· 药物代谢 ·

栀子大黄汤中活性成分在正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠体内的药动学比较

朱鹤云[1,2]，毕开顺[1]，韩飞[1]，关皎[1,2]，张晓书[1]，毛新娟[1]，侯晓虹[1]，尹然[1*]
(1. 沈阳药科大学 药学院，制药工程学院，沈阳 110016；
2. 吉林医药学院 药学院，吉林 吉林 132013)

[摘要] **目的**：比较栀子大黄汤中活性成分在正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠体内的药动学差异，为该复方的临床应用提供参考。**方法**：12 只健康雄性 SD 大鼠随机分为正常组和酒精性肝损伤模型组，灌胃给予栀子大黄汤(8 g·kg^{-1}，按生药量计)，于不同时间点眼眶采血，采用 UHPLC-MS/MS 同时测定大鼠血浆中 2 种环烯醚萜苷类(京尼平苷和京尼平龙胆双糖苷)，2 种蒽醌类(大黄酸和大黄素)和 4 种黄酮苷类(柚皮苷、异柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷)成分的浓度，以芍药苷为内标，血浆样品经乙酸乙酯-异丙醇(1∶1)萃取，流动相 0.1% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱，流速 0.4 mL·min^{-1}；电喷雾离子源，扫描方式为多反应监测，负离子方式检测。比较正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠灌胃给予栀子大黄汤后 8 种活性成分的药动学差异。**结果**：与正常组比较，酒精性肝损伤模型大鼠血液中 8 种活性成分的达峰时间(T_{max})延长。除大黄酸外，模型组大鼠血液中另外 7 种活性成分的半衰期($t_{1/2}$)和平均驻留时间(MRT_{0-t})较正常组延长，药峰浓度(C_{max})，药时曲线下面积 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 明显增大，清除率(CL)显著减小。除 T_{max} 外，大黄酸其他参数呈现出与另外 7 种活性成分相反的趋势。**结论**：栀子大黄汤中活性成分在健康大鼠和酒精性肝损伤大鼠体内的药动学行为存在显著性差异。

[关键词] 栀子大黄汤；酒精性肝损伤模型；药代动力学；超高效液相色谱-串联质谱法；环烯醚萜苷；黄酮苷；蒽醌
[中图分类号] R969.1；R284.1；R945；R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2016)22-0077-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016220077
[网络出版地址] http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160919.1035.010.html
[网络出版时间] 2016-09-19 10:35

Comparison on Pharmacokinetics of Active Constituents from Zhizi Dahuang Tang in Normal and Alcoholic Liver Injury Rats

ZHU He-yun[1,2], BI Kai-shun[1], HAN Fei[1], GUAN Jiao[1,2], ZHANG Xiao-shu[1], MAO Xin-juan[1], HOU Xiao-hong[1], YIN Ran[1*]
(1. *School of Pharmaceutical Engineering*, *School of Pharmacy*, *Shenyang Pharmaceutical University*, *Shenyang* 110016, *China*; 2. *School of Pharmacy*, *Jilin Medical University*, *Jilin* 132013, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To compare pharmacokinetics of active constituents from Zhizi Dahuang Tang in normal and alcoholic liver injury (ALI) rats. **Method**: Rats were randomly divided into the normal group and the ALI group with 6 rats in each group. Rats were orally given Zhizi Dahuang Tang at a dose of 8 g·kg^{-1} (crude drug mass to body weight), plasma samples were collected from the fosse orbital at different time point, UHPLC-MS/MS was adopted for the simultaneous determination of two iridoid glycosides (geniposide and genipin gentiobioside), two anthraquinones (rhein and emodin) and four flavonoid glycosides (naringin, isonaringin, hesperidin and neohesperidin) in rat plasma with paeoniflorin as internal standard. After liquid-liquid extraction

[收稿日期] 20160303(009)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202893)；辽宁省教育厅科技项目(L2012360)
[第一作者] 朱鹤云，博士，讲师，从事中药质量控制及药动学研究，Tel：0432-64560530，E-mail：zhy19820903@126.com
[通讯作者] * 尹然，博士，副教授，从事中药药效物质基础与质量控制方法研究，Tel：024-23986296，E-mail：yinran_syphu@163.com

with ethyl acetate-isopropanol (1∶1), separation was achieved on a Shim-pack XR-ODS C_{18} column with a mobile phase consisting of water (containing 0.1% formic acid) and acetonitrile for gradient elution at a flow rate of 0.4 mL·min^{-1}. Mass spectrometric detection was performed on 4000 QTRAP mass spectrometry equipped with turbo ion spray source in the negative ionization and multiple reaction monitoring (MRM) mode. The method was applied to compare the pharmacokinetic profiles of the analytes in normal and ALI rats after oral administration of Zhizi Dahuang Tang. **Result**: Compared with the normal group, a longer T_{max} was observed for the eight analytes in the ALI group. In addition to rhein, $t_{1/2}$ and MRT_{0-t} extended in the ALI group; it was also found that C_{max}, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ of all analytes significantly increased, but clearance (CL) obviously decreased; however, rhein exhibited opposite results to the other seven analytes in all parameters excepted T_{max}. **Conclusion**: There are remarkable differences in pharmacokinetic properties of the analytes from Zhizi Dahuang Tang between the normal and ALI group.

[**Key words**] Zhizi Dahuang Tang; alcoholic liver injury; pharmacokinetics; UHPLC-MS/MS; iridoid glycosides; flavonoid glycosides; anthraquinones

栀子大黄汤出自《金匮要略》,由栀子、大黄、枳实和淡豆豉 4 味药材组成,是治疗酒黄疸的经典方剂[1-2]。酒黄疸是因酒伤所致的黄疸病,现代医学认为,酒黄疸与西医学的酒精性肝病相关。现代研究已证明,栀子大黄汤对急性酒精性肝损伤具有较好的治疗作用,且具有较好的利胆、抗炎活性[3-4]。栀子大黄汤化学成分复杂,其主要活性成分为环烯醚萜苷类、蒽醌类和黄酮类[5-8]。前期利用超快速液相色谱法(UFLC)建立了栀子大黄汤的指纹图谱,研究了该复方血清药物化学,采用 UPLC-Q-TOF-MS 表征了栀子大黄汤的化学成分和主要入血成分,结果发现其主要化学成分为环烯醚萜苷类、蒽醌类、黄酮类、香豆素类、西红花苷类、单萜苷类、单宁类、有机酸类和柠檬苦素类,其中环烯醚萜苷类、蒽醌类、黄酮类和单萜苷类为主要入血成分[9-12]。在前期工作的基础上,本实验采用 UHPLC-MS/MS 同时测定大鼠灌胃栀子大黄汤后 8 种主要活性成分的含量,比较各成分在正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠体内的药动学差异,为栀子大黄汤的体内研究和临床应用提供参考。

1 材料

4000 QTRAP 型三重四极杆串联质谱仪(美国 AB Sciex 公司,配备 Analyst 1.5.2 软件),XR LC-20AD 型超快速液相色谱仪(日本岛津公司),AB135-S 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),BP210S 型电子天平(德国 Sartorius 公司),TGL-16 型高速台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),Genius-3 型旋涡混合器(德国 IKA 公司),MTN-2800D 型氮吹浓缩仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

京尼平苷、大黄酸、大黄素、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷和芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110749-201115,110757-200206,110756-200110,110722-201111,110721-201014,111857-201102 和 110736-201337),京尼平龙胆双糖苷和异柚皮苷对照品(上海融禾医药科技发展有限公司,批号分别为 121214,121220),以上对照品纯度均 >98%;栀子、大黄、枳实、淡豆豉药材均购自辽宁省沈阳市天益堂医药有限公司,经沈阳药科大学中药学院袁久志副教授鉴定,均符合《中国药典》2015 年版(一部)的相关规定;56 度红星二锅头(北京红星股份有限公司),水为二次蒸馏水,乙腈、甲醇和甲酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 220 ~ 250 g,由沈阳药科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK-(辽)2010-0001。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液配制 精密称取京尼平苷、京尼平龙胆双糖苷、大黄酸、大黄素、异柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 1.0 g·L^{-1}对照品储备液;精密吸取各对照品储备液适量,置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,配成系列混合对照品溶液,于 4 ℃冰箱内保存备用。精密称取芍药苷对照品适量,置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 1 g·L^{-1}储备液;精密量取适量芍药苷储备液,加甲醇稀释得 10 mg·L^{-1}内标溶液,于 4 ℃冰箱内保存备用。

2.2 栀子大黄汤灌胃液的制备 参照《金匮要略》原文,折合成现代剂量,并参考文献[3],按栀子大黄汤的原配方组成,分别称取栀子 9 g,大黄 3 g,枳实 12 g 和淡豆豉 24 g,加 10 倍量水浸泡 30 min,回

流提取 1 h,提取液用 5 层纱布滤过,残渣加 10 倍量水继续回流 1 h,合并 2 次所得滤液,冷冻干燥,得栀子大黄汤水提物的冻干粉样品,称重,计算样品的出粉率约 33%(出粉率 = 冻干粉质量/生药总质量 × 100%),置于真空干燥器中保存待用。于给药前称取栀子大黄汤冻干粉样品适量,加水溶解,配制栀子大黄汤灌胃液。

2.3 大鼠酒精性肝损伤模型的制备[13-14] 采用 56 度红星二锅头白酒制备大鼠急性酒精性肝损伤模型。雄性 SD 大鼠随机分为空白组和模型组,实验前禁食 12 h,自由饮水。模型组灌胃给予 56 度红星二锅头白酒(给药体积 12 $mL \cdot kg^{-1}$),空白组灌胃给予相同体积水,连续 5 d。造模后 6 h,与空白组大鼠相比较,模型组大鼠血清肝功能指标谷氨酸-丙酮酸转氨酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和甘油三酯(TG)均明显升高($P < 0.05$,$P < 0.01$),表明造模成功。

2.4 给药方案与样品采集 SD 大鼠 12 只,随机分为 2 组,正常组和酒精性肝损伤模型组,给药前禁食 12 h,自由饮水。分别灌胃给予栀子大黄汤灌胃液(8 $g \cdot kg^{-1}$,按生药量计),于给药前(0 h)和给药后 0.08,0.17,0.33,0.67,1.0,1.5,2.0,3.0,4.0,6.0,8.0,10,12,24,36,48 h 从大鼠眼眶静脉取血约 0.5 mL,立即移入涂有肝素的离心管中,离心(12 000 $r \cdot min^{-1}$,下同)5 min,分离血浆,置于 -80 ℃ 冰箱中待测。

2.5 血浆样品的预处理 取血浆样品 100 μL,置 5 mL 具塞离心试管中,加入内标溶液和甲醇各 10 μL,涡旋混合 1 min;加入乙酸乙酯-异丙醇(1∶1)混合液 1.0 mL,涡流混合 5 min,离心 5 min;分取上清液于另一试管中,于 30 ℃空气流下吹干,残留物用甲醇 100 μL 使溶解,涡流混合 1 min,超声 3 min,离心 3 min,取上清液 5 μL 进样分析。

2.6 血浆样品分析[15]

2.6.1 色谱条件 以芍药苷为内标,Shim-pack XR-ODS C_{18} 色谱柱(3.0 mm × 75 mm,2.2 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min,10% ~ 30% B;10 ~ 12 min,30% ~ 60% B;12 ~ 16 min,60% ~ 80% B),平衡时间 2 min,流速 0.4 $mL \cdot min^{-1}$,柱温 30 ℃,进样量 5 μL。

2.6.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),负离子模式检测,源喷雾电压 -4.5 kV,辅助加热气温度 500 ℃,雾化气、辅助气和气帘气压力分别为 344.75×10^3,344.75×10^3,137.90×10^3 Pa,入口电压 -10 V,扫描方式为多反应监测(MRM),扫描时间 200 ms。

2.6.3 方法学考察 京尼平苷、京尼平龙胆双糖苷、大黄酸、大黄素、异柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的标准曲线见表 1。批内和批间精密度的 RSD 均 < 11.4%,准确度(RE)在 ±10.0% 内,8 种待测物和内标的提取回收率均 > 86.0%。

表 1 栀子大黄汤中活性成分在大鼠血浆中的回归方程和线性范围

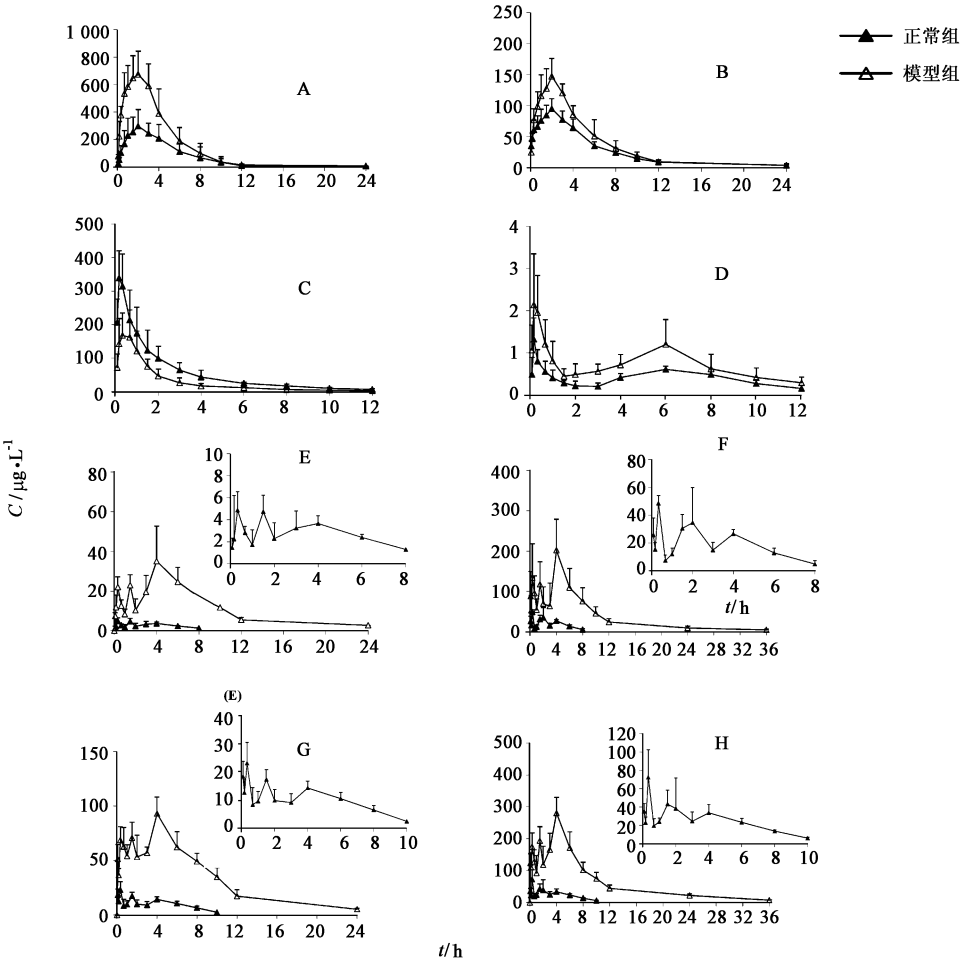
Table 1 Regression equations and linear ranges of active ingredients from Zhizi Dahuang Tang in rat plasma

成分	回归方程	r	线性范围 /$\mu g \cdot L^{-1}$
京尼平苷	$Y = 0.117\,6X + 0.023\,7$	0.995 3	4 ~ 2 000
京尼平龙胆双糖苷	$Y = 0.014\,8X + 0.012\,6$	0.996 6	0.5 ~ 250
大黄酸	$Y = 0.342\,3X + 0.206\,7$	0.995 5	2 ~ 1 000
大黄素	$Y = 0.120\,9X + 0.446\,9$	0.996 2	0.1 ~ 50
异柚皮苷	$Y = 0.039\,1X + 0.021\,4$	0.994 7	1 ~ 500
柚皮苷	$Y = 0.222\,4X + 0.015\,3$	0.996 5	2 ~ 1 000
橙皮苷	$Y = 0.070\,4X + 0.022\,3$	0.994 0	1 ~ 500
新橙皮苷	$Y = 0.548\,2X + 0.024\,1$	0.997 5	2 ~ 1 000

2.7 药动学试验 测定未知血浆样品时,按 **2.5** 项下方法操作,计算各时间点样品中各待测物的浓度,绘制药-时曲线,见图 1。采用 DAS 2.1 软件对血药浓度数据进行处理,以非房室模型计算主要药动学参数,见表 2。药-时曲线下面积 AUC_{0-t},$AUC_{0-\infty}$ 和药峰浓度(C_{max})经对数转换后应用 SPSS 16.0 软件进行独立样本 t 检验,达峰时间(T_{max}),半衰期($t_{1/2}$),平均驻留时间(MRT_{0-t})等应用 SPSS 16.0 软件进行非参数检验。

3 讨论

本研究考察了正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠灌胃给予栀子大黄汤后主要活性成分的体内药动学行为。结果发现与正常组比较,模型组大鼠血液中 8 种活性成分的 T_{max} 均增加,其中 4 种黄酮苷类成分的 T_{max} 存在显著性差异,表明这些成分的吸收速度减慢,这可能是由肝损伤疾病状态引起的胃肠系统紊乱造成的。除大黄酸外,模型组大鼠血液中其他 7 种活性成分的 C_{max},AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 较正常组明显增大,清除率(CL)显著减小。除大黄酸外,酒精性肝损伤组大鼠血液中另外 7 种活性成分的 $t_{1/2}$ 和 MRT_{0-t} 较正常组延长,其中,4 种黄酮苷类成分存在显著性差异,推测可能与酒精性肝损伤疾病状态影响药物的代谢和排泄有关[16-17]。然而,除 T_{max} 外,大黄酸的其他药动学参数呈现出与另外 7 种活性成分相反的结果。研究表明四氯化碳肝损伤可能引起大



A. 京尼平苷；B. 京尼平龙胆双糖苷；C. 大黄酸；D. 大黄素；E. 异柚皮苷；F. 柚皮苷；G. 橙皮苷；H. 新橙皮苷

图 1　正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠灌胃给予栀子大黄汤后各待测成分的平均血药浓度-时间曲线($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1　Mean plasma concentration-time curves for active ingredients in normal and alcoholic liver injury rats after oral administration of Zhizi Dahuang Tang($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 2　正常大鼠和酒精性肝损伤大鼠灌胃给予栀子大黄汤后各待测成分的主要药动学参数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2　Main pharmacokinetic parameters of active ingredients in normal and alcoholic liver injury rats after oral administration of Zhizi Dahuang Tang($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	组别	T_{max} /h	C_{max} /μg·L^{-1}	AUC_{0-t} /μg·h·L^{-1}	$AUC_{0-\infty}$ /μg·h·L^{-1}	$t_{1/2}$ /h	MRT_{0-t} /μg·h·L^{-1}	CL /L·kg·h^{-1}
京尼平苷	正常	2.17 ± 0.41	299.3 ± 121.3	1 552.0 ± 631.7	1 575.0 ± 640.0	1.97 ± 0.65	3.19 ± 0.56	26.0 ± 10.0
	模型	2.67 ± 0.52	716.8 ± 148.4[1)]	3 152.0 ± 604.0[1)]	3 166.0 ± 610.0[1)]	2.17 ± 0.86	3.54 ± 0.86	11.7 ± 2.4[1)]
京尼平龙胆双糖苷	正常	1.91 ± 0.20	93.2 ± 16.0	305.2 ± 60.9	316.8 ± 65.2	1.94 ± 0.57	3.37 ± 0.33	37.2 ± 7.6
	模型	2.33 ± 0.52	153.0 ± 22.2[1)]	808.0 ± 104.0[1)]	827.0 ± 100.0[1)]	2.36 ± 0.54	3.69 ± 1.53	13.9 ± 1.6[1)]
大黄酸	正常	0.22 ± 0.08	357.2 ± 90.6	668.2 ± 170.2	697.3 ± 168.7	3.42 ± 0.67	2.90 ± 0.67	3.8 ± 1.1
	模型	0.39 ± 0.14	192.5 ± 82.9[1)]	323.4 ± 48.9[1)]	336.5 ± 51.2[1)]	2.83 ± 1.11	2.02 ± 0.54	7.6 ± 1.1[1)]
大黄素	正常	0.19 ± 0.07	1.3 ± 0.5	4.8 ± 0.6	5.4 ± 1.0	2.46 ± 1.22	5.10 ± 0.56	43.8 ± 8.8
	模型	0.31 ± 0.20	2.3 ± 1.0[1)]	8.7 ± 2.5[1)]	9.4 ± 2.8[1)]	3.10 ± 0.83	5.68 ± 0.61	22.1 ± 11.0[1)]
异柚皮苷	正常	1.31 ± 1.07	6.5 ± 3.3	32.8 ± 11.9	36.5 ± 10.6	4.53 ± 1.02	3.68 ± 0.30	416.8 ± 104.6
	模型	3.67 ± 0.52[1)]	40.2 ± 9.7[1)]	261.8 ± 49.9[1)]	289.8 ± 52.8[1)]	6.26 ± 0.61[1)]	7.50 ± 0.39[1)]	39.8 ± 7.6[1)]
柚皮苷	正常	1.36 ± 0.82	53.0 ± 8.1	134.6 ± 12.1	150.2 ± 21.4	2.08 ± 0.67	3.33 ± 0.27	565.1 ± 76.7
	模型	3.58 ± 1.02[1)]	208.4 ± 74.5[1)]	1 316.0 ± 497.3[1)]	1 353.0 ± 513.0[1)]	6.26 ± 2.72[1)]	7.43 ± 1.39[1)]	69.5 ± 27.0[1)]
橙皮苷	正常	0.78 ± 0.28	24.3 ± 6.0	99.1 ± 12.8	125.8 ± 34.1	2.80 ± 0.77	4.07 ± 0.15	104.6 ± 29.1
	模型	3.25 ± 1.17[1)]	95.6 ± 13.5[1)]	784.4 ± 85.0[1)]	822.0 ± 88.0[1)]	5.33 ± 0.76[1)]	6.75 ± 0.46[1)]	15.2 ± 1.5[1)]
新橙皮苷	正常	1.08 ± 0.34	72.3 ± 30.46	230.2 ± 31.3	261.7 ± 23.2	2.88 ± 0.62	3.97 ± 0.08	306.4 ± 27.8
	模型	3.83 ± 0.41[1)]	286.5 ± 36.9[1)]	2 239.0 ± 339.0[1)]	2 308.0 ± 345.0[1)]	7.30 ± 0.72[1)]	7.30 ± 0.72[1)]	35.2 ± 5.8[1)]

注：与正常组比较[1)] $P < 0.05$。

鼠肝微粒体细胞色素 P450(CYP450)酶系统,包括 CYP 2C6,CYP 2B2,CYP 2B1 等活性上调[18],因此,不同 CYP450 酶表达方式的差异可能是造成大黄酸与其余 7 种活性成分药动学行为产生差异的原因之一,具体的作用机制尚有待研究确认。本研究同时发现正常大鼠体内 4 种黄酮苷类成分呈现多峰现象,大黄素呈现双峰现象,与文献[19-20]中相关报道结果一致,这可能与肠肝循环、胃排空延迟、胃肠道多吸收位点等因素有关[21]。结果表明酒精性肝损伤疾病状态对栀子大黄汤的体内药动学过程产生了较大影响,可为评价该制剂的临床疗效与合理用药提供参考,后续将开展栀子大黄汤不同配伍在大鼠体内的药代动力学研究。

[参考文献]

[1] Levitsky J, Mailliard M E. Diagnosis and therapy of alcoholic liver disease[J]. Semin Liver Dis, 2004, 24(3):233-247.

[2] 张仲景. 金匮要略[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:38.

[3] Wang H, Feng F, Zhang B Y, et al. Evaluation of hepatoprotective effect of Zhi-Zi-Da-Huang decoction and its two fractions against acute alcohol-induced liver injury in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 126(2):273-279.

[4] 许阳贤,杨吉勇,曹锦峰. 栀子大黄汤利胆抗炎作用的实验研究[J]. 江苏中医药,2013,45(9):74-75.

[5] 付小梅,彭水梅,刘婧,等. HPLC 法同时测定栀子类药材中 10 个主要有效成分的含量[J]. 药物分析杂志,2014, 34(4):615-621.

[6] 彭婕,钱之玉,刘同征,等. 京尼平苷和西红花酸保肝利胆作用的比较[J]. 中国新药杂志,2003,12 (2):105-108.

[7] Yang F, Xu Y, Xiong A Z, et al. Evaluation of the protective effect of Rhei Radix et Rhizoma against α-naphthylisothiocyanate induced liver injury based on metabolic profile of bile acids[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 144(3):599-604.

[8] Park H Y, Choi H D, Eom H, et al. Enzymatic modification enhances the protective activity of citrus flavonoids against alcohol-induced liver disease[J]. Food Chem, 2013, 139(1/4):231-240.

[9] 唐峥,毕开顺,韩飞,等. 栀子大黄汤 UFLC 指纹图谱研究[J]. 中草药,2014,45(3):367-372.

[10] 唐峥,尹然,毕开顺,等. 栀子大黄汤血清药物化学的初步研究[J]. 中草药,2014,45(23):3377-3382.

[11] Zhu H Y, Yin R, Han F, et al. Characterization of chemical constituents in Zhi-Zi-Da-Huang decoction by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Sep Sci, 2014, 37(23):3489-3496.

[12] Zhu H Y, Yin R, Han F, et al. Identification of the absorbed components and metabolites of Zhi-Zi-Da-Huang decoction in rat plasma by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 111:277-287.

[13] 马丽,高玉杰,钱月慧,等. 丹葛解酲汤对大鼠酒精性肝损伤的保护作用研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(7): 1596-1597.

[14] 赵赶,吕淑娟,韦刚,等. 委陵菜积雪草酸对大鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志,2015,40(14):2866-2870.

[15] Zhu H Y, Bi K S, Han F, et al. Simultaneous determination of two iridoid glycosides, twoanthraquinones and four flavonoid glycosides of Zhi-Zi-Da-Huangdecoction in rat plasma by UFLC-MS/MS: application to a comparative pharmacokinetic study in normal and cholestatic liver injury rats[J]. J Chromatogr B, 2014, 960:116-125.

[16] Burkard I, Eckardstein A V, Rentsch K M. Differentiated quantification of human bile acids in serum by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B, 2005, 826(1/2): 147-159.

[17] Luo L N, Schomaker S, Houle C, et al. Evaluation of serum bile acid profiles as biomarkers of liver injury in rodents[J]. Toxicol Sci, 2014, 137(1):12-25.

[18] Jia N, Liu X, Wen J, et al. A proteomic method for analysis of CYP450s protein expression changes in carbon tetrachloride induced male rat liver microsomes[J]. Toxicol, 2007, 237(1/3):1-11.

[19] Liu W, Zheng Z J, Liu X, et al. Sensitive and robust UPLC-MS/MS method to determine the gender-dependent pharmacokinetics in rats of emodin and its glucuronide[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 54(5): 1157-1162.

[20] Tong L, Zhou D D, Gao J, et al. Simultaneous determination of naringin, hesperidin, neohesperidin, naringenin and hesperetin of *Fractus aurantii* extract in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 58: 58-64.

[21] 王艳,阳国平,郭成贤,等. 口服给药后药-时曲线双峰现象研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学,2014, 19(3): 341-345.

[责任编辑 刘德文]