

· 药物代谢 ·

黄连解毒汤的组合树脂精制物在脑缺血模型大鼠体内的整合药动学研究

王文哲, 邱碧菡, 周静, 潘林梅*
(南京中医药大学, 南京 210029)

[摘要] 目的:研究黄连解毒汤有效部位(Huanglian Jiedu Tang active fraction, HLJD TAF)在脑缺血模型大鼠体内的整合药动学。方法:采用电凝法阻断大鼠大脑中动脉(MCA),建立脑缺血模型(MCAO),假手术组及模型组灌胃给予黄连解毒汤有效部位(HLJD TAF)后按不同时间点采血,用高效液相色谱法测定小檗碱、巴马汀、黄芩苷、栀子苷在大鼠体内的血药浓度,绘制药-时曲线,建立整合药动学模型。比较单一成分的药动学参数与整合药动学参数的差异。结果:假手术组血浆药物浓度-时间曲线下面积(AUC)_(0-t), C_{max}分别为(17.95 ± 3.18) mg·L⁻¹·h, (1.37 ± 0.51) mg·L⁻¹, 平均驻留时间(MRT)_(0-t), t_{1/2z}分别为(11.19 ± 0.59) h, (68.28 ± 44.56) h;模型组 AUC_(0-t), C_{max}分别为(18.65 ± 1.00) mg·L⁻¹·h, (1.61 ± 0.12) mg·L⁻¹, MRT_(0-t); t_{1/2z}分别为(9.61 ± 0.39) h, (15.04 ± 3.73) h。可知,相对于假手术组,模型组 AUC_(0-t), C_{max}较高, MRT_(0-t), t_{1/2z}较小。说明黄连解毒汤有效部位在脑缺血模型大鼠体内吸收较好,达峰浓度更高;同时代谢加快,在体内停留时间较短。结论:黄连解毒汤有效部位(HLJD TAF)的整合药动学特征与单个成分的药动学特征基本一致。所获参数能够最大程度上表征中药复方多效应成分整体的体内处置规律,为建立中药复方药代动力学研究提供了一种研究方法。

[关键词] 黄连解毒汤;有效部位;抗脑缺血;整合药动

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0154-05

[doi] 10.11653/syjf2013230154

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130924.1434.002.html>

[网络出版时间] 2013-09-24 14:34

Study on Integrated Pharmacokinetics of Huanglian Jiedu Tang Active Fraction Purified by Macroporous Resin in MCAO Rats

WANG Wen-zhe, QIU Bi-han, ZHOU Jing, PAN Lin-mei*
(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the integrated pharmacokinetics of Huanglian Jiedu Tang active fraction (HLJD TAF) in middle cerebral artery occlusion (MCAO) rats. **Method:** MCAO model of rats was established by electrocoagulation, after oral administration with HLJD TAF, the blood samples in sham-operated and model group were collected at different time points. The plasma concentration of four component was determined; Combined with the time-concentration curve, the plasma concentration of components in sham-operated and model group was compared after oral administration. **Result:** Compared to the sham-operated group, area under the plasma concentration time curve (AUC)_(0-t), C_{max} of model group was higher and mean retention time (MRT)_(0-t), t_{1/2z} was short. HLJD TAF had a better absorption and a higher peak concentration in MCAO rats; at the same time, HLJD TAF accelerated the metabolism and had a shorter residence time in the body. **Conclusion:** The integration

[收稿日期] 20130521(020)

[基金项目] 江苏省自然科学基金项目(BK2012855);江苏省高校优势学科:南京中医药大学中医学优势学科开放课题(S2012ZYX310)

[第一作者] 王文哲, 硕士研究生, 从事生物药剂学和中药新药研究, E-mail: zhezhe1234888@126.com

[通讯作者] *潘林梅, 副研究员, 硕士生导师, 从事生物药剂学和中药制备高新技术研究, E-mail: linmeip@yahoo.com.cn

pharmacokinetic characteristics are similar to pharmacokinetic characteristics of a single ingredient in HLJDTAF. The obtained parameters could express the whole characteristics of Chinese herbal compound.

[**Key words**] Huanglian Jiedu Tang; active fraction; anti-cerebral ischemia; integrated pharmacokinetics

黄连解毒汤源于唐·王焘《外台秘要》,由黄连、黄芩、黄柏和栀子组成,为清热解毒代表方。近来多用于治疗脑血管病及脑血管障碍后遗症^[1]。本课题组采用大孔吸附树脂组合结合体外药效筛选的方式^[2],获取了黄连解毒汤有效部位(HLJDTAF),该有效部位保持了原方中主要药效成分的原始比例。对该有效部位进行了初步的药动学研究,以期为黄连解毒汤复方的剂型改进和新药创制提供实验依据。本文主要研究四种指标性成分即小檗碱、巴马汀、黄芩苷、栀子苷^[3-5],考察四种指标性成分在正常和脑缺血病理状态下的各自的体内过程以及整合的药动学过程,以便更全面的表征黄连解毒汤有效部位(HLJDTAF)的体内药代动力学过程。

1 材料

1.1 试剂 栀子苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号110749-200309,供含量测定用);肝素钠(Sigma公司),乙腈(色谱纯,美国默克公司);甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司);水为娃哈哈纯净水;其余试剂均为分析纯;药材购自安徽亳州市中药饮片厂,经本校生药学教研室吴启南教授鉴定,符合《中国药典》2010年版规定。

1.2 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(Agilent 1200 四元泵;DAD 检测器;Agilent 1200 LC 色谱工作站);1411 治疗仪(上海,医疗器械高技术有限公司);MTN-2000 W 氮气浓缩仪(天津,奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.3 动物 SD 大鼠,体质量 250 ~ 280 g(雄),购自南京中医药大学实验动物中心[上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号 SCXK(沪)2007-0005,合格证编号 2007000517427],清洁级,灌胃给药前禁食 12h,自由饮水。

2 方法

2.1 大鼠灌胃药液的制备 按 3:2:2:3 的比例称取黄连、黄芩、黄柏和栀子 4 味组方药材共 240 g,第 1 次加 10 倍量水煎煮 1 h,过滤;药渣再加 8 倍量水煎煮 1 h,过滤,合并两次滤液后浓缩至含生药 0.2 g·mL⁻¹,高速离心,倾出上清液上 1.5 倍生药量的 HPD100-AB-8(2:1)组合大孔吸附树脂柱^[2],16 倍量的 80% 乙醇洗脱。回收溶剂,真空干燥。灌胃

时定量加 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)制成混悬液,按生药 40 g·kg⁻¹的剂量给药^[3],每只大鼠灌胃 3 mL。给药剂量栀子苷,黄芩苷,小檗碱,巴马汀分别为 94.3,104.2,187.3,46.3 mg·kg⁻¹。

2.2 动物模型的制备 动物分组及病理模型的制备按体质量分为模型组和假手术组。模型组参照文献方法^[4-5]对大鼠进行脑缺血手术。先将实验大鼠背部皮下注入 15% 酵母菌悬液 5 mL·kg⁻¹,然后以 10% 水合氯醛麻醉(350 mg·kg⁻¹,ip),用电凝法制备大鼠脑缺血模型。具体操作方法:大鼠侧卧位固定于手术台上,沿右外耳道与右眼外眦连线的中点,垂直于连线切开皮肤约 2 cm,然后沿颞肌中线,依次切断颞肌和咬肌,暴露出颞弓。用咬骨钳除去颞弓,并沿露骨剪开筋膜,暴露出颞前窝。用小牵张器将颞弓和下颌骨的距离撑大,暴露鳞状骨的大部分,在颞骨和鳞状骨前联合的前下方约 2 mm 处开一颅窗,暴露大脑中动脉。分离血管,使之游离。用电刀电凝烧灼嗅束内 1 mm 至大脑下静脉之间的一段大脑中动脉。阻断大脑中动脉后用小块肌肉组织轻敷于颅窗上,给予青霉素注射液,然后逐层缝合伤口,术后回笼饲养。于术后 4 h 后测体温并进行行为学评分,按 Bederson 等^[6]的方法,对动物进行神经症状评分。将体温升高 ≥ 0.8 °C 和行为学评分 ≥ 2 分的大鼠,作为复制成功的热证脑缺血模型。假手术组除不电凝外,其余操作同模型组。

2.3 血浆中小檗碱,巴马汀,黄芩苷,栀子苷测定

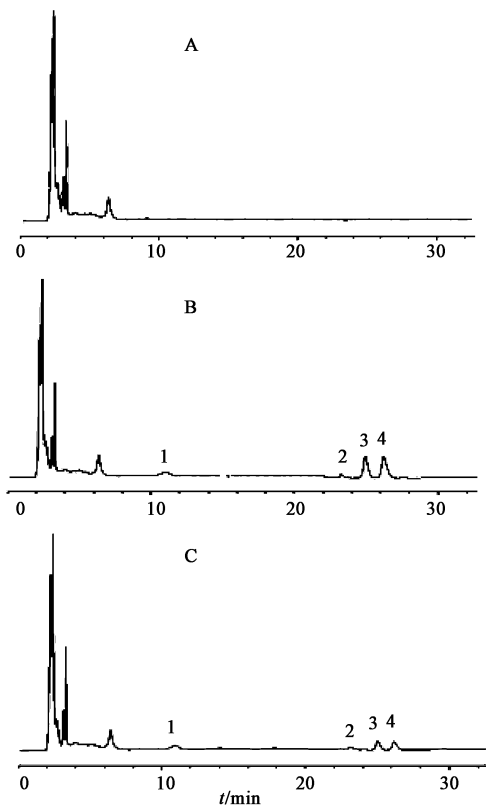
2.3.1 色谱条件 参照文献[2]的色谱条件,测定大鼠血浆样品中小檗碱,巴马汀,黄芩苷,栀子苷的浓度。色谱柱(Agilent,ZORBAX,SB-C₁₈,5 μ m,4.6 mm \times 250 mm);流动相(A)乙腈-(B)0.05% 三乙胺水溶液[12:88 (0 ~ 13 min),26:74 (13 ~ 35 min);磷酸调 pH 3.1];柱温 30 °C;流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 238,280,345 nm。理论塔板数以小檗碱、栀子苷、黄芩苷、巴马汀计算不低于 5 000。

2.3.2 血浆样品的采集与处理 假手术组及模型组大鼠术后 24 h 取空白血浆 0.5 mL 于肝素化试管中。1 h 后灌胃给药,分别于给药后 0.083,0.25,0.5,0.75,1,2,3,4,6,8,12,24 h 眼眶取血 0.5 mL 于肝素化试管中,5 000 r·min⁻¹离心 10 min 取上

清, $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。取抗凝血浆 $100\text{ }\mu\text{L}$, 加入 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 冰醋酸 $50\text{ }\mu\text{L}$, 再加入 $400\text{ }\mu\text{L}$ 无水甲醇沉淀蛋白, 涡旋混匀, $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 取上清液, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下氮气吹干。残留物以 $50\text{ }\mu\text{L}$ 甲醇溶解, 涡旋混匀, 离心后取上清液 $20\text{ }\mu\text{L}$ 进样。

2.3.3 方法学考察

2.3.3.1 专属性 空白血浆、空白血浆加小檗碱、巴马汀、黄芩苷和栀子苷对照品和给药后血浆的色谱图见图 1。小檗碱、巴马汀、黄芩苷和栀子苷对照品的保留时间分别为 $26.143, 25.183, 23.475, 11.037\text{ min}$, 给药 1 h 后血浆样品中小檗碱、巴马汀、黄芩苷和栀子苷的保留时间分别为 $26.187, 25.174, 23.464, 11.113\text{ min}$, 空白血浆在相同保留时间处无吸收峰。



色谱峰:1. 栀子苷;2. 黄芩苷;3. 巴马汀;4. 小檗碱

图 1 空白大鼠血浆(A), 空白血浆 + 混合对照品(B), 给药后 1 h 血浆样品(C)的 HPLC

2.3.3.2 标准曲线的制备 取 7 份空白血浆各 $100\text{ }\mu\text{L}$ 置具塞试管中, 分别加入不同浓度的混标溶液各 $100\text{ }\mu\text{L}$, 配成质量浓度分别为栀子苷 $9.26, 4.63, 2.315, 1.157\text{ }5, 0.578\text{ }8, 0.289\text{ }4, 0.144\text{ }7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 黄芩苷 $9.38, 4.69, 2.35, 1.17, 0.59, 0.29, 0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 巴马汀 $8.3, 4.15, 2.08, 1.04, 0.52, 0.26, 0.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 小檗碱 $10.32, 5.16, 2.58, 1.29, 0.65, 0.32, 0.16\text{ mg}\cdot$

L^{-1} 的样品。按 2.3.2 项下操作, 依法测定, 以峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归计算, 得标准曲线, 其线性回归方程为小檗碱 $Y = 28.26X + 0.890$ ($0.040\text{ }3 \sim 10.320\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 巴马汀 $Y = 30.17X + 2.363$ ($0.032\text{ }4 \sim 8.300\text{ }0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 黄芩苷 $Y = 13.79X - 0.011$ ($0.146\text{ }6 \sim 9.380\text{ }0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 栀子苷 $Y = 20.20X + 1.602$ ($0.144\text{ }7 \sim 9.260\text{ }0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 均 $r > 0.999$ 。4 者最低检测溶度 ($S/N > 3$) 分别为 $0.040\text{ }2, 0.030\text{ }4, 0.146\text{ }3, 0.144\text{ }3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3.3.3 精密度试验 以回收率试验的 3 种质量浓度的混标进行精密度试验, 取 9 份空白血浆各 $100\text{ }\mu\text{L}$ 置具塞试管中, 加入 3 种不同质量浓度的混标溶液各 $100\text{ }\mu\text{L}$, 配制低、中、高 3 种不同浓度的血浆样本 (小檗碱 $2.48, 0.66, 0.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 巴马汀 $2.18, 0.57, 0.19\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 黄芩苷 $2.35, 0.59, 0.15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 栀子苷 $2.32, 0.58, 0.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 每个质量浓度样品 3 份, 按 2.3.2 项下操作, 依法测定, 计算日内和日间精密度。小檗碱、巴马汀、黄芩苷、栀子苷的日内精密度分别小于 $7.55\%, 3.88\%, 8.81\%, 3.73\%$; 日间精密度分别小于 $10.15\%, 12.38\%, 8.42\%, 2.29\%$ 。数据结果表明, $\text{RSD} < 15\%$ ($n = 5$), 当血浆浓度较低时, 日间差异大, 但能满足生物样品测定的要求。

2.3.3.4 提取回收率试验和方法回收率试验 取 15 份空白血浆各 $100\text{ }\mu\text{L}$ 置具塞试管中, 加入不同量的小檗碱、巴马汀、黄芩苷、栀子苷对照品溶液适量, 分别配制低、中、高 3 种不同浓度的血浆样本各 5 份, 按 2.3.2 项下操作, 依法测定, 将各指标成分的峰面积代入标准曲线方程, 计算血浆中各指标成分的质量浓度, 以测得值与加入值之比计算回收率。结果回收率分别大于 $92.31\%, 90.25\%, 91.70\%, 89.59\%$ 。用 4 种指标成分加血浆经萃取处理后的峰面积除以 4 种指标成分的峰面积的比值, 来计算提取回收率。结果提取回收率分别大于 $84.12\%, 85.09\%, 83.62\%, 86.48\%$ 。

2.3.3.5 稳定性 考察了反复冻融稳定性。将加入混标 3、混标 5、混标 7, 3 种不同浓度的标准工作液的空白血浆样品, 放置 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷藏 1 周, 用 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴反复冻融 3 次后处理样品, 解冻后测定, 考察稳定性。结果表明小檗碱、巴马汀、黄芩苷、和栀子苷 4 个指标性成分在大鼠血浆内反复冻融 3 次稳定, 高、中、低 3 种浓度血浆样品的 $\text{RSD} \leq 15\%$ 。

3 结果

3.1 药动学研究 所得大鼠血药浓度数据采用

DAS 2.0 药动学程序软件进行房室模型拟合,结果显示 4 种试药溶液的体内过程均符合二室模型。

采用房室模型统计药动学参数,见表 1。血药浓度-时间曲线见图 2~3。

表 1 4 个指标成分的药动参数比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数	单位	模型组				假手术组			
		小檗碱	巴马汀	黄芩苷	栀子苷	小檗碱	巴马汀	黄芩苷	栀子苷
AUC _(0-t)	mg·L ⁻¹ ·h	24.17 ± 2.02 ¹⁾	16.90 ± 0.88 ¹⁾	5.45 ± 5.85 ¹⁾	23.07 ± 1.42 ¹⁾	20.34 ± 2.77	13.52 ± 2.04	4.36 ± 1.09	10.74 ± 1.90
AUC _(0-∞)	mg·L ⁻¹ ·h	36.26 ± 8.41 ¹⁾	29.83 ± 10.10	9.09 ± 9.63	29.82 ± 4.34	64.39 ± 30.99	23.29 ± 7.81	5.55 ± 0.83	26.05 ± 12.31
MRT _(0-t)	h	9.80 ± 0.55	9.94 ± 0.35 ¹⁾	9.04 ± 0.51	8.34 ± 0.42 ¹⁾	10.87 ± 1.32	10.99 ± 1.26	8.68 ± 1.07	11.29 ± 0.86
MRT _(0-∞)	h	22.55 ± 10.35 ¹⁾	28.19 ± 13.03	27.95 ± 14.53 ¹⁾	15.83 ± 4.67 ¹⁾	58.63 ± 34.09	23.68 ± 6.54	15.98 ± 5.87	31.76 ± 13.06
t _{1/2α}	h	15.28 ± 8.59 ¹⁾	19.83 ± 9.12	20.64 ± 11.43 ¹⁾	11.65 ± 4.22	39.33 ± 23.77	13.72 ± 5.63	10.96 ± 4.73	18.17 ± 10.33
T _{max}	h	2.40 ± 2.07	1.50 ± 1.37	1.50 ± 0.71	1.15 ± 0.49	2.75 ± 2.99	4.40 ± 3.29	1.75 ± 1.35	1.75 ± 0.56
C _{max}	mg·L ⁻¹	2.32 ± 0.59	1.49 ± 0.12	0.74 ± 0.47	3.09 ± 0.63	1.76 ± 0.81	1.29 ± 0.67	0.62 ± 0.33	1.42 ± 0.73

注:与假手术组相比¹⁾P < 0.05(表 2 同)。

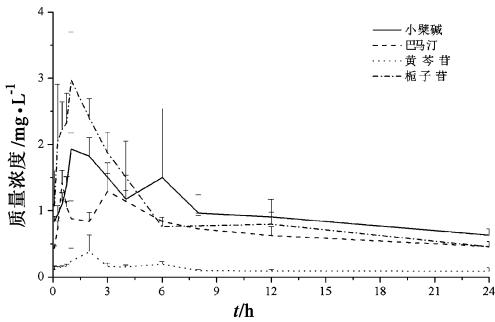


图 2 模型组 4 个指标成分的药-时曲线($\bar{x} \pm s, n = 5$)

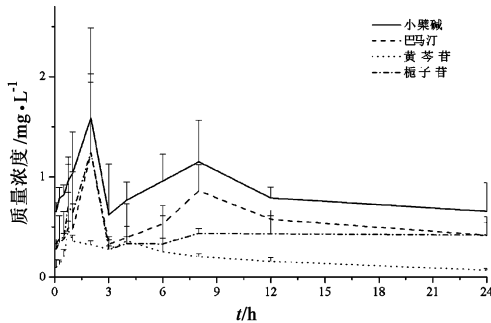


图 3 假手术组 4 个指标成分的药-时曲线($\bar{x} \pm s, n = 5$)

结果表明:①模型组与假手术组相比,4 种指标性成分的药时曲线下面积(AUC)_(0-t)增加,T_{max}提前。即在模型组中,4 种指标性成分的吸收更快,同时吸收效果更好;小檗碱、巴马汀、栀子苷的平均驻留时间(MRT)_(0-t)减小,消除加快,在体内停留的时间变短。黄芩苷的 MRT_(0-t)增大,消除减慢,在体内停留的时间延长。②模型组与假手术组中,小檗碱、巴马汀、黄芩苷的吸收均呈现双峰现象,可能是由于肝肠循环或者其他循环过程(胃-肠循环、肠-肝循环)所致。栀子苷在体内消除的速度很快,但是却始终在体内能够保持一定的浓度,提示栀子苷的药动学过程在大鼠体内具有一定的循环性特征。

3.2 整合 PK 模型的建立 基于曲线下面积(AUC_{0-∞})自定义权重系数的黄连解毒汤有效部位的整合药动学模型的建立^[7-8]:根据各成分在 4 种成分总 AUC_(0-∞)中所占比值自定义各成分在综合浓度中的权重系数,将每一时间点下 4 种成分的血药浓度赋以各自的权重系数,求算黄连解毒汤有效部位的综合浓度,进一步进行整合药动学参数的研究。

$$AUC_{total} = AUC_{berberine} + AUC_{palmatine} + AUC_{baicalin} + AUC_{geniposide}$$

$$W_j = AUC_j / AUC_{total}$$

$$C_{int} = W_{berberine} \times C_{berberine} + W_{palmatine} \times C_{palmatine} + W_{baicalin} \times C_{baicalin} + W_{geniposide} \times C_{geniposide}$$

式中 j 分别代表 berberine, palmatine, baicalin 和 geniposide; W_j 表示上述 4 种成分的 AUC 在 AUC_{total} 中的比值; C_{int} 表示用自定义权重系数校正后在大鼠体内的整合血药浓度(integrated concentration)。

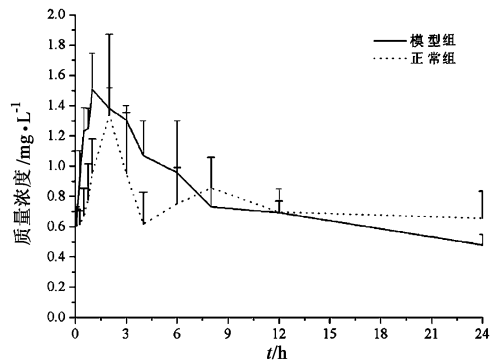


图 4 整合血药浓度($\bar{x} \pm s, n = 5$)

结果表明,相对于假手术组,模型组 AUC_(0-t), C_{max} 较高, MRT_(0-t), t_{1/2α} 较小。说明黄连解毒汤有效部位在脑缺血模型大鼠体内吸收较好,达峰浓度更高;同时代谢加快,在体内停留时间较短,与单一成分的药动学特征基本一致。见表 2。

表 2 整合药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

统计矩参数	单位	模型组	假手术组
AUC _(0-t)	mg·L ⁻¹ ·h	18.65 ± 1.00	17.95 ± 3.18
AUC _(0-∞)	mg·L ⁻¹ ·h	27.89 ± 4.17 ¹⁾	92.33 ± 48.81
MRT _(0-t)	h	9.61 ± 0.39 ¹⁾	11.19 ± 0.59
MRT _(0-∞)	h	21.57 ± 5.01 ¹⁾	101.15 ± 61.15
t _{1/2z}	h	15.04 ± 3.73 ¹⁾	68.28 ± 44.56
T _{max}	h	1.95 ± 2.27	1.80 ± 0.45
C _{max}	mg·L ⁻¹	1.61 ± 0.12	1.37 ± 0.51

4 讨论

黄连解毒汤的药动学研究主要局限于考察单个成分的动力学特征,病理状态下的多成分的整合药动学研究较少。通过单个成分的体内药代动力学特征来说明中药及方剂的药代动力学过程具有一定的片面性。为了比较全面反映中药有效部位或方剂在机体内的整体药代动力学特征,本实验采用整合药动学模型,来表征黄连解毒汤的有效部位在大鼠体内的整体药动学规律。本实验所用的有效部位(HLJDTAF),是采用大孔吸附树脂组合结合体外药效筛选的方式得到的,该有效部位保持了原方中主要药效成分的原始比例,所以基本可以用组合树脂得到的精制物来表征黄连解毒汤复方的体内药动过程。

作者试着把抗脑缺血有效部位在体内的 4 种指标性成分的药动学浓度变化整合起来,建立整合浓度—时间模型,评价有效部位中各指标成分发挥抗脑缺血疗效的整体药动学贡献。结果表明整合药动学特征和单一指标成分的药动学特征基本一致。表明单一指标成分的药动学特征或许可以体现复方的体内过程。但是由于复方药效物质基础研究尚不够明确,加之本文只选择了 4 个有明确抗脑缺血药理作用的指标成分药动学特征来反映复方整体处置规律,研究尚具有一定的片面性,还需要通过建立复方多成分整合药动学/药效学方法,进行更深入、全面的研究。

[参考文献]

[1] 张丽美,李贵海. 黄连解毒汤的药理及临床研究进展 [J]. 时珍国医国药,2007,18(7):1635.

[2] 邱碧菡,李欢,潘林梅,等. 不同大孔树脂组合精制黄连解毒汤复方水提液吸附-解吸动力学比较研究 [J]. 中国中药杂志,2011,36(15):2056.

[3] 闵清,白育庭,舒思洁. 四氢巴马汀对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国误诊学杂志,2007,7(23):5462.

[4] 史以菊,吴俊芳,刘天培. 小檗碱对实验性脑缺血的改善作用 [J]. 南京医科大学学报,1995,15(2):256.

[5] 张占军,汪丽娅,王忠,等. 黄芩苷、栀子苷及其配伍治疗局灶性脑缺血大鼠药效评价及作用机制研究 [J]. 中国中药杂志,2006,31(11):907.

[6] Zeng M F, Pan L M, Zhu H X, et al. Comparative pharmacokinetics of baicalin in plasma after oral baicalin in plasma after oral administration of Huan-Lian-Jie-Du-Tang or pure baicalin in MCAO and sham-operated rats [J]. Fetaterapia,2010,81(6):490.

[7] Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the mode and development of a neurologic examination [J]. Stroke, 1986,17(3):472.

[8] Yao Z B, Li X, Xu Z C, et al. GABAergic and asymmetrical synapses on somata of GABAergic neurons in CA1, CA3 regions of rat hippocampus, A quantitative electron microscopic analysis [J]. Stroke, 1996, 27(8):1411.

[9] Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood flow and histological changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion [J]. Stroke, 1995, 26(9):1037.

[10] 李晓宇,郝海平,王广基,等. 三七总皂苷多效应成分整合药代动力学研究 [J]. 中国天然药物,2008,6(5):377.

[11] 曹小帅,沙美,欧阳强,等. 黄蜀葵花中 4 种黄酮类成分体内整合药动学研究 [J]. 中草药,2010,41(2):255.

[责任编辑 聂淑琴]