

LC-MS/MS 分析大鼠口服清清颗粒后血浆中 9 种成分的药代动力学

赵妍^{1,2}, 张梅^{1,2}, 任爱农^{1,2*}, 武洁^{1,2}, 黄厚才^{1,2},
钟荣玲^{1,2}, 杨玉兰^{1,2}, 李洁^{1,2}

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 南京 210046; 2. 江苏省中医药研究院, 南京 210028)

[摘要] 目的:建立同时测定大鼠血中9个成分(白芍苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、盐酸小檗碱、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、汉黄芩素)含量的方法,并将该方法用于清清颗粒的药代动力学研究。方法:采用 Promosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱,流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 35 ℃;采用正离子模式;分为两段时间检测,前 7 min 只检测白芍苷、芍药苷和甘草苷,8~17 min 检测其余化合物。结果:各成分的线性关系良好($r > 0.998$);日间和日内精密密度 RSD 均 < 15%;准确度的相对回收率 90.58%~108.67%。9种成分的达峰时间(t_{max})依次为(0.25 ± 0), (0.25 ± 0), (0.25 ± 0), (0.25 ± 0), (1.00 ± 0.10), (6.33 ± 0.82), (1.00 ± 0.11), (0.25 ± 0), (3.12 ± 1.15) h,半衰期($t_{1/2}$)依次为(0.21 ± 0.02), (6.72 ± 2.10), (2.70 ± 0.36), (6.90 ± 1.55), (5.16 ± 0.95), (4.34 ± 1.02), (4.74 ± 2.52), (4.79 ± 1.48), (5.78 ± 2.41) h,药峰浓度(C_{max})依次为(3.08 ± 0.94), (10.01 ± 2.17), (18.73 ± 2.84), (36.18 ± 7.57), (50.76 ± 10.61), (793.70 ± 214.08), (54.73 ± 18.01), (207.35 ± 27.58), (50.79 ± 5.95) μg·L⁻¹。结论:该方法简便、准确、重复性好,专属性强,可用于清清颗粒的药代动力学研究。

[关键词] 药代动力学; 清清颗粒; 白芍苷; 甘草苷; 黄酮类; 盐酸小檗碱

[中图分类号] R969.1; R284.1; R945; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)01-0085-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017010085

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161027.1440.010.html>

[网络出版时间] 2016-10-27 14:40

Pharmacokinetics of Nine Components in Rat Plasma After Oral Administration of Qingqing Granules by LC-MS/MS

ZHAO Yan^{1,2}, ZHANG Mei^{1,2}, REN Ai-nong^{1,2*}, WU Jie^{1,2},
HUANG Hou-cai^{1,2}, ZHONG Rong-ling^{1,2}, YANG Yu-lan^{1,2}, LI Jie^{1,2}

(1. *Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China*; 2. *Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China*)

[Abstract] **Objective:** A liquid chromatography-tandem mass spectrometric method (LC-MS/MS) was developed and validated for simultaneous determination of albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, baicalin, berberine hydrochloride, wogonoside, glycyrrhizic acid, baicalein and wogonin in rat plasma with icariin as the internal standard. **Method:** Concentrations of the target analytes in plasma were determined by LC-MS/MS, chromatographic separation was accomplished on a Promosil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.1% formic acid aqueous solution for gradient elution. Detection was performed in the multiple reaction monitoring mode with a positive ionization mode. Two time segments were performed in a

[收稿日期] 20160422(002)

[基金项目] 江苏省基础建设-孟河医派方药传承及开发项目(BM2008152/Y1208)

[第一作者] 赵妍,在读硕士,从事药物新剂型与新技术研究,Tel:18551747589,E-mail:1251607892@qq.com

[通讯作者] *任爱农,研究员,从事药物新剂型与新技术研究,Tel:18913948273,E-mail:lyyy-0@126.com

single HPLC run, the first 7 minutes just scanned ions of albiflorin, paeoniflorin and liquiritin, the second time segment scanned ions of the remaining analytes. **Result:** All calibration curves showed good linearity ($r > 0.998$) over a wide concentration range for all analytes. RSDs of intra-day and inter-day precisions were all within 15% and the relative recovery of accuracy were in the range of 90.58% to 108.67%. The peak time (t_{max}) of these nine components were (0.25 ± 0), (0.25 ± 0), (0.25 ± 0), (0.25 ± 0), (1.00 ± 0.10), (6.33 ± 0.82), (1.00 ± 0.11), (0.25 ± 0), (3.12 ± 1.15) h, respectively; the half life ($t_{1/2}$) of them were (0.21 ± 0.02), (6.72 ± 2.10), (2.70 ± 0.36), (6.90 ± 1.55), (5.16 ± 0.95), (4.34 ± 1.02), (4.74 ± 2.52), (4.79 ± 1.48), (5.78 ± 2.41) h, respectively; the peak concentration (C_{max}) of them were (3.08 ± 0.94), (10.01 ± 2.17), (18.73 ± 2.84), (36.18 ± 7.57), (50.76 ± 10.61), (793.70 ± 214.08), (54.73 ± 18.01), (207.35 ± 27.58), (50.79 ± 5.95) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The validated method is successfully applied to pharmacokinetics of nine components in rats after oral administration of Qingqing granules.

[**Key words**] pharmacokinetics; Qingqing granules; albiflorin; liquiritin; flavonoids; berberine hydrochloride

清清颗粒是由江苏省中医药研究院自主研发的医院制剂,后续将会进行新药申报,该制剂由黄连、干姜、黄芩、姜半夏、白芍、木香、紫苏梗、海螵蛸、甘草 9 味中药组成,具有清热化湿、理气和中的功效,主治湿热内蕴型幽门螺旋杆菌相关胃炎,反流性食管炎,溃疡性结肠炎引起的脘腹疼痛、暖气饱胀、大便泄泻等证^[1]。中药复方具有多成分、多功效的作用特点,为了从整体上控制清清颗粒的质量,前期研究时,分别在君、臣、佐、使药中各选 1 味代表药材,即黄连、黄芩、白芍和甘草,以四者的主要活性成分(盐酸小檗碱、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白芍苷、芍药苷、甘草苷、甘草酸)作为检测指标对清清颗粒进行质量控制^[2-3]。

在中药各成分药效作用的发挥中,入血吸收是关键步骤。本实验拟通过研究上述 9 种指标成分的入血吸收情况及入血吸收前后浓度随时间的变化,为清清颗粒的药代动力学和物质基础研究提供科学依据。但现阶段的文献只是报道了这 9 种成分中几种成分在单味药、药对或复方中的药代动力学特征^[4-14],并无文献同时研究这 9 种成分在大鼠体内的药代动力学特征。前期定量研究中曾建立了同时测定这 9 种成分的 HPLC-UV,但该方法花费时间较长,且灵敏度不足以达到药代动力学研究的要求。故本实验建立了 LC-MS/MS 用以测定正常大鼠在灌胃清清颗粒后这 9 种指标成分在大鼠体内不同时间点的血药浓度,采用 DAS 2.0 软件对检测的血药浓度结果进行分析,揭示该制剂中这些成分在大鼠体内的变化规律。

1 材料

2695 型高效液相色谱仪和 Micromass Quattro

micro 型液相色谱-质谱联用仪(美国 Waters 公司), AT201 型 1/10 万电子天平和 MT5 型 1/100 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), Microfuge 16 型离心机(南京百奥生物科技有限公司), Sorvall Stratos 型低温高速离心机和 SpeedVac 2010 型离心浓缩系统(美国 Thermo 公司), VG-2 型微型旋涡混合仪(上海泸西分析仪器厂), Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

芍药苷、甘草苷、甘草酸单铵盐、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110736-200732, 111610-201005, 731-9202, 0719708, 11159201306, 111514-200403, 0713-9906), 白芍苷对照品(上海中药标准化研究中心,批号 12-1002), 汉黄芩苷对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号 H-019-110325), 乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SD 雄性大鼠, SPF 级, 体重(250 ± 20) g, 购自辽宁长生生物科技有限公司,合格证号 SCXK(辽)2010-0001。实验前适应性饲养 1 周,自由饮水。

2 方法与结果

2.1 检测条件 色谱条件为 Promosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 20% ~ 30% A; 5 ~ 10 min, 30% ~ 80% A; 10 ~ 12 min, 80% A; 12 ~ 13 min, 80% ~ 20% A; 13 ~ 17 min, 20% A), 流速 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。质谱条件为电喷雾电离离子源(ESI), 正离子模式检测, 多反应监测(MRM)模式, 毛细管电压 3.0 kV, 离子源温度 120 $^{\circ}\text{C}$ 。为了提高检测的灵敏度将整个检测时间分为两部分,前 7 min 只检测白芍苷、芍药苷和甘草

苷, 8 ~ 17 min 则检测其余化合物。每个分析物的锥孔电压和碰撞能量见表 1。

表 1 分析物及内标的 MS 参数

Table 1 MS parameters of analytes and internal standard

成分	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
白芍苷	481.27	197.25	25	15
芍药苷	498.29	179.19	20	20
甘草苷	419.27	257.23	22	20
黄芩苷	447.25	271.21	30	22
盐酸小檗碱	336.24	320.24	45	30
淫羊藿苷(内标)	699.44	553.43	60	25
汉黄芩苷	461.19	285.22	30	18
甘草酸	845.60	669.73	55	30
黄芩素	271.15	123.11	55	33
汉黄芩素	285.17	270.20	45	25

2.2 对照品溶液的配制 精密称取白芍苷、芍药苷、甘草苷、甘草酸单铵盐、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、盐酸小檗碱对照品适量, 分别加甲醇稀释, 得储备液。分别精密吸取上述 9 个储备液适量, 混合后加甲醇定容, 得质量浓度分别为 0.795, 1.96, 7.875, 9.18, 2.6, 4.655, 6.375, 3.675, 3.675 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。精密称取淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇稀释并定容, 得 10.5 mg·L⁻¹ 内标溶液。4 °C 储存备用。

2.3 给药方案与血浆样品处理 采用单次给药法, 参考人等效剂量的 4 倍作为清颗粒的给药剂量(相当于白芍苷、芍药苷、甘草苷、黄芩苷、盐酸小檗碱、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素和汉黄芩素分别为 2.8, 4.6, 9.4, 92.2, 20.8, 19.9, 26.2, 5.6, 5.3 mg·kg⁻¹), 给药前禁食 12 h, 自由饮水。灌胃后于 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 h 眼眶后静脉丛取血, 每次 0.4 mL, 置于肝素化的试管中, 于 4 °C, 5 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 分离血浆, -20 °C 冷冻保存。精密吸取待测血浆 100 μL, 置于 1.5 mL 离心管中, 加入内标淫羊藿苷溶液 10 μL, 加入甲醇 500 μL, 涡旋混匀 5 min, 离心(14 000 r·min⁻¹, 10 min, 下同), 吸取全部上清液, 置于另一 1.5 mL 离心管中, 氮气吹干, 加入甲醇-水(50:50) 100 μL, 涡旋混匀 1 min, 离心, 取上清液 20 μL 进行 LC-MS 分析。

2.4 方法学验证

2.4.1 专属性试验 分别对大鼠空白血浆、空白

血浆 + 混合对照品溶液及内标溶液、灌胃给药的大鼠血浆样品适量, 按 2.3 项下方法处理, 进样测定, 见图 1。结果显示血浆中无明显杂质和内源性物质的干扰, 表明该方法专属性强。

2.4.2 线性关系和定量限 取混合对照品溶液适量, 加甲醇进行稀释, 得系列混合对照品溶液。取空白血浆 100 μL, 分别加入上述对照品溶液 10 μL, 按 2.3 项下方法处理, 进样分析。以血浆中待测物的质量浓度为横坐标, 待测物与内标峰面积的比值为纵坐标, 利用加权最小二乘法进行回归运算, 根据 S/N > 10 计算各成分的最低定量限, 结果见表 2。

2.4.3 精密度和准确度 以大鼠空白血浆配制高、中、低 3 个质量浓度的质控样品 (*n* = 6), 按 2.3 项下方法操作, 连续测定 3 d, 计算精密度的 RSD 2.2% ~ 11.0%, 准确度的相对回收率 (RR) 90.58% ~ 108.67%。

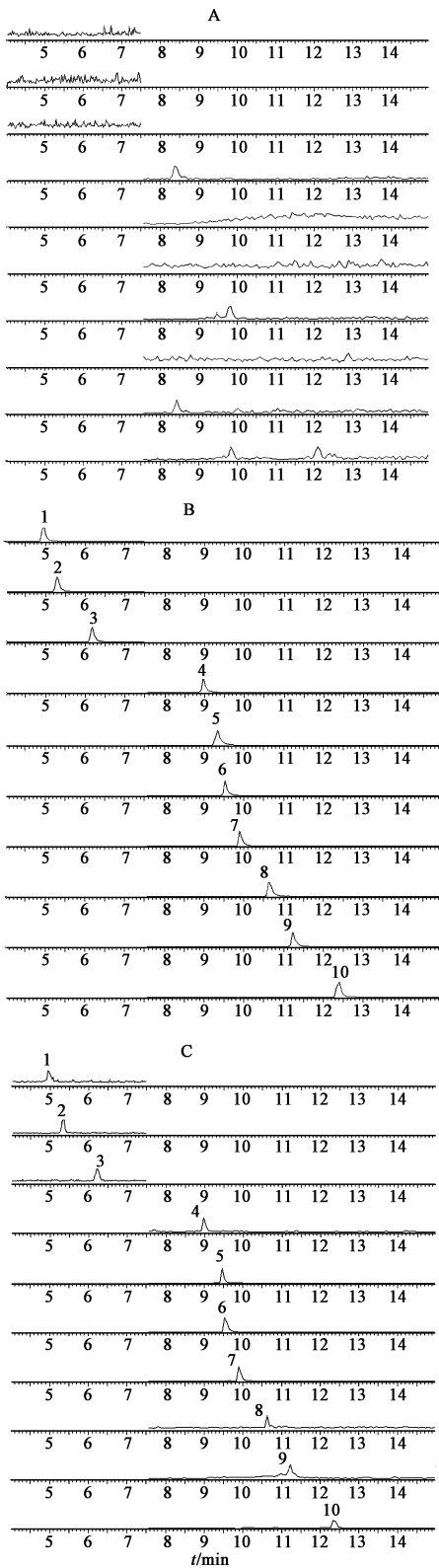
2.4.4 提取回收率和基质效应 取 2.4.3 项下质控样品, 按 2.3 项下方法操作, 进样分析, 得各成分峰面积 A; 另取空白血浆, 按 2.3 项下方法操作, 经蛋白沉淀处理后加入与上述相应质量浓度的混合对照品溶液, 同法操作, 得峰面积 B; 取上述相应质量浓度的混合对照品溶液, 按 2.3 项下“氮气吹干”后方法操作, 进样分析, 得峰面积 C。A 与 B 的比值为提取回收率, B 与 C 的比值为基质效应。结果提取回收率 73.72% ~ 109.28%, 基质效应范围 89.52% ~ 109.30%。

2.4.5 稳定性 取 2.4.3 项下质控样品, 按 2.3 项下方法操作, 按不同储藏条件 [室温放置 8 h, -20 °C 下反复冻融 3 次(每次间隔 24 h), 血浆样品冷冻放置 20 d] 进行稳定性考察。结果表明血浆中 9 个成分在 3 种不同储藏条件下均稳定, RSD 均 < 15.0%。

2.5 药代动力学研究 采用 DAS 2.0 软件非房室模型对血药浓度-时间数据进行处理, 计算药代动力学参数, 其中药-时曲线下面积 (AUC_{0-t} 和 AUC_{0-∞}) 采用梯形法计算, 半衰期 (*t*_{1/2}) 利用药-时曲线末端相计算, 药峰浓度 (*C*_{max}) 和达峰时间 (*t*_{max}) 为实测值。药-时曲线见图 2, 药动学参数见表 3。结果表明各成分均可在大鼠血浆中检测到。

3 讨论

血浆样品的预处理过程对实验结果有着至关重要的影响, 本文比较了液-液萃取法和蛋白沉淀法。结果显示, 利用乙酸乙酯萃取时对多数待测成分的提取率较低, 而用乙腈和甲醇的蛋白沉淀法所得



A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 混合对照品 + 内标; C. 给药 0.75 h 后的血浆样品; 1. 白芍苷; 2. 芍药苷; 3. 甘草苷; 4. 黄芩苷; 5. 盐酸小檗碱; 6. 淫羊藿苷; 7. 汉黄芩苷; 8. 甘草酸; 9. 黄芩素; 10. 汉黄芩素

图1 清清颗粒中9个指标成分的MRM色谱
Fig. 1 Representative MRM chromatograms of nine analytes in Qingqing granules

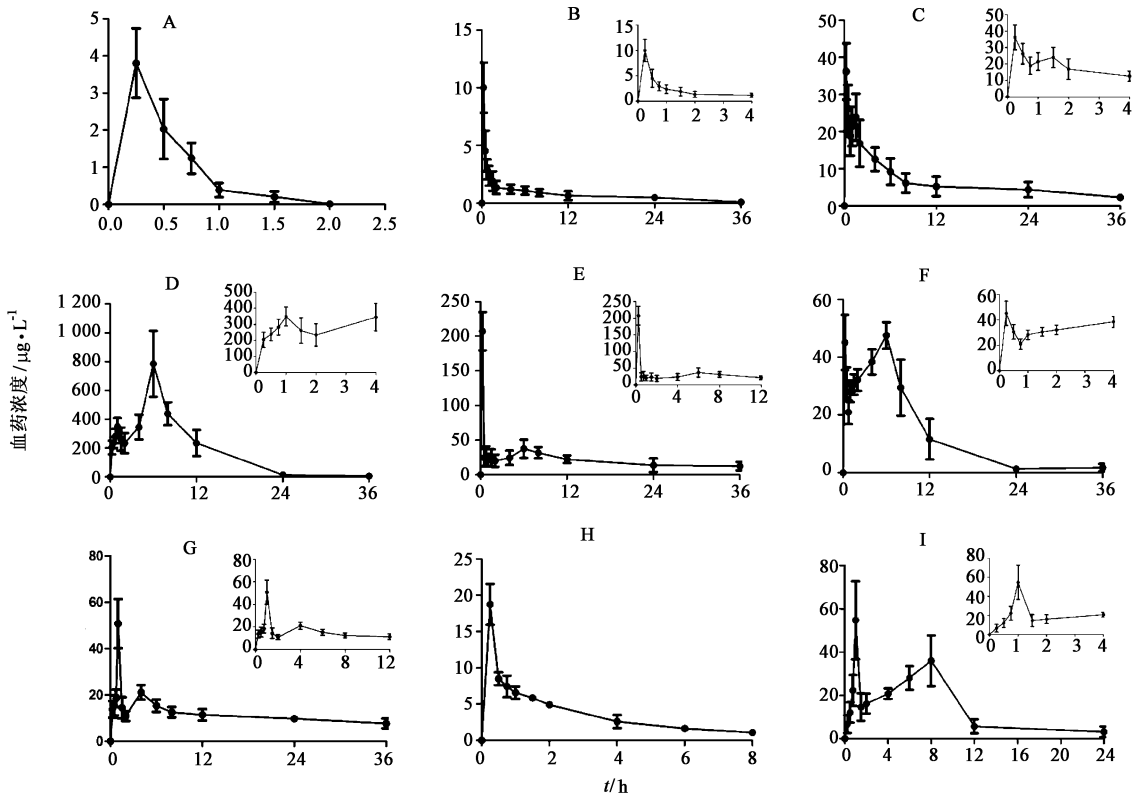
表2 清清颗粒中9个指标成分的线性关系和最低定量限

Table 2 Regression equations, linear ranges and LOQs of nine analytes in Qingqing granules

成分	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	标准曲线	r	最低定量限 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
白芍苷	0.50 ~ 39.75	$Y = 0.006X - 0.0001$	0.9989	0.50
芍药苷	1.22 ~ 98.00	$Y = 0.009X - 0.0002$	0.9994	1.22
甘草苷	4.92 ~ 393.75	$Y = 0.0016X - 0.0029$	0.9986	4.92
黄芩苷	1.62 ~ 130.00	$Y = 0.021X + 0.0264$	0.9990	1.62
盐酸小檗碱	2.30 ~ 183.75	$Y = 0.419X + 0.1416$	0.9990	2.30
汉黄芩苷	3.98 ~ 318.75	$Y = 0.144X - 0.003$	0.9990	3.98
甘草酸	5.74 ~ 459.00	$Y = 0.0007X + 0.004$	0.9993	5.74
黄芩素	2.91 ~ 232.75	$Y = 0.024X + 0.0072$	0.9990	2.91
汉黄芩素	2.30 ~ 183.75	$Y = 0.318X - 0.0153$	0.9995	2.30

成分的提取率均较高,且甲醇沉淀所得的峰形良好,故最终采用以甲醇为沉淀剂的蛋白沉淀法。检测的离子越多,检测每个离子所需时间就会越少,因此会导致每个待测物的灵敏度降低。同全时间段扫描模式相比,分时间段的扫描模式有助于提高检测的灵敏度^[15]。由于甘草苷($t_R = 6.20 \text{ min}$)和黄芩苷($t_R = 8.97 \text{ min}$)的时间间隔较大,因此将转换的时间点定为7 min可避免干扰。

本文在研究中发现给药剂量较低时,血浆中很难检测到白芍苷和芍药苷,为初步了解二者的体内药动学过程,为其临床合理用药提供参考依据,试验设计时以人等效剂量的4倍作为清清颗粒的给药剂量。从药-时曲线可知,大鼠体内的黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、盐酸小檗碱和甘草酸均存在明显的双峰,这和文献中的报道基本一致^[16],并且已证实这些成分在体内能通过肝肠循环进行重吸收^[17-18],这无疑会增加和维持各成分在体内较高的血药浓度,进而有益于清清颗粒发挥疗效。中药复方的成分复杂,各种成分之间的相互作用势必会影响吸收、代谢等过程。本文研究结果发现,汉黄芩苷的单峰和吸收很慢的现象与现有文献报道^[19-21]不一致。汉黄芩素的吸收较其结构类似的黄芩苷和黄芩素慢,另外芍药苷本应吸收和消除均很快^[22-23],但芍药苷的消除却较慢。推测这些现象的发生是由复方成分之间的相互影响而引起的,具体原因有待深入研究。而由 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 可知,汉黄芩苷的吸收情况要优于方中其他几个成分。2 h后便很少能检测到白芍苷,主要是由于白芍苷在方中含量较低($0.33 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)及其生物利用度较差^[24]引起的。而盐酸小檗碱则可能由于吸收较差且代谢范围广的原因^[25],在口服剂量相近的情况下,要比汉黄芩苷的血药浓度要低很多。另外,由于甘草酸存在首过效应^[26],



A. 白芍苷; B. 芍药苷; C. 黄芩苷; D. 汉黄芩苷; E. 黄芩素; F. 汉黄芩素; G. 盐酸小檗碱; H. 甘草苷; I. 甘草酸

图 2 大鼠灌胃清清颗粒后 9 个成分的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time profiles of nine analytes after oral administration of Qingqing granules ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 3 清清颗粒中 9 个成分的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of nine analytes after oral administration of Qingqing granules ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	t_{max}/h	$t_{1/2}/h$	$C_{max}/\mu g \cdot L^{-1}$	$AUC_{0-t}/\mu g \cdot h \cdot L^{-1}$	$AUC_{0-\infty}/\mu g \cdot h \cdot L^{-1}$
白芍苷	0.25 ± 0	0.21 ± 0.02	3.08 ± 0.94	2.02 ± 0.59	2.03 ± 0.59
芍药苷	0.25 ± 0	6.72 ± 2.10	10.01 ± 2.17	26.77 ± 8.05	45.18 ± 15.89
甘草苷	0.25 ± 0	2.70 ± 0.36	18.73 ± 2.84	29.67 ± 3.32	33.90 ± 3.65
黄芩苷	0.25 ± 0	6.90 ± 1.55	36.18 ± 7.57	231.46 ± 77.94	304.33 ± 97.17
盐酸小檗碱	1.00 ± 0.10	5.16 ± 0.95	50.76 ± 10.61	415.46 ± 52.89	1 117.71 ± 690.02
汉黄芩苷	6.33 ± 0.82	4.34 ± 1.02	793.70 ± 214.08	6 377.52 ± 937.71	6 419.08 ± 957.42
甘草酸	1.00 ± 0.11	4.74 ± 2.52	54.73 ± 18.01	299.68 ± 80.37	316.10 ± 100.65
黄芩素	0.25 ± 0	4.79 ± 1.48	207.35 ± 27.58	744.75 ± 250.89	1 181.99 ± 442.80
汉黄芩素	3.12 ± 1.15	5.78 ± 2.41	50.79 ± 5.95	478.51 ± 64.49	494.03 ± 79.82

而且甘草酸易在体内代谢成甘草次酸而参与药理作用的发挥^[27],因此在和盐酸小檗碱相接近的口服剂量下,甘草酸的 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 要小于盐酸小檗碱。而甘草苷也由于自身吸收较差导致了其血药浓度较低^[28]。

【参考文献】

[1] 任爱农,孔铭,田耀洲. 清清颗粒的质量标准研究[J]. 中成药,2007,29(3):456-458.
 [2] 张梅,任爱农,杨玉兰,等. HPLC 波长切换法同时测定清清颗粒中 9 个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2015,35(1):29-33.
 [3] 张梅,柴彦,任爱农,等. “一测多评”法同时测定清清颗粒中 10 种指标成分[J]. 中国现代应用药学,

2015,32(3):318-323.
 [4] YU S,PANG X,DENG Y,et al. A sensitive and specific liquid chromatography mass spectrometry method for simultaneous determination of berberine, palmatine, coptisine, epiberberine and jatrorrhizine from Coptidis Rhizoma in rat plasma[J]. Int J Mass Spectr,2007,268(1):30-37.
 [5] TONG L, WAN M, ZHANG L, et al. Simultaneous determination of baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin, oroxylin A and chrysin of Radix scutellariae extract in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal,2012,70:6-12.
 [6] WU Y P,MENG X S,BAO Y R,et al. Pharmacokinetic

- study of four flavones of Glycyrrhiza in rat plasma using HPLC-MS [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148 (1): 266-270.
- [7] DENG Y, LIAO Q, LI S, et al. Simultaneous determination of berberine, palmatine and jatrorrhizine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in rat plasma and its application in a pharmacokinetic study after oral administration of coptis-evodia herb couple [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 863 (2): 195-205.
- [8] FENG J, XU W, TAO X, et al. Simultaneous determination of baicalin, baicalein, wogonin, berberine, palmatine and jatrorrhizine in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and application in pharmacokinetic studies after oral administration of traditional Chinese medicinal preparations containing scutellaria-coptis herb couple [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53 (3): 591-598.
- [9] GAN P, ZHONG M, HUANG X, et al. Pharmacokinetic comparisons of albiflorin and paeoniflorin after oral administration of Shaoyao-Gancao-Tang and single herb Paeony decoction to rats [J]. *Planta Med*, 2012, 78 (3): 237-243.
- [10] YAN Y, CHAI C Z, WANG D W, et al. Simultaneous determination of puerarin, daidzin, daidzein, paeoniflorin, albiflorin, liquiritin and liquiritigenin in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study of Ge-Gen Decoction by a liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 95: 76-84.
- [11] WANG J, PANG Q, CEN W, et al. Simultaneous determination of ten active constituents of Yankening Capsule in rat plasma by ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2015, doi: 10.1016/j.jchromb.2014.10.016.
- [12] XU B, LI P, ZHANG G. Comparative pharmacokinetics of puerarin, daidzin, baicalin, glycyrrhizic acid, liquiritin, berberine, palmatine and jateorhizine by liquid chromatography-mass spectrometry after oral administration of Gegenqinlian decoction and active components alignment (ACA) to rats [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 988: 33-44.
- [13] LI T, YAN Z, ZHOU C, et al. Simultaneous quantification of paeoniflorin, nobiletin, tangeretin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, liquiritin and formononetin from Si-Ni-San extract in rat plasma and tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27 (8): 1041-1053.
- [14] WANG Y, YAO Y, AN R, et al. Simultaneous determination of puerarin, daidzein, baicalin, wogonoside and liquiritin of Gegenqinlian decoction in rat plasma by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877 (20): 1820-1826.
- [15] XU J D, WU J, ZHOU S S, et al. High performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry with programmed ionization mode switching and time segment scanning approach for quantifying multi-components in traditional complex herbal medicine, Qiong-Yu-Gao as an example [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 112: 139-146.
- [16] ZUO F, ZHOU Z M, ZHANG Q, et al. Pharmacokinetic study on the multi-constituents of Huangqin-Tang decoction in rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26 (7): 911-919.
- [17] XING J, CHEN X, ZHONG D. Absorption and enterohepatic circulation of baicalin in rats [J]. *Life Sci*, 2005, 78 (2): 140-146.
- [18] 吴晓霞, 彭娟, 范斌, 等. LC-MS-MS 测定黄连解毒汤中 3 种生物碱在大鼠血清的含量及其药代动力学研究 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34 (10): 1276-1279.
- [19] 秦三海, 刘华钢. 黄芩苷的体内药代动力学研究进展 [J]. *广西中医药大学杂志*, 2003, 6 (4): 72-74.
- [20] 李涛, 王怡薇, 王彦礼, 等. 黄芩汤血浆中多成分 LC-MS 法测定及其药代动力学特征研究 [J]. *药学学报*, 2013, 48 (6): 917-924.
- [21] 李涛. 黄芩汤物质基础与药代动力学特征研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2010.
- [22] 陈小新, 原素, 龙超峰, 等. 妇炎康灌肠剂中芍药苷在家兔体内药代动力学 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17 (12): 106-109.
- [23] TONG L, WAN M, ZHOU D, et al. LC-MS/MS determination and pharmacokinetic study of albiflorin and paeoniflorin in rat plasma after oral administration of Radix Paeoniae Alba, extract and Tang-Min-Ling-Wan [J]. *Biomed Chromatogr*, 2010, 24 (12): 1324-1331.
- [24] XU C H, WANG P, WANG Y, et al. Pharmacokinetic comparisons of two different combinations of Shaoyao-Gancao Decoction in rats: competing mechanisms between paeoniflorin and glycyrrhetic acid [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149 (2): 443-452.
- [25] ZHANG Y, YUAN J, ZHANG Y, et al. LC-MS/MS analysis of Gegenqinlian Decoction and its pharmacokinetics after oral administration to rats [J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, 29 (4): 485-495.
- [26] ZHONG Y M, WANG S J, JIE Z, et al. Metabolism of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in the *in situ* vascularly perfused rat intestine-liver model [J]. *Chin Pharm Bul*, 2014, 30 (4): 501-505.
- [27] WANG Y, XU C, WANG P, et al. Pharmacokinetic comparisons of different combinations of Shaoyao-Gancao-Decoction in rats: Simultaneous determination of ten active constituents by HPLC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 932: 76-87.
- [28] 张力勤, 黄应栋, 杨秀伟. 甘草苷和异甘草苷在 Caco-2 细胞单层模型中的肠吸收研究 [J]. *中国药学: 英文版*, 2010, 19 (6): 451-458.

[责任编辑 刘德文]