

芪苈强心胶囊中人参皂苷类成分在大鼠体内药动学研究

张富庚^{1,2}, 张瑜², 朱明丹³, 张少强³, 杜武勋^{3*}, 肖学风^{2*}

1. 天津市环湖医院, 天津 300350

2. 天津中医药大学, 天津 301617

3. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300250

摘要: 目的 建立高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法考察芪苈强心胶囊中人参皂苷类成分(人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf、F₂)在大鼠体内的药动学特征。方法 SD大鼠 ig 1.3 g/kg 芪苈强心胶囊混悬液,于给药后 0.083、0.167、0.333、0.667、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 经目内眦静脉丛取血,样品处理后,采用 HPLC-MS/MS 法测定血浆中人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf、F₂ 的血药浓度。通过 DAS 3.0 软件拟合计算药动学参数。结果 大鼠 ig 芪苈强心胶囊后,血浆中人参皂苷 Rb₂ 的药动学参数 t_{max} 为 1.5 h, 其余人参皂苷类成分的 t_{max} 均在 0.67 h; $AUC_{0-\infty}$ 排序依次为人参皂苷 Rb₁>人参皂苷 Rc>人参皂苷 Rg₁>人参皂苷 Re>人参皂苷 Rb₂>人参皂苷 Rd>人参皂苷 Rf>人参皂苷 Rg₃>人参皂苷 F₂; $t_{1/2}$ 的排序依次为人参皂苷 Rb₂>人参皂苷 Rb₁>人参皂苷 Rg₁>人参皂苷 Re>人参皂苷 F₂>人参皂苷 Rf>人参皂苷 Rd>人参皂苷 Rg₃>人参皂苷 Rc。结论 该检测方法专属性强,重复性好,可用于芪苈强心胶囊中人参皂苷类成分的药动学研究。

关键词: 芪苈强心胶囊; 人参皂苷; 药动学; HPLC-MS/MS

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2019)08-2268-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.08.004

Pharmacokinetics of ginsenosides in Qili Qiangxin Capsules in rat *in vivo*

ZHANG Fu-geng^{1,2}, ZHANG Yu², ZHU Ming-dan³, ZHANG Shao-qiang³, DU Wu-xun³, XIAO Xue-feng²

1. Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

3. Second Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300250, China

Abstract: Objective To develop a high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method to study the pharmacokinetic characteristics of ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rg₁, Rg₃, Rc, Rd, Re, Rf, and F₂ in rat plasma after ig administration of Qili Qiangxin Capsules. **Methods** SD rats were given 1.3 g/kg Qili Qiangxin Capsules suspension by gavage. Blood samples were collected from inner canthus at 0.083, 0.167, 0.333, 0.667, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, and 24 h. Samples were treated, and the concentrations of ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rg₁, Rg₃, Rc, Rd, Re, Rf, and F₂ were determined by HPLC-MS/MS. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 3.0 Software. **Results** The pharmacokinetic parameters t_{max} of ginsenoside Rb₂ in rat plasma was 1.5 h, while 0.67 h for other ginsenosides. $AUC_{0-\infty}$ were in the order of ginsenoside Rb₁ > Rc > Rg₁ > Re > Rb₂ > Rd > Rf > Rg₃ > F₂. And $t_{1/2}$ were in the order of ginsenoside Rb₂ > Rb₁ > Rg₁ > Re > F₂ > Rf > Rd > Rg₃ > Rc. **Conclusion** The method is proved to be specific and repeatable, and to be suitable for determination of ginsenosides in Qili Qiangxin Capsules in rat plasma for pharmacokinetic study.

Key words: Qili Qiangxin Capsules; ginsenosides; pharmacokinetics; HPLC-MS/MS

收稿日期: 2019-02-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81774227); 天津市自然科学基金资助项目(17JZDJJC34600); 天津市卫生和计划生育委员会中医中西医结合科研课题(2015050)

作者简介: 张富庚, 男, 博士, 副主任药师, 研究方向为临床药学。E-mail: clare2006@163.com

*通信作者 杜武勋(1961—), 男, 山东人, 教授, 博士, 主要从事中医内科学心血管疾病研究。E-mail: cnduwux@163.com

肖学风(1966—), 女, 天津人, 教授, 博士, 主要从事中药药动学和中药药剂学研究。E-mail: kai1219@163.com

芪苈强心胶囊是首个经循证医学证实的对慢性心力衰竭确有疗效的复方中药制剂^[1-3],具有抑制心肌肥大和心肌细胞凋亡、改善心肌能量代谢、保护心肌微血管内皮细胞、调节氧化应激和炎症反应等多重作用^[4-6]。人参为方中臣药,其主要药效成分人参皂苷包括齐墩果烷型五环三萜、达玛烷型四环三萜两大类,其中四环三萜类皂苷包括原人参二醇型皂苷(人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₃、Rc、Rd、F₂)和原人参三醇型皂苷(人参皂苷 Rg₁、Re、Rf)。研究表明,二醇型人参皂苷具有抗动脉粥样硬化、保护心肌缺血再灌注损伤、抑制心肌细胞肥大和调节能量代谢等作用^[7]。三醇型人参皂苷 Rg₁能够激活 PI3K/Akt 通路,促进内源性一氧化氮的释放,诱导血管再生^[8];三醇型人参皂苷 Re 能够影响心肌细胞 CYP450 酶,保护心肌细胞^[9];三醇型人参皂苷 Rf 能够通过抑制 TNF- α /LPS 诱导的 NF- κ B 活性,起到抗炎作用。因此本实验采用 HPLC-MS/MS 法测定芪苈强心胶囊中主要活性成分原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷的血药浓度,研究各活性成分在大鼠体内的药动学特征,为进一步明确芪苈强心胶囊的药效物质基础提供实验依据。

1 仪器与材料

液相色谱系统 API 4000 Q-trap, SER. N: AR26221101, 装备 CBM-20A 控制器、SIL-20AC 恒温自动进样器、CTO-20A 柱温箱、Analyst Software 色谱工作站(1.5.2 版本)和岛津 LC-20AD 泵; Mettler Toledo XS 205 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); Targin VX-02 多管蜗旋振荡器(北京踏锦科技有限公司); MIKRO 220R 型低温高速离心机(德国 Hettich 公司); Sorvall RC-6Plus 离心机(美国 Thermo scientific 公司)。

芪苈强心胶囊购自石家庄以岭药业股份有限公司,规格 0.3 g/粒,批号 140805); 人参皂苷 Rb₁(批号 110704-201424, 质量分数 91.1%)、人参皂苷 Rb₂(批号 111715-201303, 质量分数 93.8%)、人参皂苷 Rg₁(批号 110703-201530, 质量分数 93.6%)、人参皂苷 Rg₃(批号 111804-201504, 质量分数 99.5%)、人参皂苷 Rd(批号 111818-201603, 质量分数 92.1%)、人参皂苷 Re(批号 110754-201626, 质量分数 97.4%)、人参皂苷 Rf(批号 111719-201505, 质量分数 \geq 98%)、人参皂苷 F₂(批号 111764-201602, 质量分数 94.8%)、艾司唑仑(批号 171219-201604, 质量分数 99.9%) 对照品均购自中国食品

药品检定研究院; 人参皂苷 Rc(批号 11021-14-0, 质量分数 \geq 98%)购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇(Fisher 公司, 批号 134191)、乙腈(Fisher 公司, 批号 122070)为色谱纯; 甲酸(CNW 科技有限公司, 批号 VC300060)、二甲基亚砷(Fisher 公司, 批号 092056)为分析纯。

健康雄性 SD 大鼠, 体质量(220 \pm 20) g, 由解放军军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(军)2014-0004, 在天津中医药大学的动物房内饲养, 温度(22 \pm 2) $^{\circ}$ C, 湿度(50 \pm 10)%, 适应性喂养 1 周后进行实验。本课题经过天津中医药大学伦理委员会批准。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Zobrax XDB C₁₈ 色谱柱(50 mm \times 4.6 mm, 3.5 μ m); 流动相为 0.1% 甲酸水(A) - 含 0.1% 甲酸的甲醇(B), 梯度洗脱(0.01~0.5 min, 0% B; 0.5~1 min, 0 \rightarrow 20% B; 1~1.5 min, 20% \rightarrow 48% B; 1.5~2.5 min, 48% \rightarrow 48% B; 2.5~3.2 min, 48% \rightarrow 68% B; 3.2~6.0 min, 68% \rightarrow 75% B; 6~7 min, 75% \rightarrow 90% B; 7~8 min, 90% \rightarrow 90% B; 8~8.01 min, 90% \rightarrow 0% B; 8.01~11 min, 0% B); 体积流量 0.45 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 进样量 10 μ L。

2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI)正离子模式进行检测, 信号采集方式为多反应监测(MRM)。喷雾电压 4 200 V, 碰撞电压 Medium, 气帘气 15 L/min, 雾化气 65 L/min, 加热辅助气 55 L/min, 脱溶剂温度 600 $^{\circ}$ C, 质谱参数见表 1。

2.3 溶液的制备

分别精密称取人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf、F₂ 对照品适量, 加入二甲基亚砷(DMSO)溶解并稀释成 2.0 mg/mL 的对照品储备液。精密量取各对照品储备液, 通过甲醇-水(1:1)稀释成一定质量浓度的混合对照品储备液, 并进行系列稀释, 得到混合对照品溶液质量浓度分别为: 人参皂苷 Rb₁、Rf(5、10、25、100、250、1 000、2 500、10 000 ng/mL), Rb₂(50、100、250、1 000、2 500、10 000、25 000、100 000 ng/mL), Rg₁(2、4、10、40、100、400、1 000、4 000 ng/mL), Rg₃(20、40、100、400、1 000、4 000、10 000、40 000 ng/mL), Rc、Rd、Re(4、8、20、80、200、800、2 000、8 000 ng/mL), F₂(1、2、5、20、50、

表1 各成分和内标的质谱参数

Table 1 Main mass parameters of components and internal standard (IS)

成分	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	解簇电压/V	碰撞能量/V	出口电压/V
人参皂苷 Rb ₁	1 131.7	365.2	200	85	18
人参皂苷 Rb ₂	1 107.8	335.0	213	86	15
人参皂苷 Rg ₁	823.5	643.5	180	53	16
人参皂苷 Rg ₃	807.6	364.9	286	71	20
人参皂苷 Rc	1 101.6	789.5	256	77	18
人参皂苷 Rd	969.5	789.6	266	67	18
人参皂苷 Re	969.6	789.6	266	63	20
人参皂苷 Rf	823.5	365.2	256	69	18
人参皂苷 F ₂	807.5	627.7	180	53	15
艾司唑仑 (IS)	295.0	267.0	90	33	15

200、500、2 000 ng/mL)。精密称取艾司唑仑对照品适量以甲醇-乙腈(1:1)溶解并摇匀,配制成质量浓度为20 ng/mL的内标溶液(IS),置于4 °C储存备用。

2.4 血浆样品处理

取空白血浆50 μL,加入5 μL标准溶液(50%甲醇水溶液)和150 μL IS溶液,涡旋混匀30 s,再4 °C、15 000 r/min离心10 min,取上清液10 μL进样分析。

2.5 方法学验证

2.5.1 专属性试验 分别取空白血浆、加入混合对照品和IS的空白血浆和ig给药后的样品血浆,进样分析,记录色谱峰,见图1。结果显示,人参皂苷Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf、F₂、IS的保留时间分别为6.67、6.81、4.72、7.79、7.15、7.69、4.69、5.89、6.89、4.75 min,血浆样品中杂质、内源性物质对待测成分和IS的测定无干扰,方法专属性良好。

2.5.2 线性关系考察 取大鼠空白血浆50 μL,加入混合对照品溶液,得到人参皂苷Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf和F₂的质量浓度分别为:人参皂苷Rb₁、Rf(0.5、1、2.5、10、25、100、250、1000 ng/mL),Rb₂(5、10、25、100、250、1 000、2 500、10 000 ng/mL),Rg₁(0.2、0.4、1、4、10、40、100、400 ng/mL),人参皂苷Rg₃(2、4、10、40、100、400、1 000、4 000 ng/mL),Rc、Rd、Re(0.4、0.8、2、8、20、80、200、800 ng/mL),F₂(0.1、0.2、0.5、2、5、20、50、200 ng/mL)。以质量浓度为横坐标,对照品与内标峰面积比值为纵坐标进行线性回归分析,构建标准曲线,各成分的标准曲线方程、线性范围和定量下限见表2。

2.5.3 稳定性试验 取上述低、中、高3个质量浓

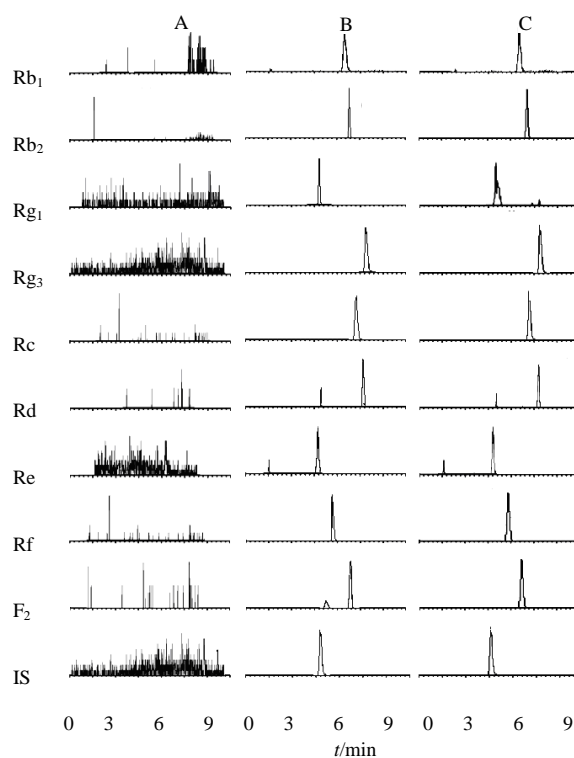


图1 空白血浆(A)、空白血浆+对照品、内标(B)和灌胃芪苈强心胶囊后20 min含药血浆(C)的HPLC-MS/MS图谱

Fig. 1 HPLC-MS/MS chromatogram of blank plasma (A), blank plasma + reference substances and IS (B), and plasma samples 20 min after oral administration of Qili Qiangxin Capsules (C)

度的QC样品,各6份,分别考察样品处理后稳定性(自动进样器中放置24 h)、短期稳定性(室温放置24 h)、冻融稳定性(-20 °C条件下冻融3次)和长期稳定性(-80 °C条件下放置30 d),结果见表3。血浆中各人参皂苷类成分稳定性的RSD值均低于14.70%,说明血浆样品在上述条件下稳定。

表2 各成分的线性方程、线性范围和定量下线

Table 2 Regression equation, linearity range and LLOQ of various constituents

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(ng mL ⁻¹)	定量下限/(ng mL ⁻¹)
人参皂苷 Rb ₁	$Y=4 \times 10^{-4} X-6 \times 10^{-4}$	0.999 9	0.5~1 000	0.5
人参皂苷 Rb ₂	$Y=2 \times 10^{-4} X+0.017 8$	0.998 0	5~10 000	5.0
人参皂苷 Rg ₁	$Y=7 \times 10^{-4} X+1.9 \times 10^{-2}$	0.998 9	0.2~400	0.2
人参皂苷 Rg ₃	$Y=7 \times 10^{-6} X-1 \times 10^{-4}$	0.998 5	2~4 000	2.0
人参皂苷 Rc	$Y=1 \times 10^{-3} X+4 \times 10^{-5}$	0.999 9	0.4~800	0.4
人参皂苷 Rd	$Y=6 \times 10^{-5} X-1 \times 10^{-1}$	0.999 7	0.4~800	0.4
人参皂苷 Re	$Y=6 \times 10^{-5} X-5 \times 10^{-5}$	0.999 9	0.4~800	0.4
人参皂苷 Rf	$Y=1 \times 10^{-4} X+1 \times 10^{-4}$	0.999 9	0.5~1 000	0.5
人参皂苷 F ₂	$Y=3 \times 10^{-4} X-2 \times 10^{-5}$	0.999 6	0.1~200	0.1

表3 血浆中各成分的稳定性试验 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Stability of various constituents in rat plasma ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/ (ng mL ⁻¹)	处理后稳定性		短期稳定性		冻融稳定性		长期稳定性	
		测定值/(ng mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng mL ⁻¹)	RSD/%
人参皂 苷 Rb ₁	1	1.04±0.10	12.11	1.02±0.09	11.98	0.99±0.05	6.68	0.90±0.06	9.40
	10	10.78±1.21	14.62	9.93±0.75	9.20	10.72±0.56	7.54	9.98±0.19	2.53
	800	796.33±13.67	2.02	795.00±15.37	2.49	806.67±26.22	4.01	799.17±18.78	3.64
人参皂 苷 Rb ₂	10	10.48±0.45	4.91	9.51±0.38	4.94	10.17±0.10	1.31	9.85±0.55	6.57
	100	102.30±7.93	9.29	100.23±11.10	13.75	101.43±8.11	10.97	104.92±6.39	7.87
	8 000	8 222.33±698.22	12.67	8 266.67±391.11	7.44	7 950.00±383.33	7.56	8 379.17±767.50	11.31
人参皂 苷 Rg ₁	0.4	0.40±0.03	8.79	0.41±0.02	8.03	0.40±0.02	5.44	0.40±0.02	4.80
	4	3.87±0.12	4.20	4.00±0.18	6.08	3.91±0.15	4.37	3.85±0.14	4.91
	320	325.50±13.50	5.21	319.83±16.17	6.07	324.50±10.83	3.95	329.00±8.00	3.40
人参皂 苷 Rg ₃	4	4.08±0.19	5.94	3.89±0.17	5.68	4.03±0.22	6.84	3.95±0.05	1.40
	40	39.33±1.53	5.18	40.28±0.95	2.90	39.43±1.80	5.65	40.43±1.32	5.13
	3 200	3 245.00±155.00	5.26	3 141.67±191.67	7.06	3 163.33±127.78	5.44	3 230.00±193.33	7.21
人参皂 苷 Rc	0.8	0.78±0.03	4.96	0.79±0.01	1.76	0.79±0.03	4.94	0.80±0.01	2.24
	8	7.97±0.30	5.09	8.29±0.38	6.03	7.61±0.63	9.13	8.20±0.47	7.16
	640	652.00±23.00	4.82	617.83±21.83	4.06	670.50±43.17	7.86	653.00±20.67	4.11
人参皂 苷 Rd	0.8	0.81±0.06	7.64	0.78±0.03	4.47	0.81±0.05	7.38	0.78±0.04	6.81
	8	8.18±0.36	5.71	7.89±0.14	2.16	8.21±0.44	6.29	7.76±0.31	4.95
	640	668.50±40.67	7.67	629.17±13.22	2.56	630.50±22.67	4.43	646.17±16.89	3.64
人参皂 苷 Re	0.8	0.86±0.04	8.47	0.80±0.03	5.51	0.78±0.05	9.26	0.81±0.03	4.69
	8	7.82±0.55	8.93	8.16±0.27	3.84	7.63±0.42	7.39	8.62±0.54	8.46
	640	673.00±50.00	8.91	643.17±17.89	4.37	639.83±13.44	2.77	645.00±9.33	2.16
人参皂 苷 Rf	1	1.00±0.09	11.54	0.99±0.05	7.07	0.99±0.03	3.94	0.94±0.08	9.94
	10	9.75±0.57	7.26	10.03±0.46	6.52	9.68±0.45	5.27	10.78±1.24	14.38
	800	809.00±18.00	2.82	792.17±15.94	3.16	811.00±35.33	5.38	824.17±33.50	5.82
人参皂 苷 F ₂	0.2	0.21±0.02	14.43	0.23±0.02	14.70	0.20±0.02	10.54	0.19±0.01	4.59
	2	2.16±0.20	13.59	2.02±0.12	8.69	2.11±0.09	5.55	2.03±0.06	3.55
	160	154.50±10.33	8.72	163.50±5.83	4.35	148.83±8.56	8.03	161.17±12.22	10.93

2.5.4 回收率试验和基质效应 取上述低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品, 各 6 份, 根据血浆样品处理方法操作, 并进行分析, 记录成分峰面积 (A); 另取甲醇水溶液代替空白血浆, 其余操作如上, 得到成分峰面积 (B); 另取大鼠空白血浆, 根据血浆样品处理方法操作后加入 QC 样品, 进样分析, 记录成分峰面积 (C), 以 A 和 B 的比值计算基质效应, 以 A 和 C 的比值计算提取回收率, 结果见表 4。血浆中各人参皂苷类成分的提取回收率在 80.00%~105.62%, 基质效应在 81.00%~99.07%, 表明大鼠血浆中的内源性物质对各成分的检测无影响。

2.5.5 精密度和准确度试验 取大鼠空白血浆, 加

入低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液, 得到人参皂苷 Rb_1 、 Rf (1、10、800 ng/mL)、人参皂苷 Rb_2 (10、100、8 000 ng/mL)、人参皂苷 Rg_1 (0.4、4、320 ng/mL)、人参皂苷 Rg_3 (4、40、3 200 ng/mL)、人参皂苷 Rc 、 Rd 、 Re (0.8、8、640 ng/mL) 和人参皂苷 F_2 (0.2、2、160 ng/mL) 低、中、高 3 个质量浓度的质控样品 (QC)。根据血浆样品处理方法操作, 于同日内连续进样 6 次, 计算日内精密度; 连续测定 3 d, 计算日间精密度, 结果见表 5, 在上述 3 种质量浓度下, 各成分日内精密度 RSD 值均低于 12.37%, 日间精密度 RSD 值均低于 13.00%, 且准确度的 RE 在 -3.49%~11.28%。

表 4 回收率和基质效应 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Recovery and matrix effect ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/(ng mL ⁻¹)	提取回收率		基质效应	
		均值/%	RSD/%	均值/%	RSD/%
人参皂苷 Rb_1	1	81.50±9.85	9.71	87.73±6.27	7.13
	10	92.00±5.29	6.23	81.00±5.57	5.87
	800	99.70±9.29	9.7	91.30±4.51	6.32
人参皂苷 Rb_2	10	89.00±5.56	6.03	84.10±4.64	5.52
	100	99.50±8.44	8.55	81.25±4.92	6.10
	8 000	88.30±5.03	7.43	93.30±5.69	7.40
人参皂苷 Rg_1	0.4	96.29±10.19	10.32	89.68±2.39	3.27
	4	91.30±5.51	6.62	84.00±6.08	8.02
	320	80.00±3.61	4.56	83.70±3.06	3.65
人参皂苷 Rg_3	4	92.32±8.85	6.27	81.12±6.45	3.01
	40	94.40±5.15	7.65	86.10±4.64	7.21
	3 200	99.45±8.36	6.80	81.25±4.84	5.58
人参皂苷 Rc	0.8	93.33±7.49	7.93	99.07±5.89	7.56
	8	91.00±2.00	2.47	86.30±4.16	6.08
	640	105.62±9.65	8.45	81.45±4.78	6.75
人参皂苷 Rd	0.8	89.00±2.00	2.53	87.00±6.56	7.25
	8	91.30±2.52	3.29	84.40±4.07	4.80
	640	92.00±4.36	4.74	83.80±4.10	4.89
人参皂苷 Re	0.8	93.53±10.47	10.53	81.64±2.86	2.73
	8	80.00±6.08	7.60	86.00±2.65	3.48
	640	93.30±5.51	7.51	82.30±6.11	6.41
人参皂苷 Rf	1	92.70±6.55	7.16	82.45±4.62	3.86
	10	94.24±6.47	4.64	80.30±5.51	9.16
	800	95.10±3.41	1.81	85.67±5.45	6.52
人参皂苷 F_2	0.2	91.90±6.45	8.01	90.27±3.06	6.32
	2	98.23±5.23	6.52	87.56±4.53	5.08
	160	90.50±5.15	3.12	89.20±7.52	6.50

表5 各成分的精密度和准确度试验 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 5 Precision and accuracy of various constituents ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/ (ng mL ⁻¹)	日内精密度			日间精密度		
		测定值/(ng mL ⁻¹)	精密度 RSD/%	RE/%	测定值/(ng mL ⁻¹)	精密度 RSD%	RE/%
人参皂苷 Rb ₁	1	0.98±0.04	5.51	-2.45	0.97±0.05	3.45	-3.49
	10	10.13±0.31	3.75	1.31	9.84±0.36	7.01	-1.58
	800	815.00±20.67	3.20	1.88	801.22±28.78	5.17	0.15
人参皂苷 Rb ₂	10	9.91±0.53	7.60	-0.93	9.94±0.54	12.44	-0.60
	100	101.17±6.50	8.27	1.17	102.76±4.50	3.90	2.76
	8 000	8 045.00±686.67	10.94	0.56	8 175.56±502.84	3.43	2.19
人参皂苷 Rg ₁	0.4	0.41±0.03	7.86	1.96	0.40±0.02	7.74	0.36
	4	3.94±0.24	7.62	-1.42	3.96±0.21	5.22	-0.90
	320	324.00±19.67	8.37	1.25	323.78±16.58	0.65	1.18
人参皂苷 Rg ₃	4	3.96±0.10	3.02	-1.00	4.00±0.11	2.85	-0.21
	40	41.67±2.87	7.98	4.17	40.85±2.12	5.22	2.13
	3 200	3 151.67±198.89	7.87	-1.51	3 217.22±177.53	4.32	0.54
人参皂苷 Rc	0.8	0.80±0.01	2.53	0.33	0.80±0.02	0.29	2.70
	8	8.03±0.12	2.29	0.35	7.97±0.30	1.80	-0.40
	640	646.50±21.00	4.29	1.02	644.56±24.47	7.97	0.71
人参皂苷 Rd	0.8	0.78±0.02	3.19	-1.60	0.80±0.03	4.04	0.16
	8	7.89±0.26	4.36	-1.35	8.16±0.36	7.47	1.97
	640	651.50±17.83	3.81	1.80	645.94±23.06	3.17	0.93
人参皂苷 Re	0.8	0.84±0.03	5.19	5.02	0.81±0.05	12.40	0.63
	8	8.04±0.09	1.82	0.49	8.08±0.30	8.42	0.95
	640	630.50±29.17	6.40	-1.48	631.39±20.93	3.38	-1.35
人参皂苷 Rf	1	1.01±0.07	9.73	0.85	0.99±0.07	8.88	-1.01
	10	10.27±0.72	11.24	2.67	10.54±0.73	5.57	5.38
	800	795.00±50.00	9.28	-0.63	804.33±33.11	2.84	0.54
人参皂苷 F ₂	0.2	0.20±0.01	7.51	-0.71	0.20±0.01	6.83	-0.61
	2	2.22±0.21	12.37	11.28	2.12±0.20	13.00	5.81
	160	170.83±11.17	8.12	6.77	166.11±12.57	9.43	3.82

2.6 药动学研究

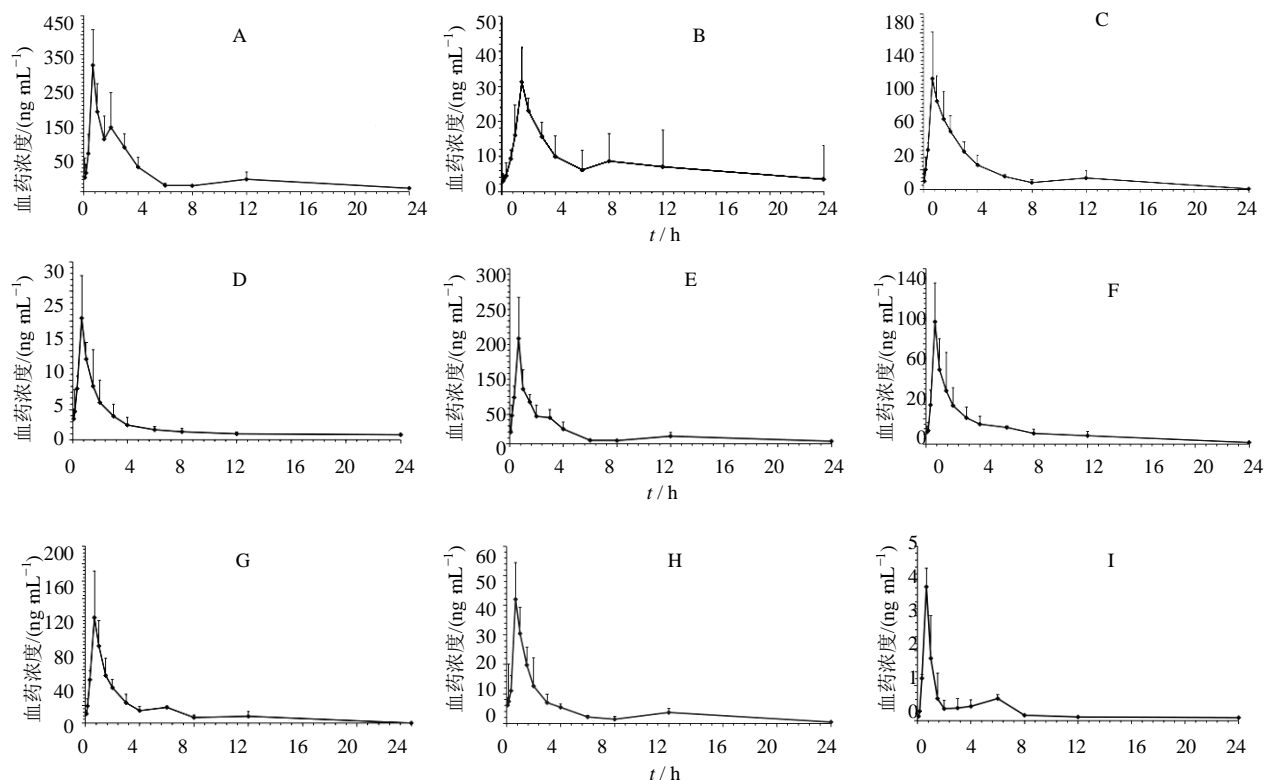
取6只SD大鼠,实验前禁食12h,自由饮水。ig 1.3 g/kg 芪苈强心胶囊混悬液(根据临床用药剂量换算,人与大鼠的换算系数为6.17^[10])。精密称取芪苈强心胶囊药粉适量,加入0.5% CMC-Na溶液配制成混悬液,并于给药后0.083、0.167、0.333、0.667、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h经目内眦静脉丛取血0.5 mL,置于肝素钠抗凝管中,4℃,12 000 r/min的条件下离心10 min,分离血浆,保存在-20℃的冰箱中待测。大鼠ig 芪苈强心胶囊后血浆中人参皂苷类成分(人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₁、

Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf、F₂)的药-时曲线见图2。采用DAS 3.0软件非房室模型计算药动学参数,结果见表6。

3 讨论

本研究建立HPLC-MS/MS法同时测定大鼠灌胃芪苈强心胶囊后血浆中人参的主要活性成分人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₁、Rg₃、Rc、Rd、Re、Rf、F₂的血药浓度,经方法学考察符合生物样品测定的要求,可用于生物体内的药动学研究。

研究表明大鼠ig 1.3 g/kg 芪苈强心胶囊后,原人参二醇型皂苷(人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rg₃、Rc、



A-人参皂苷 Rb₁ B-人参皂苷 Rb₂ C-人参皂苷 Rg₁ D-人参皂苷 Rg₃ E-人参皂苷 Rc F-人参皂苷 Rd G-人参皂苷 Re H-人参皂苷 Rf I-人参皂苷 F₂
 A-ginsenoside Rb₁ B-ginsenoside Rb₂ C-ginsenoside Rg₁ D-ginsenoside Rg₃ E-ginsenoside Rc F-ginsenoside Rd G-ginsenoside Re
 H-ginsenoside Rf I-ginsenoside F₂

图2 大鼠灌胃芪苈强心胶囊后血浆中人参皂苷类成分的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Mean concentration-time curves of ginsenoside components in rat plasma after ig administered with Qiliqiangxin Capsules ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表6 大鼠 ig 芪苈强心胶囊后人参皂苷类成分的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 PK parameters of ginsenoside components after ig administered with Qiliqiangxin Capsules ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	$t_{1/2}/h$	t_{max}/h	$C_{max}/(ng\ mL^{-1})$	$AUC_{0-t}/(h\ ng\ mL^{-1})$	$AUC_{0-\infty}/(h\ ng\ mL^{-1})$
人参皂苷 Rb ₁	9.16 ± 3.18	0.67 ± 0.00	323.00 ± 91.00	590.15 ± 257.83	713.49 ± 270.66
人参皂苷 Rb ₂	10.11 ± 4.53	1.50 ± 0.06	31.25 ± 9.89	143.73 ± 35.67	307.99 ± 79.92
人参皂苷 Rg ₁	8.69 ± 3.17	0.67 ± 0.00	113.44 ± 48.22	362.17 ± 118.25	422.31 ± 180.63
人参皂苷 Rg ₃	5.03 ± 2.02	0.67 ± 0.24	20.49 ± 7.16	67.13 ± 27.93	89.81 ± 34.43
人参皂苷 Rc	4.32 ± 2.10	0.67 ± 0.00	180.00 ± 70.00	432.71 ± 178.66	493.04 ± 233.70
人参皂苷 Rd	5.90 ± 1.14	0.67 ± 0.00	97.49 ± 31.00	204.66 ± 87.30	257.92 ± 101.52
人参皂苷 Re	7.33 ± 3.45	0.67 ± 0.06	118.94 ± 52.82	268.84 ± 103.24	310.95 ± 147.36
人参皂苷 Rf	6.12 ± 3.53	0.67 ± 0.00	43.03 ± 12.49	130.27 ± 27.91	177.68 ± 68.95
人参皂苷 F ₂	6.23 ± 2.89	0.67 ± 0.00	3.83 ± 1.23	12.73 ± 3.62	18.64 ± 5.28

Rd、F₂) 和原人参三醇型皂苷 (人参皂苷 Rg₁、Re、Rf) 均能吸收入血, 但各活性成分的吸收程度和代谢速率存在差异。药动学参数结果显示: 人参皂苷 Rb₂ 的 t_{max} 为 1.5 h, 其余人参皂苷类成分的 t_{max} 均在 0.67 h; 人参皂苷类活性成分的 $AUC_{0-\infty}$ 排序依次为人参皂苷 Rb₁ > 人参皂苷 Rc > 人参皂苷 Rg₁ > 人

参皂苷 Re > 人参皂苷 Rb₂ > 人参皂苷 Rd > 人参皂苷 Rf > 人参皂苷 Rg₃ > 人参皂苷 F₂。药动学参数 t_{max} 和 $AUC_{0-\infty}$ 能够评价成分的吸收速率和体内暴露情况, 说明人参皂苷类成分能够被较快吸收, 且人参皂苷 Rb₁ 的吸收程度和体内暴露情况优于其他活性成分, 与既往研究报道的药动学特征大体一致^[11]。

药动学参数 $t_{1/2}$ 能够评价成分在生物体内的代谢速率, 在本研究中 $t_{1/2}$ 排序依次为人参皂苷 $Rb_2 > Rb_1 > Rg_1 > Re > F_2 > Rf > Rd > Rg_3 > Rc$, 说明人参皂苷 Rb_2 的 $t_{1/2}$ 较长, 代谢速率较慢, 并在 8 h 出现重吸收峰, 与文献报道相一致^[12]。但本研究中原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷的药动学特征无明显差异, 既往文献报道原人参二醇型皂苷在生物体内的吸收和代谢速率均慢于原人参三醇型皂苷, 但吸收程度和体内暴露情况优于原人参三醇型皂苷^[13-15], 本研究未呈现同样改变, 原因可能与成分含量或复方配伍等因素影响药物的体内代谢有关, 有待进一步研究。

综上所述, 本实验对芪苈强心胶囊中臣药人参的 9 种皂苷类活性成分的药动学特征进行研究, 阐述药物的体内过程, 为进一步确定药效物质基础提供实验依据。

参考文献

[1] Sun J, Zhang K, Xiong W J, *et al.* Clinical effects of a standardized Chinese herbal remedy, Qili Qiangxin, as an adjuvant treatment in heart failure: systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16: 201.

[2] Li X L, Zhang J, Huang J, *et al.* A multicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of the effects of qili qiangxin capsules in patients with chronic heart failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(12): 1065-1072.

[3] Tang W H W, Huang Y. Cardiogenic modulation in heart failure: insights from traditional Chinese medicine [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(12): 1073-1074.

[4] Gao R R, Wu X D, Jiang H M, *et al.* Traditional Chinese medicine Qiliqiangxin attenuates phenylephrine-induced cardiac hypertrophy via upregulating PPAR γ and PGC-1 α [J]. *Ann Transl Med*, 2018, 6(8): 153.

[5] Wang Y, Han X, Fu M, *et al.* Qiliqiangxin attenuates

hypoxia-induced injury in primary rat cardiac microvascular endothelial cells via promoting HIF-1 α -dependent glycolysis [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(5): 2791-2803.

[6] Duan X, Yan F, Hu H, *et al.* Qiliqiangxin protects against renal injury in rat with cardiorenal syndrome type I through regulating the inflammatory and oxidative stress signaling [J]. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41(8): 1178-1185.

[7] 黄钰婷, 徐赟晟, 樊官伟. 人参二醇型皂苷及其各单体的心血管药理活性研究进展 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(22): 2311-2313.

[8] Qin L, Fan S, Jia R, *et al.* Ginsenoside Rg_1 protects cardiomyocytes from hypoxia-induced injury through the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Pharmazie*, 2018, 73(6): 349-355.

[9] 马增春, 肖勇, 赵佳伟, 等. 人参皂苷 Re 对 H9c2 心肌细胞 CYP450 酶的影响 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(4): 494-498.

[10] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004(9): 1069-1072.

[11] 李燕, 党珏, 曹小玉, 等. 参附注射液五种活性成分在正常和慢性心力衰竭大鼠的药动学研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(3): 475-479.

[12] Jin Y, Tian T, Ma Y, *et al.* Simultaneous determination of ginsenoside Rb_1 , naringin, ginsenoside Rb_2 and oridonin in rat plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of Weifuchun tablet [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 1000: 112-119.

[13] Kong L T, Wang Q, Xiao B X, *et al.* Different pharmacokinetics of the two structurally similar dammarane saponin, protopanaxatriol and protopanaxadiol, in rats [J]. *Fitoterapia*, 2013, 86: 48-53.

[14] 张颖, 林力, 刘光宇, 等. 塞络通灌胃后人参皂苷在大鼠体内的药代动力学及脑分布研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(2): 316-321.

[15] 康安, 钱静, 单进军, 等. 人参总皂苷主要成分大鼠体内药动学研究 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3045-3050.