

谷红注射液在脑缺血再灌注大鼠体内药动学与抗氧化作用关联性研究

陈俊奎¹, 万海同¹, 周惠芬¹, 彭学谦¹, 赵涛², 付巍², 何昱^{1*}

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

2. 山东步长制药股份有限公司, 山东 菏泽 274000

摘要: **目的** 研究谷红注射液中羟基红花黄色素 A (HSYA) 在脑缺血再灌注大鼠体内的药动学及其与抗氧化作用的关联性。**方法** 采用平衡透析法测定 HSYA 及谷红注射液中 HSYA 的血浆蛋白结合率; SD 大鼠制备大脑右侧中动脉局灶性栓塞 (MCAO) 模型, 分为 HSYA 组 (4 mg/kg) 及谷红注射液组 (10 mL/kg), 尾 iv 给药, 采用高效液相 (HPLC) 法测定不同时间点 HSYA 的血药浓度, 绘制药时曲线; 同时采用试剂盒法测定不同时间点血浆中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, 绘制效时曲线; 进一步进行药动-药效联动分析。**结果** HSYA 和谷红注射液中 HSYA 在质量浓度为 2.5、10.0、25.0 mg/L 时血浆蛋白结合率分别是 77.96%、73.54%、76.13% 和 68.21%、58.22%、63.17%; HSYA 的血浆药物质量浓度在 0.01~50 mg/L 线性关系良好, 低、中、高血浆药物浓度平均回收率分别为 (99.94±2.82)%、(104.16±1.41)%、(99.74±1.06)%; 谷红注射液组与 HSYA 组比较, 曲线下面积 (AUC) 显著增加, 平均驻留时间 (MRT_{0-t}) 显著减少, 表观容积 (V_z) 显著增加; 血浆中 GSH-Px 活性升高, 与血药浓度呈正相关, LDH 活性降低, 与血药浓度呈负相关。**结论** HSYA 均具有中等强度的血浆蛋白结合率, 且谷红注射液中 HSYA 血浆蛋白结合率有所降低; 谷红注射液在 MCAO 大鼠中可以增加 HSYA 的生物利用度, 提高药物的效果, 增加药物在体内的分布; 谷红注射液组与 HSYA 组比较具有更好的抗氧化作用, 对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用。

关键词: 脑缺血再灌注模型; 羟基红花黄色素 A; 谷红注射液; 药动-药效; 血浆蛋白结合率; 抗氧化作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)03-0447-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.03.016

Correlation study on *in vivo* pharmacokinetics and anti-oxidation of Guhong Injection in cerebral ischemia reperfusion injury model of rats

CHEN Jun-kui¹, WAN Hai-tong¹, ZHOU Hui-fen¹, PENG Xue-qian¹, ZHAO Tao², FU Wei², HE Yu¹

1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

2. Shandong Buchang Pharmaceutical Company Ltd., Heze 274000, China

Abstract: Objective To investigate the *in vivo* pharmacokinetic progress of hydroxysafflor yellow A (HSYA) from Guhong Injection in cerebral ischemia reperfusion (I/R) injury of rats and the correlation with its anti-oxidation effect. **Methods** The equilibrium dialysis method was carried out to determine the plasma protein binding rates of HSYA and HSYA in Guhong Injection. Middle cerebral artery occlusion (MCAO) model rats were iv injected HSYA (4 mg/kg) or Guhong Injection (10 mL/kg). The HPLC method was adopted to determine the plasma concentration of HSYA at different time points to draw the drug-time curve. Meanwhile, glutathione peroxidase (GSH-Px) and lactate dehydrogenase (LDH) activities were determined to draw the time-effect curve. Furthermore, the relationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics was analyzed. **Results** At the concentration of 2.5, 10, and 25 mg/L, the plasma protein binding rates of HSYA were 77.96%, 73.54%, and 76.13%, whereas the plasma protein binding rates of HSYA from Guhong Injection were 68.21%, 58.22%, and 63.17%, respectively. A good linear relationship of HSYA was obtained in the range of 0.01—50 mg/L, the mean recoveries were (99.94±2.82)%, (104.16±1.41)%, and (99.74±1.06)% for low, middle, and high concentration of the samples, respectively. Compared with HSYA group, Guhong Injection significantly increased the AUC of HSYA and decreased the MRT and V_z of HSYA. Furthermore, Guhong Injection increased the content of GSH-Px and decreased the content of LDH. The plasma concentration of HSYA is positively related to the GSH-Px activity and negatively

收稿日期: 2015-07-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81373898, 81173647); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目

作者简介: 陈俊奎, 男, 从事中药在心脑血管疾病中药物药效的相关研究。Tel: 18757176172 E-mail: 18757176172@163.com

*通信作者 何昱 Tel: (0571)86613657 E-mail: heyu0923@sina.com

related to the LDH activity. **Conclusion** The results indicate that HSYA has the moderate plasma protein binding rate. Compared with HSYA group, the plasma protein binding rate in Guhong Injection group is reduced. Guhong Injection could increase the bioavailability of HSYA to enhance therapeutic efficacy and increase the distribution of HSYA in ischemia rats. Guhong Injection has better anti-oxidant effect, as well as more significant protective effect against cerebral I/R injury than HSYA.

Key words: MCAO model; hydroxysafflor yellow A; Guhong Injection; pharmacokinetics-pharmacodynamics; plasma protein binding rate

谷红注射液为中西药复方制剂,其处方由红花、乙酰谷酰胺及适量辅料组成。谷红注射液类别为脑功能改善药,综合了乙酰谷酰胺和红花两种药物的有效成分,并使其作用具有协同,大量临床研究证实谷红注射液对治疗脑供血不足、脑血栓、脑栓塞及脑出血恢复期等脑血管疾病有良好的效果,还可用于治疗冠心病、脉管炎等^[1-2]。羟基红花黄色素 A (hydroxysafflor yellow A, HSYA) 是谷红注射液中的主要有效成分之一,具有显著的抗凝、抗缺氧、抗氧化等心脑血管药理作用^[3-6]。药物血浆蛋白结合率是药物体内重要参数之一,不仅影响药动学,还密切关系到药物的药理作用强度、作用机制等^[7]。本研究采用平衡透析法测定了谷红注射液中 HSYA 的血浆蛋白结合率,为 HSYA 在体内的药动学研究提供依据。目前,关于 HSYA 单体和单味药材中 HSYA 的药动学研究已有相关报道^[8-10],但多限于正常大鼠,关于 HSYA 与谷红注射液中 HSYA 在局灶性脑缺血大鼠中的药动学及其药效学差异性研究未见报道。本研究旨在探究在局灶性脑缺血再灌注模型大鼠中谷红注射液有效成分 HSYA 的体内过程及其对谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性的作用是否受中西药复方配伍的影响,以进一步探讨中西药复方配伍的合理性,指导其抗脑缺血疾病的临床合理用药。

1 材料

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠,雄性,体质量 (280±20) g,上海斯莱克实验动物有限公司提供,生产许可证 SCXK (沪) 2012-0002。

1.2 药物与试剂

HSYA (上海源叶生物科技有限公司,批号 Z01010BA13,质量分数≥98%); 谷红注射液 (通化谷红制药有限公司,批号 20140706,其中 HSYA 的质量浓度为 0.4 mg/mL); 核黄素 (贵州迪大生物科技有限责任公司,批号 GZDD-0110,质量分数≥98%); LDH、GSH-Px 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 肝素钠 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司); 透析袋 (截留相对分子质量 14 000, Biosharp

公司); 甲醇、乙腈均为色谱纯 (美国 Tedia 公司),其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱 (美国安捷伦公司,包括 G1311A 四元梯度泵、G1316A 柱温箱、G1315D 二极管阵列检测器、G1322A 在线脱气机和化学工作站); XS205DU 梅特勒精密天平 (METTLER TOLEDO 公司); Molecular Devices Spectra MAX Plus 384 酶标仪 (美国 MD 公司); ND100-1 氮气吹扫仪 (杭州瑞诚仪器有限公司); 2-16PK 离心机 (德国 Sigma 公司); CASCADA BIOMK2 超纯水仪 (美国 PALL 公司); QL-861 涡旋混合仪 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相采用 0.1%磷酸水-乙腈 (84:16) 二元体系,柱温 30 °C,体积流量 1 mL/min,检测波长 403 nm; 进样 20 μL,内标法峰面积定量。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制 精密称取 HSYA 对照品适量,加入甲醇溶解得质量浓度为 1 g/L 的 HSYA 对照品溶液,-20 °C 避光保存备用。

2.2.2 内标溶液的配制 精密称取核黄素对照品适量,加入甲醇溶解得质量浓度为 0.05 g/L 的内标溶液,-20 °C 避光保存备用。

2.3 血浆样品处理

精密吸取 0.1 mL 血浆加入 30 μL 核黄素内标溶液混匀,加入 0.3 mL 甲醇,涡旋 2 min,4 °C、12 000 r/min 离心 12 min,取上清液氮气吹干,加入 100 μL 流动相复溶,涡旋 1 min,4 °C、12 000 r/min 离心 12 min,取上清液 20 μL 进样。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取 HSYA 对照品适量于离心管中,用大鼠空白血浆分别稀释成质量浓度为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、2.50、5.00、10.00、20.00、50.00 mg/L 的系列血浆样本,按“2.3”项方法处理,并在“2.1”项色谱条件下进样测定。以血

浆中 HSYA 质量浓度 (X) 为横坐标, HSYA 与内标的峰面积比值 (Y) 为纵坐标作图, 进行回归分析得 HSYA 标准曲线。

2.4.2 精密度试验 精密吸取 HSYA 对照品适量于离心管中, 用大鼠空白血浆配制质量浓度为 2.5、10.0、25.0 mg/L 的血浆样本, 按“2.3”项方法处理, 在“2.1”项色谱条件下进样。于 1 d 内测定 5 次计算日内精密度, 1 周内测定 5 d 计算日间精密度。

2.4.3 相对回收率、提取回收率和基质效应试验 精密吸取大鼠空白血浆 0.1 mL, 加入 HSYA 对照品适量, 配制成质量浓度为 2.5、10.0、25.0 mg/L 的血浆样本, 经“2.3”项方法处理, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 将所测 HSYA 峰面积 (A) 与内标峰面积之比代入标准曲线方程, 计算 HSYA 质量浓度, 以所测质量浓度与配制质量浓度的比值计算相对回收率; 另取空白血浆, 按“2.3”项处理获得的上清液中加入相应质量浓度的对照品溶液, 氮气吹干后加 100 μ L 流动相复溶, 进样测定得峰面积 (B); 相应质量浓度的对照品溶液直接吹干用流动相复溶, 进样测定得峰面积 (C), 以 B 与 C 的比值计算基质效应, 以 A 与 C 的比值计算提取回收率。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取大鼠空白血浆加入 HSYA 对照品适量, 配制质量浓度为 2.5、10.0、25.0 mg/L 的血浆样品, 每个质量浓度样品配制 5 份, 分别进行血浆样品室温放置 6 h、反复 3 次冻融及自动进样器中放置 12 h 的稳定性考察。

2.5 血浆蛋白结合率的测定

2.5.1 透析液的配制 精密称取磷酸二氢钾 2.59 g, 磷酸氢二钾 14.11 g, 氯化钠 1.99 g, 加水溶解并定容至 1 000 mL, 得 pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液。

2.5.2 透析液样品处理 取 0.1 mL 透析液代替血浆, 按“2.3”项方法处理。

2.5.3 HSYA 在透析液中的标准曲线 取空白透析液代替空白血浆, 按“2.4.1”项方法操作, 得 HSYA 在透析液中的标准曲线。

2.5.4 平衡透析时间考察 将透析袋剪成 10 cm 左右, 置于含 1:1 的 2%碳酸氢钠和 1 mmol/L EDTA 溶液中煮沸 10 min, 用蒸馏水清洗干净后再置于 1 mmol/L EDTA 中煮沸 10 min, 待冷却后存放于 4 $^{\circ}$ C 保存待用。将预处理后的透析袋, 放在空白透析液中室温浸泡 24 h。除去袋内外水分, 用透析夹夹住一端。精密吸取 1 mL 空白透析液加至透析袋中,

夹住另一端, 使其悬浮于盛有 20 mL 含药透析液(由 HSYA 对照品溶液及谷红注射液加透析液稀释而成, HSYA 质量浓度分别为 2.5、10.0、25.0 mg/L) 的玻璃瓶中。调整透析袋位置, 透析袋内外液面应保持同一水平, 并避免贴瓶壁, 密封瓶口, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中放置。于 24、36、48、60、72 h 取透析袋内、外溶液 100 μ L, 按“2.5.2”项方式处理, “2.1”项色谱条件下进样, 测定透析袋内、外液 HSYA 质量浓度, 确定平衡透析所达到的平衡时间约为 72 h。

2.5.5 血浆蛋白结合率的测定 取 1 mL 空白血浆代替空白透析液, 按“2.5.4”项方法进行平衡透析, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中放置 72 h。待透析结束时, 吸取透析外液, 加入等量 3%三氯醋酸溶液检查是否有血浆蛋白漏出, 若有白色絮状物析出, 则该样品作废^[12]。无血浆蛋白漏出者, 分别取透析袋内、外液样品并按“2.3”“2.5.2”项方法处理, 在“2.1”项色谱条件下测定袋内 (D_i)、透析外液 (D_f) 药物质量浓度, 计算血浆蛋白结合率。

$$\text{血浆蛋白结合率} = (D_i - D_f) / D_i$$

2.6 大鼠脑缺血再灌注模型的制备

SD 大鼠随机分为 HSYA 组和谷红注射液组, 每组 10 只。两组大鼠用 10%水合氯醛 (350 mg/kg) ip 麻醉后, 按照 Longa 等^[11]的方法制备改良型大鼠右侧中动脉局灶性栓塞 (MCAO) 模型, 缺血 1 h 后拔出鱼线再灌注并同时尾 iv 给药。模型成功的标志: 苏醒后, 大鼠右眼出现 Horner 征; 提尾时左前肢内收屈曲; 爬行时向左侧转圈或倾倒。

2.7 药动学研究

大鼠造模结束后, 再灌注同时给药。HSYA 组尾 iv HSYA 生理盐水溶液 (4 mg/kg), 谷红注射液组尾 iv 谷红注射液 (10 mL/kg, 按 HSYA 计算为 4 mg/kg), 分别于给药后 5、15、30、45、60、90、120、180、240、360 min 眼眶取血 0.5 mL, 分两管, 一管用作药动学研究, 一管用作药效学研究, 经肝素钠抗凝, 6 000 r/min 离心 12 min, 吸取上清血浆。取血后, 尾 iv 补充等量的生理盐水。

2.8 药效学研究

将两组大鼠各时间点所取血浆, 严格按照试剂盒操作说明进行 GSH-Px、LDH 活性测定。

2.9 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, HSYA 血药浓度数据和药效学数据采用 SPSS 19.0 和药动学计算程序 DAS 3.2.6 处理, 组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 色谱行为及专属性考察 在“2.1”项色谱条件下,空白血浆、空白血浆加入 HSYA 和内标核黄素、尾 iv HSYA 及谷红注射液的血浆样品(含内标核黄素)色谱图见图 1, HSYA 和内标核黄素与其

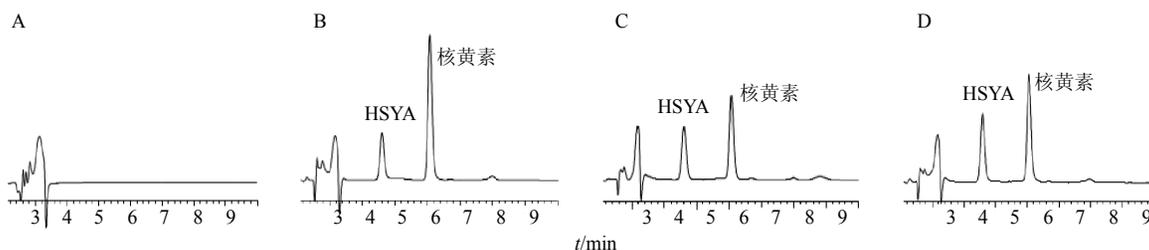


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆+HSYA+内标 (B)、HSYA 组血浆样品 (C) 和谷红注射液组血浆样品 (D) HPLC 图
Fig. 1 HPLC of blank plasma (A), blank plasma + HSYA+ IS (B), rat plasma with HSYA (C), rat plasma with Guhong Injection (D)

3 : 1 计, HSYA 定量下限为 0.01 mg/L。

3.1.3 精密度试验 含 HSYA 2.5、10.0、25.0 mg/L 3 个质量浓度血浆的日内精密度分别为 5.8%、6.6%、4.3%, 日间精密度分别为 7.6%、8.4%、1.7%, 日内、日间精密度 RSD 均 < 10% (n=5), 符合药动力学分析要求。

3.1.4 相对回收率和提取回收率试验 HSYA 2.5、10.0、25.0 mg/L 3 种质量浓度的相对回收率分别为 (99.94 ± 2.82)%、(104.16 ± 1.41)%、(99.74 ± 1.06)%, 提取回收率分别为 (89.24 ± 2.92)%、(93.25 ± 1.32)%、(85.47 ± 1.56)%, 回收率均 > 80% (n=5); 基质效应分别为 (98.14 ± 4.53) %、(101.37 ± 2.11) %、(97.88 ± 3.49) %。均符合药动力学研究要求。

3.1.5 稳定性试验 含 HSYA 血浆样品室温放置 6 h 后 3 个质量浓度 2.5、10.0、25.0 mg/L 样品的 RSD 分别为 6.20%、7.61%、3.88%; 3 次冻融循环后 RSD 分别为 3.25%、9.49%、2.18%; 自动进样器中放置 12 h 后 RSD 分别为 8.63%、1.11%、2.55%。稳定性实验结果表明, 含 HSYA 血浆, 在各种处理条件下均具有良好的稳定性, 可满足本实验的药动力学研究。

3.2 血浆蛋白结合率的测定

3.2.1 HSYA 在透析液中的标准曲线 透析液中 HSYA 标准曲线为 $Y=43.404 X-0.0859 (r=0.9997)$, HSYA 质量浓度在 0.01~50.00 mg/L 呈良好线性关系, 按信噪比 3 : 1 计, HSYA 定量下限为 0.01 mg/L。

3.2.2 HSYA 血浆蛋白结合率的测定 HSYA 和谷红注射液中 HSYA 在质量浓度为 2.5、10.0、25.0 mg/L 时血浆蛋白结合率分别为 77.96%、73.54%、

76.13% 和 68.21%、58.22%、63.17%。谷红注射液中 HSYA 血浆蛋白结合率比 HSYA 有所降低。

3.1.2 线性关系考察 血浆中 HSYA 标准曲线为 $Y=98.858 X-0.0181 (r=0.9991)$, HSYA 质量浓度在 0.01~50.00 mg/L 呈良好线性关系, 按信噪比

76.13% 和 68.21%、58.22%、63.17%。谷红注射液中 HSYA 血浆蛋白结合率比 HSYA 有所降低。

3.3 药动力学参数

MCAO 大鼠分别给予 HSYA 单体和谷红注射液后, 各时间点血药浓度数据经 DAS 3.2.6 软件拟合, HSYA 药动力学参数经统计学分析差异显著。其中, 谷红注射液中 HSYA 在脑缺血大鼠体内的曲线下面积 (AUC) 比 HSYA 单体给药大鼠明显增加 ($P < 0.05$), 说明谷红注射液中 HSYA 在脑缺血大鼠体内的生物利用度大大增加, 有利于发挥药效; 表观容积 (V_z) 显著增加 ($P < 0.05$), 提示谷红注射液可促进 HSYA 在局灶性脑缺血大鼠体内的消除; 平均驻留时间 MRT_{0-t} 显著减少 ($P < 0.01$); 半衰期 ($t_{1/2z}$)、清除率 (CL_z) 均有所增加, 但差异不显著。平均药时曲线见图 2, 药动力学参数见表 1。

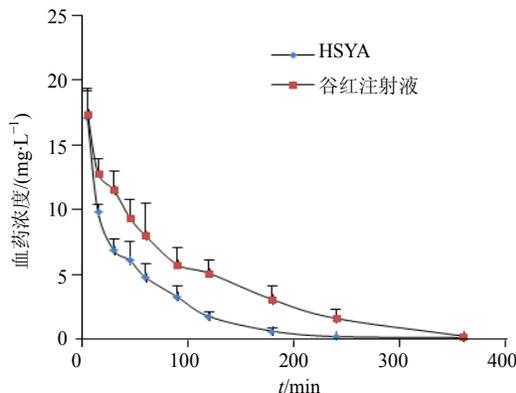


图 2 HSYA 在脑缺血大鼠体内平均药时曲线 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Fig. 2 Blood concentration-time curve of HSYA in ischemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

表 1 HSYA 药动学参数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Comparison on pharmacokinetic parameters of HSYA in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 参数 | 单位 | HSYA | 谷红注射液组 |
|--------------------|------------------------|-----------------|--------------------|
| AUC _{0-t} | mg·min·L ⁻¹ | 854.944±118.264 | 1 585.036±290.354* |
| AUC _{0-∞} | mg·min·L ⁻¹ | 860.761±124.694 | 1 632.346±335.134* |
| MRT _{0-t} | min | 124.694±4.095 | 88.849±9.290** |
| MRT _{0-∞} | min | 59.987±6.164 | 98.558±16.855* |
| t _{1/2z} | min | 50.113±12.616 | 63.529±15.843 |
| V _z | L·kg ⁻¹ | 0.334±0.044 | 0.560±0.051* |
| CL _z | L·min·kg ⁻¹ | 0.005±0.001 | 0.006±0.001 |

与 HSYA 组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs HSYA group

3.4 药效抗氧化指标的测定

实验测得正常大鼠血浆中 GSH-Px 的活性为 (2167±245.23)U/L, LDH 活性为 (6438±314.76) U/L。结果显示, 与正常大鼠比较, MCAO 大鼠 (n=10) 血浆中 GSH-Px 活性显著降低 (P<0.01), LDH 活性显著提高 (P<0.01)。经 HSYA 和谷红注射液给药后, GSH-Px 活性有所提高, LDH 活性有所降低, 其中谷红注射液效果更为显著。表明 HSYA 和谷红注射液对脑缺血再灌注损伤均有一定的保护作用, 结果见图 3。

3.5 药动-药效联动分析

采用 DAS 3.2.6 软件, 对 HSYA 血药浓度 (X) 与 MCAO 大鼠血浆中 GSH-Px、LDH 活性 (Y) 进行量效关系分析。用散点相关法, X 取对数进行作图。当 lnX>1.8 时, 随着药物浓度升高, GSH-Px 活性呈下降趋势, LDH 活性呈上升趋势; lnX<1.8 时, 随着药物浓度升高, GSH-Px 活性呈上升趋势, LDH 活性呈下降趋势, 这可能与 HSYA 药效的发挥

具有时间延后性相关。结果见图 4。

4 讨论

4.1 血浆蛋白结合率对药动-药效学的影响

药物在进入体内后处于两种存在状态, 一部分呈游离的分子状态, 另一部分则与血浆蛋白结合, 处于可逆结合状态。而只有游离的药物能发挥药理作用, 结合的药物则无药理活性。药物的这种可逆性结合不仅影响其代谢动力学、作用强度与时间, 而且往往与药物的作用机制、药物相互作用等密切相关, 故研究药物与血浆蛋白的结合有重要意义。本研究采用平衡透析法进行 HSYA 的体外血浆蛋白结合率的测定, HSYA 质量浓度为 2.5、10、25 mg/L 时, 血浆蛋白结合率分别为 77.96%、73.54%、76.13%, 而谷红注射液中 HSYA 在质量浓度为 2.5、10、25 mg/L 时血浆蛋白结合率分别是 68.21%、58.22%、63.17%。谷红注射液中 HSYA 血浆蛋白结合率相比于 HSYA 单体有所降低, 表明 HSYA 属于中等强度的蛋白结合率药物。由表 1 看出, 谷红注

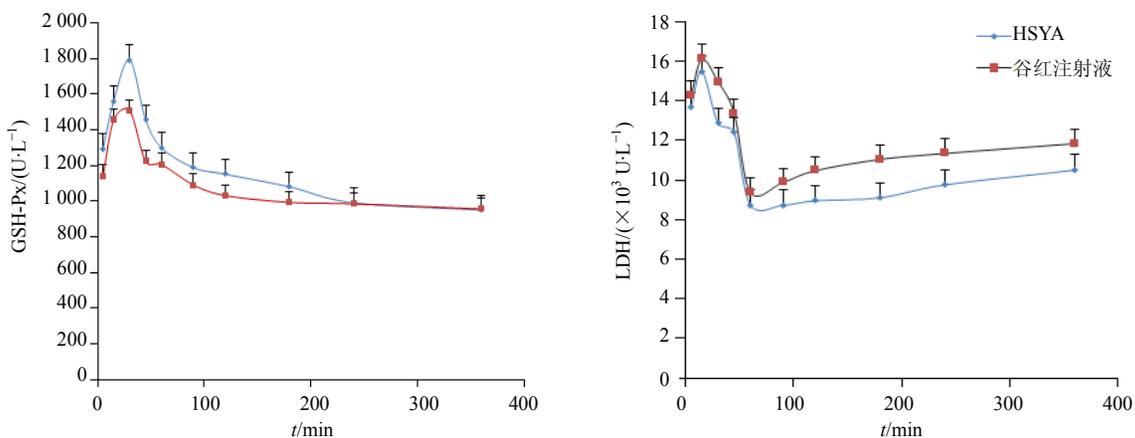


图 3 HSYA 组和谷红注射液组各时间点血浆中 GSH-Px 和 LDH 的平均活力 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Curves of GSH-Px and LDH activity in rat plasma changed with time after administration of HSYA and Guhong Injection ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

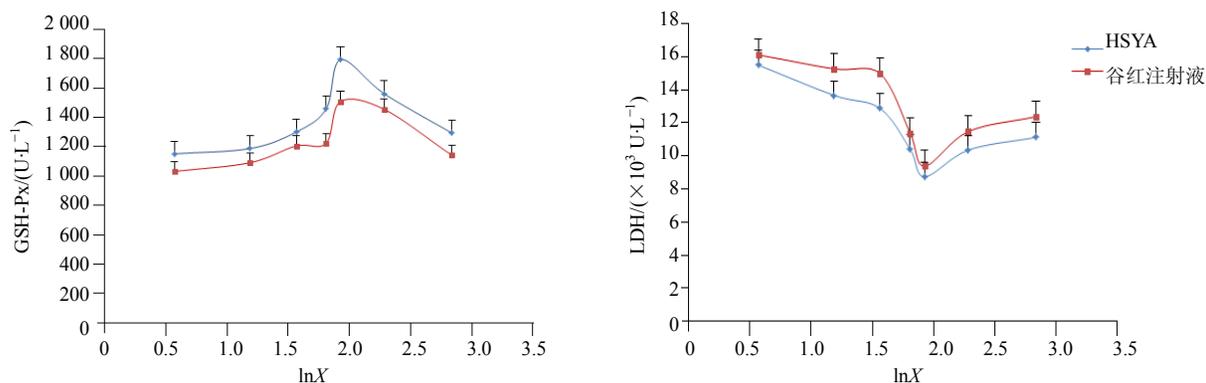


图 4 血浆中 GSH-Px 和 LDH 的活力与 HSYA 药物浓度的关系 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Correlations between HSYA concentration with vitality of GSH-Px and LDH ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

注射液组的 HSYA 在 MCAO 大鼠体内的 V_z 显著高于 HSYA 组, 这可能与谷红注射液中其他药物成分在体内与 HSYA 竞争性的蛋白结合, 从而降低了 HSYA 的蛋白结合, 增加了药物的组织分布有关。

4.2 谷红注射液与 HSYA 给药在 MCAO 大鼠中的药动-药效联动分析

脑缺血再灌注损伤是多种机制参与的复杂的病理生理过程, 主要与自由基过度形成、兴奋性氨基酸毒性作用、炎症反应、细胞内钙超载和细胞凋亡多种机制有关, 其中氧化损伤是主要的致病因素^[13]。LDH 是糖酵解过程中一种重要的酶, 与脑缺血再灌注氧化损伤密切相关, 脑组织破坏致 LDH 释放入血, LDH 活性升高^[14]。脑缺血后产生的大量氧自由基能攻击生物膜中的不饱和脂肪酸从而引发脂质过氧化, GSH-Px 能将过氧化氢 (H_2O_2) 分解为分子氧和水, 清除氧自由基的毒性作用, 从而减轻细胞损害^[15]。从图 4 可以看出, MCAO 大鼠分别经尾 iv HSYA、谷红注射液后, 血浆中 GSH-Px 活性与 HSYA 药物浓度呈正相关, LDH 活性与血浆中 HSYA 药物浓度呈负相关, 且具有一定的滞后性, 原因有可能与药物的延迟效应有关。其中谷红注射液组比 HSYA 组对血浆中 GSH-Px、LDH 活性的影响更为显著。本实验对药动-药效进行联动分析有助于更全面和更准确的了解药物效应随药物浓度及时间变化的规律, 对临床制定合理给药方案、提高疗效和减少毒副作用具有重要的参考价值, 同时也证实了谷红注射液对 MCAO 大鼠具有保护作用, 其作用机制可能与抗氧化损伤有关。

本实验基于大鼠 MCAO 模型, 探讨了谷红注射液及 HSYA 的药动、药效的差异性, 并进行药动-药

效的联动分析。结果表明谷红注射液比 HSYA 在 MCAO 损伤大鼠中的生物利用度更高, 效果更为显著, 能更好地增加血浆中 GSH-Px 及降低 LDH 的活性, 从而对机体氧化损伤具有更为显著的保护作用。中药复方有效成分在体内的作用是一个复杂的过程, 复方中有效成分与单体给药后药动学过程存在一定的差异^[16-18]。本实验一方面考察了谷红注射液对 HSYA 在 MCAO 大鼠中代谢的影响, 另一方面也探究了谷红注射液中 HSYA 体内过程与抗氧化作用的相关性, 为谷红注射液的临床用药提供了实验依据, 也为中西药合理配伍运用提供了借鉴。

参考文献

- [1] 张 苗. 谷红注射液治疗急性脑梗死有效性和安全性的多中心、随机、开放性临床观察 [J]. 现代预防医学, 2010, 37(22): 4382-4385.
- [2] 韩泽蓉. 谷红注射液治疗冠心病心绞痛 136 例临床观察 [J]. 中国现代医药杂志, 2006, 8(9): 78.
- [3] 扈晓佳, 殷 莎, 袁婷婷, 等. 红花的化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2013, 31(3): 161-197.
- [4] Yang Q, Yang Z F, Liu S B. Neuroprotective effects of hydroxylsafflor yellow A against excitotoxic neuronal death partially through down-regulation of NR2B-containing NMDA receptors [J]. *Neurochem Res*, 2010, 35(9): 1353-1360.
- [5] 单宏丽, 杨宝峰, 李玉荣, 等. 红花黄素对氧自由基所致的心肌细胞电生理异常的保护作用 [J]. 中国临床康复, 2004, 8(30): 6810-6812.
- [6] 李会会, 胡娜平, 刘美佑, 等. 大黄酸和羟基红花黄色素 A 单用及配伍对慢性肾病的保护作用研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(6): 607-611.
- [7] 杨晓宁, 禹玉洪, 李 阳, 等. HPLC 法测定丁香酚与

- 大鼠血浆蛋白的结合率 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 391-393.
- [8] 王文哲, 周静, 郭立玮, 等. 黄连解毒汤中小檗碱及其他成分模拟组合在脑缺血大鼠体内药动学比较研究 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 64-68.
- [9] 汤建明, 欧阳臻, 冯旭, 等. 红花及复方脑得生片中羟基红花黄色素A在大鼠体内的药动学研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(16): 2246-2249.
- [10] Tian Y, Yang Z F, Qiao Y, *et al.* Pharmacokinetic comparisons of hydroxysafflower yellow A in normal and blood stasis syndrome rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(1): 1-4.
- [11] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [12] 王绚, 何超芹, 陈亚, 等. 马钱子生物碱血浆蛋白结合率的测定与比较 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 185-188.
- [13] 舒明春, 万海同, 周惠芬, 等. 谷红注射液抗脑缺血性再灌注损伤的作用及其机制 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(24): 4829-4833.
- [14] 肖丽萍, 黄益兴. 急性脑梗死患者血清乳酸脱氢酶的测定及临床意义 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2000, 8(1): 54.
- [15] Yan T H, Jia Y, Yang W, *et al.* The protective effect of rhodiola glucoside in focal cerebral ischemia/reperfusion injury rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2008, 24(11): 1521-1521.
- [16] Yan R, Wang Y, Shen W, *et al.* Comparative pharmacokinetics of dehydroevodiamine and coptisine in rat plasma after oral administration of single herbs and Zuojinwan prescription [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(8): 1152-1159.
- [17] 钟晓雨, 霍务贞, 龚琼, 等. 基于药动学的中药配伍研究现状 [J]. 中草药, 2013, 44(21): 3084-3088.
- [18] 曾明飞, 潘林梅, 朱华旭, 等. 黄连解毒汤中栀子苷在正常及脑缺血大鼠体内药动学研究 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 617-620.