

基于药动学与药效学相关联的养阴通脑颗粒主要有效部位正交配伍研究

万嘉洋, 张洋洋, 何 昱, 万海同, 金伟锋, 虞 立*

浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

摘 要: **目的** 探讨养阴通脑颗粒主要有效部位(总生物碱、总黄酮、总皂苷、总酚酸)配伍后在脑缺血再灌注模型大鼠体内药物浓度及其药动学与药效学变化。**方法** 采用正交试验法组成上述主要有效部位用量配比不同的 9 个组方, 供脑缺血再灌注模型大鼠 ig 给药, 高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)测定不同时间点血浆中的葛根素、阿魏酸和川芎嗪血浆药物浓度。DAS 3.2.6 软件以非房室模型拟合药动学参数, 并运用总量统计矩法和综合评分法对整体药动学特征进行评价。同时采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定大鼠血浆中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的含量。最后进行药动学-药效学(PK-PD)模型研究, 获得各药物浓度与药效之间的定量方程。**结果** 葛根素、阿魏酸和川芎嗪在模型大鼠体内的药动学特征有所差异。总量统计矩和综合评分研究表明不同配伍对总量零阶矩、总量平均滞留时间、综合评分等参数影响不一。主要有效部位正交配伍给药后, 一定程度上会抑制脑缺血再灌注大鼠血浆中 SOD 和 CAT 的降低。各 PK-PD 模型均采用 Sigmoid-E_{max} 模型, 拟合结果与实测数据之间相关性良好, *R* 值均大于 0.85。**结论** 养阴通脑颗粒主要有效部位配伍对模型大鼠体内的药动学行为和抗氧化指标具有一定影响; 中药复方多成分药物代谢动力学可采用总量统计矩和综合评分法进行研究; PK-PD 结合模型可用于中药复方多成分药动学与药效学之间相关性的评价与预测。

关键词: 养阴通脑颗粒; 有效部位; 药动学; 药效学; 数学模型; PK-PD 结合模型; 葛根素; 阿魏酸; 川芎嗪

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)01-0135-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.019

Orthogonal compatibility study on main effective parts of Yangyin Tongnao Granules based on pharmacokinetics and pharmacodynamics

WAN Jia-yang, ZHANG Yang-yang, HE Yu, WAN Hai-tong, JIN Wei-feng, YU Li

Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: **Objective** To investigate the pharmacokinetic and pharmacodynamic changes of Yangyin Tongnao Granules (YTG) in cerebral ischemia reperfusion rats after the compatibility of main effective parts (total alkaloids, total flavonoids, total saponins and total phenolic acids). **Methods** By using the orthogonal design to research the main effective parts of YTG, nine different dosage ratios combinations were formed, which were used for oral administration in cerebral ischemia reperfusion rats. High performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD) was used to determine the concentration of puerarin, ferulic acid, and ligustrazine in rat plasma at different time points. The non-compartmental model was used to fit the pharmacokinetic parameters by Drug and Statistics (DAS) 3.2.6 software. The total quantum statistical moment analysis method and comprehensive evaluation method were used to evaluate the total pharmacokinetic characteristics. Meanwhile, the content of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits. Finally, the PK-PD model and the quantitative equations between drug concentration and efficacy were obtained. **Results** The pharmacokinetic characteristics of puerarin, ferulic acid and ligustrazine in cerebral ischemia-reperfusion rats were different. Total statistical moment and comprehensive score study showed that different combinations had different effects on ACUT, mean retention time (MRT), and comprehensive evaluation. The effective parts inhibited the reduction of oxidation indexes such as SOD and CAT. Sigmoid-E_{max} models were adopted in all PK-PD models, and the fitting results had a good correlation with the measured data. The *R* values were more than 0.85. **Conclusion**

收稿日期: 2019-06-12

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81630105); 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(2017YFC1700400); 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项(2017YFC1700403); 国家自然科学基金青年项目(81904083); 浙江省基础公益研究计划项目(LGN18A010001); 中国博士后科学基金面上资助项目(2018M630692); 浙江省中医药科技计划项目(2017ZB024)

作者简介: 万嘉洋(1997—), 女, 浙江杭州人, 主要从事中药药动学、药效学研究。E-mail: 335284551@qq.com

***通信作者** 虞 立 Tel: (0571)86613711 E-mail: yuli9119@126.com

Compatibility of YTG activity parts had a certain effect on their pharmacokinetic behaviors and antioxidation in model rats. The total quantum statistical moment analysis and comprehensive evaluation method can be used to study the pharmacokinetics of multi-component traditional Chinese medicine prescriptions. PK-PD model could be used to predict and evaluate the correlation between pharmacokinetics and pharmacodynamics of traditional Chinese medicine prescriptions.

Key words: Yangyin Tongnao Granules; effective parts; pharmacokinetics; pharmacodynamics; mathematical model; PK-PD model; puerarin; ferulic acid; ligustrazine

中药药动学是借助于动力学原理,研究中药活性成分、组分、单方、复方在体内吸收、分布、代谢、排泄的动态变化规律及其在体内时量-时效关系,并用数学表达式加以定量描述的一门边缘学科。药动学-药效动力学(pharmacokinetics-pharmacodynamics, PK-PD)模型^[1]是科学的数学工具,它结合了 PK 模型、PD 模型和统计模型(特别来源于个体内外间的 PK、PD 变异)。PK-PD 模型可以阐述药物在体内的动态变化过程,对中药质量评价、临床给药方案和药效物质基础的研究奠定了一定的基础^[2]。

养阴通脑颗粒是由生地黄、黄芪、葛根、川芎等中药组成的中药复方制剂^[3]。具有抗氧化、抗炎、抗血栓、抗细胞凋亡、增加脑血流量和改善微循环等药理作用^[4-5]。临床上用于脑卒中恢复期的治疗^[6]。本实验在前期研究的基础上^[7],采用正交法对养阴通脑颗粒组方主要有效部位(总黄酮、总皂苷、总生物碱、总酚酸)进行配伍实验,测定血浆中主要成分(葛根素、阿魏酸、川芎嗪)的含量,以探讨养阴通脑颗粒有效部位配伍对药动学参数的影响,分析复方主要有效部位之间的君、臣、佐、使相互作用关系,为中药复方配伍机制提供参考依据,并为临床合理用药提供指导。同时从抗氧化指标动态变化角度,来探讨有效部位配伍对中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠的治疗作用。在药效学的基础上结合药动学,建立相应的 PK-PD 数学模型,让两者的相关性更加全面化和直观化,使中药复方的研究动态化、数理化、模型化,为开发更为有效的治疗脑卒中类新药提供相应的理论依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

养阴通脑颗粒总黄酮部位(总黄酮 82%、葛根素 67.3%,批号 20141015)、总皂苷部位(总皂苷 75%、黄芪甲苷 45.7%,批号 20141015)、总生物碱部位(总生物碱 80%、川芎嗪 51%,批号 20141015)、总酚酸部位(总酚酸 86%、阿魏酸 63.4%,批号

20141015),浙江中医药大学心脑血管病研究所自制;葛根素对照品(质量分数 $\geq 98\%$,批号 150312)、川芎嗪对照品(质量分数 $\geq 98\%$,批号 150312)、阿魏酸对照品(质量分数 $\geq 98\%$,批号 150312),南京泽朗医药科技有限公司;对羟基苯甲酸(内标,质量分数 $\geq 99\%$),天津光复化工研究所;肝素钠(批号 2B010350),北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)ELISA 检测试剂盒,上海源叶生物科技有限公司;甲醇、乙腈均为色谱纯(Tedia 公司);水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

SpectraMax Plus384 连续光谱扫描式酶标仪,美国 Molecular Devices (MD) 公司;Agilent 1200 型高效液相色谱仪(包括 G1311A 四元梯度泵、G1316A 柱温箱、G1315D 二极管阵列检测器、G1315D DAD 检测器、G1322A 在线脱气机和化学工作站),美国 Agilent 科技有限公司;Millipore Simplicity 超纯水仪,美国 Millipore 公司;赛多利斯(Sartorius)BS110S 电子天平,北京赛多利斯天平有限公司;QL-861 漩涡振荡混合器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;2-16PK 离心机,德国 Sigma 公司;ND100 ND100-1 氮气吹扫仪,杭州瑞城仪器有限公司。

1.3 动物

健康清洁级 SD 大鼠,体质量(280 ± 20)g,雄性,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,动物质量许可证号 SCXK(沪)2014-0001,实验前适应饲养 3 d 以上,动物房温度控制在 $20 \sim 25$ °C。实验前须禁食 12 h,自由饮水。

2 方法与结果

2.1 养阴通脑颗粒主要有效部位的配伍设计

将养阴通脑颗粒 4 个主要有效部位的高、中、低 3 个剂量,采用 4 因素 3 水平的正交试验设计方法,剂量设置为前期预试验确定。按照 $L_9(3^4)$ 正交法配伍养阴通脑颗粒中各主要有效部位,组成 9 个配伍方(配伍方 1~9),见表 1。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计方案
Table 1 Design scheme of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

组别	因素			
	总生物碱/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	总黄酮/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	总皂苷/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	总酚酸/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
配伍方 1	60 (1)	80 (1)	80 (1)	80 (1)
配伍方 2	60 (1)	160 (2)	160 (2)	160 (2)
配伍方 3	60 (1)	240 (3)	240 (3)	240 (3)
配伍方 4	120 (2)	80 (1)	160 (2)	240 (3)
配伍方 5	120 (2)	160 (2)	240 (3)	80 (1)
配伍方 6	120 (2)	240 (3)	80 (1)	160 (2)
配伍方 7	180 (3)	80 (1)	240 (3)	160 (2)
配伍方 8	180 (3)	160 (2)	80 (1)	240 (3)
配伍方 9	180 (3)	240 (3)	160 (2)	80 (1)

2.2 大鼠 MCAO 模型的制备^[7]

按照经典的线栓法制备大鼠大脑右侧中动脉 MCAO 模型, 脑缺血 1 h 后抽出栓线, 系紧切口, 进行再灌注。

2.3 动物分组与给药

2.3.1 药动学 将 54 只 SD 雄性大鼠随机分为 9 个组, 每组 6 只, 养阴通脑颗粒主要有效部位 9 个正交配伍组方用生理盐水溶解, 配成混悬液, 再灌注同时各组大鼠 ig 给药。分别在给药后 0.083、0.167、0.333、0.5、1、1.5、2、3、4、6 h 眼眶后静脉取血 0.6 mL, 血样置肝素化离心管中, 4 °C 下 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液即得含药血浆样品。

2.3.2 药效学 在药动学的基础上, 再将 12 只 SD 大鼠随机分为假手术组和模型组, 每组 6 只。假手术组和模型组均 ig 等量生理盐水。分别在给药后 0.083、0.167、0.333、0.5、1、1.5、2、3、4、6 h 眼眶后静脉取血 0.6 mL, 血样置肝素化离心管中, 4 °C 下 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液即得含药血浆样品。

2.4 血浆中葛根素、阿魏酸、川芎嗪的测定

血浆样品的处理及测定方法均按照文献报道方法^[7]进行。

2.5 血药浓度及药动学参数的计算

记录 9 个组方中的 3 个检测成分和内标 (对羟基苯甲酸丙酯) 的峰面积, 各个检测成分与内标峰面积的比值代入各自的标准曲线方程, 计算得到 9 个组方中 3 种成分不同时间点的血药浓度, 并计算最终的平均血药浓度。以时间为横坐标, 平均血药浓度为纵坐标, 绘制血药浓度-时间曲线。用药动学软件 DAS 3.2.6 拟合, 计算得到各个组方中 3 种成分的药动学参数。

2.5.1 不同正交组方中葛根素在 MCAO 大鼠体内的药动学分析与参数拟合 9 个组方 ig 给药后, 葛根素在 MCAO 大鼠体内的血药浓度-时间曲线见图 1。药动学参数结果见表 2。从图 1 可以直观地发现, 不同配伍给药后, 葛根素血药浓度和经时变化曲线均有显著差异, 葛根素的血药浓度-时间曲线都是单峰。表 2 结果可知, 葛根素的 $AUC_{0\sim t}$ 与总黄酮有效部位的给药剂量呈正相关, 但总黄酮有效部位相同给药剂量下的配伍方 1、4、7, 配伍方 2、5、8 和配伍方 3、6、9 中葛根素的 $AUC_{0\sim t}$ 也存在较大差异, 说明配伍后的组方有利于葛根素药物的吸收, 从而导致葛根素在血浆中浓度有所上升。葛根素在配伍方 5~7 的平均驻留时间 ($MRT_{0\sim t}$) 较其他组短, 配伍方 3 的 $MRT_{0\sim t}$ 最长, 说明配伍方 3 的配伍能维持葛根素较久的药物特性。配伍方 3、5、6、9 的达峰浓度 (C_{max}) 大于其他组方, 说明配伍方 3、5、6、9 的葛根素吸收效果显著优于其他组方。配伍方 8 的达峰时间 (t_{max}) 最短, 说明此配伍中葛根素的吸收速度最快。

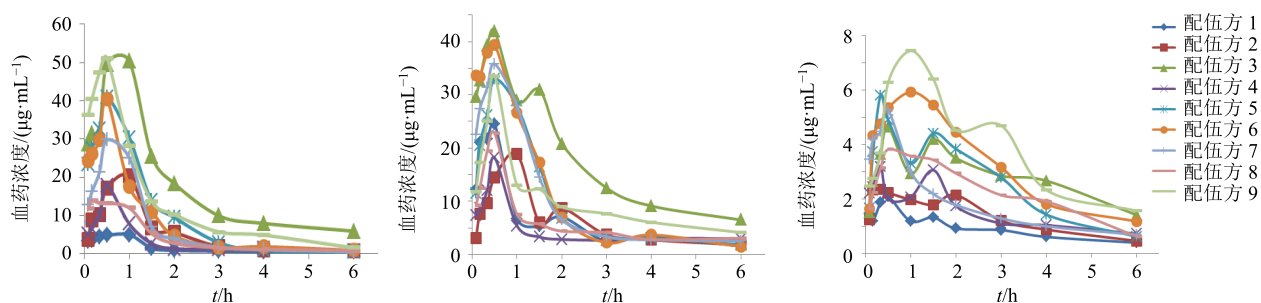


图 1 9 个组方 ig 给药后 MCAO 大鼠血浆中葛根素、阿魏酸和川芎嗪的药时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Drug concentration-time curves of puerarin, ferulic acid, and ligustrazine in plasma of MCAO rats after ig administration of nine formulations ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.5.2 不同正交组方中阿魏酸在 MCAO 大鼠体内的药动学分析与参数拟合 9 个组方 ig 给药后, 阿魏酸在 MCAO 大鼠体内的血药浓度-时间曲线见图 1, 药动学参数结果见表 3。从图 1 可以直观地发现, 不同配伍给药后, 阿魏酸血药浓度和经时变化曲线均有显著差异。配伍方 2、3、9 的阿魏酸血药浓度-时间曲线是双峰, 其余组方均为单峰。表 3 结果表

明配伍方 3 中阿魏酸的 $AUC_{0\sim t}$ 高于其他组方, 其次为配伍方 6、7、9, 表明配伍方 3 在配伍后阿魏酸的吸收程度最大, 且生物利用度高于其他组方。阿魏酸的 $MRT_{0\sim t}$ 基本维持在 1.5~2 h, 阿魏酸在配伍方 3、4、9 的 $MRT_{0\sim t}$ 都超过 2 h, 大于其他组方, 说明这 3 个配伍组方使得阿魏酸药物发挥的作用更持久。阿魏酸在配伍方 3、6 的 C_{max} 明显大于其他

表 2 9 个组方 ig 给药后 MCAO 大鼠血浆中葛根素的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Pharmacokinetic parameters of puerarin in plasma of MCAO rats after ig administration of nine formulations ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	葛根素								
		配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
$AUC_{0\sim t}$	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	8.667±0.246	30.515±0.604	86.339±4.653	18.845±1.133	57.582±1.648	45.634±0.216	38.821±0.757	23.554±3.927	74.817±1.472
$AUC_{0\sim \infty}$	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	10.367±0.961	30.676±0.592	100.430±10.705	23.752±0.767	57.647±1.615	47.899±0.562	39.773±0.780	25.574±4.338	78.162±2.075
$AUMC_{0\sim t}$	$h \cdot h \cdot mg \cdot L^{-1}$	13.923±0.719	42.795±0.767	195.144±9.219	27.518±1.891	66.195±0.926	53.844±0.734	44.442±0.858	33.419±3.440	107.321±2.650
$AUMC_{0\sim \infty}$	$h \cdot h \cdot mg \cdot L^{-1}$	32.548±9.893	43.938±0.771	630.830±218.609	90.321±11.589	66.641±0.747	73.790±7.790	52.333±3.315	54.533±23.219	134.578±8.051
$MRT_{0\sim t}$	h	1.606±0.057	1.403±0.021	1.835±0.023	1.460±0.033	1.150±0.021	1.180±0.013	1.145±0.019	1.432±0.097	1.435±0.014
$MRT_{0\sim \infty}$	h	3.089±0.677	1.432±0.024	4.413±1.303	3.807±0.512	1.157±0.024	1.539±0.144	1.316±0.073	2.113±0.769	1.721±0.060
$VRT_{0\sim t}$	h^2	2.303±0.113	1.392±0.042	2.317±0.025	2.199±0.177	0.929±0.132	1.411±0.043	1.083±0.037	1.897±0.329	1.794±0.045
$VRT_{0\sim \infty}$	h^2	17.201±8.046	1.562±0.063	33.489±19.233	32.411±8.508	0.966±0.152	4.348±1.657	2.373±0.622	8.712±8.503	3.751±0.429
$t_{1/2z}$	h	3.172±0.754	0.775±0.022	4.16±1.503	4.651±0.514	0.568±0.058	1.834±0.446	1.486±0.319	2.193±1.154	1.475±0.093
t_{max}	h	0.917±0.204	1.000±0.000	0.750±0.274	0.500±0.000	0.500±0.000	0.500±0.000	0.500±0.000	0.334±0.182	0.500±0.000
$V_{z/F}$	$L \cdot kg^{-1}$	43.738±7.418	3.648±0.167	4.194±1.317	28.310±3.539	1.427±0.183	5.512±1.265	5.388±1.113	12.243±5.823	2.721±0.117
$CL_{z/F}$	$L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	9.716±0.901	3.261±0.063	0.716±0.059	4.214±0.136	1.736±0.049	2.088±0.024	2.515±0.049	4.009±0.703	1.280±0.035
C_{max}	$mg \cdot L^{-1}$	4.974±0.246	20.276±0.367	50.609±3.390	17.893±1.604	40.882±0.646	40.409±0.795	29.729±1.455	18.617±0.546	51.148±2.438

表 3 9 个组方 ig 给药后 MCAO 大鼠血浆中阿魏酸药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of ferulic acid in plasma of MCAO rats after ig administration of nien groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	阿魏酸								
		配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
$AUC_{0\sim t}$	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	35.787±2.448	36.264±0.588	84.235±7.997	26.193±0.487	40.797±1.002	61.386±1.081	57.730±1.603	34.216±0.535	58.386±2.004
$AUC_{0\sim \infty}$	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	39.926±3.169	43.935±0.947	98.108±18.245	41.542±37.649	49.487±6.040	65.518±1.567	68.426±12.543	68.463±4.220	81.601±5.938
$AUMC_{0\sim t}$	$h \cdot h \cdot mg \cdot L^{-1}$	61.085±1.549	68.405±0.250	210.161±20.857	57.622±0.737	65.829±2.252	83.875±2.094	84.593±2.685	67.555±1.088	120.538±7.605
$AUMC_{0\sim \infty}$	$h \cdot h \cdot mg \cdot L^{-1}$	97.119±12.192	147.825±13.371	342.471±142.592	633.296±110.407	167.374±89.832	119.610±8.674	247.248±215.629	654.999±95.402	390.328±84.945
$MRT_{0\sim t}$	h	1.712±0.096	1.887±0.025	2.014±0.068	2.200±0.032	1.614±0.039	1.366±0.016	1.465±0.019	1.974±0.011	2.063±0.060
$MRT_{0\sim \infty}$	h	2.430±0.184	3.361±0.246	2.811±0.746	4.776±1.122	3.248±1.344	1.824±0.094	3.267±2.286	4.527±0.793	4.748±0.646
$VRT_{0\sim t}$	h^2	2.473±0.084	2.155±0.024	2.465±0.099	3.62±0.045	2.424±0.190	1.708±0.069	2.013±0.042	3.147±0.041	2.806±0.050
$VRT_{0\sim \infty}$	h^2	7.452±1.682	15.380±2.971	8.540±6.381	16.771±4.019	20.361±18.584	5.164±0.794	31.691±4.207	12.052±1.887	29.068±8.641
$t_{1/2z}$	h	1.826±0.236	2.986±0.293	1.916±0.773	21.833±0.000	3.035±1.576	1.819±0.128	3.619±2.917	7.676±0.585	3.800±0.515
t_{max}	h	0.472±0.068	1.000±0.000	0.472±0.068	0.500±0.000	0.500±0.000	0.444±0.086	0.500±0.000	0.500±0.000	0.500±0.000
$V_{z/F}$	$L \cdot kg^{-1}$	6.592±0.520	9.795±0.786	2.275±0.578	26.612±0.000	8.516±3.381	4.003±0.211	6.976±4.378	16.167±0.303	6.706±0.561
$CL_{z/F}$	$L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	2.519±0.219	2.277±0.049	0.864±0.132	3.326±1.217	2.045±0.240	1.527±0.036	1.499±0.247	1.465±0.089	1.231±0.081
C_{max}	$mg \cdot L^{-1}$	26.779±2.693	18.852±0.928	42.301±3.878	18.157±1.213	32.980±3.174	40.370±1.686	35.816±0.843	22.736±1.124	33.535±0.482

组方,说明这 2 个配伍组方对阿魏酸的吸收到促进的作用。阿魏酸在配伍方 6 的 $t_{\max}$ 最短,说明阿魏酸的吸收速度最快。

2.5.3 不同正交组方中川芎嗪在 MCAO 大鼠体内的药动学分析与参数拟合 9 个组方 ig 给药后,川芎嗪在 MCAO 大鼠体内的血药浓度-时间曲线见图 1,药动学参数结果见表 4。从图 1 可以直观地发现,不同配伍给药后,川芎嗪血药浓度和经时变化曲线均有显著差异。配伍方 6~8 的川芎嗪血药浓度-时间曲线是单峰,其余组方为双峰。表 4 结果表明,

同一剂量的总生物碱不同配伍组方下,川芎嗪的 AUC_{0-t} 大为不同,说明其他有效部位对川芎嗪的吸收有一定的影响。且川芎嗪的 AUC_{0-t} 与总生物碱有效部位的给药剂量呈正相关。川芎嗪的平均 MRT_{0-t} 基本维持在 2 h 左右,川芎嗪在配伍方 3 的 MRT_{0-t} 最长,说明这个配伍组方使得川芎嗪药物发挥的作用更持久。配伍方 9 的 $C_{\max}$ 最大,其次是配伍方 3、5~7,且明显高于其余组方,说明这些配伍组方对川芎嗪的吸收起到促进的作用。配伍方 5 的 $t_{\max}$ 最小,说明川芎嗪的吸收速度最快。

表 4 9 个组方 ig 给药后 MCAO 大鼠血浆中川芎嗪药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Pharmacokinetic parameters of ligustrazine in plasma of MCAO rats after ig administration of nine groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	川芎嗪								
		配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
AUC_{0-t}	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	5.317±0.237	7.993±0.186	17.051±0.246	8.862±0.129	15.527±0.217	19.394±0.203	10.592±0.106	13.525±0.075	23.255±0.215
$AUC_{0-\infty}$	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	7.130±0.484	9.425±0.076	23.208±0.381	13.216±2.353	16.833±0.220	22.917±0.388	13.485±0.520	15.148±0.357	28.92±0.441
$AUMC_{0-t}$	$h \cdot h \cdot mg \cdot L^{-1}$	12.026±0.517	17.731±0.260	43.952±0.761	20.401±0.558	32.610±0.280	42.424±1.149	20.993±0.455	31.297±0.340	54.134±0.578
$AUMC_{0-\infty}$	$h \cdot h \cdot mg \cdot L^{-1}$	31.489±5.037	30.817±1.823	107.763±4.783	76.315±41.946	43.295±0.758	74.164±3.372	51.242±6.804	45.265±3.979	109.539±3.982
MRT_{0-t}	h	2.263±0.065	2.219±0.030	2.578±0.008	2.302±0.032	2.101±0.019	2.187±0.038	1.982±0.026	2.314±0.029	2.328±0.007
$MRT_{0-\infty}$	h	4.397±0.434	3.270±0.190	4.642±0.146	5.497±1.876	2.572±0.042	3.235±0.094	3.789±0.374	2.985±0.193	3.787±0.085
VRT_{0-t}	h^2	2.688±0.142	2.338±0.055	2.601±0.034	2.693±0.076	2.042±0.019	2.288±0.039	2.674±0.020	2.221±0.088	2.312±0.023
$VRT_{0-\infty}$	h^2	21.053±5.250	9.637±1.440	18.769±1.634	37.598±30.179	4.900±0.199	9.374±0.653	18.328±4.393	6.452±1.300	13.401±0.884
$t_{1/2\alpha}$	h	3.219±0.387	2.159±0.167	3.019±0.131	4.056±1.604	1.511±0.043	2.082±0.080	3.030±0.403	1.768±0.189	2.617±0.091
$t_{\max}$	h	0.444±0.086	0.333±0.149	0.500±0.000	0.528±0.476	0.333±0.000	1.000±0.000	0.500±0.000	0.500±0.000	1.000±0.000
V_z/F	$L \cdot kg^{-1}$	65.028±4.662	33.051±2.567	18.766±0.639	43.031±8.747	12.956±0.393	13.103±0.330	32.332±3.239	16.817±1.411	13.053±0.291
CL_z/F	$L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	14.079±0.961	10.611±0.086	4.310±0.070	7.743±1.194	5.942±0.077	4.365±0.074	7.426±0.298	6.605±0.155	3.459±0.053
$C_{\max}$	$mg \cdot L^{-1}$	2.203±0.191	2.475±0.278	4.655±0.077	3.187±0.144	5.807±0.270	5.938±0.180	5.274±0.093	3.829±0.081	7.451±0.210

2.6 养阴通脑颗粒主要有效部位配伍后大鼠血浆中 SOD 活力的药效学研究

2.6.1 SOD 标准曲线结果 按照 SOD ELISA 试剂盒的实验操作步骤,吸光度 (A) 值为纵坐标, SOD 活力 (U/mL) 为横坐标,最终得到 SOD 标准曲线方程 $Y = -2 \times 10^{-5} X^2 + 0.0123 X + 0.0231$, $r^2 = 0.9991$ 。

2.6.2 9 个配伍方给药后不同时间点大鼠血浆中 SOD 活力的变化 由表 5 可知,假手术组大鼠血浆中 SOD 活力相对稳定,而模型组大鼠血浆中的 SOD 活力随着时间的延长则呈现下降趋势,模型组与假手术组各个时间点的 SOD 活力相比均具有显著差异 ($P < 0.01$)。与模型组相比,养阴通脑颗粒 9 个有效部位配伍方组大鼠各个时间点血浆中的 SOD 活力均有所增加。给药 0.083 h 后,配伍方 8 组大鼠

血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 5~7、9 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异不显著 ($P > 0.05$)。给药 0.167 h 后,配伍方 5、6、8 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 0.333 h 后,配伍方 5~8 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 0.5 h 后,配伍方 5~7 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 1 h 后,配伍

表 5 各组大鼠血浆中 SOD 活力 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 5 SOD activities in plasma of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	SOD/(U·mL ⁻¹)				
	0.083 h	0.167 h	0.333 h	0.5 h	1 h
配伍方 1	85.291±9.097	83.215±8.807	78.424±8.781	75.553±8.996	73.154±8.911
配伍方 2	86.893±8.905	86.276±8.969	80.572±8.874	80.384±8.694	76.201±9.171
配伍方 3	83.204±8.744	81.230±8.401	80.897±8.770	80.904±8.524	80.146±8.913
配伍方 4	89.478±8.455	87.967±8.705	86.588±8.695	85.551±8.392	85.239±8.934*
配伍方 5	90.852±8.304*	89.471±8.610*	87.154±8.728*	86.138±8.837*	85.732±6.311*
配伍方 6	89.725±8.995*	88.570±8.643*	87.705±8.979*	86.406±8.662*	84.544±8.880*
配伍方 7	89.100±7.650*	87.437±8.334	87.023±8.457*	86.907±8.635*	86.276±8.293**
配伍方 8	92.797±8.252**	89.752±8.237*	88.826±8.481**	84.671±9.135	84.145±9.043*
配伍方 9	88.882±8.923*	83.190±7.824	84.877±6.382	82.661±5.502**	82.133±3.955
假手术	108.171±7.060	112.694±4.835	111.067±6.697	114.175±8.413	110.085±9.256
模型	77.409±8.086**	76.820±4.837**	75.617±7.586**	75.415±7.695**	72.486±8.372**

组别	SOD/(U·mL ⁻¹)				
	1.5 h	2 h	3 h	4 h	6 h
配伍方 1	73.785±9.039	72.802±9.085	76.232±9.182*	80.507±8.899**	80.911±9.088**
配伍方 2	73.934±9.079	73.409±9.053	73.582±9.159	68.586±9.130	60.591±8.988
配伍方 3	79.373±8.804	78.911±8.707*	77.556±9.185**	75.963±9.127**	75.142±9.054**
配伍方 4	79.092±8.960	83.935±8.747**	75.301±8.605*	73.769±9.076*	66.367±8.534*
配伍方 5	84.319±9.088**	81.468±8.440**	74.632±9.110*	63.123±9.223	57.756±9.056
配伍方 6	79.749±8.854	78.644±8.603*	72.432±8.390	70.120±8.730	71.125±9.025**
配伍方 7	85.660±9.133**	83.305±8.891**	85.457±9.106**	82.886±9.199**	70.924±9.036**
配伍方 8	82.852±9.291*	79.662±8.909**	74.840±8.986*	67.348±8.805	59.868±8.969
配伍方 9	82.423±5.468*	86.842±4.059**	77.981±5.433**	76.597±8.173**	72.798±6.690**
假手术	113.248±8.145	110.077±8.782	110.475±8.916	112.845±6.597	109.156±7.704
模型	70.419±7.943**	65.957±7.992**	63.379±8.607**	60.205±2.890**	55.909±4.587**

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

** $P < 0.001$ vs Sham group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

方 7 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 4~6、8 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 1.5 h 后, 配伍方 5、7 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 8、9 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 2 h 后, 配伍方 4、5、7~9 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 3、6 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组

大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 3 h 后, 配伍方 3、7 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 1、4、5、8 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 4 h 后, 配伍方 1、3、7、9 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 4 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 6 h 后, 配伍方 1、3、6、7、9 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P <$

0.01); 配伍方 4 组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异显著 ($P<0.05$); 其余组大鼠血浆中的 SOD 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P>0.05$)。

就整体趋势而言, 配伍方 1、3、7~9 组与其他组相比, 能维持相对较高的水平, 说明对脑缺血再灌注损伤大鼠有治疗作用, 能增加 SOD 活力; 配伍方 2、4~6 组与其他组相比, 呈较大的下降趋势, 说明配伍组方可能没有发挥很好的疗效。综上所述, 从对大鼠血浆中 SOD 活力有所改善, 并综合显著性差异分析和总体趋势分析, 较好的配伍方为 7~9。

2.7 养阴通脑颗粒主要有效部位配伍后大鼠血浆中 CAT 活力的药效学研究

2.7.1 CAT 标准曲线结果 按照 CAT ELISA 试剂盒的实验操作步骤, A 值为纵坐标, CAT 活力 (U/mL)

为横坐标, 最终得到 CAT 标准曲线方程 $Y=-0.000 2 X^2+0.037 1 X+0.021 4$, $r^2=0.999 6$ 。

2.7.2 9 个配伍组方给药后不同时间点血浆中 CAT 活力的变化 由表 6 可知, 假手术组大鼠血浆中 CAT 活力波动不大、相对稳定, 而模型组大鼠血浆中的 CAT 活力随着时间的延长则出现逐渐下降趋势, 模型组与假手术组各个时间的 CAT 活力相比均具有显著差异 ($P<0.01$)。与模型组相比, 养阴通脑颗粒 9 个有效部位配伍方组大鼠各个时间点血浆中的 CAT 活力均有所增加。给药 0.083 h 后, 配伍方 9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P<0.01$); 配伍方 1 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P<0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P>0.05$)。给药 0.167 h 后, 配伍方 2、9 组大鼠血浆

表 6 各组大鼠血浆中 CAT 活力 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 6 CAT activities in plasma of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	CAT/(U·mL ⁻¹)				
	0.083 h	0.167 h	0.333 h	0.5 h	1 h
配伍方 1	33.163±6.464*	31.395±6.546	31.308±6.449*	31.026±6.560*	30.630±6.429**
配伍方 2	32.776±6.522	32.617±6.537**	31.758±6.609**	29.998±6.378	29.539±6.598*
配伍方 3	31.933±6.544	32.263±6.551*	29.569±6.410	28.487±6.589	28.283±6.630
配伍方 4	30.251±6.535	28.913±6.550	28.845±6.499	28.719±6.615	28.347±6.586
配伍方 5	29.924±6.419	29.191±6.552	28.191±6.601	27.944±6.577	26.816±6.616
配伍方 6	29.915±6.577	28.991±6.368	28.801±6.492	28.643±6.506	28.097±6.577
配伍方 7	29.225±6.429	28.883±6.567	27.383±6.480	27.037±6.559	26.686±6.510
配伍方 8	32.317±6.619	31.789±6.608	31.692±6.620**	29.807±6.581	29.597±6.542*
配伍方 9	35.580±6.364**	33.968±6.480**	34.384±6.365**	33.022±6.399**	32.482±6.520**
假手术	45.447±5.827	44.969±6.355	46.821±6.143	43.571±6.489	44.009±6.399
模型	28.926±6.526**	26.680±6.549**	25.770±6.371**	25.847±6.444**	24.631±6.454**

组别	CAT/(U·mL ⁻¹)				
	1.5 h	2 h	3 h	4 h	6 h
配伍方 1	29.388±6.483*	28.153±6.525*	29.166±6.491**	26.912±6.577*	25.867±6.574
配伍方 2	27.373±6.591	27.218±6.558	27.129±6.563*	26.854±6.528*	26.225±6.596*
配伍方 3	27.998±6.600	27.335±6.562	26.744±6.533*	26.457±6.254*	26.363±6.577*
配伍方 4	27.572±6.595	26.444±6.453	25.595±6.597	25.320±6.608	25.524±6.544
配伍方 5	26.781±6.605	26.439±6.509	26.294±6.229	26.009±6.520*	26.421±6.439*
配伍方 6	27.660±6.604	26.184±6.608	25.804±6.487	25.490±6.518	24.968±6.607
配伍方 7	25.610±6.498	25.107±6.489	25.003±6.450	25.358±6.540	22.551±6.557
配伍方 8	28.581±6.574*	28.008±6.615*	27.827±6.580*	26.541±6.614*	24.876±6.522
配伍方 9	32.101±6.541**	29.232±6.360**	29.082±6.348**	25.839±6.435*	30.175±6.379**
假手术	44.630±6.413	46.771±6.405	46.600±6.444	48.620±6.566	43.607±6.340
模型	24.351±6.492**	23.153±6.562**	22.366±6.461**	21.531±6.501**	20.746±6.315**

与假手术组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

** $P<0.001$ vs Sham group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 3 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 0.333 h 后, 配伍方 2、8、9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 1 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 0.5 h 后, 配伍方 9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 1 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 1 h 后, 配伍方 1、9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 2、8 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 1.5、2.0 h 后, 配伍方 9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 1、8 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 3 h 后, 配伍方 1、9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 2、3、8 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 4 h 后, 配伍方 1~3、5、8、9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。给药 6 h 后, 配伍方 9 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.01$); 配伍方 2~5 组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); 其余组大鼠血浆中的 CAT 活力与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

就整体趋势而言, 配伍方 3~6、8、9 组与其他组相比, 能维持相对较高的水平, 且配伍方 3、4、8、9 组与其他组相比, 在下降之后有上升的趋势, 说明对脑缺血再灌注损伤大鼠有治疗作用, 能增加 CAT 活力; 配伍方 1、2、7 组与其他组相比, 呈较大的下降趋势, 说明配伍组方可能没有发挥很好的疗效。综上所述, 从对大鼠血浆中 CAT 活力有所改

善, 并综合显著性差异分析和总体趋势分析, 较好的配伍组方为配伍方 3、8、9。

2.8 养阴通脑颗粒主要有效部位配伍 PK-PD 研究

实验中得到的大鼠血浆中 SOD、CAT 活力值数据, 为脑缺血再灌注损伤大鼠给药后的血浆中抗氧化指标。不能直接反映给药设计对 MCAO 大鼠的抗氧化修复作用, 无法进行药物效应动力学的直接分析。为了使数据更符合现实与数学模型的需要, 对原始数据进行相应的变换, 以模型组大鼠给药后的 SOD、CAT 活力值变化作为药效学指标, 即给药组各个时间点 SOD、CAT 活力值与相应模型组的差值作为即时效应, 效应强度分别记为 ΔE_{SOD} 、 ΔE_{CAT} 。

2.8.1 基于 ΔE_{SOD} 药效值的 PK-PD 联合数学模型研究

(1) 各个组方葛根素血药浓度与 ΔE_{SOD} 相关的 PK-PD 联合数学模型建立: 将 9 个组方葛根素血药浓度与对应的 ΔE_{SOD} 值数据输入药动学软件 DAS 3.2.6 中, 根据赤池信息准则 (Akaike information criterion, AIC)、相关系数 (R) 指标选择最佳药效动力学模型, 结果各个药效指标的最佳药效动力学模型为 Sigmoid- E_{max} 模型^[8], 其公式如下。公式中 E 为效应, E_{max} 为最大效应, EC_{50} 为引起的效应达到最大效应一半时效应室中药物的质量浓度, C 为药物质量浓度, γ 为形状因子, 是影响曲线斜率、决定曲线陡峭程度的参数, 它反映的是曲线的形状, 可以没有药理意义, 也可以是非整数^[9]。拟合得到的药物效应动力学参数结果见表 7。

$$E = E_{\text{max}} C^{\gamma} / (EC_{50}^{\gamma} + C^{\gamma})$$

9 个组方葛根素质量浓度与 ΔE_{SOD} 药效指标之间相应的量效方程, 分别如下。配伍方 1: $E = 15.138 C^{3.116} / (0.365^{3.116} + C^{3.116})$; 配伍方 2: $E = 20.01 C^{0.01} / (5.179^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 3: $E = 13.416 C^{0.351} / (11.21^{0.351} + C^{0.351})$; 配伍方 4: $E = 23.946 C^{0.07} / (0.356^{0.07} + C^{0.07})$; 配伍方 5: $E = 13.042 C^{1.254} / (0.361^{1.254} + C^{1.254})$; 配伍方 6: $E = 23.186 C^{0.046} / (5.595^{0.046} + C^{0.046})$; 配伍方 7: $E = 30.309 C^{0.01} / (6.51^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 8: $E = 19.31 C^{0.355} / (0.001^{0.355} + C^{0.355})$; 配伍方 9: $E = 25.677 C^{0.01} / (1.305^{0.01} + C^{0.01})$ 。

配伍方 2~4、6~9 的 $\gamma < 1$, 表明葛根素浓度-SOD 效应曲线较为平坦, 药效在一个宽的质量浓度范围内变化较为缓和; 配伍方 1、5 的 $\gamma > 1$, 表明葛根素质量浓度-SOD 效应曲线变为较陡峭的曲线, 浓度在 EC_{50} 附近有小的波动就可能使效应发生从

表 7 各个组方葛根素血药浓度与 ΔE_{SOD} 的 PK-PD 结合模型主要药效学参数

Table 7 Main pharmacodynamic parameters of PK-PD binding model of ΔE_{SOD} and puerarin concentration in each group

参数	配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
房室数目	3	3	3	2	3	3	3	2	2
公共权重	3	4	4	3	3	3	3	3	3
$E_{max}/(U \cdot mL^{-1})$	15.138	20.010	13.416	23.946	13.042	23.186	30.309	19.310	25.677
$EC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	0.365	5.179	11.21	0.356	0.361	5.595	6.51	0.001	1.305
γ	3.116	0.010	0.351	0.070	1.254	0.046	0.010	0.355	0.010
AIC	2.118	0.829	2.534	3.726	-2.074	1.253	0.486	-7.532	-10.691
R	0.910	0.945	0.900	0.893	0.979	0.964	0.938	0.964	0.983

无到最大效应的变化,即 2 个组方的安全范围较窄。

(2) 各个组方阿魏酸质量浓度与 ΔE_{SOD} 相关的 PK-PD 联合数学模型建立: 将 9 个组方阿魏酸浓度与对应的 ΔE_{SOD} 值数据输入药动学软件 DAS 3.2.6 中, 根据 AIC、R 指标选择最佳药效动力学模型, 结果各个药效指标的最佳药效动力学模型为 Sigmoid- E_{max} 模型。拟合得到的药物效应动力学参数结果见表 8。

9 个组方阿魏酸质量浓度与 ΔE_{SOD} 药效指标之间相应的量效方程, 分别如下。配伍方 1: $E = 5889.186 C^{1.14}/(1241.74^{1.14} + C^{1.14})$; 配伍方 2: $E = 20.052 C^{0.01}/(15.939^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 3: $E = 26.619 C^{0.332}/(368.546^{0.332} + C^{0.332})$; 配伍方 4: $E = 23.906 C^{0.01}/(1.687^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 5: $E = 12.788 C^{44.465}/(1.607^{44.465} + C^{44.465})$; 配伍方 6: $E = 23.179 C^{0.043}/(8.083^{0.043} + C^{0.043})$; 配伍方 7: $E = 30.395 C^{0.01}/(10.585^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 8: $E = 23.177 C^{0.201}/(6.381^{0.201} + C^{0.201})$; 配伍方 9: $E = 24.928 C^{0.01}/(7.709^{0.01} + C^{0.01})$ 。

配伍方 2~4、6~9 的 $\gamma < 1$, 表明阿魏酸质量浓度-SOD 效应曲线较为平坦, 表明药效在一个宽

的质量浓度范围内变化较为缓和; 配伍方 1 的 $\gamma > 1$, 表明阿魏酸质量浓度-SOD 效应曲线变为较陡峭的曲线, 浓度在 EC_{50} 附近有小的波动就可能使效应发生从无到最大效应的变化, 即配伍方 1 的安全范围较窄; 配伍方 5 的 $\gamma > 5$, 说明要产生增强 SOD 效应所需的阿魏酸质量浓度范围就成了一阈值, 提示配伍方 5 的量效关系范围可能较窄。

(3) 各个组方川芎嗪质量浓度与 ΔE_{SOD} 相关的 PK-PD 联合数学模型建立: 将 9 个组方川芎嗪质量浓度与对应的 ΔE_{SOD} 值数据输入药动学软件 DAS 3.2.6 中, 根据 AIC、R 指标选择最佳药效动力学模型, 结果各个药效指标的最佳药效动力学模型为 Sigmoid- E_{max} 模型。拟合得到的药物效应动力学参数结果见表 9。

9 个组方川芎嗪质量浓度与 ΔE_{SOD} 药效指标之间相应的量效方程, 分别如下。配伍方 1: $E = 28.427 C^{1.384}/(0.587^{1.384} + C^{1.384})$; 配伍方 2: $E = 23.415 C^{0.528}/(1.193^{0.528} + C^{0.528})$; 配伍方 3: $E = 47.832 C^{0.52}/(83.559^{0.52} + C^{0.52})$; 配伍方 4: $E = 23.952 C^{0.147}/(1.009^{0.147} + C^{0.147})$; 配伍方 5: $E = 24.401 C^{0.244}/(1.895^{0.244} + C^{0.244})$; 配伍方 6: $E = 23.063$

表 8 各个组方阿魏酸血药浓度与 ΔE_{SOD} 的 PK-PD 结合模型主要药效学参数

Table 8 Main pharmacodynamic parameters of PK-PD binding model of ΔE_{SOD} and ferulic acid concentration in each group

参数	配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
房室数目	3	2	3	3	2	3	2	2	2
公共权重	4	4	3	3	4	3	3	3	4
$E_{max}/(U \cdot mL^{-1})$	5889.186	20.052	26.619	23.906	12.788	23.179	30.395	23.177	24.928
$EC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	1241.740	15.939	368.546	1.687	1.607	8.083	10.585	6.381	7.709
γ	1.140	0.010	0.332	0.010	44.465	0.043	0.010	0.201	0.010
AIC	6.680	1.564	-9.789	0.811	-8.936	8.409	-9.743	-5.455	-6.625
R	0.964	0.899	0.970	0.884	0.986	0.960	0.975	0.952	0.941

表 9 各个组方川芎嗪浓度与 ΔE_{SOD} 的 PK-PD 结合模型主要药效学参数Table 9 Main pharmacodynamic parameters of PK-PD binding model of ΔE_{SOD} and ligustrazine concentration in each group

参数	配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
房室数目	3	3	3	3	2	2	2	3	2
公共权重	4	3	4	3	4	3	3	3	4
$E_{max}/(U \cdot mL^{-1})$	28.427	23.415	47.832	23.952	24.401	23.063	30.11	21.926	25.726
$EC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	0.587	1.193	83.559	1.009	1.895	0.669	0.613	2.717	1.528
γ	1.384	0.528	0.520	0.147	0.244	0.010	-0.119	0.369	0.153
AIC	-1.620	-9.128	-5.442	1.044	-2.990	-11.754	-17.334	-5.705	-1.551
R	0.892	0.951	0.894	0.878	0.890	0.967	0.974	0.979	0.919

$C^{0.01}/(1.895^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 7: $E = 30.11 C^{-0.119}/(1.895^{-0.119} + C^{-0.119})$; 配伍方 8: $E = 21.926 C^{0.369}/(2.717^{0.369} + C^{0.369})$; 配伍方 9: $E = 25.726 C^{0.153}/(1.528^{0.153} + C^{0.153})$ 。

配伍方 2~9 的 $\gamma < 1$, 表明川芎嗪质量浓度-SOD 效应曲线较为平坦, 表明药效在一个宽的质量浓度范围内变化较为缓和; 配伍方 1 的 $\gamma > 1$, 表明川芎嗪质量浓度-SOD 效应曲线变为较陡峭的曲线, 质量浓度在 EC_{50} 附近有小的波动就可能使效应发生从无到最大效应的变化, 即配伍方 1 的安全范围较窄。

2.8.2 基于 ΔE_{CAT} 药效值的 PK-PD 联合数学模型研究

(1) 各个组方葛根素质量浓度与 ΔE_{CAT} 相关的 PK-PD 联合数学模型建立: 将 9 个组方葛根素质量浓度与对应的 ΔE_{CAT} 值数据输入药动学软件 DAS 3.2.6 中, 根据 AIC、R 指标选择最佳药效动力学模型, 结果各个药效指标的最佳药效动力学模型为 Sigmoid- E_{max} 模型, 其公式如下。公式中 E 为效应, E_{max} 为最大效应, EC_{50} 为引起的效应达到最大效应一半时效应室中药物的浓度, C 指药物质量浓度, γ 为形状因子, 是影响曲线斜率、决定曲线陡峭程度的参数, 它反映的是曲线的形状, 可以没有药理意

义, 也可以是非整数。拟合得到的药物效应动力学参数结果见表 10。

$$E = E_{max} C^{\gamma} / (EC_{50}^{\gamma} + C^{\gamma})$$

9 个组方葛根素质量浓度与 ΔE_{CAT} 药效指标之间相应的量效方程, 分别如下。配伍方 1: $E = 10.793 C^{0.007}/(0.208^{0.007} + C^{0.007})$; 配伍方 2: $E = 9.516 C^{0.01}/(4.029^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 3: $E = 8.289 C^{0.01}/(11.524^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 4: $E = 6.463 C^{0.01}/(0.469^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 5: $E = 5.989 C^{0.01}/(8.792^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 6: $E = 6.133 C^{-0.044}/(9.98^{-0.044} + C^{-0.044})$; 配伍方 7: $E = 2.088 C^{4.385}/(1.016^{4.385} + C^{4.385})$; 配伍方 8: $E = 9.531 C^{0.01}/(0.014^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 9: $E = 7.815 C^{5.795}/(7.491^{5.795} + C^{5.795})$ 。

配伍方 1~6、8 的 $\gamma < 1$, 表明葛根素质量浓度-CAT 效应曲线较为平坦, 表明药效在一个宽的质量浓度范围内变化较为缓和; 配伍方 4 的 $\gamma > 1$, 表明葛根素质量浓度-CAT 效应曲线变为较陡峭的曲线, 质量浓度在 EC_{50} 附近有小的波动就可能使效应发生从无到最大效应的变化, 即配伍方 4 的安全范围较窄; 配伍方 9 的 $\gamma > 5$, 说明要产生增强 CAT 效应所需的葛根素质量浓度范围就成了一阈值,

表 10 各个组方葛根素血药浓度与 ΔE_{CAT} 的 PK-PD 结合模型主要药效学参数Table 10 Main pharmacodynamic parameters of PK-PD binding model of ΔE_{CAT} and puerarin concentration in each group

参数	配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
房室数目	2	3	3	2	3	3	3	2	3
公共权重	3	4	4	3	3	3	3	3	3
$E_{max}/(U \cdot mL^{-1})$	10.793	9.516	8.289	6.463	5.989	6.133	2.088	9.531	7.815
$EC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	0.208	4.029	11.524	0.469	8.792	9.980	1.016	0.014	7.491
γ	0.007	0.010	0.010	0.010	0.010	-0.044	4.385	0.010	5.795
AIC	-1.958	0.829	2.534	3.726	-2.074	1.253	0.486	-7.532	-6.693
R	0.912	0.945	0.900	0.893	0.979	0.964	0.938	0.964	0.983

提示配伍方 9 的量效关系范围可能较窄。

(2) 各个组方阿魏酸质量浓度与 ΔE_{CAT} 相关的 PK-PD 联合数学模型建立: 将 9 个组方阿魏酸质量浓度与对应的 ΔE_{CAT} 值数据输入药动学软件 DAS 3.2.6 中, 根据 AIC、 R 指标选择最佳药效动力学模型, 结果各个药效指标的最佳药效动力学模型为 Sigmoid- E_{max} 模型。拟合得到的药物效应动力学参数结果, 见表 11。

9 个组方阿魏酸质量浓度与 ΔE_{CAT} 药效指标之间相应的量效方程, 分别如下。配伍方 1: $E = 10.624 C^{0.01} / (10.429^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 2: $E = 9.526 C^{0.01} / (12.632^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 3: $E = 8.311 C^{0.01} / (7.591^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 4: $E = 6.475 C^{0.08} / (2.496^{0.08} + C^{0.08})$; 配伍方 5: $E = 6.034 C^{-0.7} / (14.908^{-0.7} + C^{-0.7})$; 配伍方 6: $E = 6.006$

$C^{0.01} / (12.394^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 7: $E = 3.77 C^{0.01} / (10.951^{0.01} + C^{0.01})$; 配伍方 8: $E = 10.302 C^{0.101} / (26.974^{0.101} + C^{0.101})$; 配伍方 9: $E = 14.471 C^{0.099} / (5.84^{0.099} + C^{0.099})$ 。

所有组方的 $\gamma < 1$, 表明阿魏酸质量浓度-CAT 效应曲线较为平坦, 药效在一个宽的质量浓度范围内变化较为缓和。

(3) 各个组方川芎嗪浓度与 ΔE_{CAT} 相关的 PK-PD 联合数学模型建立: 将 9 个组方川芎嗪质量浓度与对应的 ΔE_{CAT} 值数据输入药动学软件 DAS 3.2.6 中, 根据 AIC、 R 指标选择最佳药效动力学模型, 结果各个药效指标的最佳药效动力学模型为 Sigmoid- E_{max} 模型。拟合得到的药物效应动力学参数结果见表 12。

9 个组方川芎嗪浓度与 ΔE_{CAT} 药效指标之间相

表 11 各个组方阿魏酸血药浓度与 ΔE_{CAT} 的 PK-PD 结合模型主要药效学参数

Table 11 Main pharmacodynamic parameters of PK-PD binding model of ΔE_{CAT} and ferulic acid concentration in each group

参数	配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
房室数目	2	2	2	3	2	3	2	3	2
公共权重	3	4	3	3	4	4	3	3	4
$E_{\text{max}}/(\text{U} \cdot \text{mL}^{-1})$	10.624	9.526	8.311	6.475	6.034	6.116	3.77	10.302	14.471
$\text{EC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	10.429	12.632	7.591	2.496	14.908	12.394	10.951	26.974	5.84
γ	0.01	0.01	0.01	0.08	-0.7	0.01	0.01	0.101	0.099
AIC	2.661	1.564	-13.788	0.811	-8.936	8.853	-9.743	-1.235	-6.625
R	0.96	0.899	0.97	0.884	0.986	0.975	0.975	0.949	0.941

表 12 各个组方川芎嗪血药浓度与 ΔE_{CAT} 的 PK-PD 结合模型主要药效学参数

Table 12 Main pharmacodynamic parameters of PK-PD binding model of ΔE_{CAT} and ligustrazine concentration in each group

参数	配伍方 1	配伍方 2	配伍方 3	配伍方 4	配伍方 5	配伍方 6	配伍方 7	配伍方 8	配伍方 9
房室数目	2	3	3	2	2	2	3	3	3
公共权重	4	3	4	3	4	3	3	3	3
$E_{\text{max}}/(\text{U} \cdot \text{mL}^{-1})$	5.623	9.350	19.010	6.404	6.032	3.374	4.346	4.847	13.707
$\text{EC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	0.031	0.596	82.734	0.438	2.847	0.135	1.878	0.722	3.103
γ	1.479	0.089	0.383	0.436	-0.604	2.342	0.392	8.568	0.325
AIC	-5.466	-9.128	-5.442	-2.951	-2.99	-11.754	-16.761	-5.705	2.427
R	0.893	0.951	0.894	0.868	0.89	0.967	0.977	0.979	0.938

应的量效方程, 分别如下。配伍方 1: $E = 5.623 C^{1.479} / (0.031^{1.479} + C^{1.479})$; 配伍方 2: $E = 9.35 C^{0.089} / (0.596^{0.089} + C^{0.089})$; 配伍方 3: $E = 19.01 C^{0.383} / (82.734^{0.383} + C^{0.383})$; 配伍方 4: $E = 6.404 C^{0.436} / (0.438^{0.436} + C^{0.436})$; 配伍方 5: $E = 6.032 C^{-0.604} / (2.847^{-0.604} + C^{-0.604})$; 配伍方 6: $E = 3.374$

$C^{2.342} / (0.135^{2.342} + C^{2.342})$; 配伍方 7: $E = 4.346 C^{0.392} / (1.878^{0.392} + C^{0.392})$; 配伍方 8: $E = 4.847 C^{8.568} / (0.722^{8.568} + C^{8.568})$; 配伍方 9: $E = 13.707 C^{0.325} / (3.103^{0.325} + C^{0.325})$ 。

配伍方 2~5、7、9 的 $\gamma < 1$, 表明川芎嗪质量浓度-CAT 效应曲线较为平坦, 表明药效在一个宽的

质量浓度范围内变化较为缓和; 配伍方 1、6 的 $\gamma > 1$, 表明川芎嗪质量浓度-CAT 效应曲线变为较陡峭的曲线, 浓度在 EC_{50} 附近有小的波动就可能使效应发生从无到最大效应的变化, 即配伍方 1、6 的安全范围较窄; 配伍方 8 的 $\gamma > 5$, 说明要产生增强 CAT 效应所需的川芎嗪浓度范围就成了一阈值, 提示配伍方 8 的量效关系范围可能较窄。

3 讨论

3.1 药动学参数拟合选取的数学模型

药动学参数^[10]是反映药物在生物体内动态变化规律性的一些常数, 如 AUC、生物利用度、 $t_{1/2}$ 等, 通过这些参数来知晓药物在生物体内的动力学特性和动态变化规律, 为临床合理、安全用药提供重要依据。此外, 药动学参数还有助于阐明药物作用的规律, 了解药物相关药理、毒理的物质基础。因此, 其被用于新药开发的质量评价。现阶段, 药动学参数的拟合采用经典房室模型^[11-12]和非房室模型^[13-14]。

房室模型^[15]理论源于速度论, 并建立相应的数学模型来模拟生物体, 它将整个生物体视为一个系统, 系统内部按动力学特性分为若干个房室。然而房室只是一个假设的空间(抽象概念), 不代表任何相关解剖学部位或生理学功能, 只要生物体内某些部位药物的转运速率相同, 均可视为同一室。由此, 房室模型可分为一房室、二房室、三房室和多房室。然而房室模型的提出是为了使复杂的生物体系统简单化, 运用房室模型计算药动学参数时, 所选模型将直接影响到计算结果。经典房室模型的计算公式多, 原理抽象、解析繁复, 而且在实际处理中由于情况复杂, 模型嵌合的不确定性, 实际数据和房室模型经典理论有时候不是很理想, 加之本实验采用房室模型进行 9 个组方 3 个成分不同时间点的血药浓度拟合, 最终得到的最佳房室结果和房室参数都不相同, 不具有对比性。

非房室模型^[16]不受经典房室模型的限制, 适用于任何房室, 仅仅假设药物末端以单指数消除。目前的生物体内数据解析中非房室模型已经成为主流处理的方法, 各国药品审评当局都推荐采用。非房室模型采用统计矩方法^[17], 该法源自概率论和数理统计学, 对数据进行拟合, 得到药动学参数。其中, AUC 为零阶矩, 与给药剂量呈正比, 是一个反映量的函数; MRT 为一阶矩, 反映药物分子在体内的平均停留时间, 是一个反映速度的函数; VRT 为二阶

矩, 反映药物分子在体内的平均停留时间的差异大小。然而 VRT 为较高阶的矩, 误差较大, 结果难以肯定, 应用价值很小。故本实验采用非房室模型进行 9 个组方 3 个成分不同时间点的血药浓度拟合, 得到最终的药动学参数。

3.2 中药配伍的药时曲线

在本研究中, 口服给药导致药物产生体内多峰特征, 原因可能是生理因素、中药复方用药的特点、药物剂型因素, 也可能是实验设计所导致。

生理原因: 药动力学研究中双峰或多峰现象给药方式多是 ig 或口服给药, 而同一种药物采用 iv 则无双峰现象, 因 ig 或口服用药使药物存在一个被吸收过程, 由于胃肠道内环境的复杂性, 就诱发了各种因素的作用: ①胃肠道吸收的非均匀性, 即胃肠道的多部位吸收, 指在胃肠道的不同部位有多个吸收位点, 但由于不同位点腔道内膜对药物的通透性不同, 故口服后导致不同部位的吸收时间和吸收速率并不一致, 被吸收的药物在血液中叠加, 即出现药-时曲线中的双峰或多峰现象。②肠-肝循环, 口服药物在胃肠道吸收后, 经门静脉进入肝脏, 随后再分泌入胆汁, 一部分在胆囊蓄积, 当胆囊收缩时, 这部分药物就由胆总管快速释放再次进入肠道被重吸收, 形成肠-肝循环。如果重吸收的药量足够大, 导致血药浓度多次升高, 便形成多峰。③胃液 pH 值与胃排空速率间的关系。有人认为增加胃液的 pH 值, 可加快胃排空的速度, 从而使药物在小肠被快速吸收, 使某些药物的药时多峰现象消失, 但也不尽然。

中药复方用药的特点: 在中药药动力学的研究中发现, 其药动学的多峰现象更多、更复杂, 这与中药本身的多成分特点密切相关, 因大多中药含有具相同母核的一大类成分, 在机体内环境条件下, 这类成分很容易相互转化, 成分间的相互转化, 导致某种成分的浓度再次升高, 产生多峰现象。

本实验中阿魏酸和川芎嗪药-时曲线出现双峰的原因, 可能是上述提及的生理中的某种原因, 亦或是中药复方成分间的相互转化等。

3.3 药效指标的选取

脑缺血再灌注损伤是指脑缺血后使得脑细胞损伤, 恢复血液流通后, 其缺血性损伤反而进一步加重的病理现象^[18]。它形成是一种多种机制共同参与的复杂病理生理过程, 涵盖了许多环节, 例如: 氧自由基的累积、钙超载、炎症反应及细胞凋亡等^[19]。

其中氧自由基对脑部神经元的损伤不仅在缺血期间发生,也发生在缺血部位恢复血流灌注后。由于脑缺血后机体固有的抗自由基系统遭到破坏,与此同时自由基的生成速率远远超过清除速率,使得自由基大量堆积,最终导致细胞代谢功能紊乱、质膜破裂、线粒体等细胞器解离等,最后溶酶体系激活、细胞完全死亡^[20]。过量的自由基还能通过诱导炎症细胞的聚集来刺激炎症分子的大量表达,从而加重炎症反应。因此自由基产生的损伤在脑缺血损伤中是关键性的一环^[21],它与其他损伤环节紧密联系又相互作用,最终进一步造成脑缺血后不可逆的、大范围的损害,如神经功能破坏、脑梗死灶形成。

3.4 PK-PD 结合模型的研究

PK-PD 结合模型将药物在体内的药代动力学过程与其产生的药效动力学过程综合起来进行研究,把两者所描述的时间、药物浓度、药效三者之间的关系通过效应室有机地结合起来,以研究药物的量效关系。PK-PD 结合模型使药代动力学研究有了很大的进步,在定量表述和预测 PK-PD 关系方面有着很大贡献,有助于更全面和更准确地了解药物效应随药物浓度及时间变化的规律,在临床合理制定给药方案、提高疗效和减少毒副作用等领域具有重要的参考价值。

PK-PD 结合模型其优势在于,仅通过单次给药剂量即可评估 PD 参数,而以往需对受试对象给予 3 种或以上的给药剂量进行剂量调整试验来评价药物的量效关系。通过求得的 PK 和 PD 参数可模拟不同给药剂量和给药时间间隔带来的药效变化情况,从而制定出合理的给药剂量和给药时间间隔^[22]。此外,PK-PD 模型还可通过公式实现种间的推算,当药物 EC_{50} 不被受试对象影响,且相同的 AUC 值在不同的种属间产生相同的效应时,可用公式进行不同种属之间给药剂量的换算^[23]。中药制剂含有多种成分,可以分别将各种成分的药物浓度与药物效应拟合建立 PK-PD 模型,然后以 AIC、SBC、 r^2 等评价指标筛选最佳模型,其对应的物质即是该制剂中的主要活性成分之一,这将有助于阐明中药药理作用的物质基础和作用机制。通过 PK-PD 模型,得到药物浓度与药理效应之间的定量方程,可用于预测复方中主要有效成分在作用部位的浓度和效应随时间变化的规律,科学阐明药物抗脑缺血损伤的作用机制。

本实验以葛根素、阿魏酸和川芎嗪在 MCAO

大鼠体内的血药浓度为药动学指标,以 MCAO 大鼠血浆中氧化指标 SOD 和 CAT 的变化值为药效学指标,通过 DAS 药动学软件建立了多成分多指标的 PK-PD 模型,得到了药物浓度与效应之间的定量方程。结果显示,效应明显滞后于血药浓度,表明药物作用的效应室并不在血液室,各成分 PK-PD 结合模型属于间接连接模型;模型拟合过程中以假想的效应室为基础,所以各 PK-PD 结合模型属于软连接模型;由于抗氧化强度的变化是随作用部位药物浓度的变化而变化,作用部位的药物浓度消除,药物效应也随之消失,并没有受到时间的影响,所以各 PK-PD 模型属于非时间依赖性模型。本实验所建立的模型体现了有效成分在体内的动态变化与其效应之间的消长关系,各模型均以效应室联接的有滞后现象的 Sigmoid- E_{max} 模型拟合较优。

所以本实验选取氧化指标 SOD 和 CAT 为最终的血药指标,结合相应的药物浓度,建立相关的 PK-PD 数学模型,进一步具体阐明养阴通脑颗粒有效部位正交配伍对脑缺血再灌注的治疗作用,为以后养阴通脑颗粒进一步的机制研究提供了新的思路和方法,同时也为临床合理用药提供了参考依据。

本实验以养阴通脑颗粒中主要有效部位总生物碱、总黄酮、总皂苷、总酚酸作为研究对象,考察了正交配伍后其主要代表性成分在脑缺血再灌注损伤大鼠体内的药动学特征以及抗氧化作用的药效学特性,并在此基础上初步建立了养阴通脑颗粒中主要有效部位的 PK-PD 数学模型,从药动学和药效学角度阐明药物抗脑缺血再灌注损伤的作用机制。

参考文献

- [1] Rowland M, Tozer T N. 临床药代动力学与药效动力学 [M]. 陈东生, 黄 璞, 译. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [2] 谭兰芳, 陈 超, 樊旭蕾, 等. 基于 PK-PD 模型评价脑脉通保护神经细胞的药效物质研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2588-2593.
- [3] 王 玉, 杨洁红, 何 昱, 等. 养阴通脑颗粒对大鼠脑缺血/再灌注损伤的保护作用机制及其抑制 NF- κ B 信号通路的作用机制 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3713-3717.
- [4] 万海同, 别晓东, 姚 政, 等. 养阴益气活血方治疗气阴两虚、瘀血阻络证缺血性中风疗效观察 [J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(3): 281-286.
- [5] 杨洁红, 张宇燕, 万海同. 养阴益气活血方对培养人脐静脉内皮细胞抗凝和纤溶功能的作用 [J]. 中国中西医

- 结合急救杂志, 2008, 15(1): 377-379.
- [6] 白海星. 养阴通脑颗粒治疗中风病恢复期(气阴两虚, 瘀血阻络证)多中心 II 期临床试验 [D]. 太原: 山西医科大学, 2010.
- [7] 虞立, 张宇燕, 杨洁红, 等. 养阴通脑颗粒中主要有效部位在脑缺血大鼠体内的药物代谢动力学研究 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 4111-4114.
- [8] Dutta S, Matsumoto Y, Ebling W F. Is it possible to estimate the parameters of the sigmoid $E_{\max}$ model with truncated data typical of clinical studies? [J]. *J Pharm Sci*, 1996, 85(2): 232-239.
- [9] Wakelkamp M, Alván G, Paintaud G. *Natriuretic Efficiency of Frusemide As a Consequence of Drug Input Rate* [M]. UK: British Journal of Clinical Pharmacology, 1997.
- [10] 周莉玲. 中药制剂药物动力学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [11] 黄巍, 熊伟, 唐灿, 等. 血府逐瘀汤中桔梗、牛膝对大鼠芍药苷药代动力学的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(8): 1699-1701.
- [12] 桑柏, 王世祥, 兰薇, 等. RP-HPLC 研究冰片对广枣中没食子酸在家兔体内的药动学影响 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(7): 548-550.
- [13] 杨荣兵, 周惠芬, 张宇燕, 等. 葛根素与阿魏酸单用及联合应用在局灶性脑缺血模型大鼠体内药动学研究 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2759-2763.
- [14] 钟懿聪, 管佳妮, 马建萍, 等. 大黄酸大鼠体内血液/肾脏同步药动学研究 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3202-3207.
- [15] 王广基. 药物代谢动力学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [16] Pamulapati C R, Schoenwald R D. Ocular pharmacokinetics of a novel tetrahydroquinoline analog in rabbit: Absorption, disposition, and non-compartmental analysis [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(12): 5315-5323.
- [17] 邓俊林, 邓凯文, 刘文龙, 等. 中药多成分体系谱动力学数学模型的实验验证研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(11): 3058-3062.
- [18] 王光胜, 耿德勤. 脑缺血/再灌注损伤机制研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(24): 3753-3756.
- [19] 王晓平, 倪京满. 脑缺血再灌注损伤的研究及药物治疗进展 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(6): 659-663.
- [20] 赵克然. 氧自由基与临床 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000.
- [21] 毛冬雪, 祝美珍, 齐景馨, 等. 中药药对及其有效成分抗脑缺血损伤的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(13): 3162-3165.
- [22] Toutain P L, Cester C C, Haak T, *et al.* A pharmacokinetic/pharmacodynamics approach vs. a dose titration for the determination of a dosage regimen: The case of nimesulide, a Cox-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drug in the dog [J]. *J Veterin Pharmacol Ther*, 2001, 24(1): 43-45.
- [23] 彭珑. 基于清开灵注射液解热作用的 PK-PD 结合模型研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.