

## 芒柄花素磺酸钠在脑缺血再灌注大鼠体内的药动学研究

王健<sup>1</sup>, 孙瑜<sup>2\*</sup>, 宋丽丽<sup>2</sup>, 庄朋伟<sup>2</sup>, 陈磊<sup>2</sup>, 乔夕<sup>2</sup>, 黎明修<sup>2</sup>, 金宗英<sup>2</sup>, 王美娜<sup>2</sup>

1. 天津市儿童医院, 天津 300074

2. 天津中医药大学, 天津 301617

**摘要:** 目的 建立芒柄花素磺酸钠血浆样品的高效液相色谱 (HPLC) 分析方法, 并应用该方法对正常大鼠和模型大鼠体内的芒柄花素磺酸钠进行药动学分析; 明确芒柄花素磺酸钠在正常、模型大鼠血浆中的吸收分布情况。方法 采用 Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (30:70, 水相中加 0.1% 甲酸), 柱温 30 °C, 进样量 20.0 μL, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 250 nm。制备大鼠脑缺血再灌注模型, 将 SD 大鼠随机分为 10 组, 每组 5 只大鼠。于大鼠脑缺血 1 h 及再灌注 3.5 h 按 20 mg/kg ip 芒柄花素磺酸钠注射液, 并于给药后 15、30、45、60、90、120、150、180、240、300 min 腹主动脉取血。正常组大鼠分别于给药后 5、10、15、30、45、60、90、120、150、180、240、300、480、720 min 内取血。样品经处理后, 采用 HPLC 法检测各时间点血浆中的芒柄花素磺酸钠浓度。采用药动学软件 WinNonLin 6.3 进行数据分析, 计算药动学参数。结果 芒柄花素磺酸钠在 0.25~100.0 μg/mL 线性关系良好。定量下限 RSD 值为 12.15%。日内精密度 RSD 值均 <5.0%, 日间精密度 RSD 值均 <10.0%。提取回收率均 >80%, RSD 值均 <5.0%。芒柄花素磺酸钠在正常大鼠、模型大鼠血浆内药动学参数为:  $t_{1/2}$  分别为 (173.13±13.12) min、(117.86±45.05) min,  $C_{max}$  分别为 (67.23±4.04) μg/mL、(75.22±10.57) μg/mL,  $AUC_{0-t}$  分别为 (2 493.69±216.98) min·μg/mL、(6 094.52±250.81) min·μg/mL,  $V_d$  分别为 (1 981.97±134.12) mL/kg、(484.56±167.93) mL/kg,  $Cl$  分别为 (7.96±0.73) mL min/kg、(2.87±0.14) mL min/kg,  $MRT_{0-t}$  分别为 (76.92±1.54) min、(89.06±0.77) min。结论 应用 HPLC 法测定芒柄花素磺酸钠的血药浓度定量准确、灵敏, 芒柄花素磺酸钠在模型大鼠血浆中吸收的量多, 单位时间内消除的量少, 滞留时间长。

**关键词:** 芒柄花素磺酸钠; 脑缺血再灌注; 血浆药动学; 高效液相色谱法

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2019)05-1285-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.05.004

## Pharmacokinetics of sodium formononetin-3'-sulphonate in cerebral ischemia-reperfusion rat

WANG Jian<sup>1</sup>, SUN Yu<sup>2</sup>, SONG Li-li<sup>2</sup>, ZHUANG Peng-wei<sup>2</sup>, CHEN Lei<sup>2</sup>, QIAO Xi<sup>2</sup>, LI Ming-xiu<sup>2</sup>, JIN Zong-ying<sup>2</sup>, WANG Mei-na<sup>2</sup>

1. Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC analysis method for sodium formononetin-3'-sulphonate plasma samples, and the method was applied to the pharmacokinetic analysis of sodium formononetin-3'-sulphonate in normal rats and model rats. The absorption and distribution of sodium formononetin-3'-sulphonate in plasma of normal and model rats were determined. **Methods** The separation was performed on Venusil MP C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile - water (30 : 70, add 0.1% formic acid to the aqueous phase). Temperature of column was set at 30 °C, and the injection volume was 20.0 μL. The flow rate was 1.0 mL/min, and the detective wavelength was set at 250 nm. Rat cerebral ischemia reperfusion models were established. SD rats were randomly divided into 10 groups, and each group had 5 rats. At the time point of 1 h after cerebral ischemia and 3.5 h after reperfusion, rats were ip administered with sodium formononetin-3'-sulphonate injection 20 mg/kg, and the abdominal aorta blood samples were taken at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, and 300 min after administration. Rats in the normal group were collected

收稿日期: 2018-12-25

基金项目: 天津市卫生和计划生育委员会中医中西医结合科研课题 (2017104)

作者简介: 王健, 男, 主管药师, 硕士, 研究方向为药物分析学。E-mail: kingdom\_80@sina.com

\*通信作者 孙瑜, 研究方向为药物代谢动力学、药理学。E-mail: sunrain806@163.com

the inner canthus blood at the time of 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 480, and 720 min after the administration. Samples were treated, and HPLC method was used to detect sodium formononetin-3'-sulphonate concentration in plasma at different time points. Pharmacokinetic data were analyzed by WinNonLin 6.3 pharmacokinetic software, and pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** A good linearity was shown in the concentration ranges of 0.25—100.0  $\mu\text{g/mL}$  for sodium formononetin-3'-sulphonate, and RSD value of the quantitative limits was 12.15%. The RSD value of inter-day precisions were less than 5.0%, and the intra-day precisions were less than 10.0%. The recovery rate of extraction was over 80%, and RSD value was less than 5.0%. The pharmacokinetic parameters of sodium formononetin-3'-sulphonate in plasma of normal rats and model rats were as following:  $t_{1/2}$  were (173.13  $\pm$  13.12) and (117.86  $\pm$  45.05) min,  $C_{\text{max}}$  were (67.23  $\pm$  4.04) and (75.22  $\pm$  10.57)  $\mu\text{g/mL}$ ,  $\text{AUC}_{0-t}$  were (2 493.69  $\pm$  216.98) and (6 094.52  $\pm$  250.81) min  $\cdot \mu\text{g/mL}$ ,  $V_d$  were (1 981.97  $\pm$  134.12) and (484.56  $\pm$  167.93) mL/kg,  $Cl$  were (7.96  $\pm$  0.73) and (2.87  $\pm$  0.14) mL min/kg,  $\text{MRT}_{0-t}$  were (76.92  $\pm$  1.54) and (89.06  $\pm$  0.77) min. **Conclusion** The determination of sodium formononetin-3'-sulphonate in blood by HPLC is accurate and sensitive. And the amount of sodium formononetin-3'-sulphonate absorbed in the plasma of model rats is large, the amount eliminated in unit time is small, and the retention time is long.

**Key words:** sodium formononetin-3'-sulphonate; cerebral ischemia-reperfusion; plasma pharmacokinetics; HPLC

芒柄花素在抗肿瘤、抗菌、解痉、调血脂、抗心律不齐、改善雌激素水平、抗脂质过氧化和抑制螺旋杆菌等方面有显著作用,并且对脑缺血再灌注后血脑屏障的损伤具有一定修复作用<sup>[1-3]</sup>。目前又合成出水溶性很好的芒柄花素磺酸钠,制成芒柄花素磺酸钠无菌水溶液,为芒柄花素磺酸钠在治疗脑梗死领域的研究提供了条件<sup>[4]</sup>。为了深入进行芒柄花素磺酸钠对脑缺血再灌注后血脑屏障影响的探索,研究其在脑缺血再灌注大鼠体内的药动学过程,本研究以芒柄花素磺酸钠为对象,采用高效液相色谱法测定芒柄花素磺酸钠在正常大鼠和脑缺血再灌注大鼠血浆中的药物浓度,获得药动学参数,以考察其在大鼠体内的吸收药动学过程。

## 1 仪器与材料

UV-2450 紫外分光光度计(日本岛津); LC-2010A HT 高效液相色谱仪(日本岛津), LC solution 工作站(日本岛津); HAC-I 浓缩氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司); Sigma 3K15 低温高速离心机(北京五洲东方科技发展有限公司); 微型漩涡混合仪(海门市麒麟医用仪器厂); FA1004 上皿电子天平(上海精密科学仪器有限公司); ULT2186-6-V49 超低温冰箱[赛默飞世尔科学(阿什维尔)有限责任公司]。

芒柄花素磺酸钠对照品(河北国金药业有限责任公司,质量分数 $\geq 95\%$ ,批号 09092602); 芒柄花素磺酸钠注射液(山东绿叶天然药物研究开发有限公司,规格 5 mL:100 mg,批号 09092602)。肝素钠注射液(天津市生物化学制药厂,规格 2 mL:1.25 万单位,批号 51140704); 乙腈(色谱纯,天津市康科德科技有限公司,批号 150328); 甲酸(分

析纯,天津市化学试剂一厂,批号 20130507); 氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号 A15012304-2); 无水乙醚(天津江天化工技术有限公司,AR/500 mL,批号 20150307)。

SPF 级 SD 大鼠,雄性,初始体质量为(250 $\pm$ 20) g,生产许可证号 SCXK(军)2014-0001,购于军事医学科学院卫生学环境医学研究所。

## 2 方法与结果

### 2.1 脑缺血再灌注动物模型的制备和评价<sup>[5-6]</sup>

采用线栓法。用栓线阻断大鼠大脑中动脉,并于缺血后 60 min 后再灌注。假手术组只分离、暴露血管,不结扎颈总动脉和颈外动脉,不插入栓线。使用多普勒激光血流仪记录大鼠术中脑血流动态变化。术中当栓线阻断大脑中动脉时,脑血流值急剧下降至基础值的 20% 以下,并保留在此水平波动,拔出栓线,脑血流值逐渐恢复到基础水平,表明成功实现再灌注。

### 2.2 血浆样品预处理

取含待测药物的血浆 0.5 mL(肝素抗凝)于离心管中,4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 10 min。取上层血浆 200  $\mu\text{L}$ ,加入乙腈 400  $\mu\text{L}$ ,涡旋 1 min 后离心 10 min,分别取同体积上清液 500  $\mu\text{L}$ ,常温下  $\text{N}_2$  吹干后用 100  $\mu\text{L}$  流动相复溶,涡旋 1 min 后离心,取上清液放入进样小瓶中待测。

### 2.3 动物实验

取 SD 大鼠禁食不禁水 12 h,复制大鼠脑缺血再灌注模型,将 SD 大鼠随机分为 10 组,每组 5 只大鼠。于脑缺血 1 h 及再灌注 3.5 h 按 20 mg/kg ip 芒柄花素磺酸钠注射液,并于给药后 15、30、45、60、90、120、150、180、240、300 min 腹主动脉

取血。正常组大鼠分别于给药后 5、10、15、30、45、60、90、120、150、180、240、300、480、720 min 内眦取血。按“血浆样品预处理”项下方法处理，采用 HPLC 法检测各时间点血浆中的芒柄花素磺酸钠的质量浓度。

## 2.4 方法学评价

**2.4.1 色谱条件** Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (30:70, 水中加 0.1% 甲酸), 柱温 30 °C, 进样量 20.0 μL, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 250 nm, 见图 1。

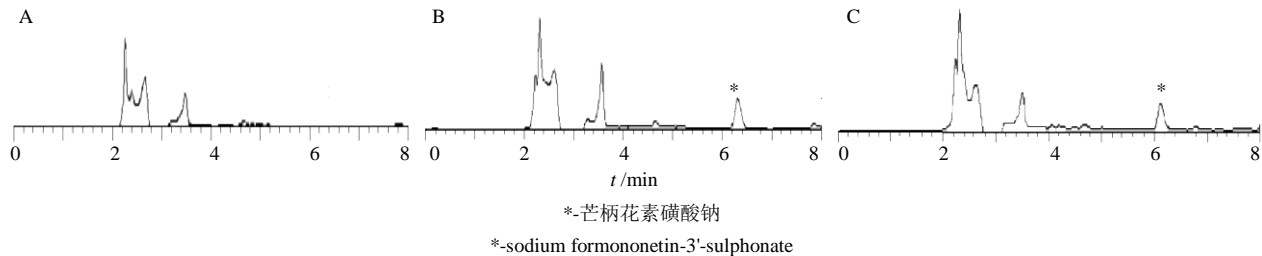


图 1 空白血浆 (A)、芒柄花素磺酸钠+空白血浆 (B) 和给药后血浆样品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of blank plasma (A), sodium formononetin-3'-sulphonate in blank plasma (B), and plasma sample after ip administered with sodium formononetin-3'-sulphonate (C)

**2.4.2 标准曲线制备** 取空白血浆 200.0 μL, 分别加入不同量芒柄花素磺酸钠对照品溶液 (生理盐水配制), 使血浆中芒柄花素磺酸钠浓度分别为 0.25、1.0、5.0、50.0、100.0 μg/mL, 按“血浆样品预处理”项下方法操作。结果显示芒柄花素磺酸钠在 0.25~100.0 μg/mL 线性关系良好, 回归方程为  $Y=69\ 913\ C+49\ 488$  ( $r=0.999\ 9$ )。

**2.4.3 定量下限** 配制 0.05 μg/mL 芒柄花素磺酸钠血浆样品 5 份, 按“血浆样品预处理”项下方法操作, 以芒柄花素磺酸钠峰面积计算 RSD 值为 12.15%, 符合药物临床前药动学研究指导原则定量下限 RSD<20% 的要求。

**2.4.4 稳定性试验** 配制 50.0 μg/mL 芒柄花素磺酸钠血浆样品 3 份, 其中 1 份按“血浆样品预处理”项下方法处理后于室温放置, 分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定; 另两份置 -20 °C 冰箱保存, 分别于第 1、2 天取样测定。结果芒柄花素磺酸钠质量浓度与标准样品比较均在 92.0% 以上, RSD 为 5.68%, 表明芒柄花素磺酸钠待测样品于室温放置 12 h 稳定, 其血浆样品在 -20 °C 冰箱保存 2 d 稳定。

**2.4.5 精密度试验** 配制 5.0、50.0、100.0 μg/mL 芒柄花素磺酸钠血浆样品, 各 5 份, 按“血浆样品预处理”项下方法处理, 并测定药物浓度, 同一浓度每隔一小时测定 1 次, 测 3 次, 进行日内精密度计算; 每隔一天测定一次, 测 3 次, 进行日间精密度计算, 见表 1。结果表明, 在上述 3 种浓度下, 日内精密度 RSD 值均<5.0%, 日间精密度 RSD 值均<10.0%。

表 1 精密度试验结果 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 1 Results of precision test ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

| 质量浓度/<br>(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 日内精密度                          |       | 日间精密度                          |       |
|---------------------------------|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|
|                                 | 测定值/<br>(μg·mL <sup>-1</sup> ) | RSD/% | 测定值/<br>(μg·mL <sup>-1</sup> ) | RSD/% |
| 5.0                             | 4.87±0.23                      | 4.76  | 4.84±0.39                      | 8.12  |
| 50.0                            | 50.10±2.27                     | 4.52  | 50.68±3.08                     | 6.08  |
| 100.0                           | 103.46±4.28                    | 4.14  | 103.78±5.27                    | 5.08  |

**2.4.6 准确度试验** 配制 5.0、50.0、100.0 μg/mL 芒柄花素磺酸钠血浆样品, 按“血浆样品预处理”项下方法处理, 每种浓度各做 5 份, 测定芒柄花素磺酸钠峰面积, 按标准曲线法计算浓度和准确度, 见表 2。结果 3 种浓度样品的准确度在 97.48%~103.46%, RSD 值均<5.0%, 根据药物临床前药动学研究指导原则, 准确度应在 85%~115%, RSD 值应<15.0%, 故符合规定。

表 2 准确度试验结果 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 2 Results of accuracy test ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

| 质量浓度/<br>(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 测定值/<br>(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 准确度/%        | RSD/% |
|---------------------------------|--------------------------------|--------------|-------|
| 5.0                             | 4.87±0.23                      | 97.48±0.046  | 4.76  |
| 50.0                            | 50.10±2.27                     | 100.21±0.045 | 4.52  |
| 100.0                           | 103.46±4.28                    | 103.46±0.043 | 4.14  |

**2.4.7 提取回收率** 配制 5.0、50.0、100.0 μg/mL 芒柄花素磺酸钠血浆样品, 按“血浆样品预处理”项下方法处理, 每种浓度各做 5 份, 以配制的芒柄

花素磺酸钠对照品溶液为标准计算提取回收率, 见表 3。结果 3 种浓度样品的提取回收率均 > 80%, RSD 值均 < 5.0%, 根据药物临床前药动学研究指导原则的要求, 应考察 3 种浓度的提取回收率结果一致、精密和可重现, 故符合规定。

表 3 提取回收率试验结果 (  $\bar{x} \pm s, n = 5$  )

Table 3 Results of absolute recovery test (  $\bar{x} \pm s, n = 5$  )

| 质量浓度/<br>( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | 测定值/<br>( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | 回收率/%         | RSD/% |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|
| 5.0                                             | 4.87 ± 0.23                                    | 82.90 ± 0.034 | 4.16  |
| 50.0                                            | 50.10 ± 2.27                                   | 82.59 ± 0.037 | 4.46  |
| 100.0                                           | 103.46 ± 4.28                                  | 96.34 ± 0.040 | 4.11  |

### 2.5 模型大鼠给药后的血浆药动学

正常大鼠按 20 mg/kg ip 芒柄花素磺酸钠注射液, 测得的血药浓度 - 时间曲线, 见图 4。模型大鼠于脑缺血 1 h 及再灌注 3.5 h 按 20 mg/kg ip 芒柄花素磺酸钠注射液, 测得的血药浓度 - 时间曲线, 结果见图 4。采用药动学软件 WinNonLin 6.3 对数据进行分析, 分别计算药动学参数, 结果见表 4。

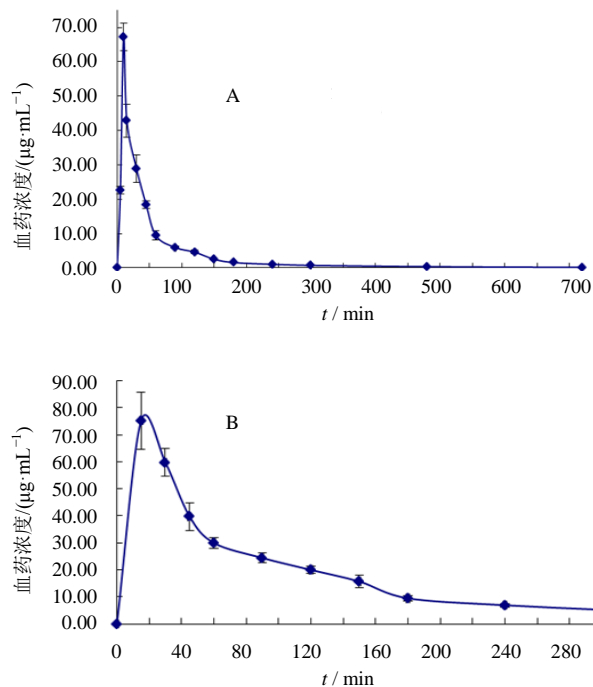


图 4 正常大鼠 (A) 和模型大鼠 (B) ip 芒柄花素磺酸钠注射液后的血药浓度 - 时间曲线 (  $n = 5$  )

Fig. 4 Plasma concentration - time curve after ip administered with sodium formononetin-3'-sulphonate injection in normal rat (A) and model rats (B) (  $n = 5$  )

表 4 正常大鼠和模型大鼠 ip 芒柄花素磺酸钠注射液后的药动学参数 (  $\bar{x} \pm s, n = 5$  )

Table 4 Pharmacokinetic parameters after ip administered with sodium formononetin-3'-sulphonate injection in normal rat and model rats (  $\bar{x} \pm s, n = 5$  )

| 参数               | 单位                                       | 正常大鼠              | 模型大鼠              |
|------------------|------------------------------------------|-------------------|-------------------|
| $t_{1/2}$        | min                                      | 173.13 ± 13.12    | 117.86 ± 45.05    |
| $C_{max}$        | $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$       | 67.23 ± 4.04      | 75.22 ± 10.57     |
| $AUC_{0-t}$      | min · $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | 2 493.69 ± 216.98 | 6 094.52 ± 250.81 |
| $AUC_{0-\infty}$ | min · $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | 2527.78 ± 224.61  | 6 974.49 ± 335.58 |
| Vd               | mL kg                                    | 1 981.97 ± 134.12 | 484.56 ± 167.93   |
| Cl               | mL min kg                                | 7.96 ± 0.73       | 2.87 ± 0.14       |
| $MRT_{0-t}$      | min                                      | 76.92 ± 1.54      | 89.06 ± 0.77      |
| $MRT_{0-\infty}$ | min                                      | 88.88 ± 3.56      | 138.85 ± 26.20    |

### 3 讨论

#### 3.1 给药剂量的选择

根据药物临床前药动学研究指导原则的要求<sup>[7]</sup>, 其中一个剂量应相当于药效学试验有效剂量, 高剂量一般接近于最大耐受量。在预实验中分别以 40、20、10 mg/kg 作为高、中、低剂量组给予大鼠腹腔注射芒柄花素磺酸钠注射液, 而 20 mg/kg 剂量给药后, 大鼠在实验过程中状态正常。兼顾实验仪器的灵敏度和参考相关的研究结果<sup>[8-9]</sup>, 实验将给药剂量定为 20 mg/kg。

#### 3.2 色谱条件的确定

本实验研究是本课题组对于中医经典方剂补阳还五汤进行药动学研究的一部分, 各有效成分原定采取高效液相色谱 - 质谱 (HPLC-MS) 法进行检测; 后考虑芒柄花素为其有效单体成分, 且参阅相关文献报道<sup>[10-13]</sup>, 多数采用 HPLC-UV 法进行检测, 且实验结果准确、操作简便、经济实用。故本实验采用 HPLC-UV 法进行检测。芒柄花素的高效液相色谱检测流动相多为甲醇 - 水或乙腈 - 水。本实验经摸索, 确定流动相为乙腈 - 水 (30 : 70), 水相中又加入 0.1% 甲酸改善峰形, 芒柄花素磺酸钠的保留时间在 6 min 左右, 且与其他杂质峰分离良好, 符合实验要求。

#### 3.3 血浆样品的预处理

为确定血浆样品、脑组织样品配制过程中的蛋白沉淀剂和复溶剂, 本实验对乙腈、甲醇、流动相进行优化研究<sup>[14]</sup>。结果乙腈作为蛋白沉淀剂, 效果较好, 样品回收率最高; 采用流动相作为复溶剂, 对高效液相色谱的检测影响最小。

### 3.4 正常大鼠与模型大鼠给药后的血浆药动学比较

采用 SPSS 19.0 统计软件、单因素方差分析和各组均数  $t$  检验处理对给药后各时间点正常大鼠、模型大鼠的血药浓度 - 时间数据、药动学参数进行统计分析。结果显示, 模型大鼠于脑缺血 1 h 及再灌注 3.5 h 按 20 mg/kg ip 芒柄花素磺酸钠注射后, 各相应时间点测得血药浓度数值均大于正常大鼠血药浓度数值, 可能由于大鼠造模后血液循环不佳, 并且采血方式由目内眦取血改为腹主动脉取血。芒柄花素磺酸钠在模型大鼠与正常大鼠体内药动学行为的差异是其在体内分布、代谢、排泄过程综合作用的结果。研究发现<sup>[15-17]</sup>, 脑缺血再灌注损伤可使大鼠体内某些代谢酶的活性降低, 生物膜转运能力下降, 这可能是造成芒柄花素磺酸钠在模型大鼠体内药动学行为差异的原因。与正常大鼠血浆药动学参数比较, 芒柄花素磺酸钠在模型大鼠血浆内的半衰期  $t_{1/2}$  低, 药峰浓度  $C_{max}$  高, 药 - 时曲线下面积  $AUC_{0-t}$  大, 表观分布容积  $V_d$  小, 清除率  $Cl$  低, 体内平均驻留时间  $MRT_{0-t}$  长, 提示芒柄花素磺酸钠在模型大鼠血浆中吸收的量多, 单位时间内消除的量少, 滞留时间长。

本实验是对芒柄花素在模型大鼠、正常大鼠体内血浆药动学进行探讨, 脑缺血再灌注后血脑屏障遭到破坏, 血脑屏障通透性随时间呈现一定规律性的变化, 对其脑药动学和血浆蛋白结合率等一系列问题还有待于作更加深入的研究。

#### 参考文献

[1] 周瑞娟, 陈红凤, 叶媚娜, 等. 芒柄花素对不同亚型乳腺癌细胞增殖及细胞周期的影响 [J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(9): 1051-1055.  
 [2] 幸奠霞, 刘志高, 薛存宽, 等. 刺芒柄花素雌激素样作用及其与血脂相关性研究 [J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(18): 2340-2342.  
 [3] 顾民华, 洪文, 唐传其, 等. 芒柄花素保护前脑缺血再灌注损伤中的血脑屏障并抑制神经炎症 [J]. 暨南大

学学报: 自然科学与医学版, 2015, 36(1): 34-39.  
 [4] 王秋亚, 孟庆华, 张尊听, 等. 芒柄花素磺化物的合成、溶解性能及降脂保肝活性 [J]. 药理学报, 2009, 44(4): 386-389.  
 [5] 张淑敏. Sul-F 对心肌损伤的保护作用及其机制研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.  
 [6] 杨彬, 余丽娟, 王佳, 等. 全脑缺血/再灌注大鼠皮层  $PGI_2$  和  $TXA_2$  时程变化特征 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(12): 1667-1671.  
 [7] 郑薇. 化学药品和治疗用生物制品研究指导原则(试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 1-21.  
 [8] 王本祥. 现代中药药理与临床 [M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 2004: 963.  
 [9] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 34-36.  
 [10] 崔治家, 李富云, 侯嘉, 等. 甘肃不同产地黄芪芒柄花素的含量测定 [J]. 甘肃中医学院学报, 2012, 29(1): 56-58.  
 [11] 周广为, 慕慧, 李岳锋, 等. 测定红车轴草中刺芒柄花素含量的新方法 [J]. 中药材, 2007, 30(1): 54-56.  
 [12] 李莹, 陈晓辉, 张天虹, 等. RP-HPLC 法测定鸡血藤中芒柄花素的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(12): 975-977.  
 [13] 海力茜, 张焯, 徐建军, 等. HPLC 测定新疆红芪中芒柄花素的含量 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20(5): 433-434.  
 [14] 张君仁, 藏恒昌, 等. 体内药物分析 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 7.  
 [15] He X, Xing D, Ding Y, et al. Effects of cerebral ischemia-reperfusion on pharmacokinetic fate of paeoniflorin after intravenous administration of *Paeoniae Radix* extract in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 94(2-3): 339-344.  
 [16] Yan B, Xing D M, Ding Y, et al. HPLC method for the determination and pharmacokinetic studies on puerarin in cerebral ischemia reperfusion rat plasma after intravenous administration of puerariae radix isoflavone [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 37(2): 297-301.  
 [17] Ma S W, Zhao M, Liu H X, et al. Pharmacokinetic effects of baicalin on cerebral ischemia-reperfusion after iv administration in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(1): 53-57.