

· 药物代谢 ·

葛根芩连汤中葛根素、黄芩苷、小檗碱 与甘草酸组合在大鼠体内代谢产物研究

杨飞, 吴德康*, 陈丽红*, 杨念云, 卞勇
(南京中医药大学药学院, 南京 210046)

[摘要] 目的: 研究葛根芩连汤中各味药材的主要成分葛根素、黄芩苷、小檗碱与甘草酸联合给药后在大鼠体内的代谢产物化学结构。方法: 健康大鼠灌胃给药, 收集 0~24 h 的尿样, 尿样经 C₁₈ 固相小柱分离纯化后, 经 UPLC-Q-TOF-MS 分析鉴定其中的代谢产物。代谢物的结构鉴定主要依据各代谢物与对照品的一级质谱电离规律、裂解规律间的关联性和相关文献的数据。结果: 灌胃给药(葛根素、小檗碱、黄芩苷和甘草酸)后, 在大鼠尿液中鉴定了 16 个代谢产物的化学结构, 其中 6 个来自葛根素, 分别为葛根素、大豆苷、大豆苷元、二氢大豆苷元、葛根素硫酸酯结合产物和葛根素葡萄糖醛酸结合产物; 2 个来自黄芩苷, 分别为 baicalin-6-O-β-glucose-7-O-β-glucopyranuronoside, baicalin-6-O-β-glucopyranuronoside-7-O-β-glucopyranuronoside; 8 个来自小檗碱, 分别为 thalifendine, berberrubine, demethyleneberberine, jatrorrhizine, demethyleneberberine 葡萄糖醛酸结合物, jatrorrhizine 葡萄糖醛酸结合物, berberrubine-9-O-β-D-glucuronide, demethyleneberberine-2, 3-O-β-D-glucuronide。结论: 主要成分联合给药后, 代谢产物主要以苷元或以葡萄糖苷、葡萄糖醛酸结合物为主, 也有以原型排出; 甘草酸生物利用度低, 有明显的首过效应, 且经尿液排泄量极少, 未检出代谢产物。

[关键词] 葛根芩连汤; 代谢产物; UPLC-Q-TOF-MS

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)09-0164-05

[doi] 10.11653/syfy2013090164

Studies on Metabolites of Main Components of Gegen Qinlian Decoction in Rats

YANG Fei, WU De-kang*, CHEN Li-hong*, YANG Nian-yun, BIAN Yong
(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the metabolism of combination administration of main components of Gegen Qinlian decoction in rats. **Method:** The urine samples were collected 0-24 h after ig main components of Gegen Qinlian decoction, then the samples were purified through C₁₈ solid-phase extraction cartridge. The purified samples were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS. Identification and structural elucidation of the metabolites were performed by comparing the changes in molecular masses, retention times and full scan metabolisms (MS) spectra with those of the parent drug, and the relative data of authentic reference. **Result:** Sixteen metabolites were identified as puerarin, daidzin, daidzein, dihydrodaidzein, puerarin 4'-O-β-sulfate, puerarin-7-O-glucuronide, baicalin-6-O-β-glucose-7-O-β-glucopyranuronoside, baicalin-6-O-β-glucopyranuronoside-7-O-β-glucopyranuronoside, thalifendine, berberrubine, demethyleneberberine, jatrorrhizine, demethyleneberberine-glucuronide, jatrorrhizine-glucuronide, berberrubine-9-O-β-D-glucuronide, demethyleneberberine-2, 3-O-β-D-glucuronide.

[收稿日期] 201208033(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30901995)

[第一作者] 杨飞, 硕士, 从事中药及复方效应物质基础及质量评价研究, Tel:025-85811074, E-mail: yangfei54@126.com

[通讯作者] * 吴德康, 博导, 从事中药品质评价研究, Tel:025-85811511, E-mail: wudekang2008@126.com;

* 陈丽红, 博士, 讲师, 从事中药及复方效应物质基础及质量评价研究, Tel:025-85811074, E-mail: clh_helen@163.com

Conclusion: Oxidative demethylation and subsequent glucuronidation are the major metabolic pathways of combination administration of main components of Gegen Qinlian decoction, some components were mainly excreted unmetabolized in the urine; because of lower bioavailability, first-pass effect in intestine of glycyrrhizic acid, and only a minor part eliminated by urine, the metabolisms of it were not detected.

[**Key words**] Gegen Qinlian decoction; metabolisms; UPLC-Q-TOF-MS

复方经给药进入体内之后,因其各味药材间的相互作用和肠道菌群及相关酶的作用,真正起到活性作用的成分可能是药物原型,也可能是代谢物。因此,只有将原型成分的代谢动力学研究与代谢产物的研究结合起来,并比较复方与其组方药之间的差异,才能更全面地阐明中药复方作用的物质基础及其配伍原理和作用机制^[1]。

葛根芩连汤为张仲景名方,由葛根、黄芩、黄连和炙甘草组成,活性成分分别为葛根素(异黄酮类)、黄芩苷(黄酮类)、小檗碱(生物碱类)与甘草酸(三萜皂苷类)^[2]。近年来对葛根芩连汤的提取工艺、有效成分含量测定、药代动力学^[3-5]研究较多,体内代谢研究^[6]逐渐增多,但大都是对血液中代谢成分的研究,尿液中代谢物的研究较少。本研究通过对葛根芩连汤中各味药材的主要成分联合给药后,采用UPLC-Q-TOF-MS对大鼠尿液中代谢产物的研究,为进一步阐述葛根芩连汤的物质基础和配伍作用机制提供参考。

1 材料

1.1 仪器 Waters515 高效液相色谱系统, DAD 检测器。MS 使用的是 UPLC Acquity™ 系统 (Waters 公司); Synapt™ Q-TOF 质谱仪 (Waters 公司), 配有 Lock-spray 接口; 电喷雾离子源 (ESI), Masslynx 4.1 质谱工作站软件 (Waters 公司), MetaboLynx™ 分析软件 (Waters 公司)。AY220 型电子天平 (岛津公司); 固相萃取小柱: Waters Sep-Pak® Cartridges (300 mg)。

1.2 药品 葛根素(批号 111342-200612)、甘草酸(批号 110723-200612)、黄芩苷(批号 110715-200514)和小檗碱(批号 111002-200711),均购于中国药品生物制品检定所,含量均 > 98%,供分析使用;葛根素(批号 111242-200708)、甘草酸(批号 111432-200609)、黄芩苷(批号 111452-200811)和小檗碱(批号 111198-200716),购于北京思爵恩生物科技有限公司,含量均 > 90%,供药理使用。

1.3 试剂 色谱纯甲醇和乙腈,分析纯甲醇和甲酸,超纯水。

1.4 动物 大鼠清洁级,体重(220 ± 20)g,雌雄各

半,由上海斯莱克实验动物责任有限公司供给,合格证号 SCXK(沪)2007-0005。

2 方法

2.1 药液的配置 根据葛根芩连汤中 4 个成分的含量比例称取定量的葛根素、甘草酸、黄芩苷和小檗碱,加入少许 0.5% 的羧甲基纤维钠(CMC-Na)液,研磨后定量加 0.5% CMC-Na 制成混悬液,ig 体积为 20 mL·kg⁻¹,最终的给药剂量为黄芩苷 0.17 g·kg⁻¹;葛根素 0.19 g·kg⁻¹;小檗碱 0.16 g·kg⁻¹;甘草酸 0.03 g·kg⁻¹。

2.2 尿液的收集 SD 大鼠 16 只,随机分为给药组和空白对照组。适应性饲养 1 周后,两组同时收集给药前 24 h 尿样,此后,给药组:禁食不禁水 12 h,ig 葛根素、甘草酸、黄芩苷和小檗碱的混合物(化合物组);空白组:ig 等量的生理盐水。连续给药 3 d 后,分别收集末次给药后 12 h 尿液,放入 -20 °C 冰箱中备用。

2.3 仪器条件

2.3.1 色谱条件 XTerra™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm),检测波长 270 nm,柱温 30 °C,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 5 μL。流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0 ~ 3 min,85% A;3 ~ 3.5 min,82% A;3.5 ~ 5 min,82% A;5 ~ 5.5 min,79% A;5.5 ~ 10 min,79% A;10 ~ 11 min,72% A;11 ~ 13 min,72% A;13 ~ 14 min,62% A;14 ~ 16 min,62% A;16 ~ 17 min,55% A;17 ~ 19 min,40% A;19 ~ 21 min,40% A;21 ~ 23 min,5% A;23 ~ 24 min,5% A)。

2.3.2 质谱条件 ESI 源,扫描方式正负离子扫描,毛细管电压 3 kV,锥孔电压 40 V,离子源温度 120 °C,脱溶剂气温度 350 °C,锥孔气流量 50 L·h⁻¹,脱溶剂气流量 600 L·h⁻¹,碰撞能量(6 ~ 40 V),离子能量 1 V;质量扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 000,数据采集方式和模式:Centroid 与 MSE。

2.3.3 生物样品制备 C₁₈ 固相萃取小柱的活化:分别用甲醇 3 mL,水 3 mL 过柱,备用。

尿样的预处理:吸取尿液 4 mL,上样,经活化的 1 mL C₁₈ 固相萃取小柱吸附,以 5 mL 水除去极性较大的杂质,再以 5 mL 含 0.08% 甲酸的甲醇洗脱,洗

脱液挥去溶剂,残渣用 0.5 mL 甲醇溶解,于 12 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,制成 UPLC-MS 分析样品。

3 结果与讨论

3.1 生物样品的预处理 方法主要有 3 种,液液萃取、蛋白沉淀和固相萃取^[7]。尿液中基质复杂,代谢物质的浓度很低,LC-MS 相应程度不高,故本实验采取固相萃取法处理样品。

3.2 化合物的机构解析 由 MetabolynxTM 软件处理得到大鼠尿液样品的 ESI⁻ 图(图 1)中 0.841 min 处存在 M1 m/z 591 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 591 [M - H]⁻ 为其分子离子峰,对 m/z 591 进行 MS² 分析,M1 存在 m/z 415,295,267 等主要碎片离子峰。 m/z 415 来源于 m/z 591 失去一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 415 又失去 120 Da,形成 m/z 295,267 是 m/z 295 脱去一分子 CO 而产生的。根据参考文献推测可能是 7-*O*-葡萄糖醛酸葛根素^[8]。

ESI⁻ 图中 2.503 min 处存在 M2 m/z 415 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 415 [M - H]⁻ 为其分子离子峰,对 m/z 415 进行 MS² 分析,M2 存在 m/z 295,267,253 等主要碎片离子峰。 m/z 295 来源于 m/z 415 失去 120 Da,随后 m/z 295 又脱去一分子 CO,形成 m/z 267,而 m/z 253 则是 m/z 415 失去 162 Da 产生的。且与对照品葛根素的 MS 数据和保留时间相同,因此确定该化合物为葛根素。

ESI⁻ 图中 4.254 min 处存在 M3 m/z 415 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 415 [M - H]⁻ 为其分子离子峰,对 m/z 415 进行 MS² 分析,M3 存在 m/z 295,267,253 等主要碎片离子峰。 m/z 295 来源于 m/z 415 失去 120 Da,随后 m/z 295 又脱去一分子 CO,形成 m/z 267,而 m/z 253 则是 m/z 415 失去 162 Da 产生的。且与对照品大豆苷的 MS 数据和保留时间相同,因此确定该化合物为大豆苷。

ESI⁺ 图中 3.223 min 处存在 M4 m/z 514 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 514 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 514 进行 MS² 分析,M4 存在 m/z 338,322,294 等主要碎片离子峰。 m/z 338 来源于 m/z 514 失去一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 338 又脱去 CH₃,形成 m/z 322,而 m/z 294 则是 m/z 322 失去一份子 CH₃CH₂ 产生的。根据参考文献推测可能是 jatrorrhizine 葡萄糖醛酸结合物^[9]。

ESI⁺ 图中 3.382 min 处存在 M5 m/z 500 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 500 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 500 进行 MS² 分析,M6 存在 m/z 324,309

等主要碎片离子峰。 m/z 324 来源于 m/z 500 失去一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 324 又脱去一分子 CH₃,形成 m/z 309。根据参考文献推测其可能为 demethyleneberberine 葡萄糖醛酸结合物^[10]。

ESI⁺ 图中 3.483 min 处存在 M6 m/z 495 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 495 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 495 进行 MS² 分析,M5 存在 m/z 415 和 m/z 295,267,253 等主要碎片离子峰。 m/z 415 来源于 m/z 495 失去一分子硫酸酯,随后 m/z 295,267,253 为葛根素的主要碎片。根据文献推测其为 puerarin 4'-*O*-β-sulfate^[11]。

ESI⁺ 图中 3.031 min 处存在 M7 m/z 676 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 676 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 676 进行 MS² 分析,M7 存在 m/z 500,324,309 等主要碎片离子峰。 m/z 500 来源于 m/z 676 失去一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 500 又脱去一分子葡萄糖醛酸,形成 m/z 324,而 m/z 309 则是 m/z 324 失去一份子 CH₃ 产生的。根据文献推测其为 demethyleneberberine-2,3-*O*-β-*D*-glucuronide^[12]。

ESI⁺ 图中 4.994 min 处存在 M8 m/z 338 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 338 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 338 进行 MS² 分析,M8 存在 m/z 514,322,294 等主要碎片离子峰。 m/z 514 来源于 m/z 338 结合一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 338 脱去一份子 CH₃,形成 m/z 322,而 m/z 294 则是 m/z 322 失去一份子 CH₃CH₂ 产生的。根据文献推测其为 jatrorrhizine^[9]。

ESI⁺ 图中 4.959 min 处存在 M9 m/z 324 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 324 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 324 进行 MS² 分析,M9 存在 m/z 309,500 等主要碎片离子峰。 m/z 500 来源于 m/z 324 结合一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 324 脱去一份子 CH₃,形成 m/z 309。根据文献推测其为 demethyleneberberine^[10]。

ESI⁺ 图中 5.276 min 处存在 M10 m/z 322 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 322 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 322 进行 MS² 分析,M10 存在 m/z 307,498 等主要碎片离子峰。 m/z 498 来源于 m/z 322 结合一分子葡萄糖醛酸,随后 m/z 322 脱去一份子 CH₃,形成 m/z 307。在 ESI⁺ 图中 5.889 min 处存在 M11 m/z 322 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 322 [M + H]⁺ 为其分子离子峰,对 m/z 322 进行 MS² 分析,其离子碎片同 M10。根据参考文献,推测 M10 应为

thalifendine, 而 M11 应为 berberrubine^[9]。

ESI⁺ 图中 5.276 min 处存在 M12 m/z 498 [M + H]⁺ 峰的化合物, m/z 498 [M + H]⁺ 为其分子离子峰, 对 m/z 498 进行 MS² 分析, M12 存在 m/z 322, 307 等主要碎片离子峰。 m/z 322 来源于 m/z 498 脱去一分子葡萄糖醛酸, 随后 m/z 322 脱去一分子 CH₃, 形成 m/z 307。 根据文献推测其为 berberrubine-9-*O*- β -*D*-glucuronide^[10]。

ESI⁻ 图中 6.356 min 处存在 M13 m/z 621 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 621 [M - H]⁻ 为其分子离子峰, 对 m/z 621 进行 MS² 分析, M13 存在 m/z 445, 269 等主要碎片离子峰。 m/z 445 来源于 m/z 621 脱去一分子葡萄糖醛酸, 随后 m/z 445 再脱去一分子葡萄糖醛酸, 形成 m/z 269。 根据文献推测其应为 baicalin-6-*O*- β -glucopyranuronoside-7-*O*- β -glucopyranuronoside^[11]。

ESI⁻ 图中 6.286 min 处存在 M14 m/z 607 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 607 [M - H]⁻ 为其分子离子峰, 对 m/z 607 进行 MS² 分析, M14 存在 m/z 445, 269 等主要碎片离子峰。 m/z 445 来源于 m/z 607 脱去一分子糖基, 随后 m/z 445 再脱去一分子葡萄糖醛酸, 形成 m/z 269。 根据文献推测其为 baicalin-6-*O*- β -glucose-7-*O*- β -glucopyranuronoside^[13]。

ESI⁻ 图中 7.232 min 处存在 M15 m/z 253 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 253 [M - H]⁻ 为其分子离子

峰, 对 m/z 253 进行 MS² 分析, M15 存在 m/z 415, 413, 333 等主要碎片离子峰。 m/z 415 来源于 m/z 253 结合 162 Da, 随后 m/z 253 再分别结合一分子和两分子硫酸酯, 形成 m/z 333 和 m/z 413。 且与对照品的 MS 数据和保留时间相同, 因此确定该化合物为大豆苷元。

ESI⁻ 图中 7.091 min 处存在 M16 m/z 255 [M - H]⁻ 峰的化合物, m/z 255 [M - H]⁻ 为其分子离子峰, 对 m/z 255 进行 MS² 分析, M16 存在 m/z 149 等主要碎片离子峰。 m/z 149 来源于 m/z 255 的 RDA 裂解。 根据参考文献推测其为二氢大豆苷元^[14]。

其他化合物结构推测如表 1 所示。

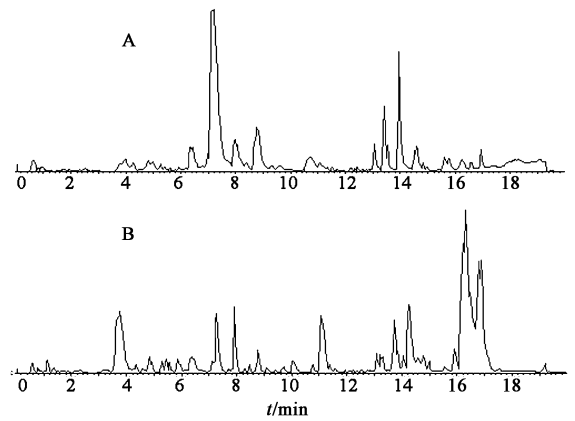


图 1 联合给药后大鼠尿样正离子模式下总离子流 (A), 负离子模式下总离子流 (B)

表 1 葛根芩连汤主要成分联合给药在大鼠尿液中的代谢产物分析

No.	t_R /min	正离子		负离子		λ_{max}/nm	鉴定
		[M + H] ⁺	主离子	[M - H] ⁻	主离子		
1	0.841			591	415	210	puerarin-7- <i>O</i> -glucuronide
2	2.503			415	295, 267, 253	249, 305	puerarin
3	3.031	676	309, 324, 500		ND	222	demethyleneberberine-2,3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucuronide
4	3.223	514	322, 338, 294		ND	234, 255, 331	jatrorrhizine-glucuronide
5	3.382	500	309, 324		ND	234, 255, 331	demethyleneberberine-glucuronide
6	3.484		ND	495	415	218	puerarin 4'- <i>O</i> - β -sulfate
7	4.254			415	295, 267, 253	249	daidzin
8	4.959	324	309, 500		ND	234, 255, 331	demethyleneberberine
9	4.994	338	294, 322, 514		ND	236, 334	jatrorrhizine
10	5.276	322	307, 498		ND	237	thalifendine
11	5.276	498	307, 322		ND	235, 340	berberrubine-9- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucuronide
12	5.889	322	307		ND	237	berberrubine
13	6.286		ND	607	445, 269	240, 266	baicalin-6- <i>O</i> - β -glucose-7- <i>O</i> - β -glucopyranuronoside
14	6.356		ND	621	445, 269	237	baicalin-6- <i>O</i> - β -glucopyranuronoside-7- <i>O</i> - β -glucopyranuronoside
15	7.091		ND	255	149	237	dihydrodaidzein
16	7.232		ND	253	333, 415, 413	248	daidzein

注: ND 为未检测。

4 结论

本文采用了 UPLC-Q-TOF-MS 技术对葛根芩连汤中各味药材的主要成分联合给药后大鼠尿样进行了分析,鉴定了 16 种代谢物的基本结构。其中 6 个来自葛根素,分别为葛根素、大豆苷、大豆苷元、二氢大豆苷元、葛根素硫酸酯结合产物和葛根素葡萄糖醛酸结合产物,葛根素主要以原型代谢为主^[5];2 个来自黄芩苷,分别为 baicalin-6-*O*- β -glucose-7-*O*- β -glucopyranuronoside 和 baicalin-6-*O*- β -glucopyranuronoside-7-*O*- β -glucopyranuronoside,黄芩苷在尿液中代谢物浓度远高于原形药物^[15];8 个来自小檗碱,分别为 thalifendine, berberrubine, demethyleneberberine, jatrorrhizine, demethylene-berberine 葡萄糖醛酸结合物, jatrorrhizine 葡萄糖醛酸结合物, berberrubine-9-*O*- β -*D*-glucuronide, demethyleneberberine-2,3-*O*- β -*D*-glucuronide。

根据文献报道,小檗碱及其代谢产物在大鼠体内主要经尿液排泄,而 Feng 等^[16]对小檗碱在 Wista 大鼠体内代谢的研究表明,小檗碱主要以脱甲基或亚甲基的 I 代谢产物及其相应的 II 相结合产物的形式排出体外,尿液中小檗碱的极少。故在本研究中,代谢产物中未检出小檗碱的存在。

本研究有助于进一步阐述葛根芩连汤的物质基础和配伍作用机制。但实验中未检测出甘草酸及其相应的代谢产物,根据相关文献^[17],甘草酸的生物利用度很低,首过效应明显,只有极少部分通过尿液排泄,其相应的代谢产物在尿液中的含量也很少很难检测到。具体原因有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 冯年平,狄斌,刘文英. 药物代谢研究与中药现代化[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2003, 5(2):5.

[2] 陈丽红,唐于平,王强. 葛根芩连汤的现代研究进展[J]. 中草药,2010,41(4): 8.

[3] 章军,刘宇政,王跃生,等. 综合评分法优化葛根芩连汤提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 1.

[4] 陈丽红,王强,刘济宁,等. 葛根芩连配方颗粒标志性成分含量分析及指纹图谱研究[J]. 分析化学, 2006, 34(8): 1109.

[5] 郭宇洁,孟硕,徐辉,等. 葛根素和葛根黄酮的药代动力学研究概述[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6): 82.

[6] 陈丽红,范慧佳,唐于平,等. 葛根芩连配方颗粒在大鼠体内的药物代谢产物研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 101.

[7] 孔琦,张振清. 药物代谢转化和样品前处理技术的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2008, 35(2): 124.

[8] Cheng-Feng Luoa, Mu Yuanb, Min-Sheng Chen, et al. Metabolites of puerarin identified by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Similar metabolic profiles in liver and intestine of rats [J]. Chromatogr B, 2010(878): 363.

[9] Feng Zuo, Norio Nakamura, Teruaki Akao, et al. Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography ion trap mass spectrometry [J]. Drug Metabolism Disposition, 2006, 34(12): 2065.

[10] Liu Yitong, Hao Haiping, Xie Hongguang, et al. Oxidative demethylation and subsequent glucuronidation are the major metabolic pathways of berberine in rats [J]. J Pharm Sci, 2009, 98(11): 4391.

[11] J K Prasain, Ning Peng, Ray Moore, et al. Tissue distribution of puerarin and its conjugated metabolites in rats assessed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Phyto, 2009(16): 65.

[12] 朱志勇. 小檗碱在人及大鼠体内代谢产物的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2002.

[13] Feng Nian-ping, Di Bin, Liu Wen-ying. Comparison of the metabolism of baicalin in rats orally administered with radix scutellariae extract and shuang-Huang-Lian extract [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(8) 978.

[14] Jeevan K Pransain, Kenneth Jones, Nancy Brissie, et al. Identification of puerarin and its metabolites in rats by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Agric Food Chem, 2004, 52: 3708.

[15] 柳文媛,徐维露,李萍,等. LC-MS/MS 法研究黄芩素及其主要代谢物在大鼠体内的组织分布与排泄 [J]. J China Pharm Uni, 2009, 40(4): 348.

[16] Feng Zuo, Norio Nakamura, Teruaki Akao, et al. Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography/Ion trap mass spectrometry [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34(12): 2064.

[17] Nina Kocevar Glavac, Samo Kreft. Excretion profile of glycyrrhizin metabolite in human urine [J]. Food Chem, 2012, 131: 305.

[责任编辑 邹晓翠]