

三七总皂苷对脑缺血再灌注后神经元凋亡及凋亡 线粒体途径和 c-Jun 氨基末端激酶表达的影响

唐映红^{1*}, 黄小平², 谭华², 陈北阳², 邓常清²

(1. 湖南中医药大学 药学院 药理教研室, 长沙 410208;

2. 湖南中医药大学 病理生理实验室, 长沙 410007)

[摘要] 目的: 研究三七总皂苷对小鼠脑缺血再灌注后神经元凋亡及凋亡的线粒体途径相关蛋白细胞色素 C (CytC), 半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶-9 (caspase-9), caspase-3 和磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶 (p-JNK1/2) 表达的影响, 探讨其抗脑缺血后神经元凋亡的机制。方法: C57BL/6 小鼠随机分成假手术组、模型组、三七总皂苷组及依达拉奉组, 连续给药 4 d 后结扎双侧颈总动脉造成脑缺血 20 min, 再灌注 24, 48 h, 用 Tunel 法检测神经元凋亡, Western-blot 法检测脑组织 caspase-9, caspase-3, CytC 和 p-JNK1/2 蛋白的表达。结果: 脑缺血再灌注后 24, 48 h, 模型组神经元凋亡率增加, 脑组织 CytC, caspase-9, caspase-3, p-JNK1/2 蛋白表达均显著增强, 与假手术组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。三七总皂苷组神经元凋亡率显著下降, 脑组织 CytC, caspase-9, caspase-3, p-JNK1/2 蛋白表达均显著降低, 与模型组比较, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 三七总皂苷可抑制脑缺血再灌注后神经元凋亡, 其机制可能与其抑制 JNK 信号转导蛋白激活、抑制线粒体凋亡途径有关。

[关键词] 三七总皂苷; 脑缺血再灌注; 细胞凋亡; c-Jun 氨基末端激酶; 细胞色素 C; 半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0129-05

Effect of Panax Notoginseng Saponins on Neuronal Apoptosis and Mitochondrial Apoptosis Pathway Expression c-Jun N-terminal Kinase after Cerebral Ischemia-reperfusion in Mice

TANG Ying-hong^{1*}, HUANG Xiao-ping², TAN Hua², CHEN Bei-yang², DENG Chang-qing²

(1. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Laboratory of Pathophysiology, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Panax Notoginseng Saponins (PNS) on neuronal apoptosis and mitochondrial apoptosis pathway and c-Jun N-terminal kinase (JNK) activation after cerebral ischemia-reperfusion injury in mice. **Method:** C57BL/6 mice were randomly divided into sham-operation group, model group, PNS group and edaravone group. Cerebral ischemia-reperfusion injury was prepared by bilateral common carotid artery ligation for 20 min followed by reperfusion for 24 h and 48 h after drug administration for 4 days. Neuronal apoptosis was determined with Tunel and the expression of p-JNK1/2, cysteine-aspartate protease -9 (caspase-9), caspase-3 and cytochrome C (CytC) protein in brain tissue was detected with Western-blot. **Result:** After cerebral ischemia for 20 min followed reperfusion for 24 and 48 h, the neuronal apoptosis rate was enhanced significantly ($P < 0.01$), the expression of p-JNK1/2, CytC, caspase-9 and caspase-3 protein in brain tissue was increased ($P <$

[收稿日期] 20100510(004)

[基金项目] 湖南省教育厅项目(07C478)

[通讯作者] * 唐映红, 硕士, 教授, 研究方向: 心脑血管药理, Tel: 0731-88458238, E-mail: tyhong62@yahoo.com.cn

0.01) . The neuronal apoptosis rate in the PNS group was significantly lower than that of the model group ($P < 0.01$), the expression of p-JNK1/2, CytC, caspase-9 and caspase-3 protein in PNS group was lower than that of the model group significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion:** PNS could attenuate neuronal apoptosis rate by inhibiting activation of signal transduction of JNK and mitochondrial apoptosis pathway after cerebral ischemia/reperfusion injury in mice.

[Key words] *Panax notoginseng* saponins; ischemia-reperfusion; apoptosis; c-Jun N-terminal kinase; cytochrome C; cysteine-aspartate protease

脑缺血再灌注既可挽救濒临梗死的细胞,又可加重细胞损伤,导致神经细胞死亡。脑缺血再灌注后的细胞死亡除急性坏死外,还会出现细胞凋亡。半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶(cysteine-aspartate protease, caspase)对神经细胞凋亡起关键作用,凋亡的最后实施是通过 caspase 激活而实现的^[1]。细胞凋亡的 caspase 通路按照启动酶活性信号的起源分成线粒体途径、死亡受体途径及内质网途径。三七皂苷(*Panax Notoginseng* saponins, PNS)对脑缺血再灌注有明显的保护作用,可抑制脑缺血再灌注导致的神经细胞凋亡^[2],但 PNS 通过何种机制对抗缺血诱导的神经元损伤,在其作用中由哪条信号转导通路介导,目前尚不清楚。因此,我们从细胞凋亡调控的线粒体途径和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号转导通路研究了 PNS 的作用,以期探讨 PNS 抑制细胞凋亡的分子机制,为其合理应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 C57BL/6 小鼠,雄性,体重 19 ~ 24 g,湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(2009-0004)。饲养于室温 25℃,湿度 45% 的环境。

1.2 药品 PNS 是由五加科植物三七 *Panax notoginseng*(Burk.) F. H. Chen 的主根或根茎中提取的皂苷类成分,购自广西梧州制药(集团)股份有限公司,批号 080628。高效液相色谱(HPLC)分析含 PNS 93.8%,其中含三七皂苷 R₁ 12.5%,人参皂苷 Rg₁ 50.4%,人参皂苷 Rb₁ 30.9%,以 0.5% 羧甲基纤维素钠配制成混悬液。3-甲基-1-苯基-2-吡啶啉-5-酮(依达拉奉),由南京先声东元制药有限公司提供,批号 80-090104。

1.3 试剂 鼠抗小鼠 β -actin 单克隆抗体(批号 SC47778),鼠抗小鼠磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶(phosphorated-c-Jun N-terminal kinase, p-JNK1/2)

单克隆抗体(批号 SC6254),鼠抗小鼠细胞色素 C(cytochrome C, CytC)单克隆抗体(批号 SC13156),兔抗小鼠 caspase-9 多克隆抗体(批号 SC7885),兔抗小鼠 caspase-3 多克隆抗体(批号 SC7148),ECL 化学发光试剂(批号 SC2048)均为美国 Santa Cruz 公司产品。过氧化物酶标记的相应二抗:羊抗小鼠免疫球蛋白 G(IgG),兔抗羊 IgG,羊抗兔 IgG,购自北京中杉生物技术有限公司。原位细胞凋亡 TUNEL 法检测试剂盒购自天津灏洋生物技术有限公司,二辛可宁酸(BCA)蛋白定量试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司。

2 方法

2.1 动物分组和造模 小鼠随机分为假手术组、模型组、PNS(115 mg·kg⁻¹)组及依达拉奉对照组。依达拉奉组 ip 依达拉奉 4 mg·kg⁻¹(10 mL·kg⁻¹),每日 2 次。假手术组、模型组 ig 0.5% 羧甲基纤维素钠 10 mL·kg⁻¹,PNS 组 ig PNS 115 mg·kg⁻¹,于上午给药,每日 1 次,连续 3 d,第 4 天同上给药 1 h 后造成脑缺血再灌注模型。按参考文献[3]方法制备脑缺血再灌注模型,文献报道 C57BL/6 小鼠 Willis 环先天不发达,后交通支发育不全,基底动脉难以向颈动脉系统补充血流,对结扎双侧颈总动脉造成的短暂前脑缺血较其他种系小鼠敏感,因此仅结扎双侧颈总动脉就可造成较完全的前脑缺血。将小鼠双侧颈总动脉夹闭造成脑缺血,20 min 后,恢复血流,维持体温于 37 ~ 38℃。假手术组也进行同样手术,但不行缺血再灌注。缝合皮肤,继续饲养,同前给药。于再灌注 24 h 和 48 h 分别将小鼠断头取脑,去除脑干和小脑后用于测定。

2.2 海马 CA1 区神经元凋亡检测 取视交叉后 1 ~ 4 mm 脑块,10% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,冠状切片,片厚 7 μ m,按 TUNEL 法测定神经细胞凋亡。在光镜下每张切片取 3 个非重叠视野在高倍镜下(10 \times 40)测定,细胞核含棕黄色颗粒者为凋亡阳性

细胞,阴性细胞核为蓝色。记数视野中凋亡细胞和神经细胞总数,计算凋亡率。阴性对照以磷酸盐缓冲液(PBS)代替 TUNEL 试剂。阳性对照的组织切片用细胞球菌的 DNaseI 核酸酶使之产生脱氧核糖核酸(DNA)链缺口。

2.3 p-JNK1/2, CytC, caspase-9, caspase-3 蛋白表达检测 以 Western blot 法测定。取 100 mg 脑组织,加 1 mL RIPA 蛋白裂解液匀浆,冰上裂解 30 min,4 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液。以 BCA 法进行蛋白定量。取含 100 μg 蛋白样品与 1/3 量的 4 × 十二烷基硫酸钠(SDS)凝胶上样缓冲液混合使上样总体积为 20 μL,煮沸变性 5 ~ 10 min,制备 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离胶(CytC 的分离胶浓度为 12%)与 4% 浓缩胶后上样,100 V 电泳分离 2 ~ 3 h,300 mA 恒流 1 h 湿转至 3 cm × 7 cm 的聚偏氟乙烯(PVDF)膜(CytC 用 0.2 nm 膜,余用 0.45 nm 膜)上,用含 5% 脱脂奶粉的三羟甲基氨基甲烷缓冲生理盐水(TBS)溶液封闭 3 h,用含吐温 20 的三羟甲基氨基甲烷缓冲生理盐水(TBST)溶液洗 3 次,每次 10 min。再分别与鼠抗小鼠 β -actin 单克隆抗体(1 1 000),鼠抗小鼠 p-JNK1/2 单克隆抗体(1 500),鼠抗小鼠 CytC 单克隆抗体(1 500),兔抗小鼠 caspase-9 多克隆抗体(1 500),兔抗小鼠 caspase-3 多克隆抗体(1 500)溶液 3 mL 混合,4 静置过夜,TBST 溶液洗 3 次,每次 15 min。然后与辣根过氧化物酶(HRP)标记的相应二抗(1 8 000) 5 ~ 8 mL 室温孵育 1 h,TBST 洗膜 3 次,15 min/次,进行发光反应,X 光胶片曝光、显影、定影、拍摄照片,Image Pro-Plug 6.0 图像分析软件测定目的条带的累积吸光度 A,以 β -actin 为内参照,以目的条带的 A 与 β -actin 条带的 A 的比值作为目的蛋白相对表达量。

2.4 统计学分析 所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用 SPSS12.0 统计软件进行统计分析。多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较方差齐者用 LSD 法,方差不齐者用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 PNS 对脑缺血再灌注小鼠海马 CA1 区神经元凋亡的影响 如图 1 ~ 2,表 1 所示,假手术组海马 CA1 区偶有个别散在的凋亡细胞(图 1A, 2A),再灌注后 24 和 48 h,模型组海马区可见大量凋亡细胞

(图 1B, 2B),凋亡率均显著高于假手术组($P < 0.01$)。与模型组比较,PNS 和依达拉奉组神经元凋亡率均显著降低(均 $P < 0.01$),但 PNS 组神经元凋亡率高于依达拉奉组($P < 0.01$)。

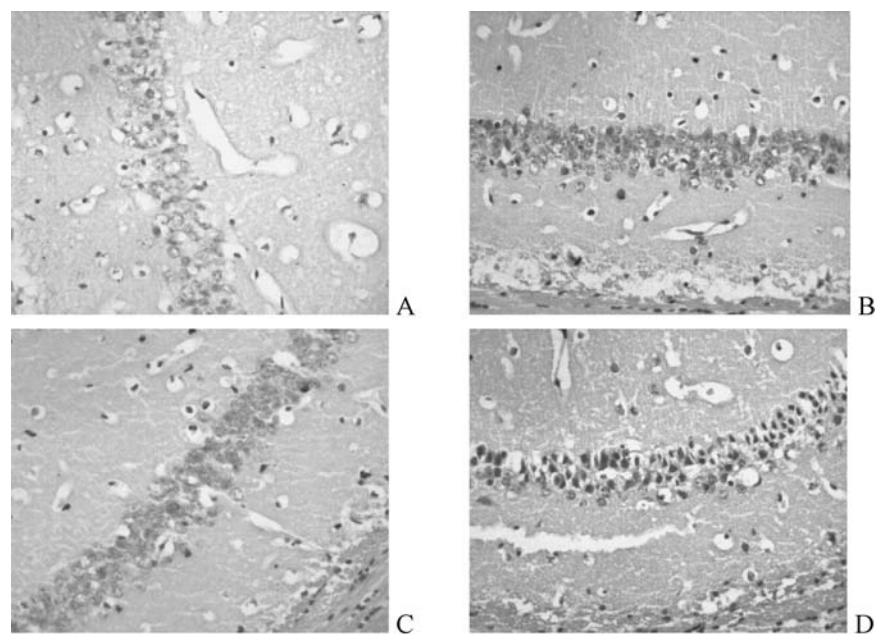


图 1 再灌注 24 h 各组海马 CA1 区 Tund 阳性细胞的比较(×400)
A. 假手术组; B. 模型组; C. PNS 115 mg·kg⁻¹组;
D. 依达拉奉 4 mg·kg⁻¹组(图 2 同)

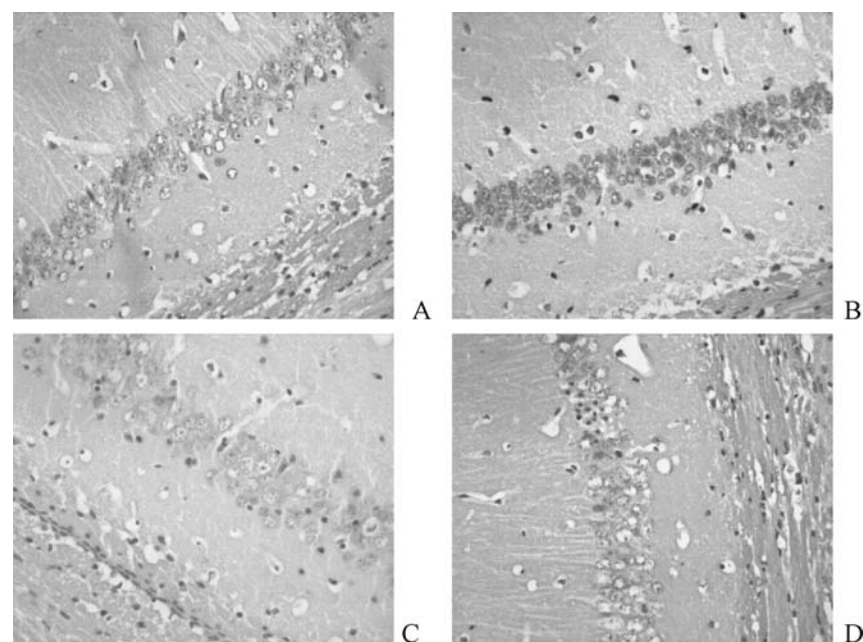


图 2 再灌注 48 h 各组海马 CA1 区 Tund 阳性细胞的比较(×400)

表 1 各组海马 CA1 区神经元凋亡率的比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 剂量 /mg·kg ⁻¹ | 再灌注 24 h 凋亡率 /% | 再灌注 48 h 凋亡率 /% |
|------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 假手术 | - | 0.97 ± 1.09 ²⁾ | 1.20 ± 1.12 ²⁾ |
| 模型 | - | 31.19 ± 1.85 | 31.41 ± 1.91 |
| PNS | 115 | 20.73 ± 1.58 ^{2,3)} | 20.33 ± 1.93 ^{2,3)} |
| 依达拉奉 | 4 | 3.79 ± 0.72 ²⁾ | 4.04 ± 0.63 ²⁾ |

注:与模型组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与依达拉奉组比较 ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

3.2 PNS 对脑缺血再灌注小鼠脑组织 CytC, caspase-9, caspase-3 蛋白表达的影响 如表 2 ~ 3 所示,脑缺血再灌注后 24, 48 h,脑组织 CytC, caspase-

9, caspase-3 蛋白表达均显著升高, 与假手术组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组比较, PNS 和依达拉奉组 CytC, caspase-9, caspase-3 蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); PNS 组与依达拉奉组比较, 差异无统计学意义。

3.3 PNS 对脑缺血再灌注小鼠脑组织 p-JNK1/2 蛋白表达的影响 p-JNK1/2 包括苏氨酸 (Thr) 183 磷酸化的 46 KD 的 JNK1 和酪氨酸 (Tyr) 185 磷酸化的 54 KD 的 JNK2。如表 4 所示, 再灌注后 24, 48 h, 模型组脑组织 p-JNK1/2 蛋白表达均显著升高, 与假手术组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与

模型组比较, PNS 和依达拉奉组 p-JNK 1/2 蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。PNS 组与依达拉奉组比较, 差异无统计学意义。

表 2 各组脑组织 CytC 相对表达量的比较 (̄±s, n=5)

| 组别 | 剂量 /mg·kg ⁻¹ | A _{24 h} | A _{48 h} |
|------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 假手术 | - | 0.122 ±0.078 ²⁾ | 0.202 ±0.050 ²⁾ |
| 模型 | - | 0.364 ±0.104 | 0.320 ±0.065 |
| PNS | 115 | 0.222 ±0.049 ¹⁾ | 0.158 ±0.037 ²⁾ |
| 依达拉奉 | 4 | 0.178 ±0.038 ²⁾ | 0.166 ±0.065 ²⁾ |

表 3 各组脑组织 caspase-9 和 caspase-3 相对表达量的比较 (̄±s, n=5)

| 组别 | 剂量 /mg·kg ⁻¹ | A _{24 h} | | A _{48 h} | |
|------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | caspase-9 | caspase-3 | caspase-9 | caspase-3 |
| 假手术 | - | 0.160 ±0.064 ²⁾ | 0.182 ±0.062 ²⁾ | 0.176 ±0.084 ²⁾ | 0.244 ±0.122 ²⁾ |
| 模型 | - | 0.406 ±0.070 | 0.546 ±0.160 | 0.392 ±0.075 | 0.544 ±0.122 |
| PNS | 115 | 0.262 ±0.058 ¹⁾ | 0.378 ±0.153 ¹⁾ | 0.248 ±0.054 ¹⁾ | 0.350 ±0.096 ²⁾ |
| 依达拉奉 | 4 | 0.172 ±0.098 ²⁾ | 0.204 ±0.113 ²⁾ | 0.200 ±0.141 ¹⁾ | 0.252 ±0.092 ²⁾ |

表 4 各组脑组织 JNK 相对表达量的影响 (̄±s, n=5)

| 组别 | 剂量 /mg·kg ⁻¹ | A _{24 h} | A _{48 h} |
|------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 假手术 | - | 0.180 ±0.060 ²⁾ | 0.176 ±0.073 ²⁾ |
| 模型 | - | 0.568 ±0.087 | 0.426 ±0.064 |
| PNS | 115 | 0.330 ±0.118 ²⁾ | 0.258 ±0.137 ¹⁾ |
| 依达拉奉 | 4 | 0.274 ±0.098 ²⁾ | 0.256 ±0.134 ¹⁾ |

4 讨论

三七有散淤止血, 消肿止痛之功效, PNS 是其主要有效成分, 临床广泛用于缺血性心脑血管疾病^[4-5]。细胞凋亡是脑缺血后迟发性神经元死亡的主要形式。本实验结果显示, 缺血再灌注后 24, 48 h, 缺血脑组织可见大量凋亡细胞, 与文献报道^[2]一致, 表明造模成功。PNS 可抑制脑缺血再灌注后神经元凋亡, 降低凋亡率, 提示 PNS 具有抗脑缺血后神经元凋亡的作用。

CytC 是线粒体起源的细胞凋亡信号, 当凋亡信号传至线粒体时, 引起 CytC 释放, 在腺苷三磷酸 (ATP) / 脱氧腺苷三磷酸 (dATP) 作用下, CytC 与凋亡蛋白酶激活因子-1 (Apaf-1) 的 C 端结合, procaspase-9 (caspase-9 的前体) 与 Apaf-1 的 N 端结合, 此时 ATP/dATP, CytC, Apaf-1, procaspase-9 4 者形成了一个凋亡体。该凋亡体进而激活起始

caspase-9, caspase-9 再以级联放大的方式, 激活下游的效应酶 caspase-3, 导致细胞凋亡^[6]。本实验结果表明, 脑缺血再灌注后 24, 48 h, 脑组织 cytC, caspase-9, caspase-3 蛋白表达均显著增强, PNS 可抑制脑缺血再灌注后 CytC, caspase-9, caspase-3 蛋白表达的升高。表明 PNS 抗脑缺血再灌注神经元凋亡的作用可能是通过抑制线粒体凋亡途径来实现的。

JNK 家族是哺乳动物内发现的第 3 类丝裂原活化蛋白激酶家族, 研究表明在脑缺血再灌注损伤中存在有 JNK 途径的过度激活, 随着 JNK 途径的激活进而诱导神经元细胞发生凋亡^[7]。激活的 JNK 主要通过影响基因表达和线粒体的功能介导细胞凋亡, JNK 能磷酸化并抑制抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2), Bcl-XL 活性, 从而促进线粒体通透性转换孔开放, 使线粒体内的 CytC 释放到细胞浆内, 通过 caspase-9/caspase-3 发挥促凋亡作用^[8]。JNK 特异性抑制剂 SP600125 可抑制脑缺血再灌注引起的海马 CA1 区神经元损伤, 抑制凋亡细胞的产生, 并降低磷酸化 JNK1/2 及磷酸化 JNK3 的活性^[9]。

(下转第 136 页)

原位肠肝灌流模型灌流液的优化研究

王怡薇, 梁日欣, 杨庆, 陈颖, 杨伟鹏, 王彦礼, 翁小刚, 李玉洁, 刘晓霓, 王岚, 朱晓新*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 对大鼠原位肠肝灌流模型的灌流液组成成分进行优化, 以获取最佳灌流液配方。方法: 根据灌流液配方不同, 共分 8 组。观察各组灌流液的 pH、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性, 以及肝、肠干湿重比, 从而比较不同灌流液对肝功能、肝细胞损伤以及组织水肿程度的影响。结果: 第 8 组灌流液(不加红细胞、地塞米松、去甲肾上腺素组)的 pH、LDH、ALT 与第 1 组灌流液(加红细胞、地塞米松、去甲肾上腺素组)相比无显著性差异; 第 8 组灌流液肠干湿重比与正常对照组相比无显著性差异; 结论: 红细胞、地塞米松、去甲肾上腺素对于维持肠肝灌流模型功能无显著影响。

[关键词] 原位肠肝灌流; 乳酸脱氢酶; 丙氨酸氨基转移酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0133-04

自从 1985 年 Pang 等^[1]建立大鼠原位肠肝灌流模型并应用于研究依那普利的吸收、代谢及首过效应以来, 该模型在药代动力学的研究中得到了广泛应用。后经不断完善^[2-6], 该模型日渐成熟。

目前该模型灌流液中主要含有 K-H 缓冲液, 1% 牛血清白蛋白溶液(牛血清白蛋白配成 25% 台氏溶液备用), 3% 右旋糖酐, 10% 大鼠红细胞, 临用前加地塞米松、去甲肾上腺素(分别为 4%, 2%)^[7]。灌流液中加入红细胞、地塞米松、去甲肾上腺素的目的是为了模拟生理环境, 发挥缓冲作用, 维持肝细胞的正常形态、功能并减轻肝、肠组织水肿^[7], 使模型能够较长时间保持活性, 从而观察肝脏的首过效应、对药物代谢的影响等。但是我们在试验中发现, 10% 红细胞、地塞米松、去甲肾上腺素的准备过程非常耗费人力、物力、财力。首先需要抽取多只动物的新鲜全血, 离心制备灌流液中 10% 红细胞, 而红细胞容易发生溶血, 对进一步的指标检测会产生影响。其次地塞米松和去甲肾上腺素为处方药, 必须在医

院急诊病房购买, 而且每次限量供应, 易缺货、断货。以上这些因素都限制了试验的顺利完成。因此, 本试验对灌流液组成成分进行优化, 通过观察比较不同灌流液组成对肝功能、肝细胞损伤情况以及组织水肿程度的影响, 明确红细胞、地塞米松、去甲肾上腺素对于肠肝灌流模型的影响, 以期能够更加顺利、高效的完成实验研究。

1 材料

1.1 药物与试剂 牛血清白蛋白, 批号 20090813; 右旋糖酐, 批号 20090614, 均购自北京科海海军舟有限责任公司; 地塞米松 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 天津金耀氨基酸有限公司, 批号 0908011; 去甲肾上腺素 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 上海禾丰制药有限公司, 批号 091202; 娃哈哈纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司。

1.2 动物 SD 大鼠, 雄性, 体重 250 g 左右, 清洁级, 由中国药品生物制品检定所实验动物资源中心提供, 动物合格证号 scxk(京)2005-0004。

1.3 仪器 BT100-1F 恒流泵(保定兰格恒流泵有限公司); HJ-5 电动加热搅拌器(常州国华电器有限公司); 美的电暖器(广东美的电器有限公司); DZF-6020 真空干燥箱(上海一恒科技有限公司); 日立 7180 自动生化仪(日本), PHS-3BW 酸度计(上海理达仪器厂)。

2 方法

2.1 分组 48 只雄性 SD 大鼠, 随机分为 8 组, 每组 6 只。第 1 组含所有成分即: K-H 缓冲液, 牛血清白蛋白溶液, 右旋糖酐, 红细胞, 地塞米松, 去甲肾上腺素; 第 2 组不含红细胞; 第 3 组不含地塞米松; 第 4

[收稿日期] 2010-07-23

[基金项目] 国家自然科学基金重点课题(30930114); 中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(ZZ20090211); 2008 年度中医药行业科研专项(200807036)

[第一作者] 王怡薇, 助理研究员, 博士, 研究方向: 中药药代动力学研究, Tel: 010-64046469, E-mail: yiwei1231@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 朱晓新, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药药代动力学研究, Tel: 010-64056154, E-mail: zhuxx59@yahoo.com.cn