

中药复方天龙通心在大鼠体内的药代动力学研究

林 力, 孙明谦, 苗 兰, 任常英, 林成仁, 刘建勋, 付建华*

(中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091)

摘要: 天龙通心方 (TLTX) 是由红景天、丹参、川芎等 6 味中药组方而成, 临床主要用于气虚血瘀所致的胸痹。为探讨 TLTX 药效物质基础, 并为给药方案提供依据, 给予大鼠 TLTX 后对 7 种成分的血药浓度和药代特征进行了研究。建立了同时检测生物样品中 7 种化合物的高灵敏度 LC-MS/MS 分析方法, 经过对线性、专属性、回收率、准确度、精密度和稳定性考察, 所建立的分析方法符合临床前药代动力学研究要求。灌胃 TLTX 4.5 g·kg⁻¹ 后在大鼠血浆中检出 7 种成分, 并分别在给药后 0.11~4.67 h 达峰。各成分体内含量差异较大, 其中红景天苷的药时曲线下面积明显高于其他成分, 这表明该成分可能是复方中的主要起效成分, 也从体内血药浓度角度说明了红景天为君药的科学性。

关键词: 天龙通心; LC-MS/MS; 血药浓度; 定量分析; 药代动力学

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 04-0575-07

Pharmacokinetics research of Tianlongtongxin formula in rat

LIN Li, SUN Ming-qian, MIAO Lan, REN Chang-ying, LIN Cheng-ren, LIU Jian-xun, FU Jian-hua*

(Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Material Medica, Institute of Basic Medical Sciences, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

Abstract: Tianlongtongxin (TLTX) formula is composed of six Chinese herbs including *Rhodiola rosea* L., *Salviae Miltiorrhizae* Radix et Rhizoma, *Chuanxiong Rhizoma* and so on. It has been mainly used in the treatment of chest-Bi syndrome in the clinics. To investigate the material foundation and provide reference for clinical dosage regimen, the pharmacokinetics of seven components in the rat plasma were studied after oral administration of TLTX. A high sensitive method was established to determine the seven active components from TLTX in rat plasma based on the LC-MS/MS technique. The method met the requirements of preclinical pharmacokinetic study, through the investigation of linearity, specificity, recovery, accuracy, precision and stability. After administration of TLTX at 4.5 g·kg⁻¹ dose, all of the components were detectable in the plasma after 5 min. The concentration peaks were observed at 0.11–4.67 h respectively after administration with great difference in levels. The AUC of salidroside was significantly higher than other components, suggesting it as a main active component in TLTX formula. The observations provide scientific evidence for the rationality of salidroside as monarch drug in the formula.

Key words: Tianlongtongxin; LC-MS/MS; plasma concentration; quantitative analysis; pharmacokinetics

收稿日期: 2016-12-19; 修回日期: 2017-01-06.

基金项目: 国家科技重大新药创制专项资助项目 (2012ZX09103201-049); 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2015CB554405); 国家自然科学基金资助项目 (81173582, 81673587).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-62879814, E-mail: jianhuaffcn@263.net

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1199

天龙通心方 (TLTX) 是在参考大量中医药治疗冠心病心绞痛文献的基础上, 结合临床实践及现代药理研究成果研制的新型现代中药产品。该方由红景天、丹参、川芎等 6 味中药组成, 具有益气活血、通络止痛之功效, 临床用于治疗气虚血瘀所致的胸痹, 症见胸痛胸闷、心悸气短和倦怠乏力。药理研究表明,

该药可明显减轻心肌梗塞程度,使得梗塞面积减小,梗塞区重量减轻,对心肌缺血所致心肌梗塞有明确的保护作用。对天龙通心方中各药味的化学研究及药理研究表明,多酚类成分是主要的心血管活性成分。红景天苷是红景天的主要成分,具有多种心血管药理活性^[1-5]。酚酸类成分则是丹参中的主要成分,具有强抗氧化及抗血小板聚集和血管舒张作用^[6-8]。川芎的最主要酚酸成分为阿魏酸,药理研究也发现其具有抗血小板聚集、抗血栓及降血脂等多种心血管系统活性^[9,10]。

本课题组前期应用 LTQ-Orbitrap 在天龙通心提取物中明确了 33 种主要成分,结合文献和标准品应用 API 4000Q TRAP 定量了其中 18 种成分,包括 8 个皂苷类成分,6 个丹参类成分、3 个红景天类成分和 1 个川芎类成分。为尽可能全面反映整个复方的体内特征,本研究对这 18 种成分进行了大鼠给药后的血浆含量测定预试,结果在阳离子条件下皂苷类成分能够检测很少,阴离子条件下可以完整描绘药代曲线的共有 7 个成分,分别为丹酚酸 A (salvianolic acid A, SAA)、丹酚酸 B (salvianolic acid B, SAB)、紫草酸 (linthospermic acid, LA)、丹参素 (danshensu, DSS)、红景天苷 (salidroside, Sal)、阿魏酸 (ferulic acid, FA) 和迷迭香酸 (rosmarinic acid, RA)。为探讨 TLTX 药效物质基础,并为临床给药方案提供依据,本实验开展了这 7 种入血成分的定量分析方法研究,并对 TLTX 大鼠给药后的血药浓度和药代特征进行了分析。

材料与方法

药品和试剂 对乙酰氨基酚对照品 (含量测定用,批号 100018-200408), SAB 对照品 (纯度 95.4%,批号 111562-201212), DSS 对照品 (纯度 98.1%,批号 110855-201311), Sal 对照品 (含量 99.8%,批号 110818-201206) 和 FA 对照品 (纯度 90.6%,批号 110773-201313), 均购自中国食品药品检定研究院; SAA 对照品 (纯度大于 95%,批号 20131026), RA 对照品 (纯度大于 95%,批号 20131204) 和 LA 对照品 (纯度大于 95%,批号 20131117), 由南京泽朗医药科技有限公司提供。抗坏血酸 (分析纯,批号 20080107), 由国药集团化学试剂有限公司提供; 天龙通心提取物, 由河北涿州东乐制药有限公司提供, 批号 TL20140612, 其中 SAB、SAA、LA、RA、DSS、Sal 和 FA 在提取物中的含量分别为 1.90%、0.14%、0.12%、0.10%、0.19%、0.53% 和 0.02%。流动相用色乙腈、甲醇均为色谱纯, 购自美国 Fisher 公司。流动相用甲

酸, 为美国 J.T. Baker 公司色谱纯产品。

仪器 液相质谱联用仪 (API 4000QTRAP), 配有 Turbo VTM 离子源仓、离子喷雾和大气压电离离子源, 以及 Analysis 1.4.2 数据处理系统, 美国 Applied Biosystem 公司; 高效液相系统为 Agilent 1200 系统配置包括 G1322A 脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1329A 自动进样器 G1316A 柱温箱、G1330B 进样盘温控器和 G1314B 检测器, 美国 Agilent 公司; 台式高速冷冻离心机 (MIKRO 22R), 德国 Hettich 公司。氮吹仪 (Model 18780), 美国 Pierce 公司。

色谱条件 色谱柱为 kinetex C₁₈ 柱, 预柱采用 0.2 μm 过滤筛板, 柱温 10 °C, 进样量为 10 μL, 自动进样器 10 °C, 运行时间 15.0 min。水相为含 0.05% 甲酸的水溶液 (含 10% 有机相), 有机相为甲醇/乙腈等比混合液 (含 0.05% 甲酸), 流速 0.23 mL·min⁻¹, 洗脱比例如下: 0→0.5 min 为 5% 有机相, 1.5→4.5 min 为 65% 有机相, 5.5→15 min 为 5% 有机相。

质谱条件 离子源为 ESI 源, 气帘气体 20 psi (1 psi≈6.9 kPa), 源内温度 600 °C, 源内气体 GS1 为 55 psi, 离子喷射电压 (IS) -4 500 V, 碰撞气 (CAD) Medium, 检测方式负离子检测, 扫描方式选择反应监测 (MRM) 方式, 扫描时间为 80 ms, 用于定量分析的离子对如下所示: m/z 717.2→519.1 (SAB)、 m/z 493.2→295.1 (SAA)、 m/z 537.2→493.2 (LA)、 m/z 359.2→161.0 (RA)、 m/z 197.0→179.0 (DSS)、 m/z 345.1→118.9 (Sal)、 m/z 193.0→133.9 (FA) 和 m/z 149.9→106.9 (IS)。

对照品及内标储备液的制备 取 7 种对照品各约 5 mg, 精密称定, 分别置于 5 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 制得对照品储备液。精密吸取各对照品储备液适量, 加入甲醇分别稀释成 100 μg·mL⁻¹ 的工作液, 待用; 取对乙酰氨基酚对照品约 10.0 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 制得内标储备液。精密量取内标储备液适量, 加乙腈制备内标工作液。

血浆样品处理 精密吸取血浆 50 μL, 转移至 Ostro 96 孔固相萃取板, 加入甲酸溶液 10 μL、抗坏血酸溶液 20 μL 和含有内标的乙腈洗脱液 200 μL, 混匀, Waters 96 孔正压装置加压 5 min (40 psi), 转移全部滤过液, 35 °C 水浴氮气吹干, 加入初始比例流动相液 100 μL, 振荡混匀, 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液进行 LC-MS/MS 分析。

大鼠体内药代动力学研究 健康雄性 SD 大鼠 6 只 (合格证编号 11401500008468), 由斯贝福 (北京)

实验动物科技有限公司提供, 体重 220 ± 20 g。实验前 12 h 禁食不禁水, 实验期间自由饮水, 实验 12 h 后进食。按 $4.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量灌胃给药, 分别于给药后 0.083、0.167、0.333、0.667、1、1.5、2、4、6、8 和 10 h 经大鼠眼眶静脉丛采血约 0.2 mL, 置肝素化离心管中, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 吸取血浆待测。采用 DAS2.0 生物统计学软件对大鼠灌胃给药后的时间-血药浓度数据进行非房室模型 (统计距法) 计算, 并应用 SIMCA-P+ 进行分析。

结果

1 方法学验证

1.1 选择性 取 6 个不同来源的大鼠空白血浆样品、相应空白血浆配制的样品以及天龙通心给药后的血浆样品进行分析, 见图 1。测定结果显示, 待测成分 SAB、SAA、LA、RA、DSS、Sal、FA 和内标的保留时间分别为 5.74、5.85、5.66、5.70、1.84、2.82、5.56 和 2.22 min, 空白血浆在相应时间处没有出峰, 表明该血浆处理方法及测定条件具有专属性, 血浆中的内源性物质不干扰测定。

1.2 标准曲线 实验当日精密吸取各标准品溶液适量, 用空白血浆配制成不同浓度的混标母液。在此基础上加入空白血浆进行逐级稀释, 得到系列标准血浆样品。以每个待测物浓度为横坐标, 待测物与内标物的面积比值为纵坐标, 用加权最小二乘法进行回归运算, 求得的直线回归方程即为标准曲线。各成分在血浆中的典型标准曲线为: RA, $y=0.024x+0.00347$ ($r=0.9961$, 线性范围 $1.25 \sim 80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); SAB, $y=0.007x+0.00405$ ($r=0.9952$, 线性范围 $2.5 \sim 160 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); LA, $y=0.009x+0.00574$ ($r=0.9978$, 线性范围 $1.25 \sim 80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); FA, $y=0.018x+0.00178$ ($r=0.9983$, 线性范围 $2.5 \sim 160 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); SAA, $y=0.013x+0.00217$ ($r=0.9963$, 线性范围 $5 \sim 320 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); DSS, $y=0.006x+0.00124$ ($r=0.9976$, 线性范围 $5 \sim 320 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); Sal, $y=0.002x+0.014$ ($r=0.9987$, 线性范围 $25 \sim 1600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

1.3 定量下限 实验配制成浓度为 LLOQ 的血浆样品 6 份, 按“血浆样品处理”项下依法操作, 进样 $10 \mu\text{L}$, 进行 LC-MS/MS 分析。测定结果显示, RA 的定量下限为 $1.25 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密密度为 12.18%; SAB、LA 和 FA 的定量下限均为 $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密密度分别为 5.01%、9.21% 和 9.26%; SAA 和 DSS 的定量下限均为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密密度分别为 10.37% 和 9.67%; Sal 的定量下限为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 精密密度为 6.62%。

1.4 精密度和准确度 取大鼠空白血浆, 配制 RA (4 、 100 、 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)、SAB/LA/FA (5 、 20 、 $80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)、SAA/DSS (10 、 40 、 $160 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 Sal (50 、 200 、 $800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 低、中、高 3 个浓度的质量控制 (QC) 样品, 按“血浆样品处理”项下操作, 平行操作 5 样本, 测定 3 天, 根据当日标准曲线, 分别计算 QC 样品的测得浓度, 计算测定方法的批内和批间精密密度。与配制浓度对照, 求得测定方法的准确度。结果显示, 各成分的日内精密密度均小于 10%, 日内精密密度均小于 15%, 准确度均在 85.1%~114.6% 内。

1.5 基质效应 取来源不同的空白血浆, 按照“血浆样品处理”项下处理空白血浆, 以此为基质溶液配制低、中、高 3 个浓度血浆基质样品, 同时以初始比例流动相配制 3 个浓度混标溶液作为无基质样品, 以血浆基质样品的各成分峰面积与无基质溶液中该成分之比作为基质效应因子, 考察不同个体基质对各成分的影响, 结果显示, SAA 的基质效应在 128%~141%, 说明血浆基质对其有一定基质增强作用; DSS 和 Sal 的基质效应分别为 72%~75% 和 78%~85%, 存在一定基质抑制作用; 其他成分的基质效应均在 92%~114%, 不存在基质效应。尽管血浆对化合物各成分的基质影响各不相同, 但是各成分的 RSD 在 12.3% 以内, 说明基质影响的个体间差异不大, 表明个体内及个体间的基质效应在校正曲线校正后, 不影响生物样品的准确定量分析。

1.6 回收率 以空白血浆配制成 3 个浓度的质控样品, 每个浓度 5 份样品, 按“血浆样品处理”方法提取样品。同时取空白血浆, 按“血浆样品处理”项下操作, 取上清液配制相同浓度的对照样品 (control)。测定得到质控样品与相应浓度的对照样品的峰面积 (A), 计算其绝对回收率 ($\text{RE}) = A_{\text{QC}} / A_{\text{control}}$ 。Sal 和 DSS 的回收率最低, 3 个浓度在 54%~59% 之间; SAA 的回收率最高, 在 90%~110% 之间, 其余 5 个成分的回收率均在 60%~73% 之间。

1.7 稳定性 在标准曲线范围内选择低、中、高 3 个浓度, 以大鼠血浆配制成相应标准样品溶液, 同时配置标准曲线, 分别进行 0 h 点 (配制后立即按照“血浆样品处理”项下方法处理) 分析, 在冰浴中血浆放置 2 h 后再按照“血浆样品处理”项下方法处理后分析, 将处理后样品在进样器放置 12 h 后分析, 每个浓度 5 份样品。以随行标准曲线计算的样品浓度与标识浓度的偏差 (RE%) 考察样品放置稳定性。结果显示, 各成分在室温放置后所有样品测量值的均值与标识比较的相对偏差均小于 12.55%, 表明上述

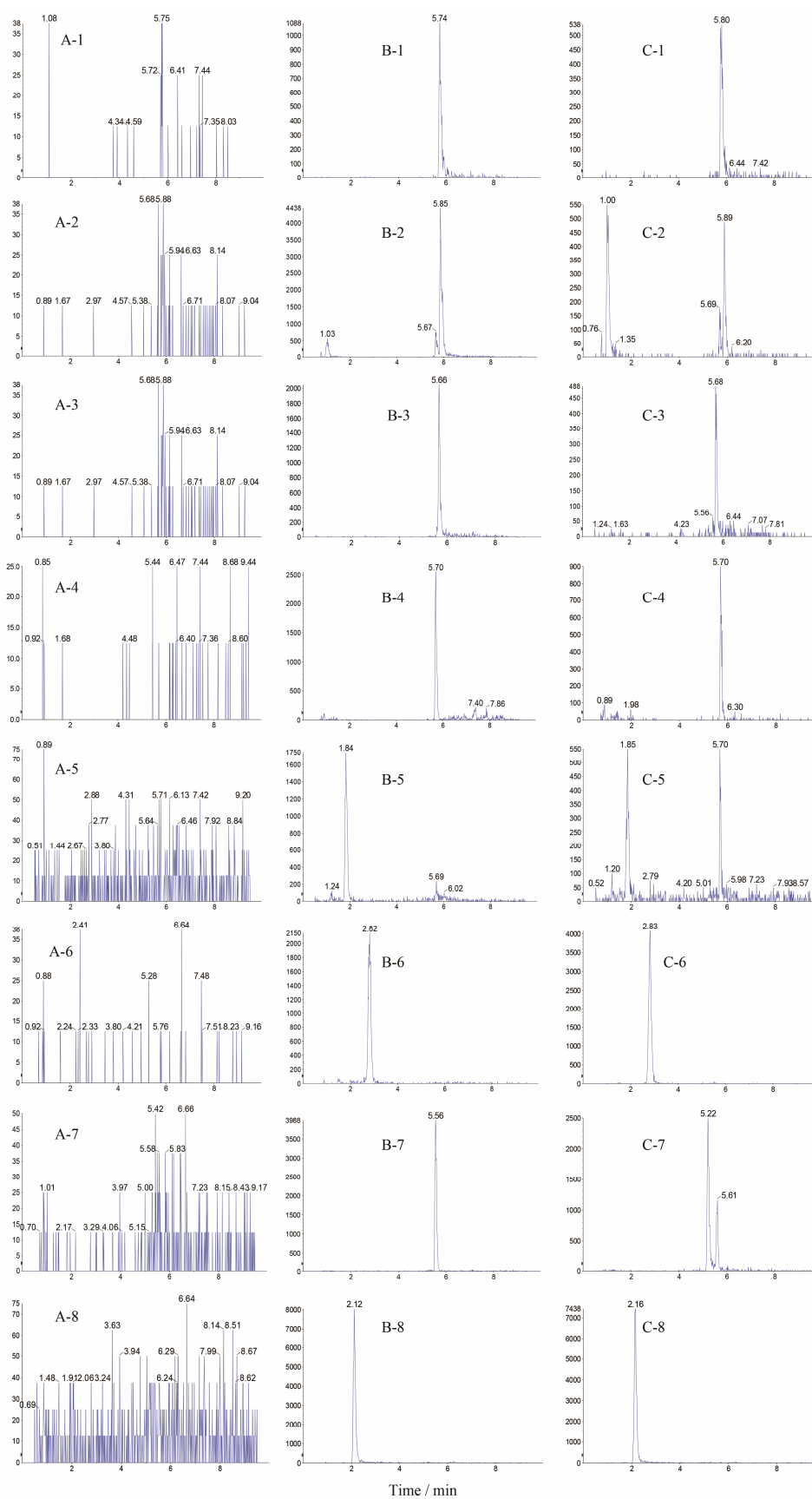


Figure 1 Typical MRM chromatograms of seven compounds and IS in rat plasma. A: Blank plasma; B: Blank plasma spiked with 20 ng·mL⁻¹; C: Plasma sample at 10 min obtained from a rat after an oral administration of Tianlongtongxin extract. 1: Salvianolic acid B; 2: Salvianolic acid A; 3: Linthospermic acid; 4: Rosmarimic acid; 5: Danshensu; 6: Salidroside; 7: Ferulic acid; 8: IS

放置及处理条件下样品稳定, 可以满足测定要求。

2 大鼠血浆样品分析

用本文建立的方法对大鼠给药后不同时间点血浆样品进行测定, 结果显示, TLTX 给药后 5 min 即有成分吸收入血, 除 FA 外其他成分均可在给药 10 h 后被检出, 但各成分浓度差异很大, 其中含量最高的为 Sal, 其次为 DSS、LA 和 SAB, 含量最低的为 SAA、FA 和 RA, 各成分在给药剂量下的时间-浓度曲线见图 2。

3 入血成分药代分析

依据 LC-MS/MS 分析获得这 7 种入血成分血药浓度数据, 应用非房室模型方法计算药代动力学参数, 评价 TLTX 主要成分在大鼠体内的药代动力学参数, 分析结果见表 1。总体来看, 除了 Sal, 大鼠血浆

中其他待测成分含量均不高, 最大血药浓度不过几十纳克, 有的甚至为几个纳克; 从达峰时间来看, FA 和 SAB 在大鼠体内达峰最快, 其次为 RA、Sal、DSS 和 SAA, LA 为达峰最晚的成分。从体内暴露量来看, Sal 在大鼠血浆中的 AUC 最大, 远高于其他成分 (10 倍以上), 但其在提取物中的含量不及 SAB 的 1/3, 表明前者具有更好的生物利用度。

将每只实验动物的药代参数进行 min-max 标准化后, 使用 SIMCA-P+ 12.0 软件对不同成分进行数据分析, 所得 PCA 二维得分图见图 3A, 结果显示, 待分析样本数据的空间分布明显不同, 可以清晰地分为 Sal 组 (蓝色) 和其他组 (红色), 这说明 Sal 药代参数与其他 6 个成分药代参数有明显差异。对其他 6 个成分药代参数的进一步分析发现 (图 3B), 这 6 组

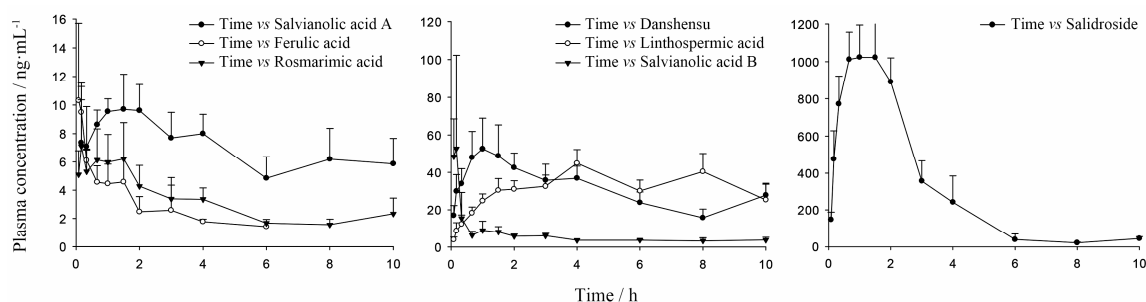


Figure 2 Mean plasma concentration-time curve of 7 compounds in rat after a single oral administration of Tianlongtongxin extract (TLTX) at a $4.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ dose. $n=6$, $\bar{x} \pm s$

Table 1 Pharmacokinetic parameters of 7 compounds in plasma after oral administration of TLTX in rats. $n=6$, $\bar{x} \pm s$

Parameter	K_e	$t_{1/2} / \text{h}$	T_{\max} / h	$C_{\max} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{AUC}_{0-t} / \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{MRT}_{0-t} / \text{h}$
Salviaolic acid A	0.09 ± 0.03	8.58 ± 2.17	1.50 ± 1.41	10.79 ± 1.98	68.93 ± 10.14	13.58 ± 3.58
Ferulic acid	0.55 ± 0.26	1.64 ± 0.98	0.11 ± 0.04	11.02 ± 4.98	13.25 ± 3.90	2.66 ± 1.65
Rosmarimic acid	0.17 ± 0.03	4.08 ± 0.72	0.53 ± 0.58	8.23 ± 3.03	30.48 ± 6.63	7.51 ± 2.33
Danshensu	0.17 ± 0.04	4.34 ± 1.00	1.19 ± 0.48	54.62 ± 15.83	305.96 ± 51.23	8.59 ± 1.69
Linthospermic acid	0.10 ± 0.03	7.94 ± 7.94	4.67 ± 1.63	45.37 ± 7.09	325.35 ± 37.06	12.92 ± 3.32
Salviaolic acid B	0.14 ± 0.06	5.84 ± 2.86	0.11 ± 0.04	67.60 ± 41.21	54.91 ± 11.44	8.04 ± 3.82
Salidroside	0.70 ± 0.28	1.14 ± 0.47	1.08 ± 0.56	$1\ 083.00 \pm 191.89$	$3\ 036.92 \pm 509.29$	2.16 ± 0.39

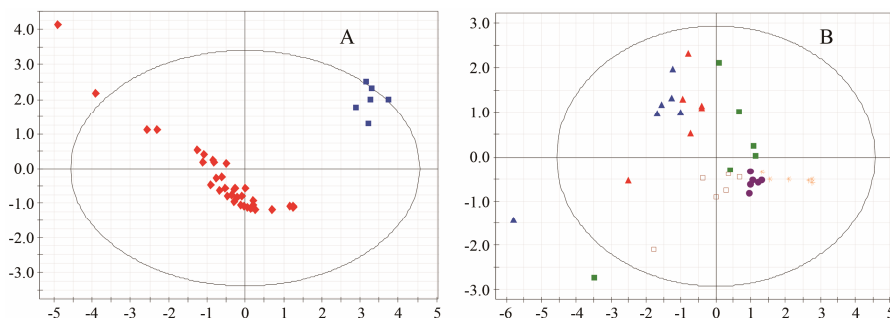


Figure 3 PCA score plots of different components of TLTX. A: Seven components, salidroside-blue, other six components-red, $R^2=0.814$, $Q_2=0.412$; B: The other six components without salidroside, salviaolic acid B group-green, danshensu group-red, linthospermic acid group-blue, salviaolic acid A group-brown, rosmarimic acid group-purple, ferulic acid group-yellow, $R^2=0.727$, $Q^2=0.073$

样品的空间分布比较相近,且个体差异较大。

讨论

中药复方中所含化学成分种类多、含量低,进入体内后血浆的情况更为复杂,因此尽可能检测描述中药复方体内动力学过程,将有助于阐释复方的物质基础和作用机制。然而实验对象大鼠血量有限,连续动态多点取血方式下每个时间点取血不宜过量,否则会使大鼠短时间失血过多而影响实验结果。但通常中药复方中所含成分不仅含量低,而且化学属性差异大,为保证检测灵敏度需要对每类化合物进行针对性的条件优化,或至少针对正负离子两种检测模式进行优化,这就需要更多的血浆样本进行检测。鉴于此,作者尝试对血浆样品进行“一次处理、多次测定”的方法,即在血容量有限的前提下,优化血浆样品处理方法使其尽可能在一次处理后能够满足不同检测的需要,该方法不仅能在保证待测分析化合物数量的同时还能减少所需血浆体积,同时也节约了大量样品处理时间和成本。本研究根据预实验拟定每个时间点大鼠取全血 0.2 mL,分两次从正、负离子两种模式下进行检测。通过对比有机溶媒沉淀、液液萃取和固相萃取 3 种血浆样品处理方法下的离子抑制和回收率,选择了 Ostro96 孔固相萃取板。尽管本次实验由于入血的正离子皂苷类成分含量太低而无法检测,没有进行正离子的方法学研究,但该方法后续在其他中药复方多成分的定量分析检测中体现出优势(结果另文发表)。需要注意的是本方法对待测化合物的稳定性、尤其是后续待测化合物的稳定性有较高的要求。

在 TLTX 的体外研究中共定性定量了 18 个主要成分,但其中 8 个皂苷类成分的总含量仅为 0.02%,再加上该类成分本身吸收差,因此导致给药后在大鼠体内无法检测出皂苷类成分。在对其余 10 个负离子的研究中,大鼠体内能够描述完整药时曲线的共有 7 个成分,本研究在前期工作和文献基础上^[11-13]针对这 7 个成分进行了定量分析方法学和体内药代动力学研究。在对这 7 个成分体内药代参数的 PCA 分析中,可明显地将 Sal 与其他 6 个成分组区分开。从体内行为来看,Sal 达峰快、达峰血药浓度高和半衰期短。由于该成分 AUC 远高于其他成分,且在体内吸收快,文献^[1-5]报道也有多种心血管药理活性,由此表明其可能是复方中的主要起效成分,这也从体内血药浓度角度说明了红景天为君药的科学性。其他

6 个成分的进一步分析虽然没有显著差别,但仍可以看出 DSS 和 LA 的空间分布比较接近,而 DSA、FA 和 RA 的体内药代行为相近,但这 3 个成分入血浓度较低,对复方药效的支撑作用有待进一步研究。

在应用 SIMCA 进行组间差异分析时,采用了统计矩处理方法得到的药代参数作为变量,但缺少稳态分布容积 (V_{ss}) 和清除率 (CL) 两个机体对药物处置过程描述的重要参数。这是因为大多数的中药复方均是口服给药,无法进行静脉给药,缺少相应的生物利用度信息而无法提供相关数据。如果在后期的研究中能够将传统中药复方提高至组分配伍的中药复方,探讨有效成分体内行为的分类将更有意义。

References

- [1] Zhang XK, Shama A, Feng J, et al. Inhibition of hypoxia-induced vascular leakage by salidroside [J]. Med J Natl Defend Forces Northwest China (西北国防医学杂志), 2016, 37: 605–607.
- [2] Wang XJ, Luo X, Zhou JM, et al. Chemical constituents from rhizomes of *Rhodiola wallichiana* var. *cholaensis* and their protective effects on myocardium [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2822–2826.
- [3] Li J, Li JF, Wei TT, et al. Salidroside inhibits myocardial cell apoptosis in acute myocardial ischemia rats [J]. J Clin Pathol Res (临床与病理杂志), 2016, 36: 893–897.
- [4] Zhang MF, Shen YQ. Progress on pharmacological research of cardioprotection by salidroside [J]. Drug Eval Res (药物评价研究), 2017, 40: 125–132.
- [5] Ping Z, Zhang LF, Cui YJ, et al. The protective effects of salidroside from exhaustive exercise-induced heart injury by enhancing the PGC-1 α -NRF1/NRF2 pathway and mitochondrial respiratory function in rats [J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 876825.
- [6] Fei AH, Cao Q, Chen SY, et al. Salvianolate inhibits reactive oxygen species production in H₂O₂-treated mouse cardiomyocytes *in vitro* via the TGF β pathway [J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34: 496–500.
- [7] Tang MK, Ren DC, Zhang JT, et al. Effect of salvianolic acids from radix *salviae miltiorrhizae* on regional cerebral blood flow and platelet aggregation in rats [J]. Phytomedicine, 2002, 9: 405–409.
- [8] Jiang X, Jiang Y, Sun D, et al. Protective effect of magnesium lithospermate B against dextran sodiumsulfate induced ulcerative colitis in mice [J]. Nvtron Toxicol Pharmacol, 2013, 36: 97–102.

- [9] Wang B, Ouyang J, Liu Y, et al. Sodium ferulate inhibits atherosclerogenesis in hyperlipidemia rabbits [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 43: 549–554.
- [10] Ardiansyah, Ohsaki Y, Shirakawa H, et al. Novel effects of a single administration of ferulic acid on the regulation of blood pressure and the hepatic lipid metabolic profile in stroke-prone spontaneously hypertensive rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 2825–2830.
- [11] Zhang Y, Li LQ, Lin L, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion of salidroside in rats [J]. *Planta Med*, 2013, 79:1429–1433.
- [12] Lin L, Liu JX, Zhang Y, et al. Prescription compatibility effect on the major components absorption in Danshen extract and their identification [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 1290–1295.
- [13] Wang SP, Liu L, Wang LL, et al. Simultaneous determination of six hydrophilic components in rat plasma after oral administration of Jitai tablet by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 912: 75–84.