

# 高效液相色谱法测定大鼠血浆中的丹参酮 IIA 浓度及其药代动力学研究<sup>※</sup>

● 王晓萍<sup>1</sup> 胡庆华<sup>2▲</sup>

**摘 要** 目的:建立高效液相色谱法测定大鼠血浆中丹参酮 IIA 含量的方法,并用于药代动力学研究。方法:采用色谱柱为 Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5μm),流动相为 1.6‰ 甲酸:甲醇(80:20 v/v),梯度洗脱,流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,紫外检测波长 343 nm。大鼠单剂量静注 10mg·kg<sup>-1</sup> 的丹参酮 IIA, HPLC-UV 法测定丹参酮 IIA 的血药浓度,并采用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数。结果:方法学实验结果表明内源性杂质不干扰丹参酮 IIA 和内标的测定,线性范围 0.039~10μg·mL<sup>-1</sup>,定量下限为 0.039μg·mL<sup>-1</sup>。方法精密度、准确度、稳定性和回收率均符合生物样品测定的要求,适合大鼠血浆中丹参酮 IIA 浓度的测定,可以应用该方法进行丹参酮 IIA 的药代动力学研究。大鼠单剂量静注 10 mg·kg<sup>-1</sup> 的丹参酮 IIA 后的 AUC<sub>0→t</sub>、AUC<sub>0→∞</sub>、t<sub>1/2α</sub> 分别为 134.58 ± 24.69μg·mL·min<sup>-1</sup>;135.36 ± 24.76μg·mL·min<sup>-1</sup>;9.93 ± 2.13min。结论:本方法操作简便、灵敏、专属性强,方法学考证符合生物样品测定的要求并成功用于丹参酮 IIA 在大鼠体内的药代动力学研究。

**关键词** 丹参酮 IIA 高效液相色谱 药代动力学 大鼠血浆

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎,其化学成分分为脂溶性和水溶性两部分。其中丹参酮 IIA 是脂溶性成分的代表,药理学研究报道丹参酮 IIA 具有广泛的生理活性,包括抗炎抑菌作用,清除自由基与抗氧化作用,保肝及改善肝功能,保护脊髓背角神经元作用,保护肾小管的正常结构和延缓肾间质纤维化、抗癌、改善血循环等<sup>[1-3]</sup>。其中对心脑血管作用的研究在医药领域尤其在中药领域受到国内外学者的高度重视<sup>[4]</sup>。丹参酮 IIA 因其作用广泛、毒性较低而具有较好的药用前景。本文建立高效液相色谱法测定大鼠血浆中丹参酮 IIA 浓度,并用于丹参酮 IIA 在大鼠体内的药代动力学研究。

## 1 试验材料

1.1 仪器 岛津(Shimadzu)高效液相色谱仪,包括

※基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. SFC 81202573)

▲通讯作者 胡庆华,男,副教授,主要从事药学研究。E-mail: huqh@cpu.edu.cn

•作者单位 1. 江苏省盐城市妇幼保健院药事科(224002);2. 中国药科大学药学院(210009)

LC-20AD 送液泵、DGU-20A3 在线脱气机、SIL-20A 自动进样器、CTO-20A 柱温箱、SPD-20A 紫外检测器、CBM-20A 系统控制器和 Shimadzu Lab-solutions 色谱工作站;Milli-Q Gradient A10 超纯水器(Millipore Inc. USA);Thermo SPD-2010-230 台式真空浓缩仪(Thermo Inc. USA);Thermo Sorvall Stratos 台式高速冷冻离心机(Thermo Inc. USA);Vortex-2 旋涡混合器(Scientific Industries Inc. USA)等。

1.2 试剂 丹参酮 IIA(批号 Y0001560,含量≥99%)和内标氯唑沙宗(批号 C4397,含量≥99%)均购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,色谱级甲醇购自德国 Merck 公司;其余试剂均为市售分析纯。

1.3 实验动物 SD 大鼠 10 只,体重 180~250 g,雌雄各半,购自购于南京江宁青龙山实验动物中心,使用许可证号:SCXK(苏)2007-0008。

## 2 方法

2.1 标准溶液配制 丹参酮 IIA 标准品的配制:精密

称取丹参酮 IIA 标准品 5.00 mg, 用甲醇 10.0 mL 溶解定容, 配制成  $500\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  贮备液, 临用时用超纯水稀释到相应的浓度。内标液氯唑沙宗的配制: 精密称取氯唑沙宗 10.00 mg, 用甲醇溶解后, 稀释至  $40\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  备用。

**2.2 血浆中测定丹参酮 IIA 的 HPLC - UV 色谱条件**  
 色谱柱为 Phenomenex Luna  $5\mu\text{m}$   $\text{C}_{18}$  (150 mm  $\times$  4.6 mm), 流动相: 水相 (A) 1.6% 甲酸, 有机相 (B) 甲醇 (80:20 v/v); 流速  $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温  $40^\circ\text{C}$ ; 紫外检测波长为 343 nm; 进样量  $20\mu\text{L}$ 。

**2.3 血浆样品处理** 取血浆样品  $100\mu\text{L}$ , 加内标  $10\mu\text{L}$  混均后, 加  $300\mu\text{L}$  甲醇, 振荡 3 min, 15000 rpm 离心 10 min, 取上清  $200\mu\text{L}$ , 15000 rpm 离心 10 min,

取上清  $150\mu\text{L}$  进样。用样品与内标峰面积比进行定量分析。

### 3 结果

#### 3.1 血浆中丹参酮 IIA 的测定方法学考察

**3.1.1 方法特异性的考证** 在本实验条件下, 大鼠血浆样品峰和内标峰有较好的分离度, 血浆中内源性物质与其他药物代谢物不干扰测定, 基线噪音小, 表明该方法专属性较好。丹参酮 IIA 的保留时间约为 7.2 min, 内标保留时间约为 8.2 min (图 1), 说明该方法专属性较高。在此条件下所测得的结果能代表丹参酮 IIA 浓度。

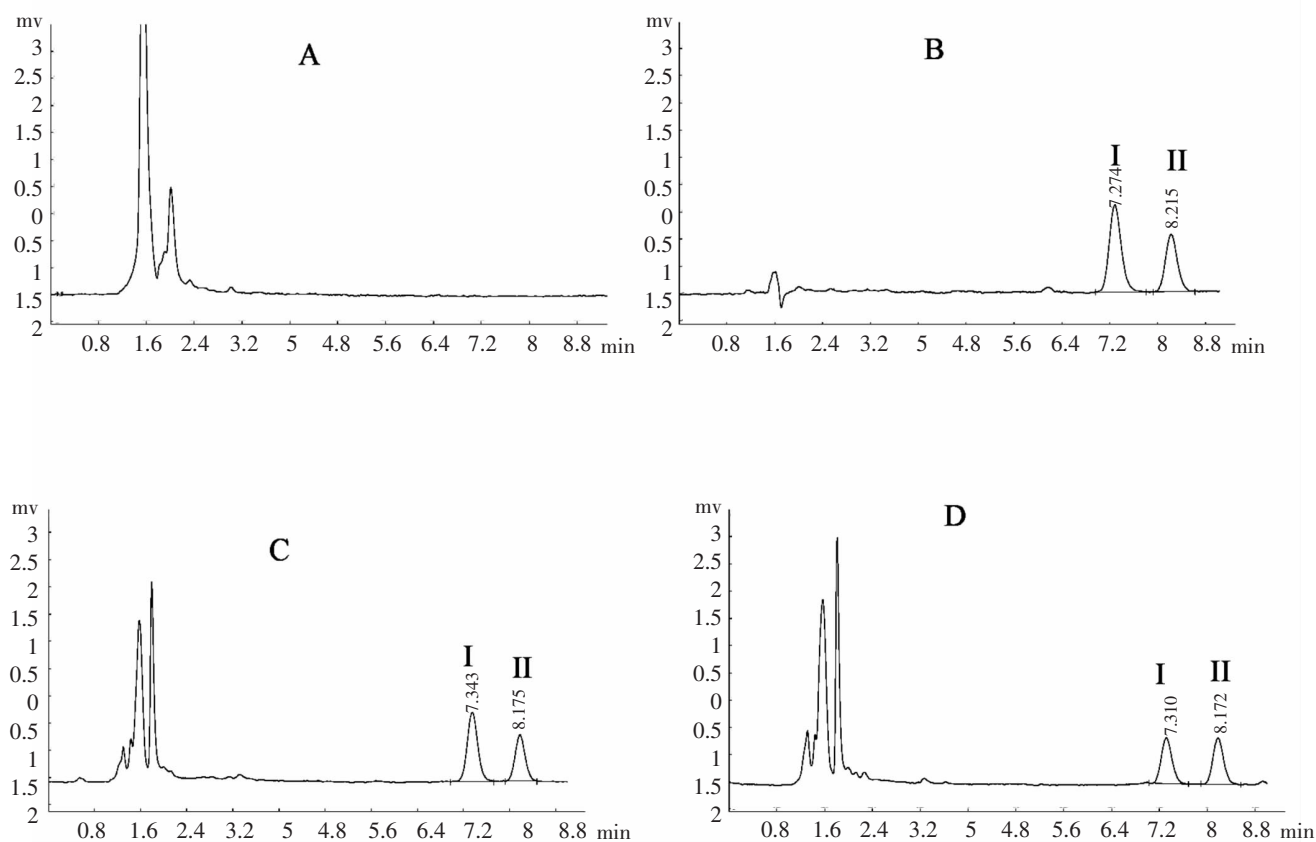


图 1 空白血浆 (A)、内标氯唑沙宗 + 丹参酮 IIA 对照品 (B)、空白血浆 + 丹参酮 IIA 和内标 (C)

和大鼠 iv 丹参酮 IIA 30 min 后 (D) 血浆样品的 HPLC - UV 图

注: I: 内标氯唑沙宗 II: 丹参酮 IIA。

**3.1.2 标准曲线的制备** 取空白大鼠血浆  $90\mu\text{L}$ , 加  $10\mu\text{L}$  不同浓度的标准品, 使其浓度分别为 0、0.039、0.078、0.156、0.312、0.625、1.25、2.5、5 和  $10\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 按“血浆样品处理”项下操作, 记录样品和内标峰面积, 利用样品浓度 C 对样品与内标峰面积比 R ( $A_s/A_i$ ) 作直线回归, 得回归方程  $R = 1.2284C -$

$0.0019, r^2 = 0.9995$  ( $n = 3$ ), 线性范围  $0.039 \sim 10\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 最低定量下限  $0.039\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**3.1.3 稳定性试验** 分别考察了低 ( $0.156\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、中 ( $0.625\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、高 ( $2.5\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 3 个浓度的含丹参酮 IIA 血浆样品室温放置 6 h, 反复冻融 3 次,  $-20^\circ\text{C}$  冷冻放置 2 周, 以及处理过的待测样