病理和正常生理状态下淫藤骨痹康方总萜体内指纹图谱差异性研究

王元清[1,2]，严建业[1*]，李顺祥[1*]，罗　堃[1]，彭买娇[1]，徐　菲[1]

1. 湖南中医药大学药学院 中药现代化重点实验室，湖南 长沙　410208
2. 中南林业科技大学生命科学与技术学院 生物技术与工程实验室，湖南 长沙　410004

摘　要：目的　研究病理和正常生理状态下淫藤骨痹康方总萜体内代谢指纹图谱差异，阐明其活血作用的药效物质基础。**方法**　采用 HPLC 法建立藤骨痹康方总萜在正常生理状态与急性血瘀病理状态下的代谢特征指纹图谱，并对共有峰的数与量进行对比分析。**结果**　在正常生理状态下，5 个批次的含药血浆样品中有 21 个共有峰，其中 3 个峰来自于空白血浆，4 个峰为总萜的原型成分，14 个峰为其代谢产物峰或产生的新成分峰；在急性血瘀病理状态下，含药血浆样品中有 21 个共有峰，其中 6 个峰来自于空白血浆，3 个峰为总萜的原型成分，12 个峰为其代谢产物峰或产生的新成分峰；经对照品对照，52 min 处的峰为丹参酮 II_A。总萜在正常生理状态与病理状态下的色谱峰的数目、峰形及峰的大小存在一定的差异；病理状态下的色谱峰峰面积明显强于正常生理状态下的色谱峰峰面积，其中有 7 个共有峰的峰面积具有显著性差异（$P<0.05$）。**结论**　淫藤骨痹康方总萜体内代谢指纹图谱的建立方法可行；不同生理状态下的大多数共有峰的峰面积存在显著性差异；其入血原型成分与代谢新成分可能为其活血作用的药效物质。

关键词：淫藤骨痹康方；总萜；代谢；指纹图谱；HPLC；丹参酮 II_A

中图分类号：R284　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2013)24 - 3444 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.24.004

Differences in *in vivo* fingerprints of total terpenes from Yinteng Gubikang Formula under pathological and normal physiological status

WANG Yuan-qing[1,2], YAN Jian-ye[1], LI Shun-xiang[1], LUO Kun[1], PENG Mai-jiao[1], XU Fei[1]

1. Key Laboratory of Modernization of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
2. Laboratory of Biotechnology and Engineering, College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Abstract: Objective　To elucidate the material basis for the efficacy of promoting blood circulation by means of comparing the differences in *in vivo* metabolic fingerprints of total terpenes from Yinteng Gubikang Formula (YGF) under pathological and normal physiological status. **Methods**　The metabolic fingerprints of YGF under pathological and normal physiological status (acute blood stasis) were established by HPLC, and the numbers and quantity of the common peaks were compared and analyzed successfully. **Results**　Five batches of drug-containing plasma samples under normal physiological status had 21 chromatographic peaks, among which 3 peaks stemed from blank plasma, 4 peaks existed the prototypes of the total terpenes, and 14 peaks were metabolite. While under pathological status (acute blood stasis), five batches of the drug-containing plasma samples had 21 chromatographic peaks, among which 6 peaks stemed from blank plasma, 3 peaks existed the prototypes of the total terpenes, and 12 peaks were metabolite. The compound with retention time at 52 min was identified as tanshinone II_A by comparing with reference substance. There were some differences in number, shape, and size of the peaks, which represented *in vivo* compositions of the total terpenes between the pathological and normal physiological status; The intensity of the characteristic peaks produced under the pathological status were stronger than those under the normal physiological status significantly; Variance analysis showed that there were significant differences

收稿日期：2013-08-31

基金项目：湖南省科技厅项目（2009TP4051-1）；长沙市科技计划项目（k1003034-31）；湖南省高校“中药新药创制与资源综合持续利用”科技创新团队资助（湘教通 [2010] 212 号）；国家中医药管理局“药用植物学”、“中药药剂学”重点学科资助（国中医药发 [2009] 30 号）；湖南省“中药学”重点学科资助（湘教通 [2011] 76 号）；中药有毒物质防控技术湖南省工程实验室项目（201304）

作者简介：王元清（1980—），女，在读博士，讲师，从事生物药物的教学与科研。Tel: (0731)85623496　E-mail: wangyuanqing201@126.com

***通信作者**　严建业　Tel: (0731)88458231　E-mail: yanjianye201@126.com

李顺祥　Tel: (0731)88458229　E-mail: lishunxg@yahoo.com.cn

($P < 0.05$) in peak areas of seven peaks. **Conclusion** The method for establishing the *in vivo* fingerprint of the total terpenes from YGF is feasible; There are significant differences in peak areas of most common peaks of total terpenes among different physiological status, and prototypes and metabolites may be the effective substances for promoting blood circulation.

Key words: Yinteng Gubikang Formula; total terpenes; metabolism; fingerprint; HPLC; tanshinone II_A

淫藤骨痹康方为治疗气滞血瘀型骨关节炎的临床经验方，由丹参、南蛇藤等中药组成，含有黄酮类、酚酸类、萜类等有效部位群。总萜由丹参、南蛇藤经醇提后纯化制备而成，其中丹参中的二萜醌类丹参酮具有扩张血管、降低血液黏度、改善微循环、抗血小板聚集、抗炎等作用[1-4]，南蛇藤醇提物萜类具有抗炎止痛等作用[5-6]。中药复方药效物质基础研究是中药现代研究的热点与难点，其主要研究方法包括有效部位和有效成分分离、拆方研究、血清药理学与血清药物化学、谱效学、代谢组学、多靶点高通量筛选等方法[7]。本研究将从“有效部位-病理生理模型-代谢成分”的研究思路，对淫藤骨痹康方总萜在生理与病理条件（急性血瘀）下的体内成分代谢指纹图谱进行对比研究，获取其差异特性，从而从代谢成分的角度揭示处方中总萜有效部位在体内活血作用的药效物质，为该方的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；涡旋混合器（上海实验设备有限公司）；天平 T—214（北京赛多利斯仪器系统有限公司）；RE52—99 旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器厂）；801 沉淀离心机（上海华岩仪器设备有限公司）；EFAA—DC—J6 简易 6 位氮吹仪（上海安谱科学仪器设备有限公司）。

1.2 药材与试剂

丹参酮 II_A 对照品（供定量测定用，批号 110766-200518，中国食品药品检定研究院）；盐酸肾上腺素（批号 110307，规格 1 mg/mL，武汉远大制药集团有限公司）；肝素钠采血管（广州阳普医疗科技股份有限公司）；乙腈（色谱纯，美国 Tedia 公司）；水为重蒸水，其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠，体质量（200±20）g，购于湖南景达生物科技有限公司，合格证编号：SCXK（湘）-2009-0004。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

大连伊利特 ODS2 C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）柱；乙腈（A）-0.05%磷酸水溶液（B）为流动相，梯度洗脱：0～15 min，35%～40% A；15～60 min，40%～70% A；60～65 min，70%～80% A；65～70 min，80%～100% A。检测波长 270 nm；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取丹参酮 II_A 对照品 5.2 mg 置 25 mL 棕色量瓶中，加色谱甲醇超声溶解，定容至刻度，摇匀，即得浓度为 0.208 mg/mL 的对照品溶液。精密移取 1.0 mL 置 10 mL 棕色量瓶中，加甲醇稀释定容至刻度，摇匀，即得质量浓度为 20.8 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 样品的制备

取含 50.35%总萜的样品，用 0.4% CMC-Na 溶液配制成 54 mg/mL 的混悬液（临床剂量的 12 倍），供 ig 给药用。

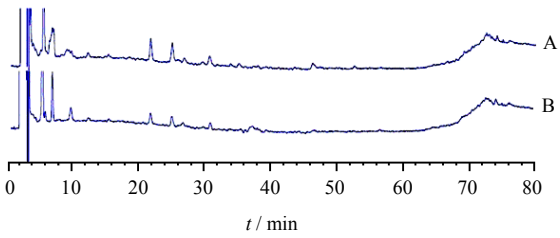
2.4 血样的制备

2.4.1 空白血浆与含药血浆样品的制备[8] 将血液置于装有肝素钠抗凝的采血管中，摇匀，5 000 r/min 离心 10 min，取上清液 400 μL，加入 5 倍量色谱甲醇，涡旋震荡 2 min，5 000 r/min 离心 10 min，取上清液于 40 ℃水浴氮气吹干，加色谱甲醇 400 μL 溶解，涡旋震荡 2 min，5 000 r/min 离心 10 min，0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.4.2 空白血清与含药血清样品的制备[8] 将血液置于离心管中，37 ℃静置 2 h，5 000 r/min 离心 10 min，取上清液 400 μL，加入 5 倍量色谱甲醇，涡旋震荡 2 min，5 000 r/min 离心 10 min，取上清液于 40 ℃水浴氮气吹干，加色谱甲醇 400 μL 溶解，涡旋震荡 2 min，5 000 r/min 离心 10 min，0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.5 含药血清与含药血浆的对比研究

取 SD 大鼠 3 只，给药前禁食 12 h（自由饮水），分别给予 6 倍临床剂量样品，给药后 1 h 均取血 2 份，一份置于加有肝素钠抗凝的采血管中获取血浆，另一份不加肝素钠获取血清，按“2.4”项方法处理血样，注入液相色谱仪。由图 1 可知，含药血浆样品比含药血清样品的出峰数量较多，强度较大，因而血样分析宜用血浆样品进行分析。



A-含药血浆样品　B-含药血清样品
A-drug-containing plasma　B-drug-containing serum

图 1　含药血浆样品与含药血清样品的 HPLC 图谱

Fig. 1　HPLC chromatogram of drug-containing plasma and drug-containing serum

2.6　给药次数的对比研究

取 SD 大鼠 6 只，随机分为组 I（给药 1 次）和组 II（给药 3 次），给药前禁食 12 h（自由饮水），组 II ig 6 倍临床剂量药物溶液 1.0 mL/100 g，每日 1 次，连续给药 3 d；组 I ig 1 次药物溶液 1.0 mL/100 g，给药 1 h 后取血，按“2.4”项方法处理血样，注入液相色谱仪。由图 2 可知，总萜给药 1 次后的血浆样品中的出峰数较给药 3 次少，峰的强度也较弱，因而进行血样分析时给药 3 次后取血为宜。

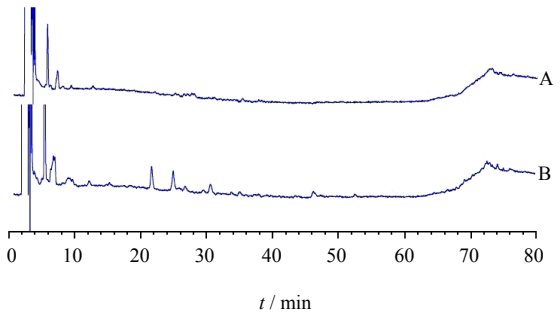


图 2　给药 1 次 (A) 和给药 3 次 (B) 的血浆样品的 HPLC 图

Fig. 2　HPLC chromatogram of drug-containing plasma with administration once (A) and thrice (B)

2.7　给药剂量的考察

取 SD 大鼠 6 只，随机分为 2 组，给药前禁食 12 h（自由饮水），2 组分别给予不同剂量的样品，给药 1 h 后取血，按“2.4”项方法处理血样，注入液相色谱仪。由图 3 可知，给药剂量为 12 倍临床剂量时，血样信息量较多较强，因而将给药剂量确定为 12 倍临床剂量。

2.8　取血时间的考察

取 SD 大鼠，给药前禁食 12 h（自由饮水），给药后间隔不同时间取血，按“2.4”项方法处理血样，注入液相色谱仪。由图 4 可知，药物在体内 1.5 h 反映的信息量较多，因而选择给药后 1.5 h 取血。

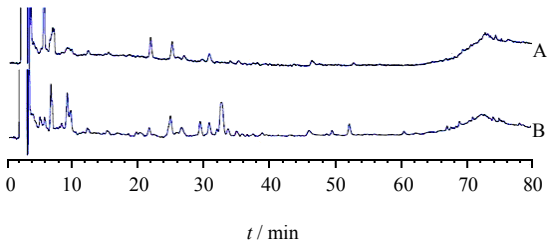
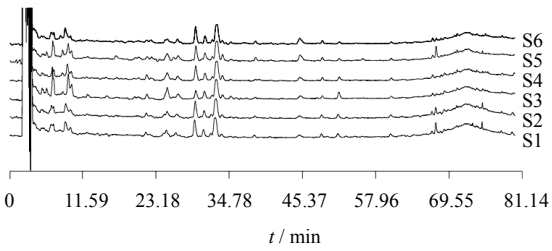


图 3　6 倍 (A) 和 12 倍 (B) 临床给药剂量的 HPLC 图

Fig. 3　HPLC chromatogram of drug-containing plasma with 6 (A) and 12 (B) times of clinical dose



S1-0.5 h　S2-1.0 h　S3-1.5 h　S4-2.0 h　S5-2.5 h　S6-3.0 h

图 4　不同时间取血的血样 HPLC 图

Fig. 4　HPLC chromatogram of drug-containing plasma at different time points

2.9　正常生理条件下代谢特征指纹图谱的建立

2.9.1　参照峰的选择　选择信号强度较大、峰形较好、出峰时间 29.5 min 处的峰为参比峰。

2.9.2　共有峰的确定　对 5 个批次的血样色谱图分析比较，共标定了 21 个共有峰，其保留时间分别为 5.183、6.852、9.825、12.376、21.769、24.985、26.698、29.502、30.916、32.749、33.737、35.090、38.929、45.986、49.485、52.114、60.379、66.925、67.517、70.807、74.819 min。见图 5。

2.9.3　色谱峰的归属　比较给药前的样品图、给药后的代谢特征图与空白血样图，归属其共有峰来源。由图 6 可知，含药血浆样品中有 21 个共有色谱峰，其中 9、10、18 号峰来自于血浆，1、6、12、16 号峰为总萜的原型成分，2～5、7、8、11、13～15、17、19～21 号峰为其代谢产物峰或产生的新成分峰；经对照品对照，16 号峰为丹参酮 II_A。

2.10　病理条件下代谢特征指纹图谱的建立

2.10.1　急性血瘀病理模型的建立、给药与取血　SD 大鼠 10 只，随机分为 2 组，每组 5 只，雌雄不限，即萜类药物组、模型对照组（只造模不给药）。

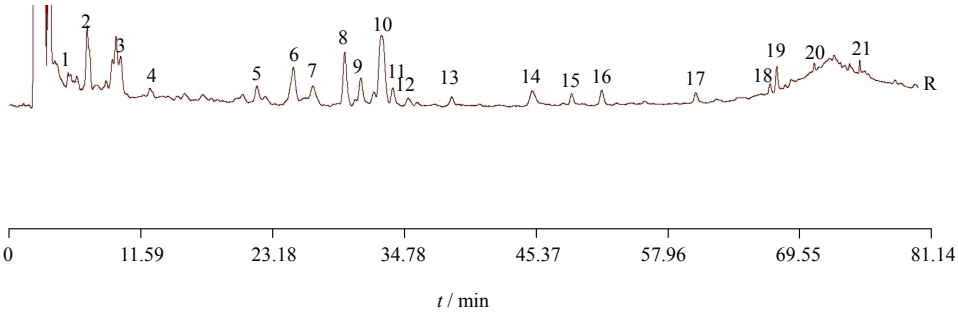
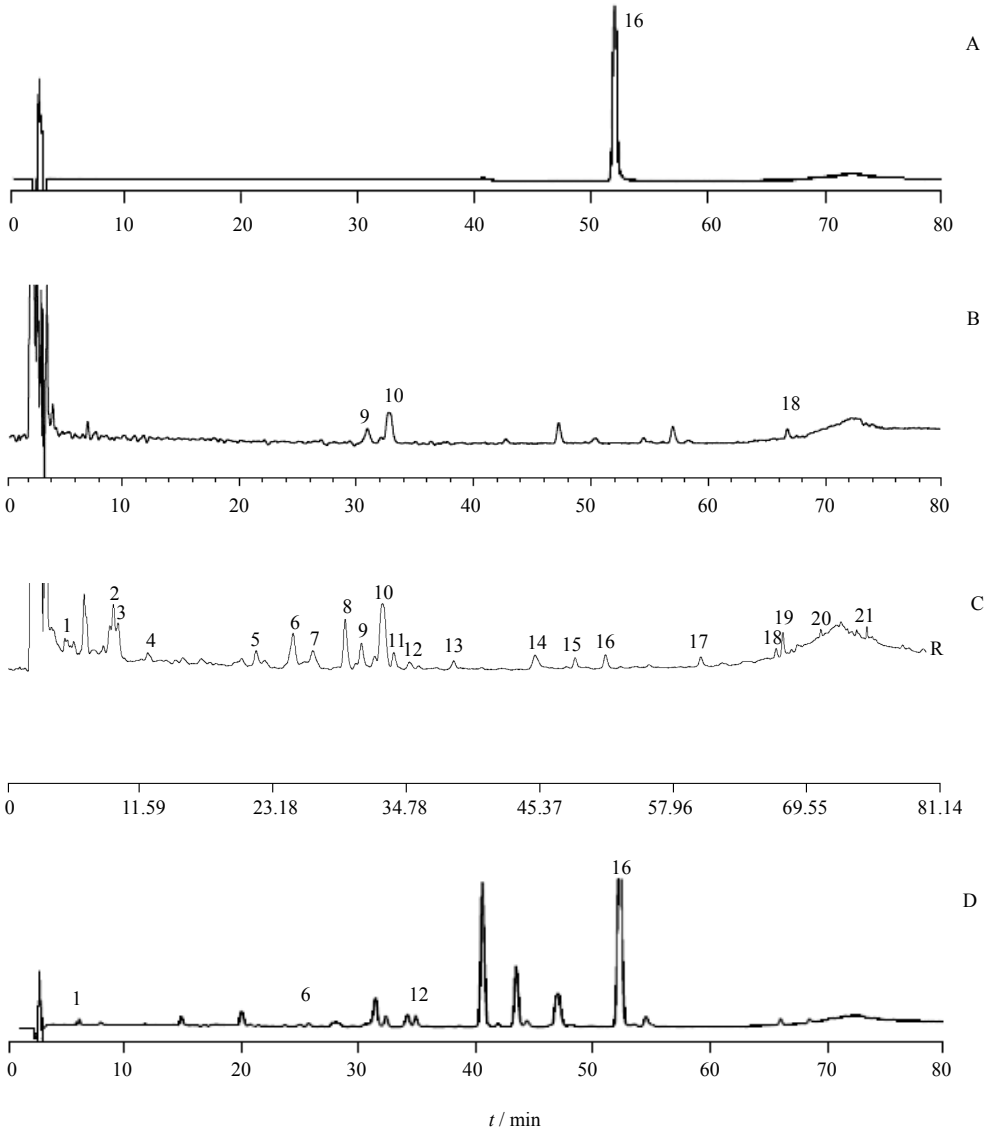


图 5 淫藤骨痹康方总萜在正常生理条件下代谢指纹图谱

Fig. 5 Metabolic fingerprint of total terpenes from YGF under normal physiological condition



A-丹参酮 II_A B-空白血浆 C-血液代谢指纹图谱 D-给药前样品 HPLC 图

A-tanshinone II_A B-blank plasma C-metabolic fingerprint of sample in blood D-HPLC chromatogram of sample for pre-administration

图 6 淫藤骨痹康方总萜在正常生理条件下代谢指纹图谱归属图

Fig. 6 Attribution of metabolic fingerprint of total terpenes from YGF under normal physiological condition

各组动物 sc 盐酸肾上腺素注射液 0.8 mg/kg，共 2 次，中间间隔 4 h，在第 2 次注射前 2 h，将大鼠置于冰水浴中浸泡 5 min，造成急性血瘀证模型。禁食不禁水 16 h 后，药物组 ig 给药淫藤骨痹康方总萜溶液，给药容积为 1.0 mL/100 g，模型对照组给 0.4% CMC-Na 水溶液，1.5 h 后眼眶采血，置于肝素钠抗凝的采血管中。

2.10.2　血样处理　按照“2.4”项的方法处理血样，注入液相色谱仪。

2.10.3　参照峰的选择　选择信号强度较大，峰形较好，出峰时间 29.5 min 处的峰为参比峰。

2.10.4　共有峰的确定　通过对 5 个批次的血样色谱图分析比较，共标定了 21 个共有峰，其保留时间分别为 4.229、5.294、6.873、8.441、9.846、12.292、21.779、25.037、26.768、29.543、31.001、32.850、33.752、35.043、39.006、46.039、49.540、52.242、60.430、66.986、74.831 min。见图 7。

2.10.5　色谱峰的归属　比较给药前的样品图、给药后的代谢特征图与空白血样图，归属其共有峰来源，见图 8。由图 8 可知，含药血浆样品中有 21 个共有色谱峰，其中 1、2、3、11、12、17 号峰来自于空白血浆，8、14、18 号峰为总萜的原型成分，4～7、9、10、13、15、16、19～21 号峰为其代谢产物峰或产生的新成分峰；经对照品对照，18 号峰为丹参酮 II_A。

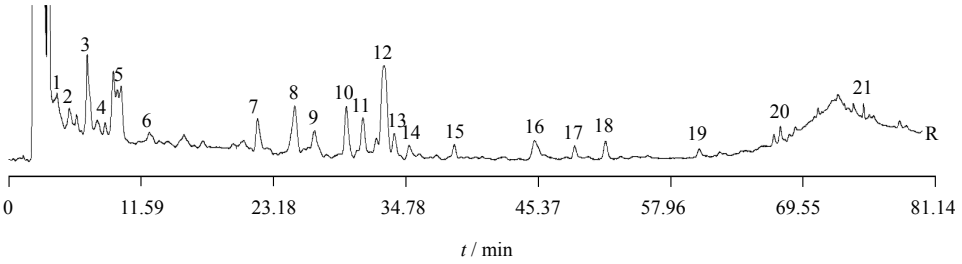


图 7　淫藤骨痹康方总萜在病理条件下共有峰图谱

Fig. 7　Common peak spectrum of total terpenes from YGF under pathological condition

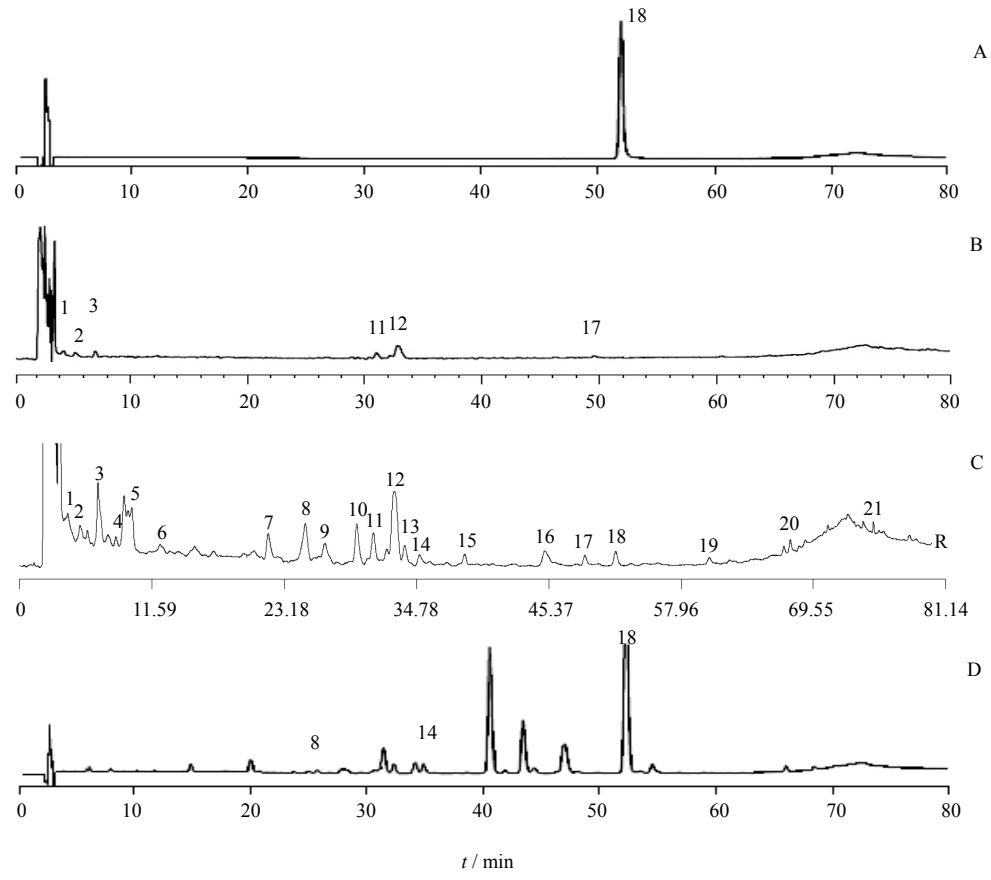
2.10.6　总萜有效部位在正常生理状态与病理状态下的代谢色谱峰对比研究　将总萜有效部位在正常生理状态与病理状态下的代谢成分的对照图谱对比，见图 9；对其共有峰的峰面积进行方差分析，结果见表 1。由图 9 可知，淫藤骨痹康方总萜在不同生理条件下代谢时，各自的共有峰分布存在一定的差异，主要体现在 0～10 min 与 60～80 min，而 10～60 min 段的原型成分与代谢新成分的分布相类似；5.2、6.8、9.8 min 处的色谱峰在峰型上存在明显的差异；从色谱峰的强度看，病理条件下的色谱峰强度明显强于正常生理条件下的色谱峰。

由表 1 可知，淫藤骨痹康方总萜在正常生理条件与病理条件下扣除空白血浆中的峰后的共有峰有 13 个。共有峰中，除了保留时间为 29.5 min 与 60.3 min 的成分峰外，其他成分峰在病理模型下的峰面积高于正常生理条件下的峰面积；方差分析结果表明保留时间在 9.8、21.7、24.9、33.7、38.9、45.9、52.1 min 处峰的峰面积均具有显著性差异（$P<0.05$）。

3　讨论

药物进入体内后会发生一系列的生物转化过程，真正起作用的物质可能是药物的原型成分，也可能是代谢转化的成分。另外，中药复方是多成分综合效应作用，单一化学成分的研究不能反映复方多成分的作用，因而，中药代谢指纹图谱在中药复方多成分作用研究中显得尤为重要。中药代谢指纹图谱研究是通过比较药物提取物化学指纹图谱与生物体液代谢指纹图谱（如尿液、血液、唾液、乳汁等），发现代谢产物（内源性与外源性）与原型成分，通过代谢产物与原型成分组成和量的变化，分析中药特定的效应成分[10]。大多数药物代谢研究集中于药物在健康动物体内的代谢，而药物主要用来防病治病，因而对疾病状态下动物的药物代谢研究可以更为科学地反映中药复方的活性成分与作用机制。据文献报道，许多中药及中药复方在不同生理状态下代谢时，其血清药物化学或药代动力学受到生理状态的影响[11-12]，因而本实验尝试将治疗血瘀证的淫藤骨痹康方总萜进行血瘀和正常生理条件下的代谢指纹图谱的差异性研究，从而从“机体病证——代谢成分”的角度研究其药效物质基础，为其临床应用提供实验依据。

在指纹图谱的色谱条件考察中，分别对色谱柱、

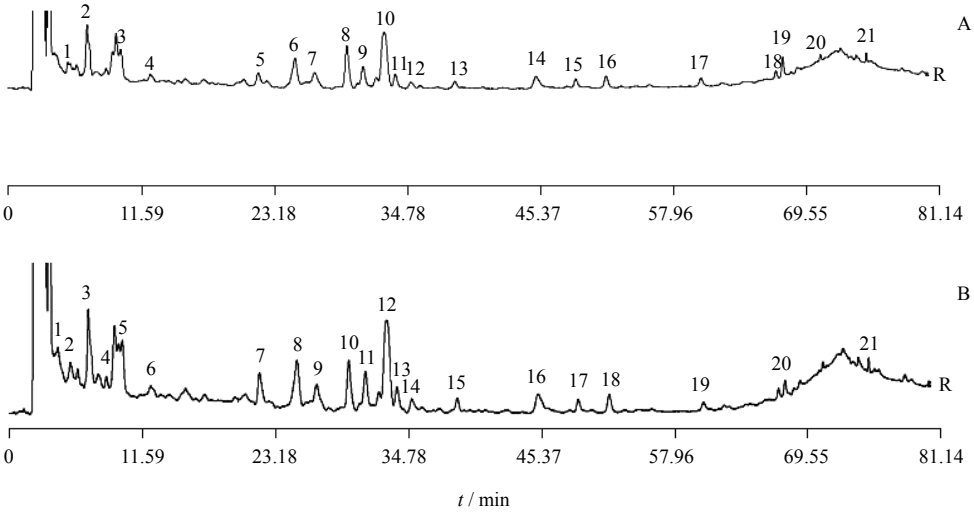


A-丹参酮 II_A B-空白血浆 C-血液代谢指纹图谱 D-给药前样品 HPLC 图

A-tanshinone II_A B-blank plasma C-metabolic fingerprint of sample in blood D-HPLC chromatogram of sample for pre-administration

图 8 淫藤骨痹康方总萜在病理条件下代谢指纹图谱归属图

Fig. 8 Attribution of metabolic fingerprint of total terpenes from YGF under pathological condition



A-正常生理条件下血浆样品 B-病理条件下血浆样品

A-plasma sample under normal physiological condition B-plasma sample under pathological condition

图 9 淫藤骨痹康方总萜在病理和正常生理条件下 HPLC 指纹图谱

Fig. 9 HPLC fingerprint of total terpenes from YGF under pathological and normal physiological condition

表 1 淫藤骨痹康方总萜在不同生理条件下共有峰峰面积方差分析 (n = 5)

Table 1 Analysis of variance for common-peak areas of total terpenes from YGF under different physiological conditions (n = 5)

共有峰数	t / min	正常组峰面积	模型组峰面积	P 值
1	9.8	25.67± 7.64	50.99±13.81	＜0.05
2	12.3	25.89± 9.74	27.97± 7.63	＞0.05
3	21.7	28.96± 8.92	48.10±13.64	＜0.05
4	24.9	76.88±20.86	101.59± 9.28	＜0.05
5	26.6	59.43±21.33	61.17± 9.21	＞0.05
6	29.5	94.30±17.33	81.29±12.84	＞0.05
7	33.7	20.90± 5.39	33.59± 3.21	＜0.05
8	35.0	21.06± 3.54	21.53± 8.89	＞0.05
9	38.9	22.06± 3.48	32.16± 9.15	＜0.05
10	45.9	42.08±12.92	56.29± 5.36	＜0.05
11	52.1	27.85± 7.84	37.96± 5.90	＜0.05
12	60.3	30.52± 9.80	19.47± 9.68	＞0.05
13	74.8	9.12± 4.94	10.04± 2.24	＞0.05

流动相比例、流动相梯度、体积流量、柱温等进行了考察，根据色谱峰的出峰情况及内源物质的干扰情况，优化了色谱条件。

根据淫藤骨痹康方总萜在给药后入血成分及代谢产物的变化情况，考察了给药次数、给药剂量、取血时间、样品分析方法等，建立了研究总萜体内代谢分析的条件，即给予 12 倍临床剂量的药物，给药 3 次后 1.5 h 取血，获取血浆样品进行分析。给药次数考察中，给药 3 次后的代谢色谱峰多且稳定，这与中药通常服用 3～5 d 达到稳态血药浓度相符合；同时，萜类成分具有较高的脂溶性，在血液中的分布较低，所以经过多次给药累积后，血药浓度提高而达到液相色谱检测的要求。取血时间考察中，末次给药 1.5 h 后取血的血样色谱峰的强度与色谱峰的峰型均较好，可能主要成分在 1.5 h 时达到 C_{max}。

通过 5 个批次的药物给药，建立淫藤骨痹康方总萜在 2 种不同生理条件下的代谢特征指纹图谱，并对代谢特征峰进行了归属分析。代谢特征峰中，既有原型成分，又有代谢产物或代谢产生的新成分，这些代谢谱的特征色谱峰反映了该处方的药效物质基础。研究中还发现，正常动物血清与血瘀动物血清的 HPLC 色谱图也存在差异，表明不同生理条件下血液中的内源性物质不同。

通过对淫藤骨痹康方总萜在 2 种不同生理条件下的代谢特征指纹图谱的比较，获取到了 2 种不同生理条件对总萜的代谢差异性。差异性分析表明，与正常生理条件下相比，血瘀条件下共有峰的数量较多，大部分共有峰的峰面积较大（P＜0.05），表明血瘀条件下大部分代谢成分的浓度高于正常生理条件下的浓度。急性血瘀模型是通过注射肾上腺素结合冰冻使血液处于浓、黏、稠、聚状态，造成大鼠的血液黏度增高，血流速度减慢[13]，导致机体缺血缺氧，从而使机体不能正常代谢药物，使血瘀证动物体内血药浓度增高；同时血瘀证可使肝药酶 CYP3A4 的活性下降，CYP1A2 的活性增加[14]，导致受肝药酶 CYP3A4 代谢的药物代谢减少，而受肝药酶 CYP1A2 代谢的药物代谢增加，从而使药物成分或代谢产物在血瘀证动物体内出现浓度增高或下降的现象。另外，血瘀与炎症具有相关性。血瘀时，炎症因子（IL-6、INF-α 等）增加[15]，而这些炎症因子可以下调 p-gp 的表达[16-17]，当药物成分的胃肠道吸收受 p-gp 外排的影响时，在血瘀证下药物的外排减少，吸收增加，从而导致血药浓度增加。药物代谢的强弱与程度影响代谢产物峰的数目与峰型，药物吸收量的多少影响原型药物成分色谱峰的大小。而本研究中，淫藤骨痹康方总萜中的大部分成分在血瘀浓度较高，可能受到上述因素的影响，导致体内有一定程度的蓄积，从而增强其活血止痛作用，这在代谢成分的角度上初步阐明了其活血作用药效物质。

参考文献

[1] Fan G, Zhu Y, Guo H, *et al*. Direct vasorelaxation by a

novel phytoestrogen tanshinone II_A is mediated by nongenomic action of estrogen receptor through endothelial nitric oxide synthase activation and calcium mobilization [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2011, 57(3): 340-347.

[2] Wu G B, Zhou E X, Qing D X. Tanshinon II (A) elicited vasodilation in rat coronary arteriole: roles of nitric oxide and potassium channels [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 617(1/3): 102-107.

[3] Chen T H, Hsu Y T, Chen C H, *et al*. Tanshinone II_A from *Salvia miltiorrhiza* induces heme oxygenase-1 expression and inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide expression in RAW 264. 7 cells [J]. *Mitochondrion*, 2007, 7(1/2): 101-105.

[4] 唐 涛, 郭伟强, 王 珏, 等. 丹参酮 II-A 在 RAW264. 7 细胞系中的抗炎症作用机制 [J]. 生物技术通讯, 2007, 18(1): 51-53.

[5] 杨蒙蒙, 佟 丽, 陈育尧. 南蛇藤乙醇提取物抗炎镇痛作用的实验研究 [J]. 中医药刊, 2005, 23(1): 51-52.

[6] 杨蒙蒙, 佟 丽, 陈育尧. 南蛇藤不同提取部位的抗炎作用实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(4): 241-243.

[7] 王元清, 严建业, 李顺祥, 等. 中药复方药效物质基础研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(5): 99-102.

[8] Wang P, Liang Y Z, Zhou N, *et al*. Screening and analysis of the multiple absorbed bioactive components and metabolites of danggui buxue decoction by the metabolic fingerprinting technique and liquid chromatography/ diode-array detection mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(2): 99-106.

[9] 李伟霞, 黄美艳, 唐于平, 等. 大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(12): 1761-1765.

[10] 周建良, 齐炼文, 李 萍. 色谱指纹图谱在中药质量控制中的应用 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 153-159.

[11] 董婉茹, 丁雅光, 荆 雷, 等. 病理及生理状态下的栀子血清药物化学对比研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2270-2274.

[12] 邓远雄, 杨昌华, 牟玲丽. 黄连解毒汤中黄芩苷和汉黄芩苷在糖尿病大鼠体内的药动学 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 227-231.

[13] 和 岚, 蒋文跃, 毛腾敏. 注射肾上腺素模拟“气滞”复制急、慢性血瘀模型初探 [J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(3): 244-246.

[14] Tian Y, Yang Z F, Li Y, *et al*. Pharmacokinetic comparisons of hydroxysafflower yellow A in normal and blood stasis syndrome rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(1): 1-4.

[15] Ma X J, Yin H J, Chen K J. Research progress of correlation between blood-stasis syndrome and inflammation [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2007, 27(7): 669-672.

[16] Schmith V D, Foss J F. Effects of inflammation on pharmacokinetics/pharmacodynamics: increasing recognition of its contribution to variability in response [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2008, 83(6): 809-811.

[17] Petrovic V, Teng S, Piquette-Miller M. Regulation of drug transporters during infection and inflammation [J]. *Mol Interv*, 2007, 7(2): 99-111.