

注射用血栓通(冻干)透过血脑屏障研究

王旭梅¹, 赵 莼¹, 王少峡^{1*}, 林晓燕², 刘晓雷¹

1. 天津中医药大学中医药研究院, 天津市中药药理学重点实验室, 教育部方剂学重点实验室, 天津 300193

2. 瀚盟生物技术(天津)有限公司, 天津 300457

摘要: **目的** 研究大鼠脑缺血再灌注后, 血栓通主要成分人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Re、Rd 及三七皂苷 R₁ 在脑内的分布状况。**方法** 采用超高效液相色谱质谱联用法(UPLC-MS/MS)测定给予不同浓度的血栓通后, 不同时间点血栓通主要成分在正常脑组织和缺血脑组织中的含量。**结果** 结果表明, 血栓通活性成分在脑缺血大鼠脑中的分布远高于正常大鼠, 并且其在脑内的含量随再灌注时间的延长降低。**结论** 脑缺血再灌注后, 血脑屏障开放, 注射用血栓通(冻干)可以透过血脑屏障发挥作用。

关键词: 注射用血栓通; 血脑屏障; 缺血再灌注; UPLC-MS/MS; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rd; 三七皂苷 R₁

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2015)04-0384-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.04.008

Research on Xueshuantong Injection through blood brain barrier

WANG Xu-mei¹, ZHAO Chun¹, WANG Shao-xia¹, LIN Xiao-yan², LIU Xiao-lei¹

1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300193, China

2. Harmonia Biotechnology (Tianjin) Limited Company, Tianjin 300457, China

Abstract: Objective To study the intracerebral distribution of ginsenosides Rb₁, Rg₁, Re, Rd and notoginsenoside R₁ from Xueshuantong Injection (lyophilized powder) after ischemia-reperfusion. **Methods** Using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), the contents of active ingredients in Xueshuantong Injection in normal brain tissue and ischemic tissue at different drug concentration and time points were measured. **Results** The distribution of active ingredients of Xueshuantong Injection in cerebral ischemia brain was much higher than that of normal ones, and the content of active ingredients in brain reduces with reperfusion prolonged. **Conclusion** Xueshuantong Injection plays its role because blood brain barrier opens after ischemia-reperfusion.

Key words: Xueshuantong Injection; blood brain barrier; ischemia-reperfusion; UPLC-MS/MS; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Re; ginsenoside Rd; notoginsenoside R₁

注射用血栓通(冻干)是从三七根中提取而成, 主要治疗各种血管性和出血性疾病、脑血管病及其后遗症^[1-2], 其主要成分为人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Re、Rd 及三七皂苷 R₁, 其含量比为 22:28:4:5:6^[3-4]。本文建立了运用 UPLC-MS/MS 同时测定脑组织中人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Re、Rd 及三七皂苷 R₁ 含

量的方法, 并对该测定方法进行了方法学验证, 应用此方法检测脑缺血再灌注后脑内药物的含量从而探究药物在脑内分布情况。本实验旨在研究缺血再灌注后血栓通注射液中人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Re、Rd 及三七皂苷 R₁ 在脑内的分布, 为进一步研究血栓通治疗脑缺血的机制提供参考。

收稿日期: 2015-04-03

基金项目: 国家重大新药创制(2012ZX09101201-004); 高等学校博士学科点专项科研基金(20101210110002); 天津市应用基础与前沿技术研究计划(14JCYBJC28900); 广西科学研究与技术开发计划(14125008-2-5)

作者简介: 王旭梅(1987—), 女, 方剂学专业, 硕士研究生, 研究方向为脑血管病。E-mail: lemwrong@foxmail.com

*通信作者 王少峡 E-mail: wangshaoxia1@163.com

1 仪器及材料

1.1 实验仪器

Acquity UPLC 超高效液相色谱仪 (Waters, USA) 与 Quattro Premier XE 三重四级杆质谱仪 (Waters, USA) 联用。Mikro 220R 高速离心机 (S/N 0000346-01-00, Hettich), 氮吹仪 (S/N 21569, Organomation Associates Inc.), XS 205 分析天平 (Mettler Toledo)。

1.2 药品与试剂

试剂: 甲醇 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 甲酸 (色谱纯, MREDA); 乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 水 (Milli Q)。

药品: 人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_d 、三七皂苷 R_1 (均购自天津中新药业集团股份有限公司, 质量分数 98%, 批号 22427390、41753439、52286596、52705938、80418242); 内标: 特非那定 (中国食品药品检定研究院, 批号 100292-200201), 注射用血栓通 (冻干) (250 mg/瓶, 广西梧州制药集团股份有限公司, 批号 Z200025652)。

1.3 动物

雄性 Wistar 大鼠 (250~280 g), 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。动物使用许可证编号: SCXK (京) 2012-0001。

2 分析方法的建立及验证

2.1 色谱及质谱条件

采用 Waters UPLC BEH C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m) 色谱柱, 流动相为 0.1% 甲酸的水溶液 (A 相) - 乙腈 (B 相)。梯度洗脱程序为: 0~1.5 min, 5%~22% (B); 1.5~4.5 min, 22%~60% (B); 4.5~4.6 min, 60%~5% (B), 4.6~7.0 min, 5% (B)。体积流量为 0.3 mL/min, 进样量是 7 μ L。

质谱检测采用电喷雾离子化正离子 (ESI^+) 模式, 多反应监测 (MRM) 方式。检测电压为 3.2 kV, 离子源温度为 120 $^{\circ}C$, 脱溶剂气温度为 300 $^{\circ}C$, 脱溶剂气体积流量为 600 L/h。待测化合物及内标特非那定的检测离子对为: 人参皂苷 R_{g_1} , m/z 823.65→823.65; 人参皂苷 R_{b_1} , m/z 1131.79→365.04; 人参皂苷 R_d , m/z 969.65→789.47; 人参皂苷 R_e , m/z 969.65→789.47; 三七皂苷 R_1 , m/z 955.60→775.45; 特非那定 m/z 472.46→436.46。

2.2 内标及溶液的配制

2.2.1 内标溶液的配制

精密称定特非那定对照品, 用甲醇溶解并配制成 1 mg/mL 的母液, 再用甲醇稀释成质量浓度为 5 ng/mL 的内标溶液备用。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称定人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_d 、三七皂苷 R_1 对照品粉末, 用甲醇溶解并配制成质量浓度为 1 mg/mL 的对照品储备液备用。

2.3 脑组织样本处理

精密称定脑组织样本的质量, 加入 5 倍量生理盐水 (如 0.1 g 组织, 加入 500 μ L 生理盐水), 超声破碎后备用。取脑组织匀浆液样本 50 μ L, 加入 5 μ L 甲醇, 再加入 200 μ L 5 ng/mL 的内标溶液, 涡旋 1 min 后, 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清 200 μ L, 氮气吹干后, 加入 150 μ L 水-乙腈 (50:50) 复溶, 涡旋 1 min 后, 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清进样测定。

2.4 方法的专属性

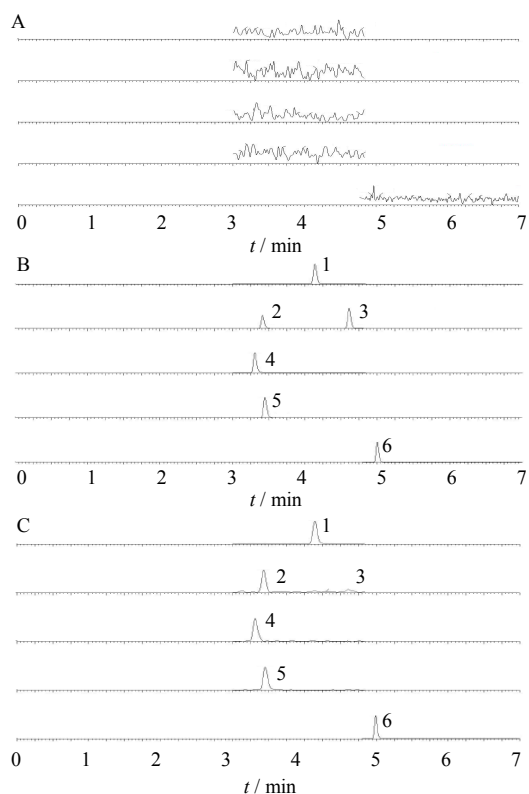
本实验条件下, 内标特非那定的保留时间为 5.0 min, 人参皂苷 R_{b_1} 、 R_e 、 R_d 、 R_{g_1} 的保留时间分别为 4.14、3.42、4.61、3.45 min, 三七皂苷 R_1 的保留时间是 3.31 min。由图 1 可见, 大鼠脑组织中内源性物质不干扰 5 种皂苷类化合物及内标的测定, 方法专属性较好。

2.5 标准曲线和线性范围

取大鼠空白脑组织匀浆液, 分别加入不同量的人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 、 R_e 、 R_d 和三七皂苷 R_1 对照品溶液, 使其成为含待测化合物质量浓度分别为 5、10、20、30、50、100、200、500 ng/mL 的脑组织匀浆样品, 按“2.3”操作, 分别记录样品的峰面积与内标的峰面积。以样品的峰面积与内标的峰面积的比值 (R_i) 对质量浓度线性回归, 得出脑组织基质中 5 种皂苷类化合物的标准曲线。结果表明脑组织样品中 5 种皂苷类化合物的线性方程见表 1, r 均大于或接近于 0.999 0。

2.6 灵敏度

取大鼠空白脑组织匀浆液, 按标准曲线最低浓度点 (5 ng/mL) 的处理方法, 平行处理 6 份样品, 分别记录化合物的峰面积与内标的峰面积。5 种皂苷类化合物的峰面积信噪比 (S/N) 均大于 10, 6 份样品用标准曲线校正的浓度偏差均小于 15.4%。6 份样品中 5 种皂苷类化合物峰面积的 RSD 值均低于 13.8%, 证明该方法中 5 种皂苷类化合物的最低定量限均为 5 ng/mL, 见表 1。证明该方法具有较高的检测灵敏度。



1-人参皂苷 R_{b1}; 2-人参皂苷 Re; 3-人参皂苷 Rd; 4-人参皂苷 R_{g1};
5-三七皂苷 R₁; 6-特非那定
1-ginsenoside R_{b1}; 2- ginsenoside Re; 3-ginsenoside Rd; 4-ginsenoside
R_{g1}; 5- notoginsenoside R₁; 6- Terfenadine

图1 空白脑组织 (A)、空白脑组织中加入人参皂苷 R_{g1}、R_{b1}、Re、Rd 和三七皂苷 R₁ 对照品 (B)、静脉注射血栓通 30 min 后大鼠脑组织 (C) UPLC-MS/MS 图

Fig. 1 UPLC-MS/MS of normal brain tissue (A), normal brain tissue with ginsenosides R_{g1}, R_{b1}, Re, Rd and notoginsenoside R₁ reference substances (B), and brain tissue after 30 min of iv administration of Xueshuantong Injection (C)

2.7 提取回收率和基质效应

取大鼠空白脑组织匀浆液, 分别加入不同量的人参皂苷 R_{g1}、R_{b1}、Re、Rd 和三七皂苷 R₁ 对照品溶液, 配制成各化合物质量浓度为 10、100、400 ng/mL 的样品, 按“2.3”操作, 测定化合物的峰面积。与空白脑组织匀浆液经“2.3”操作处理后再加入相应质量浓度的对照溶液进样测定后的峰面积的进行比值, 得到各化合物的提取回收率。人参皂苷 R_{g1} 高、中、低浓度的提取回收率大于 83.2%, 人参皂苷 R_{b1} 的提取回收率大于 81.4%, 人参皂苷 Re 的提取回收率大于 85.2%, 人参皂苷 Rd 的提取回收率大于 82.9%, 三七皂苷 R₁ 的提取回收率大于 86.8%。

空白脑组织匀浆液按“2.3”方法处理后, 分别加入不同量的人参皂苷 R_{g1}、R_{b1}、Re、Rd 和三七皂苷 R₁ 对照品溶液, 配制成各化合物质量浓度为 10、100、400 ng/mL 的样品, 进样测定后的峰面积与相应浓度的对照品溶液测得的峰面积之比, 得到各化合物的基质效应。人参皂苷 R_{g1} 高、中、低浓度的基质效应在 92.5%~113.4%, 人参皂苷 R_{b1} 的基质效应在 87.5%~102.8%, 人参皂苷 Re 的基质效应在 93.8%~103.1%, 人参皂苷 Rd 的基质效应在 91.3%~117.4%, 三七皂苷 R₁ 的基质效应在 86.8%~99.5%。

2.8 日内及日间精密度

取大鼠空白脑组织匀浆液, 分别加入不同量的人参皂苷 R_{g1}、R_{b1}、Re、Rd 和三七皂苷 R₁ 对照品溶液, 配制成各化合物质量浓度为 10、100、400 ng/mL 的样品, 按“2.3”操作, 测定样品与内标峰面积, 计算 R_i, 代入标准曲线方程, 计算得到相应浓度, 考察日内和连续 3 d 的日间变异情况。结果见表 2。

表1 脑组织样品中 5 种皂苷类化合物的回归方程、线性范围及最低定量限

Table 1 Regression, linear range, and LLOQ of five kinds of saponins in brain tissue

化合物名称	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	最低定量限/(ng·mL ⁻¹)
人参皂苷 R _{b1}	$y=0.004\ 08x-0.000\ 26$	0.998 6	5~500	5
人参皂苷 R _{g1}	$y=0.001\ 01x-0.000\ 10$	0.999 4	5~500	5
人参皂苷 Re	$y=0.000\ 76x-0.000\ 32$	0.997 0	5~500	5
人参皂苷 Rd	$y=0.001\ 40x+0.000\ 10$	0.997 7	5~500	5
三七皂苷 R ₁	$y=0.000\ 97x+0.000\ 12$	0.997 2	5~500	5

表2 大鼠脑组织中人参皂苷 Rb₁、Re、Rd、Rg₁ 及三七皂苷 R₁ 的日内及日间精密度
Table 2 RSD of ginsenosides Rg₁, Rb₁, Re, Rd and notoginsenoside R₁ in brain tissue of rats

化合物	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	日内 (n = 6)		日间 (n = 6)	
		测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%
人参皂苷 Rb ₁	10	9.0	5.0	9.9	7.9
	100	97.9	3.4	103.7	4.9
	400	425.0	2.5	429.9	2.4
人参皂苷 Re	10	9.3	4.9	9.9	8.3
	100	96.0	4.9	102.4	6.2
	400	421.1	2.4	420.6	2.0
人参皂苷 Rd	10	9.7	8.7	10.6	7.1
	100	105.0	4.5	103.7	4.1
	400	430.3	1.7	408.8	9.8
人参皂苷 Rg ₁	10	9.3	9.9	9.8	4.0
	100	95.0	5.2	99.9	4.3
	400	403.3	4.6	410.4	1.6
三七皂苷 R ₁	10	9.2	12.9	9.7	4.3
	100	98.6	3.9	104.9	8.6
	400	422.4	1.1	424.0	0.4

2.9 稳定性实验

取大鼠空白脑组织匀浆液, 分别加入不同量的人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rd 和三七皂苷 R₁ 对照品, 配制成各化合物质量浓度为 10、100、400 ng/mL 的样品, 室温放置 4 h 及冷冻解冻循环 3 次后按“2.3”项方法处理, 测定药物浓度, 考察样品室温放置 4 h 稳定性及冻融稳定性。

取大鼠空白脑组织匀浆液, 分别加入不同量的人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rd 和三七皂苷 R₁ 对照品, 配制成各化合物质量浓度为 10、100、400 ng/mL 的样品, 按“2.3”项方法处理后, 去上清液在 4 °C 放置 12 h 后, 测定药物浓度, 考察样品 4 °C 放置 12 h 稳定性。

稳定性结果见表 3。

表3 人参皂苷 Rb₁、Re、Rd、Rg₁ 及三七皂苷 R₁ 在大鼠脑组织中的稳定性 (n = 3)
Table 3 Stability of ginsenosides Rg₁, Rb₁, Re, Rd and notoginsenoside R₁ in brain tissue of rats (n = 3)

化合物名称	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	室温放置 4 h		反复冻融 3 次		4 °C 放置 12 h	
		测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%
人参皂苷 Rb ₁	10	10.6± 0.3	2.83	10.6± 1.0	9.43	10.6± 0.6	5.66
	100	101.4± 5.9	5.82	105.7± 5.0	4.73	107.3± 3.4	3.17
	400	417.0± 3.6	0.86	403.5± 4.9	1.21	430.3± 17.1	3.97
人参皂苷 Re	10	9.1± 0.3	3.30	10.1± 0.7	6.93	9.6± 0.5	5.21
	100	105.6± 0.9	0.85	106.8± 6.3	5.90	101.4± 4.0	3.94
	400	380.6± 2.9	0.76	376.5± 2.3	0.61	392.3± 3.7	0.94
人参皂苷 Rd	10	9.5± 1.1	11.58	9.9± 1.5	15.15	9.7± 0.5	5.15
	100	89.9± 2.6	2.89	89.4± 3.7	4.14	107.9± 3.0	2.78
	400	348.6± 1.2	0.34	354.2± 5.4	1.52	352.8± 20.3	5.75
人参皂苷 Rg ₁	10	9.0± 0.2	2.22	9.9± 1.0	10.10	9.4± 0.5	5.32
	100	104.0± 3.0	2.88	111.1± 4.5	4.05	108.6± 1.5	1.38
	400	399.5± 5.8	1.45	396.5± 9.6	2.42	409.9± 3.7	0.90
三七皂苷 R ₁	10	9.8± 0.5	5.10	9.6± 0.6	6.25	9.4± 1.2	12.77
	100	109.3± 1.0	0.91	108.1± 2.6	2.41	104.8± 6.0	5.73
	400	408.9± 20.1	4.92	393.4± 29.3	7.45	426.1± 20.2	4.74

3 血脑屏障透过性研究

3.1 方法

取 Wistar 大鼠 30 只, 雄性, 随机分为 5 组。分为对照组 (12 只)、术后 24 h 组 (12 只) 和术后 7 d 组 (6 只)。对照组动物不造模, 分为 2 组, 分别给予注射用血栓通 (冻干) 50、100 mg/kg。其余动物依照 Zea-longa^[5]法复制大鼠中动脉缺血再灌注 (MCAO) 模型。将大鼠麻醉, 取颈部正中切口, 分离右侧颈总动脉 (CCA) 及其分支颈外动脉 (ECA) 和颈内动脉 (ICA), 结扎并切断 ECA 及其分支, 用动脉夹夹闭 CCA 和 ICA, 将栓线由 ECA 断端插进, 沿 CCA 入 ICA, 至大脑中动脉的起始部。造模成功后, 术后 24 h 组于术后 24 h 尾 iv 注射用血栓通 (冻干) 50、100 mg/kg, 术后 7 d 组于术后第 7 天尾 iv 注射用血栓通 (冻干) 100 mg/kg。给药后 30 min 心脏灌流取脑, 取材部位为手术侧纹状体背部的皮质部分。精密称量, -80 °C 保存备用。取脑组织按“2.3”项下方法处理, 进行分析测定脑组织中各化合物的药物浓度。

3.2 结果

由图 2 结果不难看出, 术后 24 h, 模型组的大鼠脑内人参皂苷 Rg_1 、 Rb_1 、 Re 和三七皂苷 R_1 的量比对照组都有增高, 且其含量随着用药剂量的增加呈增加趋势。 Rg_1 可达 1.5 $\mu\text{g/g}$ 组织, 是在正常大鼠脑内浓度的近 15 倍。

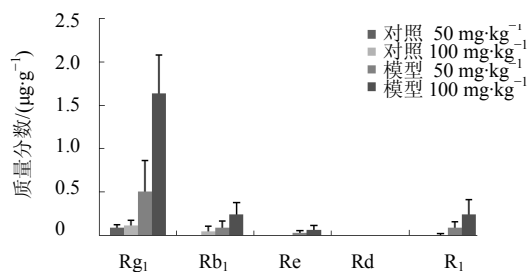


图 2 缺血再灌注 24 h 给药 30 min 后缺血区药物量

Fig. 2 Content of Xueshuantong Injection in ischemic brain tissue iv administered for 30 min after ischemia for 24 h

图 3 是造模后 1 d 和 7 d 给药 30 min 后缺血区的脑内药物含量的比较。可以看出, 造模后, 随着时间的延长, 血脑屏障的功能明显恢复, 其药物透过量明显减少。与图 1 中的对照组相比, 药物透过量还是有明显升高, 说明血脑屏障的功能没有完全恢复。

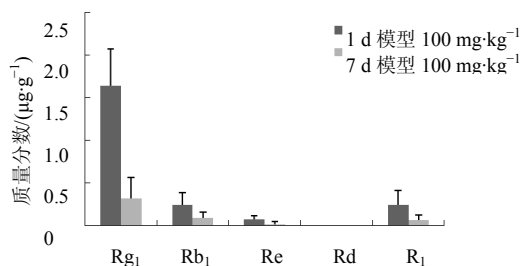


图 3 脑缺血再灌注后 1、7 d 给药 30 min 后缺血区药物量
Fig. 3 Content of Xueshuantong Injection in ischemic brain tissue iv administered for 30 min after ischemia for 1 d and 7 d

这个结果充分展示了血栓通主要成分人参皂苷 Rb_1 、 Rg_1 、 Re 及三七皂苷 R_1 在脑缺血大鼠脑中的含量远高于正常大鼠, 并且其在脑内的含量随缺血时间的延长降低。

4 讨论

4.1 方法学评价

生物样品的前处理方法是关系到检测灵敏度及准确度的关键步骤, 一般生物样本前处理方法包括蛋白沉淀 (PPT)、液液萃取 (LLE) 及固相萃取 (SPE), Feng 等^[6]用固相萃取的方法检测犬血浆中的三七皂苷 R_1 及人参皂苷 Rb_1 和 Rd_1 , 得到较好的灵敏度, 但 SPE 方法成本较高。而传统的 PPT 法虽能满足提取回收率的要求, 但基质效应严重。最终采用传统的蛋白沉淀后, 氮气吹干再用流动相复溶的方法。在得到较高的检测灵敏度的同时, 方法的提取回收率较高, 同时脑组织中的内源性物质不干扰 5 种皂苷类化合物及内标的测定。

建立的脑组织样品中人参皂苷 Rb_1 、 Rg_1 、 Re 、 Rd 及三七皂苷 R_1 同时检测的方法, 专属性良好, 标准曲线的 r 均大于 0.99。日内及日间 RSD 值均小于 15%, 质控样品及稳定性试验均符合要求。

4.2 血栓通 (冻干) 透过血脑屏障研究的意义

李晓宇等^[7]对三七总皂苷多效应成分在正常大鼠体内的药动学进行了研究, 发现单体成分三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 Rg_1 、 Rd 、 Re 、 Rb_1 在大鼠血浆中的药物浓度随着时间的延长降低。何希辉等^[8]发现三七皂苷 R_1 、 Rg_1 在正常和脑缺血 30 min 后再灌注状态下的血液内药动学参数无明显差异。注射用血栓通 (冻干) 主要成分是三七总皂苷, 为三醇和二醇皂苷^[3], 是大分子物质, 研究者发现: 静脉给药后, 人参皂苷原人参二醇型、原人参三醇型均能透过血脑屏障^[9], 且三七皂苷 R_1 和人参皂苷 Rg_1 能够透过

血脑屏障进入大鼠脑脊液^[10]。前人对脑缺血后血脑屏障的通透性进行了一系列研究,证实了脑缺血后的血脑屏障功能破坏,依文思蓝渗入量增加^[11-12]。但是对脑缺血后药物通透性的研究,尤其是大分子药物的通透性研究甚少。本实验就是基于这一理念展开设计。因前人对药物血液内浓度研究甚多^[13-14],本实验仅关注脑内药物含量的变化。

本实验中,模型组中人参皂苷 R_{g1}、R_{b1}、R_e、R_d 及三七皂苷 R₁ 的脑组织浓度均高于对照组,且具有一定的剂量相关性。这也就证实了脑缺血后,血脑屏障破坏,药物的透过性增加,从而更好的发挥其治疗的功效。从缺血后的时间上来看,术后 1 d 脑内各个单体的含量明显高于术后 7 d。术后 7 d 组脑内的单体含量相对对照组来说,仍有升高,表明缺血 7 d 后,因为脑内神经、血管等的再生,促成了血脑屏障的功能恢复,而尚未完全关闭。这更好的解释了治疗脑缺血药物在治疗上的时间窗问题。综上所述,本研究通过 UPLC-MS/MS 法测定脑缺血再灌注后脑内药物浓度,提供相关的参数,为进一步研究血栓通治疗脑缺血的机制提供参考。

参考文献

- [1] 王炎炎,朱会超,许文平,等.注射用血栓通对高脂血症家兔血小板功能的影响[J].中草药,2015,46(3):396-400.
- [2] 王炎炎,朱会超,李来来,等.注射用血栓通体外对家兔血小板聚集的影响[J].中草药,2014,45(18):2669-2672.
- [3] 傅萍,刘仲义.指纹图谱测定注射用血栓通、血栓通注射液及注射用血脉通的化学成分[J].华西药学杂志,2007,22(1):76-78.
- [4] 高增平,陆蕴如,孙伟.血栓通注射液指纹图谱研究[J].中国实验方剂学杂志,2002,8(6):1-3.
- [5] Zea-longa E L, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [6] Feng H Z, Chen W, Zhu C Y. Pharmacokinetics study of bio-adhesive tablet of *Panax notoginseng* saponins[J]. Int Arch Med, 2011, 4(1): 4-18.
- [7] 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):378-381.
- [8] 何希辉,炎彬,潘卫松,等.三七皂苷中 R₁、R_{g1} 在正常和脑缺血再灌注大鼠的动力学变化[J].中药药理与临床,2001,17(6):12-14.
- [9] 孔令提.人参皂苷元的药代动力学研究[D].北京:北京协和医学院,2013.
- [10] 李磊,张丽慧,李智,等.解毒通络方中三七皂苷类成分脑脊液药代动力学研究[J].中国药理学通报,2014,30(1):126-131.
- [11] 刘一沉,王静,高艳,等.局灶性脑缺血再灌注损伤后大鼠血脑屏障通透性的研究[J].中国儿童保健杂志,2009,17(3):309-311.
- [12] 刘式威,刘政华,吕霞,等.脑缺血再灌注损伤对大鼠血脑屏障内皮屏障抗原及通透性的影响[J].第二军医大学学报,2010,31(11):1258-1260.
- [13] 侯宏伟,赵晶.血栓通注射液对缺血性脑血管病血液流变学的影响[J].心血管康复医学杂志,2001,10(6):533-535.
- [14] 刘学华,陈健文,胡黎平.血栓通注射液对犬脑循环的影响研究[J].中国药师,2010,13(12):1755-1756.