

# 川贝母-枇杷叶配伍对枇杷叶中 3 种黄酮成分血浆药动学的影响

李天雪<sup>1,2</sup>, 胡玉涛<sup>1,2\*</sup>, 韦笑<sup>1</sup>, 褚朝森<sup>1,2</sup> (1.江苏联合职业技术学院连云港中医药分院, 江苏 连云港 222007; 2.连云港市药物研发共性技术中心, 江苏 连云港 222007)

**摘要:** 目的 通过高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)方法, 探讨川贝与蜜炙枇杷叶配伍后, 枇杷叶中芦丁、槲皮素和山柰酚的药动学变化。方法 血浆样品经固相萃取处理。色谱柱为Waters XTerra MS C<sub>18</sub>柱(150 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸溶液; 质谱采用电喷雾离子源, 负离子模式(ESI<sup>-</sup>), 多反应监测模式(MRM)进行定量。大鼠随机分2组, 分别灌胃单味枇杷叶和药对川贝-枇杷叶水煎液, 测定药动学参数。结果 待测物线性关系良好( $r^2 \geq 0.998$ ), 精密性、准确性、基质效应和提取回收率满足定量要求。与单药组相比, 药对组中芦丁、槲皮素和山柰酚的 $C_{max}$ 和 $AUC_{0-t}$ 均下降,  $t_{1/2}$ 推迟。结论 川贝与枇杷叶配伍后, 降低了芦丁、槲皮素和山柰酚的最大血药浓度, 减慢了消除率, 延长了它们在体内的驻留时间。

**关键词:** 川贝母; 枇杷叶; 芦丁; 槲皮素; 山柰酚; 高效液相色谱-串联质谱; 药动学

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)12-1865-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.022

引用本文: 李天雪, 胡玉涛, 韦笑, 等. 川贝母-枇杷叶配伍对枇杷叶中3种黄酮成分血浆药动学的影响[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1865-1869.

## Effect of Drug Pair of *Fritillaria Cirrhosa*-*Eriobotryae Folium* on Plasma Pharmacokinetics of Three Flavonoids from *Eriobotryae Folium*

LI Tianxue<sup>1,2</sup>, HU Yutao<sup>1,2\*</sup>, WEI Xiao<sup>1</sup>, CHU Chaosen<sup>1,2</sup> (1.Lianyungang TCM Branch of Jiangsu Union Technical Institute, Lianyungang 222007, China; 2.Lianyungang Common Technological Center for Drug Research and Development, Lianyungang 222007, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the effects of the compatibility of *Eriobotryae Folium* and honey-fried *Fritillaria Cirrhosa* on pharmacokinetic changes of rutin, quercetin, kaempferol by LC-MS/MS method. **METHODS** The plasma samples were extracted by solid-phase extraction. The LC column was Waters XTerra MS C<sub>18</sub> (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm). The mobile phase comprised of acetonitrile and water containing 0.1% formic acid. The quantification was obtained by scanning with multiple reaction monitoring (MRM) via the negative electrospray ionization (ESI<sup>-</sup>) source. The rats were randomly divided into two groups and orally administered with *Eriobotryae Folium* or *Eriobotryae Folium*-*Fritillaria Cirrhosa* decoction. **RESULTS** The correlation coefficients were over 0.998, indicating excellent linearity. The values of precision, accuracy, matrix effect and average recovery were acceptable. Compared with single herb group, the  $C_{max}$  and  $AUC_{0-t}$  were decreased, the  $t_{1/2}$  were extended in herbal pair group. **CONCLUSION** After combining the herbs, the bioavailability of rutin, quercetin and kaempferol are reduced, the elimination of them delays, and the dwell time increases.

**KEYWORDS:** *Fritillaria Cirrhosa*; *Eriobotryae Folium*; rutin; quercetin; kaempferol; HPLC-MS/MS; pharmacokinetics

川贝母主治润肺止咳、清热消炎、化痰平喘<sup>[1]</sup>, 枇杷叶具有清肺止咳、抗炎祛痰和抗病毒等作用<sup>[2]</sup>, 临床上常将川贝与枇杷叶配伍, 应用于呼吸道疾病的治疗<sup>[3]</sup>, 适合痰热咳嗽者。中药复方的临床药理是多种有效成分协同作用的结果, 药材配伍后, 药理成分会发生此消彼长的变化, 从而影响药效<sup>[4-5]</sup>, 研究中药配伍对生物活性成分血药浓度的影响, 对中药临床药理研究具有实际意义。枇杷叶中的

成分研究主要涉及三萜类化合物<sup>[6-8]</sup>, 黄酮类化合物也是重要的药理活性成分<sup>[9-11]</sup>。目前, 对枇杷叶中黄酮类化合物的药动学研究少有报道。因快速、精确性高、选择性强, LC-MS/MS 已成为生物样品定量测定的首选方法<sup>[12-14]</sup>。本实验建立了 LC-MS/MS 同时测定 3 种黄酮血药浓度, 并首次以川贝母-枇杷叶药对为研究对象, 对两者配伍后枇杷叶中芦丁、槲皮素和山柰酚 3 种黄酮类化合

基金项目: 江苏省中医药局科技项目(YB2017068); 连云港市“521工程”资助项目(2016)

作者简介: 李天雪, 男, 硕士, 讲师 Tel: (0518)80775609 E-mail: litx1988@126.com \*通信作者: 胡玉涛, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0518)80775626 E-mail: 907773517@qq.com

物的药动学进行研究,探讨配伍对枇杷叶药理成分血浆药动学的影响,为含该药对的新药开发、临床有效合理用药提供参考。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

安捷伦1290 Infinity LC-6460 QqQ三重四级杆串联质谱仪,配有G4220A四元低压梯度泵和MassHunter Version B.04.00工作站(美国Agilent);Eppendorf 5427 R 低温高速离心机(德国Eppendorf);Supelco Discovery DSC-18固相萃取柱(规格1 mL,美国Supelco有限公司)。

### 1.2 材料

芦丁(批号:20170922)、槲皮素(批号:20171025)、山柰酚(批号:20170911)和内标物(IS)甘草素(批号:20170909)均由南通经纬生物科技有限公司提供,对照品经HPLC检测质量分数均>99%。甲醇(Sigma公司)、乙腈(Merk公司)和甲酸(Tedia公司)为色谱纯;超纯水经过Milli-Q系统纯化制备;其余试剂均为分析纯,购自国药集团。川贝母和蜜炙枇杷叶药材购自同仁堂药店(连云港),经江苏联合职业技术学院连云港中医药分院胡玉涛副教授鉴定。

### 1.3 动物

SD大鼠,♂,14只,SPF级,体质量(230±20)g,由南京青龙山动物繁殖场提供,合格证号:SCXK(苏)2017-0001。

## 2 方法与结果

### 2.1 仪器条件

色谱柱为Waters XTerra MS C<sub>18</sub>柱(150 mm×2.1 mm, 3.5 μm);流动相为0.1%甲酸溶液-乙腈,梯度洗脱:0~3 min, 15%→30%乙腈;3~8 min, 30%→60%乙腈;8~12 min, 60%→80%乙腈;系统平衡3 min;流速0.4 mL·min<sup>-1</sup>;柱温35℃;进样量5 μL。

质谱采用电喷雾负离子源(ESI<sup>-</sup>源),多反应监测(MRM)模式;驻留时间为50 ms;检测电压:3.5 kV;离子源温度:120℃;锥孔电压:220 V;脱溶剂温度:300℃;脱溶剂气体(N<sub>2</sub>)流速:7 L·min<sup>-1</sup>;鞘气流速:11 L·min<sup>-1</sup>;Delta EMV: +200 V。芦丁、槲皮素、山柰酚和甘草素的检测离子的质核和碰撞电压分别是  $m/z$  609→300, 50 eV;  $m/z$  301→151, 31 eV;  $m/z$  285→93, 51 eV;  $m/z$  255→119, 21 eV。

### 2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取芦丁、槲皮素和山柰酚各10 mg,置于50 mL量瓶中,单独以甲醇溶解并定容,配成质量浓度均为0.2 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品储备液;分别取适量对照品储备液于同一量瓶中,以甲醇稀释,配制得系列混合对照品标准工作液。同法配制内标储备液(0.2 mg·mL<sup>-1</sup>),临用前其用甲醇稀释成质量浓度为16 μg·mL<sup>-1</sup>的内标工作液。上述各对照品溶液于4℃下冷藏保存,备用。

### 2.3 供试品溶液的制备

将川贝母制成粗粉,称取40 g,放入蜜炙枇杷叶80 g,加蒸馏水1500 mL,浸泡30 min,煎煮2次,每次1 h,合并药液,过滤浓缩得药对煎液。另称取蜜炙枇杷叶80 g,提取方法同上,过滤浓缩得枇杷叶煎液。为确定灌胃剂量,外标法检测提取液中芦丁、槲皮素和山柰酚的含量,分别为1.433, 0.472, 0.500 mg·mL<sup>-1</sup>(药对煎液);1.437, 0.478, 0.494 mg·mL<sup>-1</sup>(枇杷叶煎液)。

### 2.4 血浆样品

**2.4.1 血浆采集** 大鼠适应环境饲养7 d,维持温度23~26℃,湿度(55±10)%,实验前12 h停止进食,随机平均分成药对组和单药组,动物实验遵守相关动物管理准则。每只大鼠按4 mL·kg<sup>-1</sup>灌胃给药,在0, 0.167, 0.33, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 3, 5, 8, 12和24 h时间点进行大鼠眼眶取血,约0.25 mL血液样品收集在肝素钠离心管中,室温4000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,得血浆样品。

**2.4.2 血浆处理** 活化Discovery DSC-18固相萃取柱:先加入1 mL甲醇冲洗,后加入1 mL 0.1%甲酸水冲洗。取血浆样品100 μL,加入5 μL IS(16 μg·mL<sup>-1</sup>)和10 μL甲酸,涡旋30 s混匀,取混合溶液装载进活化后的固相萃取柱,加入1 mL 0.1%甲酸水冲洗小柱,后加入1 mL甲醇洗脱,取洗脱液于试管中,40℃氮气吹干,加入100 μL 50%甲醇水溶液复溶,涡旋振荡30 s,4℃低温12000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,取上清液,进样5 μL。

### 2.5 方法学考察

**2.5.1 专属性** 取6份不同来源的空白大鼠血浆,配制加入了含对照品的标准血浆样品,取大鼠用药后血浆,分别进行LC-MS/MS分析,记录质谱图。空白样品和含药血浆样品的典型质谱图谱见图1,芦丁、槲皮素和山柰酚,分离度合适,血浆中的内源性物质不干扰检测且峰形良好。

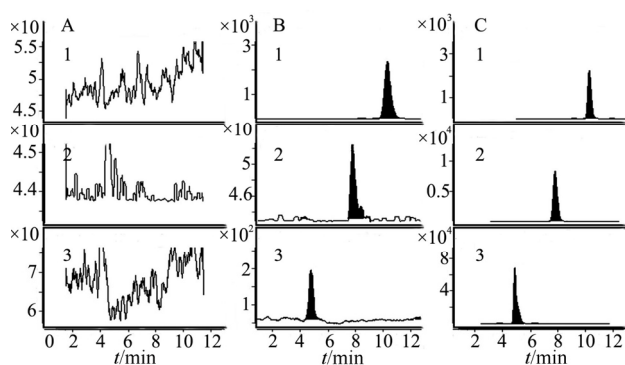


图1 血浆样品的典型MRM质谱图

A-空白样品溶液; B-对照品溶液; C-供试品溶液; 1-山柰酚; 2-槲皮素; 3-芦丁。

Fig. 1 Typical MRM chromatograms in plasma samples

A-blank; B-standard solution; C-sample solution; 1-kaempferol; 2-quercetin; 3-rutin.

**2.5.2 线性关系和最低定量限(LLOQ)** 分别精密量取适量系列混合对照品工作液, 加入 100  $\mu\text{L}$  空白血浆中, 制成 7 个浓度梯度的混合标准血浆样

品, 3 种待测物质量浓度均为 1~1 000  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 每个标准血浆样品中加 IS 80  $\text{ng}$ 。血浆处理后, 按“2.1”项下条件测定, 以血浆中待测物的浓度( $X$ )为横坐标, 待测物与内标的峰面积比( $Y$ )为纵坐标, 进行线性回归(权重因子为  $1/X^2$ )。在信噪比  $S/N=10$ , 精密度的 RSD 值  $\leq 20\%$ , 准确度的误差值在  $\pm 20\%$  内的最低浓度为 LLOQ。结果表明, 芦丁、槲皮素和山柰酚的线性关系良好( $r^2 \geq 0.998$ ,  $n=5$ ), 方程分别为  $Y=0.006\ 2X+0.001\ 4$ 、 $Y=0.008\ 2X-0.002\ 8$  和  $Y=0.003\ 8X-0.000\ 4$ , LLOQ 均为 1  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 该 LC-MS/MS 适合血浆中微量分析。

**2.5.3 精密度和准确度** 用空白大鼠血浆配制低、中、高 3 个质量浓度 QC 样品各 5 份, 连续测定 3 d, 用线性关系计算相应的浓度, 分别考察日内和日间精密度与准确度。结果表明, 待测物的 3 个浓度 QC 样品的日内和日间精密度 RSD 值均  $< 10.8\%$ , 准确度为 90.2%~106.6%, 结果见表 1。

表1 精密度、准确度、提取回收率和基质效应结果

Tab. 1 The results of precision, accuracy, extraction recovery and matrix effect

化合物	QC/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密度( $n=5$ )		日间精密度( $n=5$ )		回收率/%	基质效应/%
		RSD/%	准确度/%	RSD/%	准确度/%		
芦丁	1	8.2	96.6	10.8	92.6	92.5	102.4
	100	5.1	100.8	6.5	94.5	95.0	97.6
	1 000	4.2	94.7	7.7	94.6	93.5	94.5
槲皮素	1	8.3	90.2	9.7	106.6	90.8	100.7
	100	3.1	94.8	4.9	94.6	91.9	95.7
	1 000	1.8	93.5	1.2	97.3	89.8	96.8
山柰酚	1	5.9	98.8	5.3	96.2	87.6	95.8
	100	4.3	99.0	3.6	102.8	89.3	97.5
	1 000	4.6	102.5	3.1	92.3	88.4	94.8

**2.5.4 提取回收率和基质效应** 3 个浓度的 QC 样品各平行制备 5 份, 记录峰面积为  $A$ 。空白血浆处理后添加对照品工作液, 制备 QC 同浓度的溶液, 记录峰面积为  $B$ 。同质量浓度的对照品工作液, 直接分析记录峰面积为  $C$ 。内源性物质引起的基质效应表示为  $B/C \times 100\%$ , 提取回收率为  $A/B \times 100\%$ 。分析结果见表 1, 结果满足生物样品测定的要求<sup>[15]</sup>。

**2.5.5 稳定性** QC 血浆样品各 5 份, 分别于 4  $^{\circ}\text{C}$  进样器中放置 12 h, -20  $^{\circ}\text{C}$  下放置 7 d, 反复冻融 3 次(-20~20  $^{\circ}\text{C}$ ), 结果见表 2。准确度误差均符合要求( $\pm 15\%$ ), 结果表明该方法稳定性良好。

表2 不同条件下稳定性结果( $n=5$ )

Tab. 2 The results of stability at different conditions ( $n=5$ )

化合物	QC/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	4 $^{\circ}\text{C}$ , 12 h/%	-20 $^{\circ}\text{C}$ , 7 d/%	冷冻-解冻/%
芦丁	1	95.5	94.2	104.4
	100	94.2	97.5	105.5
	1 000	96.4	103.5	90.3
槲皮素	1	97.3	97.8	91.9
	100	90.5	95.8	95.6
	1 000	89.7	97.4	95.3
山柰酚	1	91.4	90.4	97.8
	100	95.4	94.2	103.2
	1 000	104.2	95.0	98.7

## 2.6 药动学研究

大鼠灌胃 2 组煎液后, 芦丁、槲皮素和山柰酚的血药浓度曲线见图 2。总体而言, 芦丁、槲皮素和山柰酚在 1 h 前均能达到  $C_{max}$ 。单药组和药对组中芦丁的  $T_{max}$ (达峰时间)分别是(0.75±0.17)h, (1±0.24)h, 槲皮素为(0.50±0.20)h, (0.75±0.21)h, 山柰酚为(0.5±0.22)h, (0.75±0.26)h。药对组中芦丁(785.23±87.45)ng·mL<sup>-1</sup>→(632.35±72.34)ng·mL<sup>-1</sup>、槲皮素(779.53±100.34)ng·mL<sup>-1</sup>→(624.31±67.24)ng·mL<sup>-1</sup>和山柰酚(580.03±55.78)ng·mL<sup>-1</sup>→(524.32±62.45)ng·mL<sup>-1</sup>的  $C_{max}$  较单药组变小

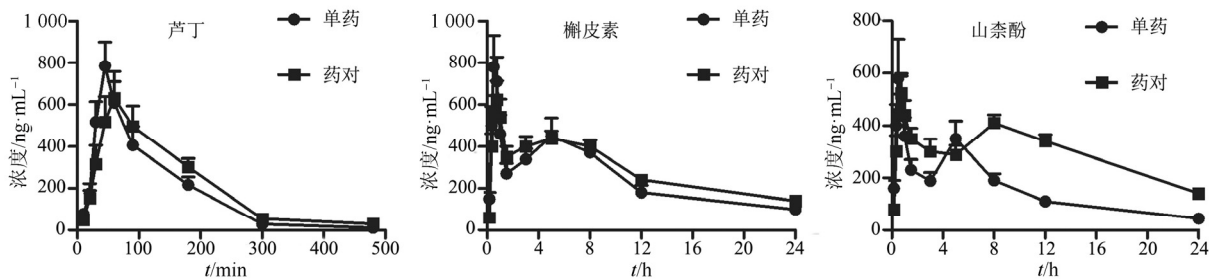


图 2 给药后的芦丁、槲皮素和山柰酚平均血药浓度-时间曲线( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

Fig. 2 Mean plasma concentration-time profile of the three compounds after oral administration( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

## 3 讨论

预实验中, 为优化样品处理方法, 考察比较了液液萃取法、固相萃取法、蛋白沉淀法3种方法的提取效率。液液萃取法选择性好, 但提取率的重复性差; 蛋白沉淀法处理血浆样品简单快速, 但基质效应明显; 固相萃取法的提取回收率和基质效应结果都较高, 综上考虑, 本试验选择固相萃取法对血浆样品进行处理, 样品在萃取小柱上, 淋洗液采用了0.1%甲酸水溶液, 可促进待测物和蛋白质解离, 以提高提取率。

芦丁、槲皮素和山柰酚结构中均有酚羟基, 呈酸性, 可得碎片离子  $m/z[M-H]^-$ , 在质谱负离子源下响应值较高且稳定。根据待测物色谱特征, 比较了以甲醇、乙腈和水、甲酸-水、醋酸-水组成的流动相系统, 结果表明, 以甲醇-水或酸水为系统各成分的分离度小, 乙腈-醋酸水系统色谱峰对称性不好, 经优化后的乙腈-甲酸水系统各成分的分离效果较好, 基线平稳, 且加入0.1%的甲酸, 增加了待测物的离子化, 质谱响应值会提高。另外, 本实验选择梯度洗脱条件, 可改变待测物的驻留时间, 从而使得待测物与共流出物分离减小

( $P<0.05$ )。单药组和药对组相比, 槲皮素的  $t_{1/2}$  由(6.12±2.18)h 变为(7.08±2.40)h, 表明消除率也变小( $P<0.05$ ), 槲皮素  $AUC_{0-t}$  值由(5 926.82±2 523.45)ng·h·mL<sup>-1</sup> 变为 (6 861.41 ± 3 002.58)ng·h·mL<sup>-1</sup>, 表明生物利用度发生了显著变化( $P<0.05$ ), 芦丁(1 440.52±418.50)ng·h·mL<sup>-1</sup>→(1 670.88±536.05)ng·h·mL<sup>-1</sup>和山柰酚(3 714.92±1 628.65)ng·h·mL<sup>-1</sup>→(7 045.77±2 986.76)ng·h·mL<sup>-1</sup>的  $AUC_{0-t}$  也存在相同变化( $P<0.05$ )。在药材间协同作用下, 川贝与枇杷叶配伍联用的药理药效仍需后续的药理及临床实验研究。

基质效应。实验也分别考察了柱温(25, 30, 35, 40, 45 °C)的影响, 结果发现, 待测物驻留时间随柱温上升而减少, 当柱温高于35 °C, 驻留时间变化不大且高温会降低色谱柱的使用寿命, 故柱温选择35 °C。

黄酮苷芦丁极性大于黄酮苷元槲皮素和山柰酚。有研究表明<sup>[16]</sup>, 黄酮苷的吸收速率要快于苷元, 本实验发现, 芦丁的  $T_{max}$  均较大, 表明芦丁的入血速率反而慢于槲皮素和山柰酚, 分析其原因, 可能为药材成分复杂, 枇杷叶所含的其他黄酮苷类成分在入血后转化成了槲皮素和山柰酚, 或是其他成分影响了它们的吸收, 这可能也是  $AUC_{0-t}$  差异的原因。药对组中各黄酮的  $T_{max}$  值较单药组大, 可能是川贝母增加了给药剂量, 大鼠体内酶的催化能力和载体转运能力达到饱和, 导致代谢速率的减慢。在药材中, 芦丁含量高于槲皮素, 而两者  $C_{max}$  接近, 可能是因为芦丁上的糖苷键被大鼠肠道微生物水解代谢生成槲皮素<sup>[17]</sup>, 提高了槲皮素在血药中的含量。槲皮素和山柰酚存在吸收双峰现象, 可能是肝肠循环作用的结果。上述结果表明 2 个以上中药组方后, 可能会产生

一种或几种原来单药所不具备的效能。川贝和枇杷叶(1:2)合煎常用于清热润肺,肺热多痰时,枇杷叶可增量,不同配伍比例的川贝与枇杷叶间的药理协同效应有待大量的实验研究。

本实验首次建立了同时测定血浆中芦丁、槲皮素和山柰酚的 LC-MS/MS,快速灵敏,结合固相萃取法减少了血浆样品用量,经方法学验证,其符合生物样品检测的要求。同时本实验首次通过川贝母-枇杷叶药对和枇杷叶单药 2 组给药模式,研究蜜炙枇杷叶中芦丁、槲皮素和山柰酚在大鼠体内的药动学变化,为含川贝母-枇杷叶药对的新药开发及临床安全用药提供了参考依据。

## REFERENCES

- [1] 李厚忠, 齐敏, 张羽飞. 中药川贝对哮喘大鼠 NO、TNF- $\alpha$ 、MDA 浓度和 SOD 活力及支气管平滑肌炎症反应的影响[J]. 中医学报, 2013, 41(4): 64-67.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2015: 204.
- [3] YANG H, XING L, ZHOU M G, et al. Network pharmacological research of volatile oil from Zhike Chuanbei Pipa Dropping Pills in treatment of airway inflammation [J]. Chin Trad Herb Drugs(中草药), 2012, 43(6): 1129-1135.
- [4] WEI P, ZHENG F H, HUO H L, et al. Effect of different compatibility proportion of drug pair of *Ephedrae Herba - Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* on plasma pharmacokinetics of alkaloids from *Ephedrae Herba* [J]. Chin J Exp Trad Med Formulae(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(7): 100-105.
- [5] WEI P, MA Q H, REN M Y, et al. Effects of *Ephedrae Herba* on plasma levels of three constituents in *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* [J]. Chin Trad Patent Med(中成药), 2017, 39 (10): 2009-2014.
- [6] ZHU S T, ZHANG F L, JIN P, et al. Analysis of triterpenoids component in Loquat Leaf Herbs and its preparations by HPLC [J]. Her Med(医药导报), 2017, 36(6): 673-676.
- [7] ZHOU W L, KAN W B, WANG Y H, et al. Determination of six active components in Chuanbei Pipa Syrups by micro-fluidic evaporative lightscattering detector coupled to pressurized capillary electrochromatography [J]. J Instr Anal(分析测试学报), 2015, 34(3): 321-327.
- [8] YIN X J, FENG G F, WEN H M, et al. Study on extraction and separation of total triterpenic acid from Loquat leaves [J]. Chin Med J Res Pract(现代中药研究与实践), 2018, 32(1): 42-44.
- [9] YE G Y, LI S Y, CHEN Y F, et al. Comparative study of different extracts of loquat leaf in antitussive and expectorant and antiasthmatic effects [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2013, 29(2): 100-102.
- [10] LÜ H, TENG J H, CHEN J, et al. Study on purification technology and antioxidant activity of total flavonoid from *Eriobotryae Folium*[J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2014, 39(1): 40-44.
- [11] LIN G R, WU L, WU J C. Separation purification and bioactivities of total flavonoids from *Folium Eriobotryae*[J]. Food Sci Technol (食品科技), 2014, 39(11): 233-237.
- [12] HONG X B, ZENG K, LEI J X, et al. Determination of 4-chloro-2-fluoro-3-methoxybenzeneboronic acid in rat plasma by LC-MS/MS and its application in the toxicokinetics study [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(1): 45-48.
- [13] LI L, LI H, HUANG Y, et al. Simultaneous determination of five ginkgolic acids in rat plasma by LC-MS/MS and the application in pharmacokinetics study [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(12): 1658-1662.
- [14] WANG X, LIU G T, SONG J Z. Determination of 3 macrolide antibiotics and their metabolites in plasma using QuEChERS-HPLC-MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(9): 1289-1295.
- [15] Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, US FDA[S]. 2001.
- [16] 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(2): 58-64.
- [17] HE J, FENG Y, OUYANG H, et al. A sensitive LC-MS/MS method for simultaneous determination of six flavonoids in rat plasma: Application to a pharmacokinetic study of total flavonoids from mulberry leaves [J]. J Pharm Biomed Anal, 2013, 84(10): 189-195.

收稿日期: 2018-03-01  
(本文责编: 曹粤锋)