

[制 剂]

新补骨脂异黄酮在大鼠体内的药动学及组织分布研究

张志超， 王小康， 潘远安， 刘江红*
(深圳市龙华区中心医院药学部, 广东 深圳 518110)

摘要: **目的** 研究新补骨脂异黄酮在大鼠体内的药动学及组织分布。**方法** 分析采用 Waters ACQUITY™ BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸) -乙腈 (含 0.1% 甲酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 ℃; 电喷雾离子源 (ESI); 正离子模式; 多反应监测模式扫描。超高效液相色谱串联三重四级杆质谱 (UPLC-MS/MS) 法测定大鼠血清、肾、肝、小肠中新补骨脂异黄酮含量, 计算主要药动学参数, 绘制血药浓度-时间曲线。**结果** 大鼠血清和组织中新补骨脂异黄酮在 4.0~700.0 ng/mL 范围内线性关系良好 ($R^2 \geq 0.9950$), 基质效应 81.6%~112.4%, 回收率 95.9%~106.4%。随着给药剂量 (50、100、200 mg/kg) 增加, $t_{1/2}$ 、 t_{max} 、 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 MRT_{0-t} 、 $MRT_{0-\infty}$ 升高 ($P<0.05$); 给药剂量为 100 mg/kg 时, 新补骨脂异黄酮含量在肾中最高, 肝中次之。**结论** 新补骨脂异黄酮在大鼠体内吸收较慢, 消除半衰期长, 肾、肝中有药物蓄积。**关键词:** 新补骨脂异黄酮; 药动学; 组织分布; 超高效液相色谱串联三重四级杆质谱 (UPLC-MS/MS)
中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)04-0825-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.04.001

Pharmacokinetics and tissue distribution of neobavaisoflavone in rats *in vivo*

ZHANG Zhi-chao, WANG Xiao-kang, PAN Yuan-an, LIU Jiang-hong*
(Department of Pharmacy, Shenzhen Longhua District Central Hospital, Shenzhen 518110, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the pharmacokinetics and tissue distribution of neobavaisoflavone in rats *in vivo*. **METHODS** The analysis was performed on a 40 ℃ thermostatic Waters ACQUITY™ BEH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), with the mobile phase comprising of water (containing 0.1% formic acid) -acetonitrile (containing 0.1% formic acid) flowing at 0.4 mL/min in a gradient elution manner. Electrospray ionization (ESI) was scanned in a positive ion mode with multiple reaction monitoring. Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was adopted in the content determination of neobavaisoflavone in rat serum, kidney, liver and small intestine, after which main pharmacokinetic parameters were calculated, and plasma concentration-time curves were drawn. **RESULTS** Neobavaisoflavone showed good linear relationships within the range of 4.0–700.0 ng/mL in rat serum and tissues ($R^2 \geq 0.9950$), whose matrix effects and recoveries were 81.6%–112.4% and 95.9%–106.4%, respectively. With the increase of administration dosage (50, 100, 200 mg/kg), $t_{1/2}$, t_{max} , C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, MRT_{0-t} and $MRT_{0-\infty}$ were elevated ($P<0.05$). At the administration dosage of 100 mg/kg, neobavaisoflavone content was the highest in kidney, while that in liver took the second place. **CONCLUSION** Neobavaisoflavone demonstrates slow absorption, long elimination half-life, and drug accumulation in kidney and liver in rats *in vivo*. **KEY WORDS:** neobavaisoflavone; pharmacokinetics; tissue distribution; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS)

收稿日期: 2019-09-27
基金项目: 广东省中医药管理局项目 (2182131); 深圳市龙华区科技创新项目 (2017032)
作者简介: 张志超 (1985—), 男, 主管药师, 从事药理学研究。Tel: (0755) 28016178, E-mail: 823493971@qq.com
* 通信作者: 刘江红 (1966—), 女, 副主任药师。Tel: (0755) 28016178, E-mail: lhzyxyxb@163.com

新补骨脂异黄酮是补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 中常见的黄酮类化合物^[1], 有着抗氧化^[2-3]、抗菌^[3]、抗炎^[4]、神经保护^[5]、抗骨质疏松^[6-7]、抗前列腺癌^[8]等作用。课题组前期发现, 补骨脂对大鼠具有很强的肝毒性和肾毒性, 与文献 [9-10] 报道一致, 故研究该药材所含新补骨脂异黄酮的体内药动学及组织分布时, 有助于了解其体内代谢途径、组织蓄积情况、药理活性、毒性机制。

目前, 对新补骨脂异黄酮的研究主要集中在大鼠给予补骨脂后它在血浆中的药动学和脑组织中的组织分布^[11-13], 尚无单独给予该成分后的相关报道。因此, 本实验在前期报道基础上, 建立超高效液相色谱串联三重四级杆质谱 (UPLC-MS/MS) 法测定大鼠血清及各组织中新补骨脂异黄酮含量, 并研究该成分体内药动学和组织分布, 为后期相关体内作用机制考察提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters ACQUITY™ H-class 型超高效液相色谱仪、Waters SYNAPT™ G2 TQD 型三重四极杆串联质谱仪、Masslynx™ 4.1 数据处理系统 (美国 Waters 公司); Milli-Q 型超纯水系统 (美国 Millipore 公司); QL-861 型微型旋涡混合仪 (江苏省海门市其林贝尔仪器制造有限公司); BP211D 型电子天平 (德国赛多利斯公司); KQ3200E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Anke TGL-16G-A 型高速离心机 (上海安亭科学仪器厂); UV-1800 型紫外分光光度计 (日本岛津公司); DKZ-450B 型电热恒温振荡水槽 (上海森信实验仪器有限公司); MTN-2800D 型氮气吹干仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 新补骨脂异黄酮对照品 (纯度 $\geq 99\%$, 批号 SH-YY0908) 购自上海一研生物科技有限公司; 芒柄花黄素对照品 (纯度 $\geq 98\%$, 批号 JD-65914) 购自上海晶都生物技术有限公司。甲醇、乙腈、甲酸、水均为色谱纯; 其余试剂均为国产分析纯。

1.3 动物 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 由广东省医学实验动物中心提供, 动物生产许可证号 SCXK (粤)-2018-0002, 饲养于恒温 [(25 $\pm$ 2)℃]、恒湿 [相对湿度 (55 $\pm$ 10)%] 动物室, 每天 12 h 亮/暗交替, 自由饮水进食。

2 方法

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取新补骨脂异黄酮对

照品适量, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配制成 25.0 mg/mL 贮备液, 甲醇再进一步稀释, 即得 (质量浓度分别为 5.0、50.0、250.0、500.0 $\mu\text{g/mL}$), 现配现用。

2.1.2 内标溶液 精密称取芒柄花黄素对照品适量, 甲醇配制成 50 $\mu\text{g/mL}$ 贮备液, 再用甲醇进一步稀释, 即得 (质量浓度为 500 ng/mL), 现配现用。

2.1.3 含药生理盐水 取适量新补骨脂异黄酮对照品, 加适量生理盐水超声处理至溶解, 即得 (质量浓度为 50 mg/mL), 现配现用。

2.2 UPLC-MS/MS 分析

2.2.1 色谱条件 Waters ACQUITY™ BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸) (A) -乙腈 (含 0.1% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0~9.0 min, 2%~36% B; 9.0~10.5 min, 36%~48% B; 10.5~12.5 min, 48%~80% B; 12.5~13.5 min, 80%~100% B; 13.5~14.0 min, 100% B; 14.0~15.0 min, 100%~2% B; 15.0~16.0 min, 2% B); 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40℃; 进样量 5 μL 。

2.2.2 质谱条件 离子源 ESI (正离子), 毛细管电压 3.3 kV; 离子源温度 150℃; 脱溶剂气温度 350℃; 脱溶剂气、锥孔反吹气氮气, 体积流量 800、50 L/h; 扫描方式多反应监测 (MRM); 新补骨脂异黄酮检测离子 m/z 323.4~267.2, 锥孔电压 48 eV, 碰撞能量 20 eV; 内标 (芒柄花黄素) 检测离子 m/z 269.1~253.1, 碎裂电压 50 eV, 碰撞能量 30 eV。

2.3 样本前处理 取组织样本 1 g, 加入 3 mL 0.9% NaCl 溶液进行匀浆。取血清或组织匀浆样品 100 μL , 加入 100 μL 500 ng/mL 内标 (芒柄花黄素) 溶液, 充分混匀后加入 300 μL 沉淀剂 (乙腈) 涡旋 1 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 氮气吹干, 残渣用 60% 甲醇复溶, 进行 UPLC-MS/MS 分析。

2.4 大鼠药动学、组织分布研究 取 18 只 SD 大鼠, 随机分为 3 组, 每组 6 只, 实验前禁食 12 h, 并从颈外静脉抽取空白血液。3 组大鼠分别口服 50、100、200 mg/kg 含药生理盐水后, 于 0.5、1、2、4、6、8、10、24、48 h 采集血液, 置于 EP 管中, 室温下放置 2 h 后 10 000 r/min 离心 10 min, 吸取上层血清, 于-80℃下保存。另取 24 只 SD 大鼠, 随机分为 4 组, 每组 6 只, 随机选取 1 组作为

空白组，其余 3 组口服 100 mg/kg 含药生理盐水，分别于 0.5、2、8 h 后腹腔注射水合氯醛麻醉，立即处死，取肾脏、肝脏、小肠，0.9% NaCl 溶液洗涤至无血色，滤纸吸干，置于 EP 管中，液氮速冻 15 min，于-80 ℃下保存。

2.5 数据处理 通过 Wionlin 6.3 软件进行分析，采用非房室模型计算主要药动学参数，其中 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 MRT_{0-t} 等参数经 SPSS 软件进行组间统

计学检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 专属性考察 取空白血清和组织、空白血清和组织+新补骨脂异黄酮或内标（芒柄花黄素）、给药 0.5 h 后血清和组织，按“2.3”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定，结果见图 1~2。由此可知，新补骨脂异黄酮、内标色谱峰的峰形良好，内源性物质不干扰测定。

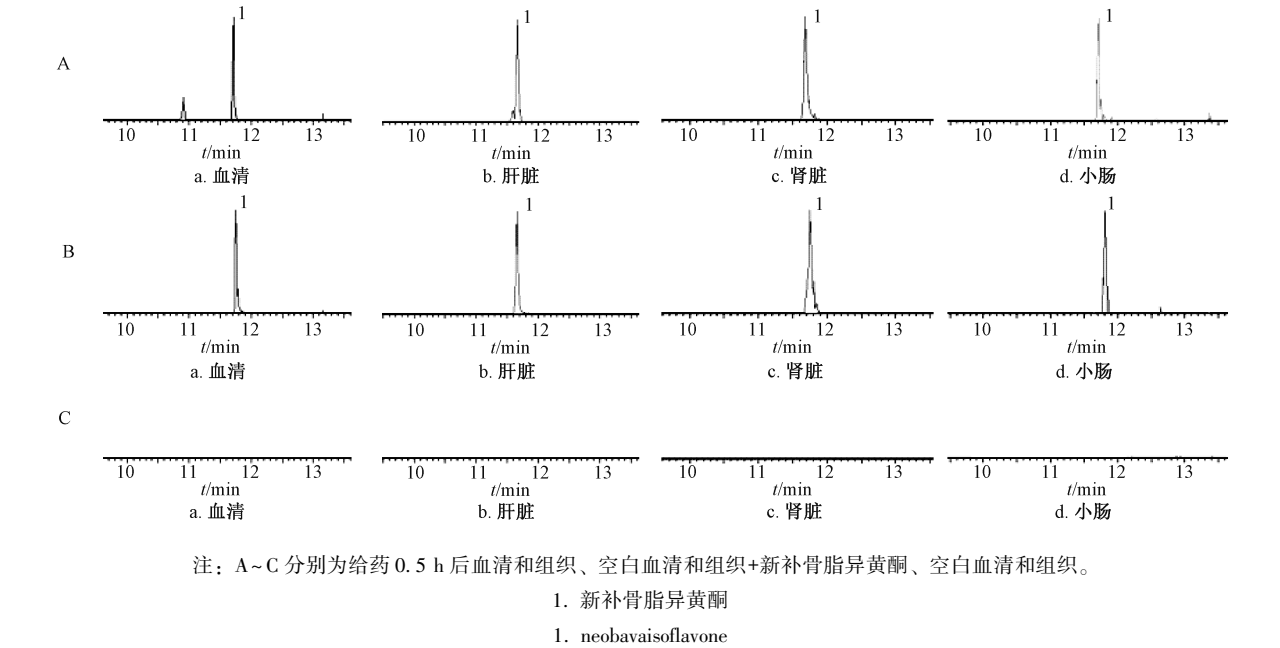


图 1 大鼠血清和组织中新补骨脂异黄酮 MRM 色谱图
Fig. 1 MRM chromatograms of neobavaisoflavone in rat serum and tissues

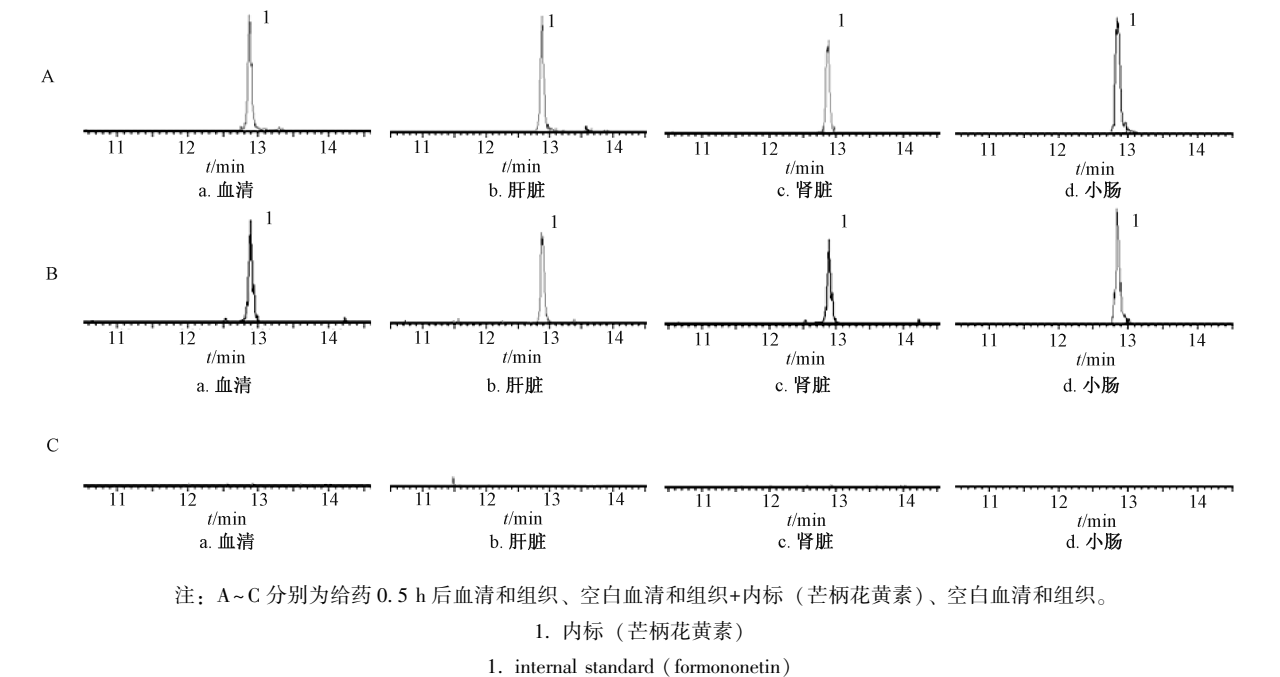


图 2 大鼠血清和组织中内标（芒柄花黄素）MRM 色谱图
Fig. 2 MRM chromatograms of internal standard (formononetin) in rat serum and tissues

3.2 线性关系考察 取适量空白血清或空白组织匀浆液，加入“2.1.1”项下对照品溶液，制成含 4.0、10.0、20.0、50.0、100.0、300.0、700.0 ng/mL 新补骨脂异黄酮的相应样品溶液，按“2.3”项下方法处理（除了不加 60% 甲醇外），在“2.2”项条件下进样测定。以新补骨脂异黄酮质

量浓度为横坐标（ X ），新补骨脂异黄酮与内标峰面积比值乘以内标溶液质量浓度的响应值为纵坐标（ Y ）进行回归，并以信噪比（ S/N ）= 10 为定量限，结果见表 1，可知新补骨脂异黄酮在一定范围内线性关系良好，方法灵敏度较高，可用于微量分析。

表 1 大鼠血清和组织中新补骨脂异黄酮线性关系

Tab. 1 Linear relationships of neobavaisoflavone in rat serum and tissues

样本	回归方程	R^2	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)
血清	$Y=3.254\ 0X-0.085\ 0$	0.995 0	4.0~700.0	4.0
肾脏	$Y=2.123\ 0X-0.353\ 6$	0.997 8	4.0~700.0	4.0
肝脏	$Y=2.120\ 4X-0.354\ 7$	0.995 3	4.0~700.0	4.0
小肠	$Y=1.320X+1.728\ 0$	0.995 1	4.0~700.0	4.0

3.3 基质效应、提取回收率试验 取 5 只 SD 大鼠空白血清、空白组织匀浆液各 100 μL，按“2.3”项下方法处理（除了用甲醇代替内标溶液外），残渣用“2.1.1”项下 12.5、25.0、450 ng/mL 对照品溶液各 100 μL 溶解，平行 5 份，氮气吹干后 60% 甲醇复溶，在“2.2”项条件下进样测定，得到峰面积 A_1 ；取相应质量浓度对照品溶液于 EP 管中，加空白血清、空白组织匀浆液混匀，按“2.3”项

下方法处理，平行 5 份，在“2.2”项条件下进样测定，得到峰面积 A_2 ；取相应质量浓度的对照品溶液于 EP 管中，氮气吹干后残渣用 100 μL 纯水复溶，按“2.3”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定，得到峰面积 A_3 ，以 A_1 与 A_3 的比值为基质效应， A_2 与 A_1 的比值为提取回收率，结果见表 2，可知该方法基质效应、提取回收率良好，符合生物样品检测要求。

表 2 大鼠血清和组织中新补骨脂异黄酮基质效应、提取回收率试验结果（ $n=5$ ）

Tab. 2 Results of matrix effect and extraction recovery tests for neobavaisoflavone in rat serum and tissues（ $n=5$ ）

样本	加入量/(ng·mL ⁻¹)	基质效应/%	提取回收率/%
血清	12.5	112.4	98.7
	25.0	101.4	104.0
	450.0	104.7	99.1
肾脏	12.5	112.1	106.4
	25.0	103.9	99.3
	450.0	99.3	103.8
肝脏	12.5	112.1	102.7
	25.0	103.9	99.3
	450.0	99.3	103.8
小肠	12.5	81.6	102.7
	25.0	103.9	95.9
	450.0	99.3	103.8

3.4 准确度、精密度试验 空白血清、空白组织匀浆液制成 12.5、25.0、450.0 ng/mL 样品溶液，按“2.3”项下方法处理，平行 6 份，在“2.2”项条件下进样测定 5 d，结果见表 3，可知该方法准确度、精密度良好，符合生物样品检测要求。

3.5 稳定性试验 空白血清、空白组织匀浆液制成 12.5、450.0 ng/mL 样品溶液，按“2.3”项下方法处理，平行 3 份，在“2.2”项条件下进样测定，分别考察经 3 次冷冻-解冻循环、前处理后放

置 24 h、-80 ℃ 放置 3 个月后的稳定性，结果见表 4，可知该方法稳定性良好，符合生物样品检测要求。

3.6 药动学研究 大鼠口服给药后绘制血药浓度-时间曲线，再经非室模型统计矩计算主要药动学参数，见表 5、图 3。由此可知，100、200 mg/kg 新补骨脂异黄酮 $t_{1/2}$ 、 t_{max} 、 C_{max} 、 $AUC_{0\sim t}$ 、 $AUC_{0\sim \infty}$ 、 $MRT_{0\sim t}$ 、 $MRT_{0\sim \infty}$ 高于 50 mg/kg（ $P<0.05$ ），以 200 mg/kg 更明显（ $P<0.05$ ）。

表 3 大鼠血清和组织中新补骨脂异黄酮准确度、精密度试验结果 (n=5)

Tab. 3 Results of accuracy and precision tests for neobavaisoflavone in rat serum and tissues (n=5)

样本	加入量/(ng·mL ⁻¹)	测得量/(ng·mL ⁻¹)	准确度/%	精密度/%	
				批内	批间
血清	12.5	12.3	98.4	9.9	10.4
	25.0	25.6	102.4	6.9	8.1
	450.0	452.2	100.5	6.1	2.8
肾脏	12.5	14.2	113.6	8.8	11.8
	25.0	25.5	102.0	8.0	12.6
	450.0	438.3	97.4	6.9	4.2
肝脏	12.5	14.3	114.4	8.7	14.2
	25.0	27.5	110.0	3.4	8.9
	450.0	461.3	102.5	2.9	3.4
小肠	12.5	13.7	109.6	12.4	13.7
	25.0	25.7	102.8	7.2	11.3
	450.0	440.9	98.0	4.5	6.7

表 4 大鼠血清和组织中新补骨脂异黄酮稳定性试验结果 (n=3)

Tab. 4 Results of stability tests for neobavaisoflavone in rat serum and tissues (n=3)

条件	加入量/ (ng·mL ⁻¹)	血清		肾脏		肝脏		小肠	
		相对偏差/%	精密度/%	相对偏差/%	精密度/%	相对偏差/%	精密度/%	相对偏差/%	精密度/%
3 次冷冻-解冻循环	12.5	-2.3	8.6	10.0	3.1	-4.3	11.2	13.6	6.1
	450.0	3.3	5.5	4.6	1.2	4.4	9.1	6.7	0.9
前处理后放置 24 h	12.5	4.3	8.0	3.8	6.4	1.1	6.4	5.9	1.7
	450.0	0.6	4.2	-4.5	5.2	0.5	5.2	-8.5	3.7
置于-80 ℃放置 3 个月后	12.5	12.3	3.6	4.3	11.2	7.3	1.2	4.3	5.2
	450.0	1.7	0.9	-2.1	2.5	3.0	0.3	-4.1	2.3

表 5 新补骨脂异黄酮主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

Tab. 5 Main pharmacokinetic parameters for neobavaisoflavone ($\bar{x}\pm s$, n=6)

参数	单位	质量浓度/(mg·kg ⁻¹)		
		50	100	200
$t_{1/2}$	h	5.8±0.7	8.7±0.4 [*]	11.4±0.8 ^{*#}
$t_{\max}$	h	2.0±0	4.0±0 [*]	4.0±0 [*]
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	123.1±18.8	513.5±36.8 [*]	663.4±99.5 ^{*#}
$AUC_{0\sim t}$	ng·mL ⁻¹ ·h	1061.5±56.1	4 025.7±184.6 [*]	5 880.5±36.4 ^{*#}
$AUC_{0\sim \infty}$	ng·mL ⁻¹ ·h	1 030.2±12.3	4 080.2±183.1 [*]	6 079.2±141.9 ^{*#}
$MRT_{0\sim t}$	h	6.4±1.1	9.1±0.6 [*]	9.9±1.0 [*]
$MRT_{0\sim \infty}$	h	7.9±0.4	9.8±0.7 [*]	11.7±0.9 ^{*#}

注:与 50 mg/kg 比较,*P<0.05;与 100 mg/kg 比较,#P<0.05。

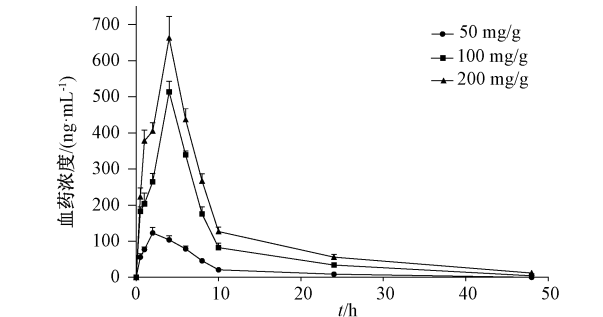


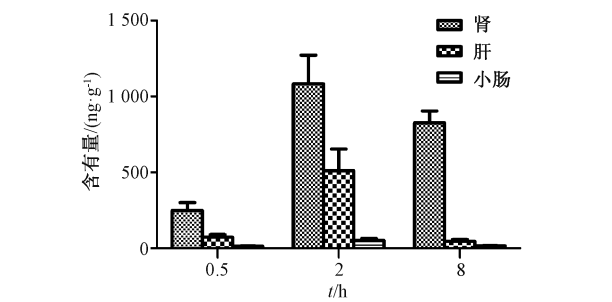
图 3 不同质量浓度新补骨脂异黄酮血药浓度-时间曲线
Fig. 3 Plasma concentration-time curves for different concentrations of neobavaisoflavone

3.7 组织分布研究 大鼠口服给予新补骨脂异黄酮后,测定该成分在 0.5、2、8 h 的组织分布,结

果见图 4。由此可知,不同时间点各组织中新补骨脂异黄酮含有量依次为肾>肝>小肠。

4 讨论

本实验采用 UPLC-MS/MS 法,在 16 min 内对新补骨脂异黄酮进行定量分析,具有快速灵敏、选择性好、专属性强的优点,可为研究该成分药动力学及组织分布提供依据,也有利于阐明其作用机制。课题组前期采用文献 [11] 报道的 LC-MS/MS 法测定血浆中新补骨脂异黄酮含有量,发现其流动相组成与本实验基本相同,均为乙腈-水等度洗脱,但该方法在检测组织样本时基线高,目标化合物响应低,故又在流动相中加入 0.1% 甲酸,可显著改善峰形,降低基线,提高响应值。



注：组织分布研究中新补骨脂异黄酮含有量单位不是 ng/mL，而是经换算后的 ng/g，换算系数为 3 倍。

图 4 大鼠组织中新补骨脂异黄酮含有量
Fig. 4 Neobavaisoflavone contents in rat tissues

结果显示，大鼠给予 50 mg/kg 新补骨脂异黄酮后的药动学参数与给予 100、200 mg/kg 比较具有显著差异，表明该成分在大鼠体内的吸收、分布、消除存在一定剂量依赖性，但不同剂量之间基本呈非线性关系。本实验选择中间剂量 100 mg/kg，并以吸收相、分布相、消除相各 1 个时间点为组织分布取样时间点，发现大鼠给药后新补骨脂异黄酮含有量在肾、肝中较高，维持时间较长，即在这 2 个部位存在药物蓄积现象，可能与补骨脂对大鼠具有肝毒性和肾毒性有关^[14-15]。前期预实验发现，在大鼠心、脑、肌肉中未检测到新补骨脂异黄酮，推测该成分可能对组织分布具有一定的靶向性，需要作进一步研究。

参考文献：

[1] 陶 益, 蒋妍慧, 李伟东, 等. 炮制对补骨脂中 12 种化学成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21): 6-9.

[2] 陈瑞战, 杨思敏, 刘志强, 等. HPLC-ESI-MS 快速筛选并鉴定补骨脂甲醇提取物中的抗氧化活性成分[J]. 分子科学学报, 2014, 30(2): 142-146.

[3] 王天晓, 尹震花, 张 伟, 等. 补骨脂抗氧化、抑制 α -葡萄糖苷酶和抗菌活性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2328-2333.

[4] 柴丽娟, 王安红, 徐金虎, 等. 补骨脂 4 种组分对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(4): 360-363.

[5] 林 松, 高 欢, 张 帅, 等. 杜鹃兰化学成分及神经保护活性研究[J]. 中草药, 2016, 47(21): 3779-3786.

[6] 翟远坤, 武祥龙, 潘亚磊, 等. 补骨脂抗骨质疏松研究概况[J]. 中医杂志, 2012, 53(14): 1244-1248.

[7] Wang X L, He Y X, Guo B S, *et al.* *In vivo* screening for anti-osteoporotic fraction from extract of herbal formula Xianlinggubao in ovariectomized mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0118184.

[8] Szliszka E, Bronikowska J, Czuba Z P, *et al.* Isoflavones augment the effect of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) on prostate cancer cells[J]. *Urologia Polska*, 2010, 63(4): 182-186.

[9] 谭 沛, 赵 超, 周 昆, 等. 补骨脂灌胃 30 天对大鼠肝毒性的实验研究[J]. 新疆中医药, 2010, 28(2): 11-13.

[10] 朱竹菁, 苏 励, 董 亮, 等. 基于大数据的补骨脂使用现状及肾毒性影响因素[C] //第十六届中国中西医结合风湿病学术年会论文集. 广州: 中国中西医结合学会风湿类疾病专业委员会, 2018: 140.

[11] Yang Y F, Zhang Y B, Chen Z J, *et al.* Plasma pharmacokinetics and cerebral nuclei distribution of major constituents of *Psoralea fructus* in rats after oral administration[J]. *Phytomedicine*, 2018, 38: 166-174.

[12] Gao Q, Xu Z, Zhao G, *et al.* Simultaneous quantification of 5 main components of *Psoralea corylifolia* L. in rats' plasma by utilizing ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1011: 128-135.

[13] Ma T, Nie L J, Li H M, *et al.* Determination of isobavachalcone in rat plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 107: 50-55.

[14] 穆国华, 石 玥, 申萌萌, 等. 补骨脂主要不良反应的研究与思考[J]. 世界中医药, 2018, 13(4): 1038-1042.

[15] 汤响林, 胡 超, 高 月. 补骨脂对大鼠肝脏毒性效应研究[C] //2016 年第六届全国药物毒理学会年会论文集. 重庆: 中国毒理学会, 中国药学会, 中华中医药学会, 中国药理学会, 2016: 336-337.