

N-硬脂酰酪氨酸的理化性质研究

殷 莎, 唐双奇, 乐可佳, 刘坚华, 杨若林, 沈征武, 谢一凡, 陆 阳*

上海交通大学 医学院 药理学系, 上海 200025

摘要: 目的 表征 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐的理化常数和血浆蛋白结合率。方法 采用摇瓶法及 HPLC-UV 法测定 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐在不同介质和 pH 值下的溶解度、表观脂水分配系数, 采用平衡透析法测定血浆蛋白结合率。结果 *N*-硬脂酰酪氨酸盐的溶解度和血浆蛋白结合率明显优于其原型药物; *N*-硬脂酰酪氨酸的溶解度为 (27.62 ± 0.43) mg/L, 其二钾盐的溶解度为 (51.70 ± 0.29) mg/L; *N*-硬脂酰酪氨酸及其二钾盐的血浆蛋白结合率分别为 20.96%~23.11%、35.41%~40.38%。结论 *N*-硬脂酰酪氨酸成盐后其理化性质得到明显改善。

关键词: *N*-硬脂酰酪氨酸; 理化性质; 血浆蛋白结合率

中图分类号: R913

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2014)08-0859-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.08.007

Physicochemical properties of *N*-stearoyltyrosine

YIN Sha, TANG Shuang-qi, LE Ke-jia, LIU Jian-hua, YANG Ruo-lin, SHEN Zheng-wu, XIE Yi-fan, LU Yang

Department of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Abstract: Objective To characterize the physicochemical parameters and plasma binding ratio of *N*-stearoyltyrosine and its salts. **Methods** The solubility, the apparent partition coefficient of *N*-stearoyltyrosine and its salts in various media, and different pH values were measured via a shake flask method and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV) method. The plasma protein binding ratio was conducted under dialysis equilibrium method. **Results** The solubility and plasma binding ratio of *N*-stearoyltyrosinates were better than those of *N*-stearoyltyrosine. The solubility of *N*-stearoyltyrosine was (27.62 ± 0.43) mg/L while that of dipotassium *N*-stearoyltyrosine (NsTyr-2K) (51.70 ± 0.29) mg/L. The plasma protein binding ratios were 20.96% — 23.11% and 35.41% — 40.38% for *N*-stearoyltyrosinate and NsTyr-2K, respectively. **Conclusion** It has the significant improvement of physicochemical properties of *N*-stearoyltyrosine after formation of salt.

Key words: *N*-stearoyltyrosinate; physicochemical properties; plasma protein binding ratio

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年人易发的中枢神经系统变性疾病, 其发病率逐年攀升^[1-3]。但目前临床上用于 AD 治疗的药物种类及疗效均十分有限, 不少药物伴有严重的不良反应和毒副作用^[4-7]。因此寻找和发现安全有效治疗 AD 的新药具有迫切的社会需求。*N*-花生四烯酰乙醇胺 (anandamide, AEA) 是最早发现的内源性大麻素类化合物, 在 AD 的病理条件下, 神经细胞按需合成 AEA 以起到神经保护作用^[5-10]。但由于 AEA 的稳

定性和选择性的限制, 该化合物不能直接作为药物用于 AD 的治疗。*N*-硬脂酰酪氨酸作为 AEA 的衍生物, 可抑制 AEA 代谢酶 - 脂肪酰胺水解酶, 间接提高体内 AEA 的浓度^[11], 减少 β -淀粉样蛋白的合成与释放、缓解 β -淀粉样蛋白引起的炎症和兴奋性毒性反应, 增强突触可触性以发挥神经保护作用, 从而有效阻抑 AD 进程^[12-15]。虽然 *N*-硬脂酰酪氨酸具有优良的神经保护活性, 但其水中溶解度小, 生物利用度低, 而 *N*-硬脂酰酪氨酸成盐后, 可有效避

收稿日期: 2014-03-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873057, 81171245); 上海市科委基础重点课题 (11JC1406600); 上海市科委科技支撑项目 (12431900604)

作者简介: 殷 莎 (1988—), 女, 硕士研究生, 主要从事具有神经保护作用的小分子化合物治疗阿尔兹海默症研究。

Tel: (021) 63846590-776464 E-mail: deanbengchenzhi@126.com

*通信作者 陆 阳, 男, 教授, 博士生导师。E-mail: luyangssmu@163.com

免上述缺点,因此研究 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐的理化性质、药效学、药动学及毒理学可为 *N*-硬脂酰酪氨酸结构改造、剂型配伍及临床研究设计提供科学依据。本文报道了在体内外测定 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐浓度的方法,比较了两者的理化性质的差异,为后期研究提供了依据。

1 仪器与材料

1.1 药品与试剂

N-硬脂酰酪氨酸及其盐(NsTyr-2K、NsTyr-2Na)、内标物山嵛酰酪氨酸由本实验室制备,批号分别为20131021、20130322、20130426、20130912,结构均经NMR及ESI-MS确证,其质量分数经HPLC法验证大于98%。

氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、无水磷酸二氢钾、磷酸氢二钾·3H₂O、氯化钠、浓盐酸均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司提供。甲酸(HCOOH,规格500 mL)为色谱级(ROE,美国)。18.2 MΩ·cm超纯水由NANOpure系统制备。透析膜为美国Spectrumlabs订制版,43 mm, M_wCO 8 000~14 000,购自上海绿鸟科技有限公司。

1.2 仪器

安捷伦1100高效液相色谱系统(美国安捷伦公司),ESA Coulochem III型电化学检测器,Nanopure超纯水系统(Thermo),AA—200型电子天平(美国Denver仪器公司),3K18型高速冷冻离心机(Sigma公司),DW—862626超低温冰箱(海尔集团),G—560E涡旋振荡器(美国Scientific Industries),HGC—24型氮吹仪(HA),CHA—SA型空气浴摇床(金坛市国旺实验仪器厂)。

1.3 实验动物

SD大鼠,150~180 g,雄性,由上海交通大学医学院实验动物中心提供,生产许可证号SCXK(沪)2008-0016,使用许可证号SYXK(沪)2008-0050。SD大鼠在实验室内饲养3~5 d后使用。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 磷酸盐缓冲液的配制 按《中国药典》2010年版二部附录记载的方法配制pH 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、7.4、8.0、9.0的系列缓冲液,以0.1 mol/L HCl及NaOH溶液校准。

2.1.2 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐的正辛醇溶液的配制 分别精密称取 *N*-硬脂酰酪氨酸、NsTyr-2K及NsTyr-2Na各20 mg,定容于10 mL预先制备水饱

和的正辛醇中,即得2.000 mg/mL溶液,备用。

2.1.3 对照品溶液的配制 分别精密称取 *N*-硬脂酰酪氨酸、NsTyr-2K及NsTyr-2Na各200 mg,置于100 mL量瓶中,加甲醇至刻度,得2.000 mg/mL储备液。

精密称取山嵛酰酪氨酸200 mg,置于10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,即得20 mg/mL内标储备液。精密移取一定体积该储备液,以甲醇定容于10 mL量瓶中,得3 mg/mL内标对照品溶液,供血浆蛋白结合率测定用。

2.1.4 透析外液和透析内液的配制 透析外液为pH 7.4的磷酸盐缓冲液。精密称定14.11 g磷酸氢二钾、2.59 g磷酸二氢钾和1.99 g氯化钠,以去离子水定容至1 L后,调节pH值至7.4,置4℃冰箱保存,待用。

透析内液为大鼠血浆,由SD大鼠颈动脉取血,肝素钠抗凝,4 500 r/min离心15 min后分离血浆,待用。

2.2 透析液的处理

取透析外液(pH 7.4缓冲液)0.5 mL,加入对照品溶液300 μL及3 mg/mL内标溶液200 μL,涡旋振荡30 s,于60℃水浴挥干,以500 μL流动相复溶样品,微孔滤膜滤过,进样10 μL进行HPLC分析。

取透析内液(空白血浆)0.5 mL、系列对照品溶液300 μL及3 mg/mL内标溶液200 μL,加入3 mL甲醇沉淀血浆蛋白,涡旋混合30 s,3 000 r/min离心10 min,吸取上清液,60℃水浴挥干。以500 μL流动相复溶样品,微孔滤膜滤过,进样10 μL进行HPLC分析。

2.3 溶解度及表观脂水分配系数的测定

2.3.1 色谱条件 安捷伦Eclipse XCD-C₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(0.2%甲酸)(82:18)(血浆蛋白结合率实验比例为80:20),检测波长220 nm(*N*-硬脂酰酪氨酸)、225 nm(NsTyr-2K)、224 nm(NsTyr-2Na),体积流量为1.0 mL/min,柱温25℃,进样量10 μL。

2.3.2 标准曲线的制备 对照品储备液以甲醇稀释成质量浓度分别为25、50、75、100、200、250、300、400、500、600、800、1 000 μg/mL对照品溶液,进样分析。以峰面积对质量浓度进行线性回归,得线性方程。*N*-硬脂酰酪氨酸: $A = 8.537 2 C + 130.04$, $r = 0.999 2$; NsTyr-2K: $A = 9.674 5 C +$

162.55, $r=0.999\ 7$; NsTyr-2Na: $A=9.323\ 0\ C+280.26$, $r=0.999\ 4$ 。结果表明, *N*-硬脂酰酪氨酸在 25~1 000 $\mu\text{g/mL}$, NsTyr-2K 在 25~2 000 $\mu\text{g/mL}$, NsTyr-2Na 在 50~2 000 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积的线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 取低、中、高质量浓度(200、400、1 000 $\mu\text{g/mL}$)的对照品溶液每天进样 6 次,每次 10 μL ,连续测定 3 d,记录峰面积并计算 RSD 值,结果见表 1。日内精密度及日间精密度均小于 2%,结果表明该方法精密度良好。

2.3.4 回收率试验 取低、中、高质量浓度(200、400、1 000 $\mu\text{g/mL}$)的样品溶液,每次进样 10 μL 分析,记录峰面积后以线性方程折算相应质量浓度,并按回收率=实测质量浓度值/理论质量浓度值 $\times$ 100%计算低、中、高质量浓度样品的回收率,结果见表 2。

2.3.5 溶解度的测定 将过量 *N*-硬脂酰酪氨酸、NsTyr-2K 和 NsTyr-2Na 分别置于 25 mL 具塞锥形瓶中^[16],加入 5 mL 去离子水或 pH 2.0~9.0 的缓冲液,室温下超声震荡 1 h,然后在 (37 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$ 下恒温振

表 1 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐类的精密度试验结果
Table 1 Precision test of *N*-stearoyltyrosinate and its salts

质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>N</i> -硬脂酰酪氨酸		NsTyr-2K		NsTyr-2Na	
	日内 RSD/%	日间 RSD/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
200	0.960	0.037	0.827	1.162	1.838	1.632
400	0.486	0.112	1.356	1.277	1.387	1.337
1 000	0.235	0.233	0.921	1.512	1.226	1.438

表 2 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐类的回收率试验结果
Table 2 Recovery of *N*-stearoyltyrosinate and its salts

理论质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>N</i> -硬脂酰酪氨酸		NsTyr-2K		NsTyr-2Na	
	实测值/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	实测值/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	实测值/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%
200	184.324	92.162	182.499	91.250	184.956	92.478
400	412.177	103.044	388.652	97.163	412.713	103.178
1 000	963.587	96.359	1 022.365	102.237	1 023.217	102.322

荡 24 h,以 12 000 r/min 离心,吸取上清液,经微孔滤膜过滤后,续滤液进样 10 μL ,分析得该温度下 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐类的溶解度。*N*-硬脂酰酪氨酸、NsTyr-2K、NsTyr-2Na 在水中溶解度分别为 (27.62 $\pm$ 0.43)、(51.70 $\pm$ 0.29)、(92.65 $\pm$ 0.52) mg/L。在各 pH 值下溶解度的变化见表 3,结果表明随着溶液 pH 值上升, *N*-硬脂酰酪氨酸盐类溶解度呈增加趋势。当 pH 值 <4 , NsTyr-2K、NsTyr-2Na 溶解度随 pH 值增加的趋势趋于稳定,而当 pH 值 >4 时,溶解度随着 pH 值增加的趋势又趋于明显。

2.3.6 表观脂水分配系数的测定 精密移取 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐的饱和正辛醇溶液 1 mL 于试管中,加入同体积经正辛醇饱和的水或缓冲溶液,在 (37 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 100 r/min 恒温振荡 24 h,静置,12 000 r/min 离心,取下层水溶液,微孔滤膜滤过,续滤液

表 3 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐在不同 pH 值缓冲液中溶解度
Table 3 Solubility of *N*-stearoyltyrosinate and its salts in various pH buffer solution systems

pH 值	溶解度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	NsTyr-2K	NsTyr-2Na	<i>N</i> -硬脂酰酪氨酸
2.0	49.290	66.939	27.633
3.0	58.504	66.335	31.854
4.0	188.156	195.372	74.536
5.0	220.693	232.102	129.237
6.0	243.482	274.630	168.943
7.0	251.430	318.016	194.189
7.4	270.414	374.484	211.891
8.0	285.935	463.903	247.469
9.0	369.807	512.645	305.942

进样 10 μL 分析。按照公式 $K_o/w=C_{\text{油相}}/C_{\text{水相}}$, 取对数后得表观脂水分配系数 ($\lg P$)。结果表明, *N*-硬脂酰酪氨酸、NsTyr-2K 和 NsTyr-2Na 的 $\lg P$ 分别为 1.573、1.512、1.477。在各 pH 值缓冲溶液中其 $\lg P$ 变化趋势见表 4。NsTyr-2K 和 NsTyr-2Na 在酸性及中性体系中的表观脂水分配系数无明显的变化 ($\lg P > 1.2$)。此时药物主要以原型 *N*-硬脂酰酪氨酸形式存在, 表现出一定疏水性, 主要分布于正辛醇中; 在高 pH 值体系中, *N*-硬脂酰酪氨酸盐类表现出一定亲水性, *N*-硬脂酰酪氨酸盐类溶于水相中导致 $\lg P$ 下降 ($1 < \lg P < 1.2$)。

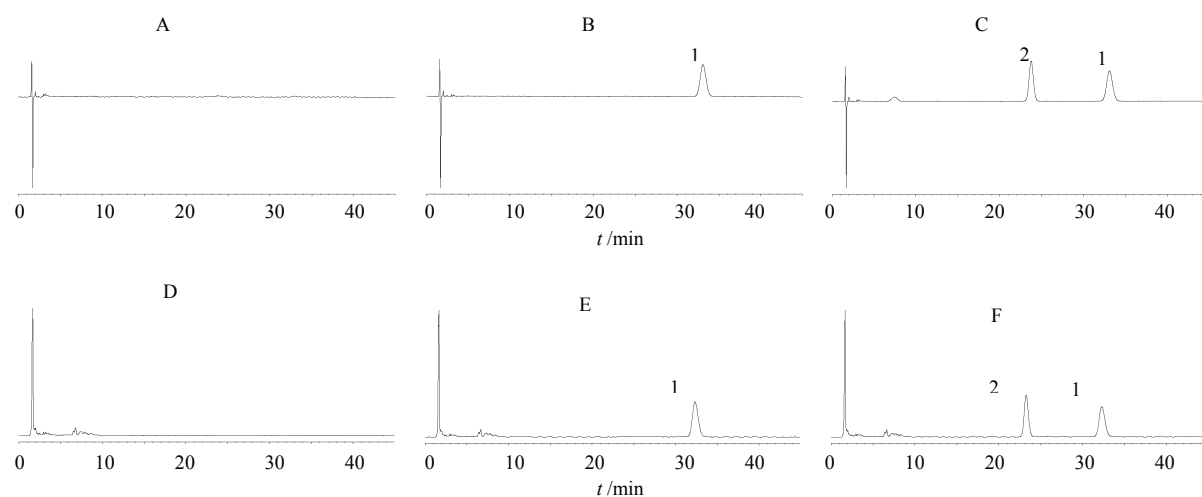
2.4 血浆蛋白结合率的测定

2.4.1 专属性试验 在该色谱条件下, NsTyr-2K 及内标物山萘酰酪氨酸的保留时间分别为 23、32 min, 内源性物质对主峰没有干扰, 分离度良好。结果见图 1。

表 4 在不同 pH 缓冲液中 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐的表观脂水分配系数

Table 4 Apparent partition coefficient of *N*-stearoyltyrosinate and its salts in various pH buffer solution systems

pH 值	$\lg P$		
	NsTyr-2K	NsTyr-2Na	<i>N</i> -硬脂酰酪氨酸
2.0	1.881	1.698	2.140
3.0	1.485	1.462	2.077
4.0	1.205	1.183	1.923
5.0	1.341	1.272	2.103
6.0	1.461	1.300	2.043
7.0	1.578	1.497	2.054
7.4	1.222	1.467	2.005
8.0	1.140	1.458	1.999
9.0	1.119	1.340	1.936



A-空白透析外液 B-空白透析外液+600 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液 C-空白透析外液+600 $\mu\text{g/mL}$ 透析样品溶液+600 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液 D-空白透析内液 E-空白透析内液+600 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液 F-空白透析内液+600 $\mu\text{g/mL}$ 透析样品溶液+600 $\mu\text{g/mL}$ 内标溶液 1-内标物山萘酰酪氨酸 2-NsTyr-2K

A- buffer B-buffer + 600 $\mu\text{g/mL}$ internal standard solution C-buffer + 600 $\mu\text{g/mL}$ sample solution + 600 $\mu\text{g/mL}$ internal standard solution D- plasma E-plasma + 600 $\mu\text{g/mL}$ internal standard solution F-plasma + 600 $\mu\text{g/mL}$ sample solution + 600 $\mu\text{g/mL}$ internal standard solution 1-NnTyr 2-NsTyr-2K

图 1 透析外液和内液中 NsTyr-2K 的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of NsTyr-2K in buffer and plasma samples

2.4.2 标准曲线的制备 将 NsTyr-2K 对照品溶液进行透析液的处理, 配制 7.5、15、30、40、60、120、160、200、400、600 $\mu\text{g/mL}$ 溶液, 进样分析。以对照品与内标溶液峰面积比与质量浓度进行线性回归, 得回归方程。透析外液: $Y=0.0015X+0.0362$, $r=0.996$; 透析内液: $Y=0.0026X+0.0207$, $r=0.995$ 。结果表明 NsTyr-2K 在 7.5~600 $\mu\text{g/mL}$ 线性良好。

2.4.3 精密度及方法回收率试验 分别取透析外液和内液各 0.5 mL, 加入相应的对照品溶液及内标溶液, 配制 40、160、400 $\mu\text{g/mL}$ 样品溶液, 进行透析液的处理, 每个样品进样 3 次, 连续 3 d 后, 平行 6 个样品, 记录峰面积, 按回归方程计算 RSD 值, 并按照方法回收率=实测质量浓度/理论质量浓度 $\times$ 100%计算, 结果见表 5。

表 5 透析内液和外液样品的精密度及方法回收率试验结果 ($n=6$)Table 5 Precision and recovery of sample inside and outside dialysis membrane ($n=6$)

样 品	理论质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	精密度试验		方法回收率试验		
		日内 RSD/%	日间 RSD/%	实测质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%
透析内液	40	1.1	2.7	36.746	91.9	3.8
	160	1.8	2.6	163.736	102.3	0.6
	400	1.7	2.4	413.948	103.5	1.5
透析外液	40	0.8	3.6	32.927	82.3	1.9
	160	0.7	1.9	144.414	90.3	1.9
	400	0.4	1.9	382.996	95.7	1.6

2.4.4 稳定性及提取回收率试验 分别制备 40、160、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 透析内液和外液样品, 分别置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 24 h 及 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 5 d, 考察其短期及长期稳定性, 结果见表 6。表明 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐类在生物样品中稳定性较好。

分别取 40、160、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 样品, 进行透析液的处理, *N*-硬脂酰酪氨酸及 *NsTyr-2K* 的峰面积与相应质量浓度对照品溶液未经提取直接进样的峰面积比较, 计算提取回收率。结果见表 6, 表明该方法符合生物样品分析要求。

表 6 透析内液和外液的稳定性及提取回收率试验结果

Table 6 Stability and extractive recovery of sample inside and outside dialysis membrane

样 品	理论质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	稳定性试验		提取回收率		
		短期稳定性	长期稳定性	实测质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%
		RSD/%	RSD/%			
透析内液	40	5.8	9.7	33.748	84.3	3.1
	160	5.8	2.0	131.915	82.4	6.7
	400	6.0	1.6	371.036	92.8	1.1
透析外液	40	5.9	6.5	37.800	94.5	1.9
	160	3.3	0.9	149.794	93.6	2.6
	400	2.6	1.7	374.004	93.5	2.2

2.4.5 血浆蛋白结合率测定 血浆蛋白结合率采用平衡透析法测定^[17]。将透析袋一端固定, 加入 1 mL 空白大鼠血浆, 悬浮于 10 mL 含 40、160、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物的透析液中, 放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中 28 h 直至药物扩散平衡。以 10% 高氯酸检查是否有蛋白漏出, 分别测定透析袋内外样品质量浓度, 按照结合率 = $(C_{\text{内}} - C_{\text{外}}) / C_{\text{内}} \times 100\%$ 计算所得血浆蛋白结合率。每组 4 个平行样品。结果见表 7。*N*-硬脂酰酪氨酸的血浆蛋白结合率为 20.96%~23.11%, *NsTyr-2K* 的血浆蛋白结合率为 35.41%~40.38%。采用 SPSS 20.0 软件数据分析, 经 *F* 检验证明方差齐性后方差分析差异无显著性, 提示 *N*-硬脂酰酪氨酸及其盐类属于低血浆蛋白结合率药物, 且其血浆蛋白结合率不存在浓度相关性。

表 7 *N*-硬脂酰酪氨酸及 *NsTyr-2K* 的血浆蛋白结合率Table 7 Plasma protein binding ratio of *NsTyr* and *NsTyr-2K*

样 品	对应质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	血浆蛋白结 合率/%
硬脂酰酪氨酸	40	20.96
	160	22.83
	400	23.11
硬脂酰酪氨酸二 钾盐	40	35.41
	160	39.60
	400	40.38

3 讨论

N-硬脂酰酪氨酸具有良好的神经保护作用, 但由于其溶解度低导致给药困难、生物利用度低。其

成盐后将有效解决上述问题。表征硬脂酰酪氨酸盐的理化性质,可为剖析其在体内生物转化、设计临床试验均具有重要指导意义。

本实验中检测方法主要采用 HPLC-UV 法,在血浆蛋白结合率检测时为避免内源性干扰采用内标法,并调整流动相比比例以达最佳分离效果。研究结果表明,*N*-硬脂酰酪氨酸溶解度较低,成盐后理化常数得以改善。在胃内低 pH 值环境下,*N*-硬脂酰酪氨酸主要以原型经胃黏膜吸收入血;转运过程中,肠段高 pH 值环境下 *N*-硬脂酰酪氨酸成盐,难以透过小肠吸收。依据人体不同部位 pH 值环境中 pKa 的变化可指导 *N*-硬脂酰酪氨酸类药物剂型设计(如脂质体、环糊精包合、纳米粒、微乳或控释给药)及配伍禁忌等。

本课题组前期研究表明 NsTyr-2K 原料药稳定性明显优于 NsTyr-2Na,故本实验中采用 NsTyr-2K 作此类活性盐代表,比较成盐药物与原型药物 *N*-硬脂酰酪氨酸的血浆蛋白结合率区别。*N*-硬脂酰酪氨酸类药物在血中含量少,主要以游离态形式存在,盐类药物通过增加药物在胃肠道吸收浓度和吸收时间,使得靶点血药浓度得以提升,药物与血浆蛋白结合作为“储存药库”维持体内游离型-结合型药物浓度平衡,因而延长了有效作用时间,并且此类药物属于低血浆蛋白结合率药物,当与高结合率药物联合用药时,预计不会出现竞争性抑制导致的副反应,增加其用药安全性。

参考文献

- [1] Ministry of Health PR China. Health Statistical for 2012. [EB/OL]. Beijing: China [2012-09-29].
- [2] 王 波. 美国心理学会 2011 年华盛顿年会综述 [J]. 国外社会科学, 2012(6): 146-152.
- [3] Sherry L M, Jiaquan X, Kenneth D K. Deaths: preliminary data for 2010 [J]. *Natl Vital Stat Rep*, 2012, 61(4): 1-8
- [4] 赵 明. 脑缺血再灌注损伤机理及药物保护的研究进展 [J]. 锦州医学院学报, 2002, 23(5): 72-73.
- [5] Valeriel L, Philippe B, Arnaud B, *et al*. Free radical production and changes in superoxide dismutases associated with hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis of embryonic rat forebrain neurons in culture [J]. *Free Radic Bio Med*, 2000, 29(12): 1291-1301.
- [6] Heurteaux C, Laigle C, Blondeau N, *et al*. Alpha-linolenic acid and riluzole treatment confer cerebral protection and improve survival after focal brain ischemia [J]. *Neurosci*, 2006, 137(1): 241-251.
- [7] Kay A, Michele K M, Benjamin F C. Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system [J]. *Chem Rev*, 2008, 108(5): 1687-1707.
- [8] De P L, Cascio M G, Di M V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions [J]. *Br J Pharmacol*, 2004, 141(5): 765-774.
- [9] Hwang J, Adamson C, Butler D, *et al*. Enhancement of endocannabinoid signaling by fatty acid amide hydrolase inhibition: A neuroprotective therapeutic modality [J]. *Life Sci*, 2010, 86(15/16): 615-623.
- [10] Hillard C J, Jarrahan A. The movement of *N*-arachidonoyl-ethanolamine (anandamide) across cellular membranes [J]. *Chem Phys Lipids*, 2000, 108(1/2): 123-134.
- [11] Yang Z H, Sun K, Suo W H, *et al*. *N*-stearoyltyrosine protects primary neurons from A β -induced apoptosis through modulating mitogen-activated protein kinase activity [J]. *Neurosci*, 2010, 169(4): 1840-1847.
- [12] Mazzola C, Medalie J, Scherma M, *et al*. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition enhances memory acquisition through activation of PPAR- α nuclear receptors [J]. *Learn Mem*, 2009, 16(5): 332-337.
- [13] Marchalant Y, Baranger K, Wenk G L, *et al*. Can the benefits of cannabinoid receptor stimulation on neuroinflammation, neurogenesis and memory during normal aging be useful in AD prevention [J]. *J Neuroinflamm*, 2012, 16(1): 9-10.
- [14] Bachmeier C, Beaulieu-Abdelahad D, Mullan M, *et al*. Role of the cannabinoid system in the transit of beta-amyloid across the blood-brain barrier [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 56(9): 255-262.
- [15] Lee J H, Agacinski G, Williams J H, *et al*. Intact cannabinoid CB1 receptors in the Alzheimer's disease cortex [J]. *Neurochem Int*, 2010, 57(8): 985-989.
- [16] 任国莲, 张吉星, 谢 茵, 等. 双氯芬酸钠平衡溶解度和表观油水分配系数的研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(6): 448-451.
- [17] 郭 璞, 李云兰, 李青山. 二-(2,4-二氯苯甲酰基)二苯基合锡大鼠血浆蛋白结合率的测定 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 176-179.