏率, 使原方有效成分高度富集, 方便制剂, 课题组采用大孔吸附树脂对冠心全方水提物进行了精制, 制备成冠心巴布膏^[3], 并对其活血化瘀作用和毒性作用进行了观察,

结果表明精制冠心巴布膏冠心巴布膏可以改善血瘀证大鼠的血液流变学指标, 防止心律失常的发生, 具有一定的活血化瘀作用; 同时, 对皮肤黏膜没有刺激作用, 也不引起过敏反应, 为其临床应用提供了实验依据。本文在前期研究工作的基础上, 采用 LC-MS/MS 测定家兔经透皮给药精制冠心巴布膏后血浆中丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸 B 和芍药苷的浓度, 分析其体内药代动力学参数, 以评价精制冠心巴布膏的体内透皮吸收行为。

1 材料

1.1 动物 雄性大白兔, 体重 2.4~2.8 kg, 由北京市芳缘动物养殖场提供, 动物合格证号 SCXK(京) 2009-0014。

1.2 仪器 Centrifuge 5415D 高速离心机, 德国 Eppendorf 公司; LC-MS/MS 为 Ultimate3000 高效液相色谱, 戴安中国有限公司; 3200 QTRAP 三重四极杆离子阱质谱, AB Sciex 质谱系统公司; MG2200 氮吹仪, 日本第一株式会社; QL-861 涡旋仪, 其林贝尔仪器制造有限公司。

1.3 药品及试剂 冠心巴布膏 (每 1 g 膏相当于 2.318 g 生药), 生产日期 20110809, 由中国中医科学院中药研究所制剂室提供; 丹参酮Ⅱ_A (中国药品生物制品检定所提供, 批号 115766-200619); 芍药苷 (中国食品药品检定研究院提供, 批号 115939-25-8); 丹酚

[稿件编号] 20120319010

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09502); 中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目 (ZZ2007046)

[通信作者] * 梁日欣, 研究员, 博士生导师, Tel: (010) 64014411-2948, E-mail: liangrixin2009@sina.com

[作者简介] 侯瑞, 硕士研究生, Tel: (010) 64014411-2948, E-mail: houri527@163.com

©1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酸 B(成都曼思特生物科技有限公司,批号 110736-201035);地西洋(中国食品药品检定研究院,批号 1242-200001);甲醇为色谱纯试剂(Fisher Scientific,批号 110939);乙腈为色谱纯试剂(Fisher Scientific,批号 100606);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)其他试剂为分析纯。

2 方法

2.1 储备液的制备 精密称取 1 mg 对照品,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解,稀释并定容至刻度,配制成 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷单个储备液;取储备液 200 μL ,置 2 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,配制成 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的工作液。

2.2 标准系列溶液的配制 取工作液分别用甲醇稀释至所需浓度,丹参酮 II_A 标准液质量浓度分别为 100, 50, 20, 10, 5, 1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,丹酚酸 B 标准液质量浓度分别为 1 000, 500, 200, 100, 50, 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,芍药苷标准液质量浓度分别为 1 000, 500, 200, 100, 50, 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 方法学质控 在生物样本分析方法确证完成后开始测定未知样品,同时进行质量控制。每批生物样品测定时建立新的标准曲线,并进行三浓度双样本质控样品(QC)分析,QC 数大于未知样品总数的 5%,将 QC 准确度小于 15% 作为当日数据是否接受的标准。取工作液分别用甲醇稀释至所需质量浓度,丹参酮 II_A 的 QC 分别为 5, 20, 80 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,丹酚酸 B 的 QC 质量浓度分别为 50, 200, 800 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,芍药苷的 QC 质量浓度分别为 50, 200, 800 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4 给药取血方案 取大耳白兔子 6 只,于给药前 24 h 兔子背部脱毛 $10 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$,给药前取 0 h 的血,按 $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 经皮给药,取冠心巴布膏均匀涂于兔脱毛区域,敷上塑料薄膜再用透明胶带环绕固定 8 h,给药后 20, 40 min, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h 取血。在兔耳缘静脉处沿静脉划开一小口将血滴于肝素化试管中, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min。取血浆 0.5 mL 于 -20°C 冰箱保存待用。

2.5 血样处理 血样处理方法:取血浆样品 100 μL 置试管中,加入内标地西洋 100 μL ($10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 甲醇配),加入甲醇 100 μL ,涡流混合振荡 1 min,离心 10 min ($15\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),取上清液进样 10 μL 进行分析。

2.6 血浆样品分析方法的建立和确证^[4-40] 血浆样品的分析方法如下。Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6

$\text{mm} \times 150 \text{ mm} \ 5 \mu\text{m}$) (美国 Welch Materials, Inc 公司);流动相 A 甲醇, B 水(含 0.2% 甲酸), C 乙腈,采用梯度洗脱,见表 1;流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温 30°C ;进样量 10 μL 。

表 1 样品梯度洗脱条件

Table 1 Gradient conditions of samples

时间/min	A 相	B 相	C 相
	甲醇/%	水(含 0.2% 甲酸)/%	乙腈/%
0.00	20	60	20
0.70	74	6	20
4.50	76	4	20
4.51	20	60	20
7.00	20	60	20

质谱条件:电喷雾离子源(ESI);源内气体 1(GS1, N₂) 压力 344.75 Pa, 气体 2(GS2, N₂) 压力 379.225 Pa;气帘气体(N₂) 压力 137.9 Pa;碰撞气(N₂) Medium;离子源温度 580°C ;检测方式正负离子检测,正离子检测丹参酮 II_A、地西洋,负离子检测芍药苷、丹酚酸 B;离子喷射电压负离子检测 $-4\ 500 \text{ V}$,正离子检测 $5\ 500 \text{ V}$;扫描方式为多重反应监测(MRM)方式;每个化合物分别选择 1~2 对母离子/子离子对作为定性离子对,以第 1 对离子对作为定量离子对。其定性离子对、定量离子对、解簇电压(DP)、碰撞能量(CE)和保留时间 t_R 见表 2。

表 2 质谱检测条件

Table 2 Experimental conditions of electrospray tandem mass spectrometry

名称	m/z	DP/V	CE/eV	t_R/min
丹参酮 II _A	295.3 $\rightarrow$ 249.2 ¹⁾	65	30	5.55
	295.3 $\rightarrow$ 206.0		44	
丹酚酸 B	717.0 $\rightarrow$ 321.2 ¹⁾	-35	-45	3.02
	717.0 $\rightarrow$ 519.0		-20	
芍药苷	525.0 $\rightarrow$ 121.0 ¹⁾	-20	-40	2.64
地西洋	285.2 $\rightarrow$ 193.2 ¹⁾	70	44	4.04

注: 1) 定量离子对。

2.7 标准曲线的制备 配制丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷对照品血浆不同浓度标准溶液,使终质量浓度分别为 1.00, 5.00, 10.00, 20.00, 50.00, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 10, 50, 100, 200, 500, 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 10, 50, 100, 200, 500, 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。配制丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷对照品血浆不同浓度质控(QC)

溶液, 使终质量浓度 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 分别为 5 、 20 、 $80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 50 、 200 、 $800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 50 、 200 、 $800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将上述配制溶液, 按 2.5 项处理后, LC-MS/MS 检测。以待测成分色谱峰面积 (A) 与内标物峰面积 (A_s) 比值为纵坐标, 样品浓度 (C) 为横坐标作直线回归, 考察线性关系并求标准曲线方程。同时测定定量限。

2.8 回收率试验 绝对回收率: 取兔子空白血浆 $100 \mu\text{L}$, 加入 $200 \mu\text{L}$ 甲醇, 涡旋混匀, $15\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 取上清液, 常温氮气吹干, 用 $100 \mu\text{L}$ 水复溶后, 加入 $100 \mu\text{L}$ 地西洋内标 ($10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇配), 再分别加入 $100 \mu\text{L}$ 的丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷对照品各自 3 个不同浓度血浆溶液质量控制样品 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 , 按 2.5 项下操作, 进行 LC-MS/MS 分析。以待测质控样品与内标的峰面积之比与相应浓度对照品溶液的对应成分与内标峰面积之比的比值计算。

相对回收率: 样品处理同绝对回收率样品, 以实测浓度与质控样品标示浓度之比计算方法回收率。

2.9 精密度试验 配制丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷低、中、高 3 个质量浓度的血浆溶液质量控制 (QC) 样品 Q_1 、 Q_2 、 Q_3 , 按 2.5 项下处理, 进行日内重复试验, 以考察分析方法的日内精密度。

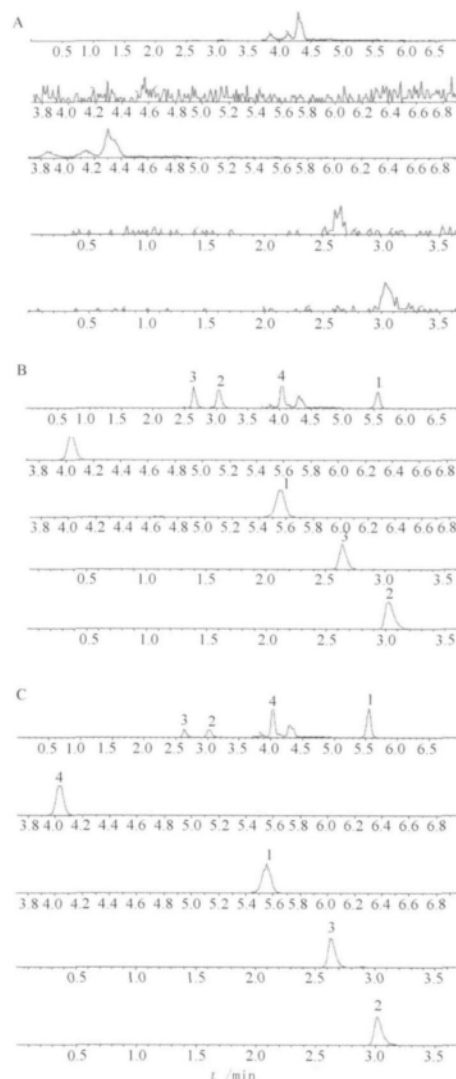
2.10 数据处理 运用 Winnonlin 药动学数据处理软件, 选择非房室模型拟合丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷的药-时曲线, 并得出其他药动学相关参数。

3 结果

3.1 专属性考察 比较空白血浆、真实含药血浆、对照品空白血浆的色谱行为, 考察是否存在内源性干扰。以上色谱条件下, 可以看出在丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷及其内标物地西洋色谱峰处不存在内源性干扰, 见图 1, 表明专属性良好。

3.2 标准曲线 在上述色谱条件下进行分析, 以样品浓度对色谱峰面积比值进行回归, 得回归方程: $Y_{\text{丹参酮 II}_A} = 0.034X + 0.024$, $R^2 = 0.999$; $Y_{\text{丹酚酸 B}} = 0.001X - 0.007$, $R^2 = 0.999$; $Y_{\text{芍药苷}} = 0.001X - 0.003$, $R^2 = 0.999$; 结果表明丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷分别在 $1 \sim 100$ 、 $50 \sim 1\ 000$ 、 $10 \sim 1\ 000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性良好, 见图 2。三者定量限分别为 1 、 50 、 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.3 提取回收率试验 所得低、中、高浓度样品回收率见表 3、4。



A. 空白血浆样品; B. 血浆样品; C. 混合对照品; 1. 丹参酮 II_A; 2. 丹酚酸 B; 3. 芍药苷; 4. 地西洋。

图 1 样品的液-质联用离子流图

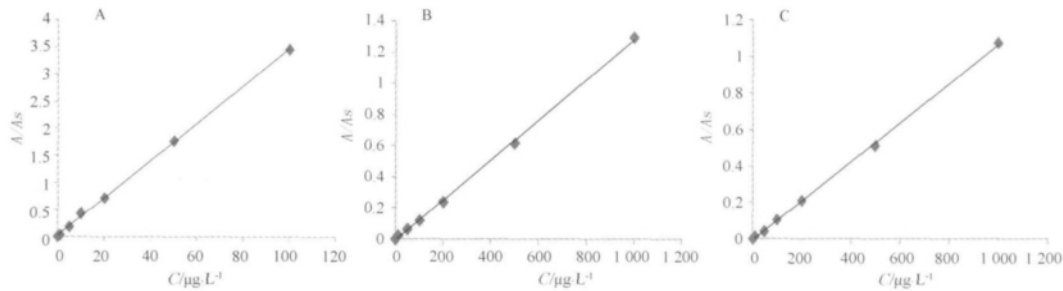
Fig. 1 Combined LC-MS/MS ion chromatograms of samples

3.4 精密度试验 日内精密度见表 5。

3.5 药代动力学试验 Winnonlin 计算家兔皮肤涂抹冠心巴布膏后不同时间点血药浓度药动学参数见表 6。丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷的平均血药浓度血药浓度-时间曲线见图 3~5。

4 讨论

为了保证血药浓度结果的准确, 本实验采用内标法计算血药浓度, 分别考察了盐酸苯海拉明、地西洋作为内标物的优劣。其中地西洋的保留时间最佳, 且能与其他成分有效分离, 稳定性良好, 因此选择地西洋作为内标物。



A. 丹参酮 II_A; B. 丹酚酸 B; C. 芍药苷。

图 2 丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷的标准曲线

Fig. 2 Standard curves of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflor

表 3 兔子血浆样品丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷提取回收率 ($\bar{x} \pm s$ $n=6$)

Table 3 Extraction recovery of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflor in rabbit plasma ($\bar{x} \pm s$ $n=6$)

成分	质量浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
丹参酮 II _A	5	102 ± 0.11	4.4
	20	95.2 ± 0.39	6.5
	80	92.5 ± 0.30	9.1
丹酚酸 B	50	91.5 ± 0.04	5.3
	200	84.8 ± 0.21	1.2
	800	99.4 ± 0.33	1.1
芍药苷	50	92.3 ± 0.49	10
	200	92.5 ± 1.69	7.3
	800	103 ± 1.59	0.60

表 4 兔子血浆样品丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷方法回收率($\bar{x} \pm s$ $n=6$)

Table 4 Method recovery of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflor in rabbit plasma($\bar{x} \pm s$ $n=6$)

成分	质量浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	实测值/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	方法回收率/%
丹参酮 II _A	5	5.00 ± 0.00	100.1
	20	19.99 ± 0.01	99.94
	80	79.99 ± 0.02	99.98
丹酚酸 B	50	50.05 ± 0.08	100.1
	200	200.37 ± 0.09	100.2
	800	801.73 ± 1.41	100.2
芍药苷	50	56.40 ± 3.54	91.67
	200	239.5 ± 12.02	92.07
	800	865 ± 12.73	103.0

在样品的处理方法过程中,分别考察了甲醇沉淀蛋白法、丙酮沉淀蛋白法、乙腈沉淀蛋白法以及乙酸乙酯萃取法。对其各自所得的回收率进行分析,结果甲醇沉淀蛋白法回收率最高,其次为丙酮沉淀

表 5 兔子血浆样品丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷的日内精密密度

Table 5 Inter-day precision of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflor in rabbit plasma

成分	质量浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	日内精密密度($n=5$)	
		平均值/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	RSD/%
丹参酮 II _A	5	5.0	0.42
	20	20.0	3.2
	80	80.0	1.8
丹酚酸 B	50	50.1	11
	200	200.0	0.60
	800	799.0	2.5
芍药苷	50	54.0	14
	200	205.6	7.7
	800	888.3	9.5

蛋白法、乙腈沉淀蛋白法、乙酸乙酯萃取法得到的回收率最低,因此选用甲醇沉淀蛋白法作为本实验的样品处理方法。

由于经皮吸收制剂药物的透过量少,药物在体内检测很困难,因此需建立一种高灵敏度的检测方法,以较好地了解药物的透皮吸收情况。最低检测限的测定、回收率试验及精密密度试验的结果表明,LC-MS/MS 法选择性强,由于生物样本中的其他杂质不被检测,使得空白本底明显降低,提高了对丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷的检测灵敏度。LC-MS/MS 法操作简单,样本量仅需 100 μL ,三者定量限分别达 1, 50, 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,每个样本的分析时间仅为 7 min,适用于精制冠心巴布膏中丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷的药动学研究。

药动学计算机软件 Winnonlin 拟合处理,经非房室模型模拟,丹参酮 II_A、丹酚酸 B 和芍药苷的主要药动学参数分别为 C_{max} (20.85 ± 12.68),

表 6 兔子血浆样品丹参酮 II_A、丹酚酸 B 与芍药苷主要药动学参数表($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 6 Pharmacokinetic parameters of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflor in rabbit plasma($\bar{x} \pm s, n=5$)

拟合参数	丹参酮 II _A	丹酚酸 B	芍药苷
$\text{Lambda}_z / \text{h}^{-1}$	0.12 ± 0.05	0.22 ± 0.12	0.07 ± 0.02
$\text{HL_Lambda}_z / \text{h}$	9.70 ± 6.73	10.48 ± 8.86	9.34 ± 1.92
$\text{AUC}_{\text{all}} / \text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	120.84 ± 84.14	2779.12 ± 1235.40	5841.21 ± 2186.84
$C_{\text{max}} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	20.85 ± 12.68	636.25 ± 386.91	787.80 ± 395.64
$T_{\text{max}} / \text{h}$	0.49 ± 0.28	0.44 ± 0.27	0.46 ± 0.30
$\text{CL_F}_{\text{obs}} / \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$	662.55 ± 502.77	126.690 ± 52.50	23.69 ± 12.37
$\text{MRT}_{\text{last}} / \text{h}$	11.82 ± 1.85	11.30 ± 1.91	7.39 ± 1.50
Rsq	0.89 ± 0.09	0.93 ± 0.07	0.94 ± 0.07

注: Lambda_z 消除速率常数或慢配置速率常数; HL_Lambda_z 消除相半衰期; CL 清除速率; MRT 平均驻留时间; C_{max} 血药浓度峰值; T_{max} 血药浓度峰值时间; AUC 药时曲线下面积; Rsq 相关系数。

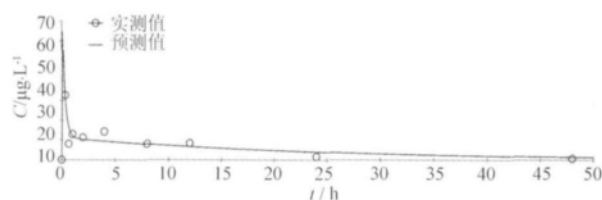


图 3 精制冠心巴布膏给药后丹参酮 II_A 药-时曲线($n=6$)
Fig. 3 AUC of tanshinone II_A after the treatment of refined bolted cataplastm($n=6$)

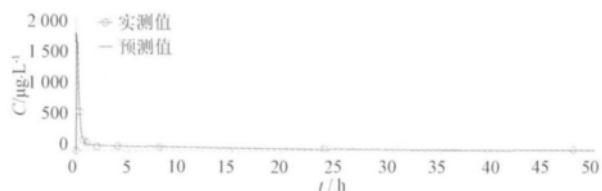


图 4 精制冠心巴布膏给药后丹酚酸 B 药-时曲线($n=6$)
Fig. 4 AUC of salvianolic acid B after the treatment of refined bolted cataplastm($n=6$)

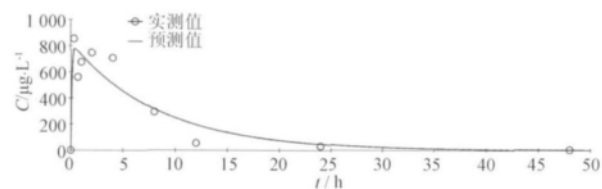


图 5 精制冠心巴布膏给药后芍药苷药-时曲线($n=6$)
Fig. 5 AUC of paeoniflor after the treatment of refined bolted cataplastm($n=6$)

(636.25 ± 386.91), (787.80 ± 395.64) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$;
 T_{max} (0.49 ± 0.28), (0.44 ± 0.27), (0.46 ± 0.30)
h。由以上药动学参数初步表明吸收速率快, 达峰

时间短, 药物经皮吸收迅速, 可能可以较快发挥药效作用。根据 AIC 最小, R 最大, 经房室模型模拟, 丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷均为二室模型。

本实验建立了血浆中丹参酮 II_A、丹酚酸 B、芍药苷的 LC-MS/MS 测定方法, 初步阐明了精制冠心巴布膏 3 种主要成分在家兔体内的药代动力学特征, 为其新药研发和临床使用奠定了基础。

[参考文献]

- [1] 华晓东, 任变文. 经皮给药系统的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 282.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 1213.
- [3] 吴志成, 刘淑芝, 李曼玲, 等. 精制冠心方水提液的大孔树脂纯化工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 11.
- [4] 武洁, 姚楠, 王大为. HPLC-MS/MS 测定大鼠血浆中的芍药苷及其药动学研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(22): 2369.
- [5] 万仁忠, 许妍妍, 谷元, 等. 丹酚酸 B 及其活性代谢产物在大鼠体内药动学研究[J]. 中草药, 2011, 2(2): 335.
- [6] 王颖, 朱靖博, 付绍平, 等. 高温高压下丹酚酸 B、紫草酸水溶液化学变化的研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(4): 434.
- [7] 宋敏, 杭太俊, 张正行. 丹参提取物有效成分在大鼠体内的药代动力学和相互影响研究[J]. 药学报, 2007, 42(3): 301.
- [8] 沈建芳, 汪红, 王强, 等. 丹参中丹参酮成分的 HPLC-MS(n) 研究[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(10): 944.
- [9] Xiuli Wang, Zhi Rong Zhang. Simultaneous determination and pharmacokinetic study of water-soluble and lipid-soluble components of danshen in rat plasma using HPLC-UV method[J]. Biomed Chromatogr, 2007(21): 1180.
- [10] Hao H, Wang G, Li P et al. Simultaneous quantification of cryptotanshinone and its active metabolite tanshinone II_A in plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. J Pharm Bio Anal, 2006, 40(2): 382.

Pharmacokinetic study on three main ingredients of refined coronary cataplasm

HOU Rui¹, WANG Lan², DU Mao-bo², LIANG Ri-xin^{2*}, LIU Shu-zhi², WANG Yan-li², ZHANG Jian-yong²

(1. Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a LC-MS/MS method for determining the concentration of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflorin of refined coronary cataplasm in rabbit plasma, in order to determine the concentration of the three main ingredients in blood after transdermal administration and calculate their pharmacokinetic parameters. **Method:** Rabbits were given refined coronary cataplasm on the basis of 15 g · kg⁻¹ by transdermal administration to detect the plasma concentration of the three main ingredients using LC-MS/MS. Winnonlin software was used to calculate their major pharmacokinetic parameters. **Result:** Tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflorin showed good linearity ($r > 0.999$) at 1-100, 50-1 000, 10-1 000 μg · L⁻¹ respectively in plasma, with average recovery rate of 96.57%, 91.90%, 95.93%, respectively. The RSD within day were less than 15%. After transdermal administration of refined coronary cataplasm in rabbits, the main pharmacokinetic parameters of tanshinone II_A, salvianolic acid B or paeoniflorin were as follows: C_{max} (20.85 ± 12.68), (636.25 ± 386.91), (787.80 ± 395.64) μg · L⁻¹; T_{max} (0.49 ± 0.28), (0.44 ± 0.27), (0.46 ± 0.30) h. **Conclusion:** The LC-MS/MS method is highly selective and sensitive to determine the concentration of samples in rabbit plasma. The pharmacokinetic characteristics of tanshinone II_A, salvianolic acid B and paeoniflorin are suitable to assess the percutaneous absorption of refined coronary cataplasm.

[Key words] refined coronary cataplasm; tanshinone II_A; salvianolic acid B; paeoniflorin; pharmacokinetic; LC-MS/MS

doi: 10.4268/cjcm20122328

[责任编辑 陈玲]