

基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 定性分析当归中多种香豆素类成分

蒋虎刚¹, 赵信科¹, 蔺文燕², 李亮¹, 李娇², 李应东^{2*}

(1. 兰州大学, 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

[摘要] 目的:建立高效、稳定的 HPLC-Q-TOF-MS/MS 方法,系统、全面地定性分析当归中多种香豆素成分,为当归质控标准的完善、香豆素的开发及临床应用提供依据。方法:通过调整液相色谱柱种类、温度、流动相、流速、样品浓度等条件,建立可高效分离当归提取液中香豆素成分的 HPLC-Q-TOF-MS/MS,并结合对照品、精确相对分子质量、极性、裂解规律、参考文献等鉴定当归中多种香豆素类成分。结果:该研究建立了一种高效、稳定的香豆素分离方法,并鉴定出 14 种香豆素成分,发现其存在大量的同分异构体,其中珊瑚素、王草酚等香豆素成分较少作为当归成分被报道;同时通过分析香豆素类成分的主要碎片离子,发现香豆素类成分在质谱中主要通过母核侧链的甲氧基键或苯甲醚键的断裂以及侧链上其他基团的丢失而裂解,总结出香豆素成分的一般裂解规律。结论:当归中含有大量的香豆素类成分,将其深入定性、定量分析可进一步完善当归的质量标准,并为香豆素的开发及当归的临床应用提供参考。

[关键词] 当归; 香豆素; 高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 定性分析; 裂解规律

[中图分类号] R284.1;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)13-0157-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190918

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190117.1120.007.html>

[网络出版时间] 2019-01-18 11:25

Qualitative Analysis of Multiple Coumarins in *Angelicae Sinensis* Radix Based on HPLC-Q-TOF-MS/MS

JIANG Hu-gang¹, ZHAO Xin-ke¹, LIN Wen-yan², LI Liang¹, LI Jiao², LI Ying-dong^{2*}

(1. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To systematically and comprehensively analyze coumarin components in *Angelicae Sinensis* Radix by an efficient and stable HPLC-Q-TOF-MS/MS method, in order to offer the theoretical basis to develop coumarin, establish the quality control standard and apply in clinic. **Method:** The separation effect of coumarin components was extracted by adjusting the column, temperature, mobile phase, flow rate, sample concentration and other conditions, and various coumarin components in *Angelicae Sinensis* Radix were identified by corresponding standards, precise molecular mass, polarity, pyrolysis pattern. **Result:** In this study, a high-efficiency and stable coumarin separation method was established that can be used to separate complex components, and 14 coumarin components were identified in this study, including phellopterin and osthenol that were rarely reported as effective components in *Angelicae Sinensis* Radix. Major fragment ions of coumarin components were analyzed. The cleavage in methoxy bond or anisole bond on the parent nucleus was the primary pattern for coumarin components, which was summarized for detecting unknowing coumarins. **Conclusion:** Abundant coumarins were contained in *Angelicae Sinensis* Radix. Further qualitative and quantitative analysis of coumarins are conducive to improving the quality standards of *Angelicae Sinensis* Radix, and providing reference for the development of

[收稿日期] 20181230(006)

[基金项目] 甘肃省自然科学基金项目(1508RJZA015)

[第一作者] 蒋虎刚, 硕士, 住院医师, 从事心血管临床及科研工作, E-mail: 980428279@qq.com

[通信作者] *李应东, 博士, 教授、主任医师, 从事心血管临床及科研工作, E-mail: lyd412@163.com

coumarins and clinical application of *Angelicae Sinensis Radix*.

[**Key words**] *Angelicae Sinensis Radix*; coumarin; HPLC-Q-TOF-MS/MS; qualitative analysis; fragmentation pattern

当归为伞形科植物当归的干燥根茎,2015 年版《中国药典》^[1]中指出其性味甘、辛、温,归肝、心、脾经,有补血活血、调经止痛、润肠通便之效,为临床治疗血虚、血瘀诸证之要药。鉴于当归蕴藏的丰厚药用价值,采用液质联用技术^[2]深入剖析其药效物质成为当归的重要研究方向之一。

研究表明当归化学成分主要有香豆素类、有机酸类、苯酞类、多糖 4 类^[3],且因苯酞类为当归挥发油主要成分及具有较高的含量等特点,既往当归化学成分的定性、定量分析及药理活性研究主要针对苯酞类成分^[4-7],导致目前尚缺乏当归中香豆素类成分的系统定性分析研究。近年来研究发现香豆素类成分花椒毒素具有镇痛、抗心律失常、抗肿瘤等作用^[8-9],异欧前胡素具有降压、降低心肌收缩力等作用^[10-11],据此推测香豆素类成分可能是当归治疗高血压、心律失常等心血管疾病的重要药效物质,因此建立一种规范、简便的检测方法并系统的定性分析当归香豆素类成分对开发香豆素类药物、完善当归质控标准^[12]、临床治疗心血管疾病的应用等具有重要意义。

本研究采用 HPLC-Q-TOF-MS/MS 对当归中香豆素成分进行分析,共有 14 种香豆素成分被定性分析,转变了既往只注重苯酞类及有机酸类研究的思路,实现了当归香豆素成分较全面、系统地分析;并根据各成分的化学结构、极性及其碎片离子等对其裂解规律进行推测,总结出香豆素成分的在质谱中的裂解规律,为挖掘未知的香豆素类成分提供了参考依据;同时调整既往的分离方法,为香豆素类成分的定性分析建立了一种更为高效、稳定的 HPLC-Q-TOF-MS/MS,为进一步分析香豆素成分提供了基础。

1 材料

无水乙醇、甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司);花椒毒素、异欧前胡素(成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-17082406, MUST-17082212, 纯度均 $\geq 98.0\%$);当归药材(亳州中药饮片有限公司,批号 170903),经刘凯教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根。

DRT-TW 型电热套(郑州长城科工贸有限公司)

);R205B 型旋转蒸发仪(上海申生生物技术有限公司);VORTEX 型旋涡混匀器(上海达姆实业有限公司);Scientific SorvallLegendMicro17R 型低温高速离心机(美国 Thermo 公司);FRQ-1002T 小型超声清洗机(杭州法兰特超声波科技有限公司);DW-25L262 型 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱(海尔股份有限公司);1260 系列液相色谱-6530 型四级杆飞行时间质谱仪(安捷伦科技有限公司)。

2 方法

2.1 药材提取 称量当归药材 1 g,加入 70% 乙醇溶液 10 mL,加热超声($50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 600 W, 20 kHz)提取 2 h,过滤,重复上述操作,合并 2 次滤液,旋转蒸发仪浓缩滤液至 10 mL,得 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的药材贮备液(吸取药材溶液 100 μL 加入至 9.9 mL 甲醇溶液中,涡旋振荡后,再吸取 100 μL 加入至 49.9 mL 甲醇溶液中,后涡旋振荡), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。

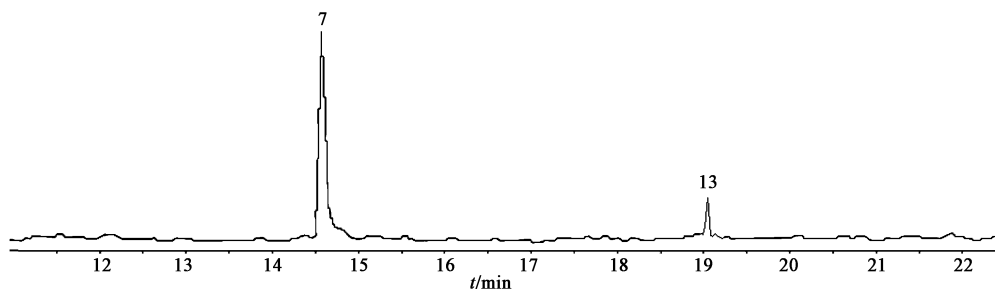
2.2 对照品溶液制备 花椒毒素、异欧前胡素标准品用 50% 甲醇溶解,并配制质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液;吸取药材贮备液 200 μL ;以上所有样品均在涡旋振荡后以 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液 200 μL 转移至样品瓶以备进样。

2.3 仪器条件 HPLC 条件:ACE-Excel 3-C₁₈-Amid 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm);流动相乙腈(A)-含 0.5% 甲酸的去离子水(B),洗脱梯度(0 ~ 2 min, 5% B; 2 ~ 5 min, 5% ~ 10% B; 5 ~ 15 min, 10% ~ 55% B; 15 ~ 25 min, 55% B; 25 ~ 26 min, 55% ~ 90% B; 26 ~ 30 min, 90% B; 30 ~ 31 min, 90% ~ 5% B; 31 ~ 35 min, 5% B);进样量为 10 μL 流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

质谱条件:ESI 离子源;正离子检测模式;干燥气,温度 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 $7\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$;鞘气,温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 $11\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$;锥孔电压 65 V;射频电压 750 V;喷雾器压力 241.3 kPa;碰撞能量 45 V;参考峰质量 m/z 121.050 8, 922.009 7;质量范围 m/z 100 ~ 1 000 Da。

3 结果

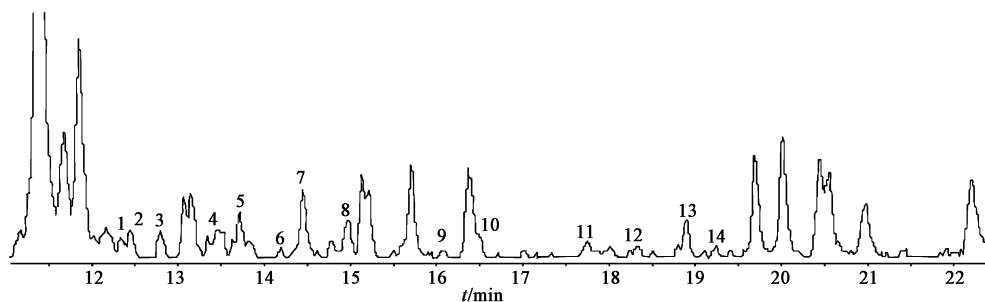
花椒毒素及异欧前胡素对照品色谱见图 1,当归提取物总离子流见图 2,经分析共有 14 种香豆素类成分在上述液相条件下可被充分分离;通过保留时间、质荷比、特征性碎片离子以及相关文献报道完成了定性分析,并推测出其可能的裂解规律。



7. 花椒毒素;13. 异欧前胡素

图 1 对照品总离子流

Fig.1 Total ion of mixed standards



1. 8-氧甲基异欧前胡内酯;2. 珊瑚菜素;3. 王草酚;4. 别异欧前胡素;5. 栓翅芹烯醇;6. 花椒毒醇;7. 花椒毒素;8. 异茴芹灵;9. 异紫花前胡内酯;10. 佛手甘内酯;11. 氧化前胡素;12. 欧前胡素;13. 异欧前胡素;14. 补骨脂素

图 2 当归提取液中 14 种香豆素成分总离子流

Fig.2 Total ion of 14 coumarins from *Angelicae Sinensis Radix* extraction

本实验中鉴定出来 14 种香豆素成分,其保留时间、质荷比以及裂解碎片等数据信息见表 1。依据对照品提供的保留时间、精确相对分子质量、碎片等数据,化合物 7,13 被鉴定为花椒毒素、异欧前胡素。花椒毒素具有高丰度的碎片离子 m/z 203.189 6 $[M + H - CH_3]^+$, 187.169 8 $[M + H - CH_3O]^+$, 推测其可能分别通过丢失甲基及甲氧基形成^[13], 见图 3。异欧前胡素主要的碎片离子 m/z 203.028 9 $[M + H - C_5H_9]^+$, 187.034 9 $[M + H - C_5H_9 - OH]^+$, 推测其可能通过连续丢失甲氧基侧链基团 (C_5H_9) 与酚羟基而产生。化合物 4,12,13 具有相同的分子量及碎片离子,故被鉴定为同分异构体,根据文献报道,欧前胡素具有两种同分异构体,分别为异欧前胡素与别异欧前胡素,三者中极性以别异欧前胡素最大、异欧前胡素最小,因此根据其保留时间化合物 4,12 被分别鉴定为别异欧前胡素与欧前胡素^[14-15], 见图 4。化合物 1,2 也具有相同的相对分子质量及碎片,因此其被认为是同分异构体;化合物 1,2 具有高丰度碎片离子 m/z 217.044 9, 187.045 0, 其碎片离子与异欧前胡素相似,且其相对分子质量较异欧前胡素大 30 Da, 因此推测化合物 1,2 是在异欧前胡素结构基础上增加甲氧基构成;化合物 2

保留时间较化合物 1 长,说明其极性极性较小;根据文献报道,8-氧甲基异欧前胡内酯、珊瑚菜素符合上述推测,且珊瑚菜素极性小于 8-氧甲基异欧前胡内酯,因此化合物 1,2 分别鉴定为 8-氧甲基异欧前胡内酯、珊瑚菜素^[16-18], 见图 5。化合物 6 相对分子质量为 202.026 6 Da, 较花椒毒素少 14 Da, 其与花椒毒素具有相似的裂解碎片以及相近的保留时间,推测其结构较花椒毒素少甲基,因此推测其为花椒毒醇^[19-21]。化合物 5,11 具有相同的相对分子质量与相似的碎片离子,故推测其为同分异构体;其相对分子质量较异欧前胡素多 16 Da, 且与异欧前胡素具有相似的碎片离子,因此推测其化学结构较异欧前胡素多一羟基,根据文献,栓翅芹烯醇、氧化前胡素符合上述推断,且栓翅芹烯醇相对氧化前胡素具有较大的极性,因此化合物 5,11 分别被鉴定为栓翅芹烯醇、氧化前胡素^[15,22], 见图 6; 化合物 8 主要的碎片离子 m/z 233.228 9 $[M + H - CH_3]^+$, 203.179 8 $[M + H - CH_3 - CH_2O]^+$, 187.168 7 $[M + H - CH_3 - CH_2O - OH]^+$ 先通过甲氧基上甲基键的断裂丢失甲基形成碎片离子 m/z 233.228 9, 后对位甲氧基完全丢失形成碎片离子 m/z 203.179 8, 最后丢失母核侧链的羟基形成碎片离子 m/z 187.168 7, 根据其典型的碎片离子

化合物 **8** 鉴定为异茴芹灵^[23], 见图 7。化合物 **10** 与花椒毒素具有相同相对分子质量及碎片离子, 因此化合物 **10** 为花椒毒素的同分异构体, 根据文献报道佛手柑内酯为花椒毒素的同分异构体, 且其极性较花

椒毒素小, 所以化合物 **10** 被鉴定为佛手柑内酯^[24]。化合物 **14** 相对分子质量较花椒毒素少 30 Da, 推测其结构中可能较花椒毒素少甲氧基; 根据文献报道及其极性, 其被鉴定为补骨脂素^[25-26]。

表 1 当归提取物中 14 种香豆素类成分定性分析

Table 1 Information of 14 coumarins from angelic extraction

化合物	t/min	化学式	相对分子质量/Da	准分子离子 (m/z)	二级碎片 (m/z)	化合物
1	12.292	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.099 8	301.122 4	217.044 9, 187.045 0	8-氧甲基异欧前胡内酯
2	12.484	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.099 8	301.096 3	217.048 7, 187.048 3	珊瑚菜素
3	12.790	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	230.094 3	231.076 9	187.056 6, 147.066 1	王草酚
4	13.318	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.089 2	271.076 2	203.033 9, 187.043 6	别异欧前胡素
5	13.684	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.084 1	287.064 1	271.045 2, 203.030 6, 187.040 0	栓翅芹烯醇
6	14.247	C ₁₁ H ₆ O ₄	202.026 6	203.196 6	187.165 9	花椒毒醇
7	14.492	C ₁₂ H ₈ O ₄	216.196 4	217.196 7	203.189 6, 187.169 8	花椒毒素 ¹⁾
8	14.971	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	246.224 7	247.223 9	233.228 9, 203.179 8, 187.168 7	异茴芹灵
9	16.083	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246.089 2	247.096 5	225.051 0, 197.060 0, 169.060 0	异紫花前胡内酯
10	16.496	C ₁₂ H ₈ O ₄	216.196 7	217.196 7	203.189 5, 187.169 8	佛手柑内酯
11	17.802	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.279 6	287.289 6	203.030 0, 187.035 0	氧化前胡素
12	18.375	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.286 1	271.289 7	203.028 9, 187.035 2	欧前胡素
13	18.869	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.286 1	271.289 7	203.028 9, 187.034 9	异欧前胡素 ¹⁾
14	19.361	C ₁₁ H ₆ O ₃	186.031 7	187.113 7	168.048 2	补骨脂素

注: ¹⁾ 表明通过对照品鉴定; 离子模式均为 [M + H]⁺。

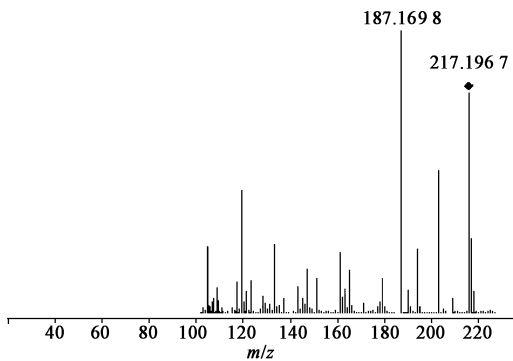


图 3 花椒毒素裂解途径及 MS/MS
Fig. 3 Fragment pathways and mass spectrum of 8-methoxy-psoralen

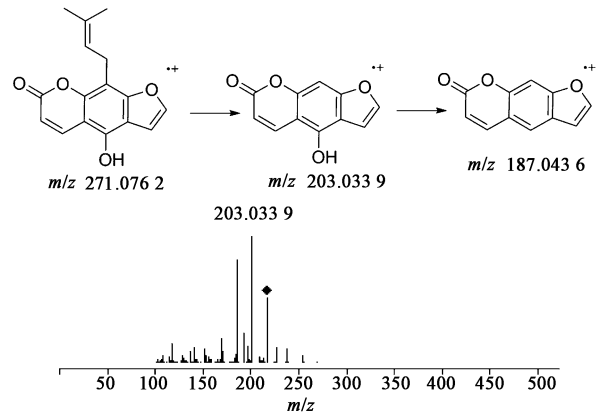


图 4 别异欧前胡素裂解途径及 MS/MS
Fig. 4 Fragment pathways and mass spectrum of isoimperatorin

4 讨论

香豆素类成分具有降压、抗心律失常、降低心肌收缩力、抗抗疲劳等药理活性, 而既往研究表明当归中富含香豆素成分, 因此鉴定当归中的香豆素类成分对当归的质量控制、香豆素的开发、当归的临床应用均有重要价值^[27-28]。

目前当归的质控标准以阿魏酸的含量为主要指标^[1], 并未涉及香豆素类成分的定性定量, 而近来研究表明香豆素成分可能是当归的重要药效物质, 因此将香豆素类成分的定性、定量分析纳入当归

质控标准更有利于全面、可观地评估当归的质量。本研究通过比较不同体积分数乙醇溶液对当归中阿魏酸的提取效果, 发现含 70% 乙醇溶液具有较好的提取效果, 因此本研究最终采用 70% 乙醇溶液作为当归的提取溶剂。本研究建立了一种可以同时高效分离多种香豆素类成分的方法, 并从当归提取液中鉴定出了 14 种香豆素类化合物, 进而通过分析香豆素类成分的离子碎片, 总结出香豆素类化合物具有共同的母核结构 C₁₁H₆O₃ (m/z 187.1), 其主要裂解途径为母核侧链的甲氧基键或苯甲醚键的断裂, 以

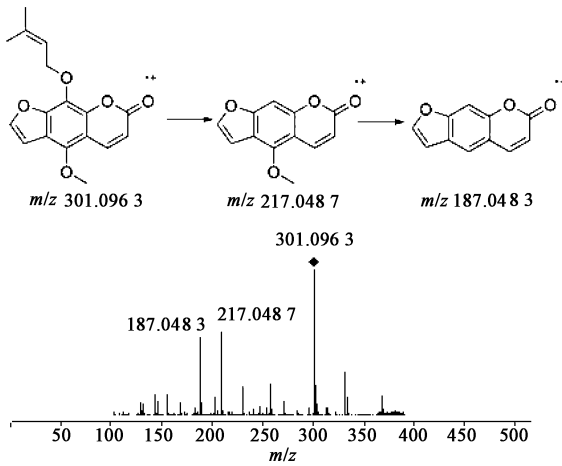


图 5 珊瑚菜素裂解途径及 MS/MS
Fig. 5 Fragment pathways and mass spectrum of phellopterin

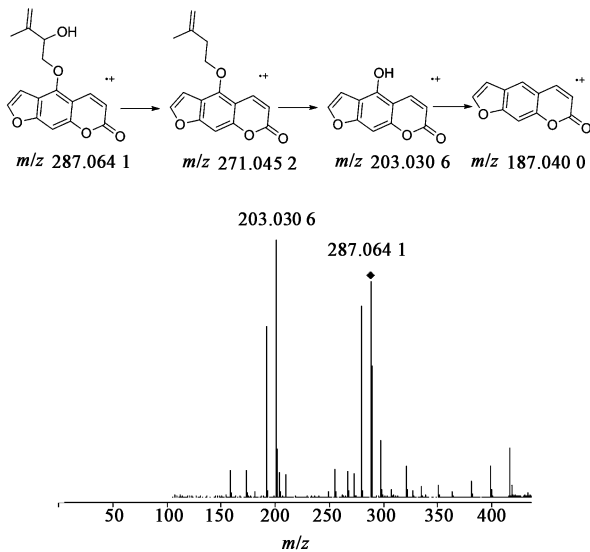


图 6 栓翅芹烯醇裂解途径及 MS/MS
Fig. 6 Fragment pathways and mass spectrum of pabulenol

及侧链上其他基团丢失的一般规律,为当归中香豆素类成分的分鉴定以及完善当归的质控标准提供了参考。

本研究还发现,当归中有多种香豆素类物质,而且其中具有大量的同分异构体成分,如栓翅芹烯醇与氧化前胡素,8-氧甲基异欧前胡内酯与珊瑚菜素,欧前胡素、异欧前胡素与别异欧前胡素等。一方面,同分异构体成分的存在极大地丰富了当归中香豆素化合物的种类并拓宽了当归的药理活性,使其更符合中药多靶点、整体调节生命活动的特性。另一方面,因为同分异构体的结构仅有细微的差异,所以其多种性质极为相似,以至于很难同时被定性分析出来,增加了当归中香豆素成分定性分析的难度;同时

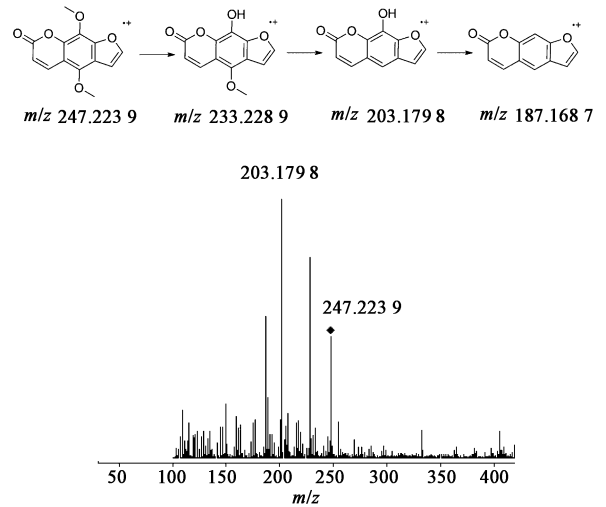


图 7 异茴芹裂解途径及 MS/MS
Fig. 7 Fragment pathways and mass spectrum of isopimpinellin

多种同分异构体其体内代谢途径是否相同,其药理作用机制是否一致,其作用靶点有无差异,以及其在代谢过程与靶点选择时是否存在协同或拮抗作用等问题尚未见明确的报道,这将成为本课题组在当归体内代谢研究及药理研究重要方向。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:133.
[2] 王雁梅,任京力,朱吾元,等. 不同炮制方式对当归中有效成分含量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20 (7) : 42-45.
[3] 黄明军,孙耀志,高松,等. LC-MS 分析当归六黄汤中主要成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (9) : 63-67.
[4] Kim A N, Cho J L, Son N R, et al. Development of analytical method for determination of baicalin, eleutheroside E, and ligustilide by LC-MS/MS in raw materials of health functional foods [J]. J Food Saf, 2017, 32 (3) : 193-198.
[5] HU P Y, LIU D, QIN Z, et al. Elucidation of transport mechanism of paeoniflorin and the influence of ligustilide, senkyunolide I and senkyunolide A on paeoniflorin transport through Mdr1 cells as blood-brain barrier *in vitro* model [J]. Molecules, 2016, 21 (3) : 1137-1149.
[6] MA W, WANG W H, PENG Y, et al. Ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantitation of five phthalides in rat plasma: application to a comparative pharmacokinetic study of Huo Luo Xiao Ling Dan and herb-pair extract [J]. J Sep Sci, 2016, 39 (11) : 2057-2067.

- [7] LI W X, TANG Y P, QIAN Y F, et al. Comparative analysis of main aromatic acids and phthalides in *Angelicae Sinensis Radix*, *Chuanxiong Rhizoma*, and *Fo-Shou-San* by a validated UHPLC-TQF-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 99(11) :45-50.
- [8] Bartnik M, Slawinska-Brych A, Zurek A, et al. 8-methoxypsoralen reduces Akt phosphorylation, induces intrinsic and extrinsic apoptotic pathways, and suppresses cell growth of SK-N-AS neuroblastoma and SW620 metastatic colon cancer cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 207:19-29.
- [9] Franklin C, Cesko E, Hillen U, et al. Modulation and apoptosis of neutrophil granulocytes by extracorporeal photopheresis in the treatment of chronic graft-versus-host disease [J]. *PLoS One*, 2017, 10(8) :1124-1136.
- [10] OUYANG J Y, JIANG H L, et al. Isoimperatorin ameliorates osteoarthritis by downregulating the mammalian target of rapamycin C1 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6) :9636-9644.
- [11] Wijerathne C U B, Seo C S, Song J W, et al. Isoimperatorin attenuates airway inflammation and mucus hypersecretion in an ovalbumin-induced murine model of asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 49(6) :67-76.
- [12] 全家羽, 赵嵘, 代云桃, 等. 当归标准汤剂质量评价体系的建立 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(7) :18-23.
- [13] TIAN W Q, CAI J, XU Y Y, et al. Determination of xanthotoxin using a liquid chromatography-mass spectrometry and its application to pharmacokinetics and tissue distribution model in rat [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9) :15164-15172.
- [14] Ngo L, Tran P, Ham S H, et al. Simultaneous determination of imperatorin and its metabolite xanthotoxol in rat plasma and urine by LC-MS/MS and its application to pharmacokinetic studies [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1044/1045:30-38.
- [15] WANG Y, YANG H J, MA Y Y. Simultaneous determination of three furanocoumarins by UPLC/MS/MS: application to pharmacokinetic study of *Angelica dahurica* Radix after oral administration to normal and experimental colitis-induced rats [J]. *Molecules*, 2017, 22(3) :109-123.
- [16] HUO H L, JIA P P, ZHANG X X, et al. Tentative identification of new metabolites of cnidilin by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 995(5) :85-92.
- [17] HUO H L, YU S H, X Z LIU, et al. Simultaneous and sensitive determination of eight coumarins in rat bile and urine after oral administration of Radix *Angelicae Dahuricae* extract by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry [J]. *Acta Chromatogr*, 2013, 25(2) :201-219.
- [18] YUAN L, ZHANG Y Q, LIAO M, et al. UHPLC-Q-TOF-MS/MS-based screening and characterization of metabolites of cnidilin in human liver microsomes [J]. *Biomed Chromatogr*, 2017, 31(11) :3992.
- [19] Lien N, Tran P, Ham S H, et al. Simultaneous determination of imperatorin and its metabolite xanthotoxol in rat plasma and urine by LC-MS/MS and its application to pharmacokinetic studies [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1044(9) :30-38.
- [20] ZHAO A H, ZHANG Y B, YANG X W. Simultaneous determination and pharmacokinetics of sixteen *Angelicae dahurica* coumarins *in vivo* by LC-ESI-MS/MS following oral delivery in rats [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(10) :1029-1036.
- [21] SONG G S, JIN M M, DU Y F, et al. UPLC-QTOF-MS/MS based screening and identification of the metabolites in rat bile after oral administration of imperatorin [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1022(11) :21-29.
- [22] BAI Y, LI D H, ZHOU T T, et al. Coumarins from the roots of *Angelica dahurica* with antioxidant and antiproliferative activities [J]. *J Funct Food*, 2016, 20(7) :453-462.
- [23] SHI X W, WANG S, QIAN Q, et al. Herb-herb pharmacokinetic interaction between *Glehniae Radix* and *Ophiopogonis Radix* in rats using superimposed multiple product ion (SMPI) LC-HR-MS/MS [J]. *Rsc Adv*, 2017, 7(47) :29732-29741.
- [24] ZHAO A H, ZHANG Y B, YANG X W. Simultaneous determination and pharmacokinetics of sixteen *Angelicae dahurica* coumarins *in vivo* by LC-ESI-MS/MS following oral delivery in rats [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(10) :1029-1036.
- [25] YANG A H, CHEN J X, MA Y T, et al. Studies on the metabolites difference of psoralen/isopsoralen in human and six mammalian liver microsomes *in vitro* by UHPLC-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 141(8) :200-209.
- [26] YANG Y F, ZHANG L, ZHANG Y B, et al. Simultaneous assessment of absorption characteristics of coumarins from *Angelicae Pubescentis Radix*: *in vitro* transport across Caco-2 cell and *in vivo* pharmacokinetics in rats after oral administration [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1060(5) :308-315.
- [27] 徐厚谦, 颜春鲁, 张永花, 等. 当归补血汤通过 PI3K/Akt 通路对 Ang II 诱导肥大心肌细胞的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2) :135-139.
- [28] 杨艺萱, 张兆芳, 刘卉, 等. 当归红芪超滤物对辐射后心肌成纤维细胞的增殖和胶原分泌的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(12) :136-142.

[责任编辑 顾雪竹]