

# 正交试验法研究补阳还五汤中 保护 OGD 损伤 PC12 细胞的主要药味

张继平<sup>1</sup>, 刘俊娥<sup>1</sup>, 姚晖<sup>1\*</sup>, 方永奇<sup>2</sup>, 李翎<sup>2</sup>, 文凤妮<sup>1</sup>, 朱永坤<sup>3</sup>

(1. 佛山市第二人民医院, 广东 佛山 528000; 2. 广州中医药大学第一附属医院实验中心, 广州 510405;  
3. 东莞市石龙人民医院, 广东 东莞 523326)

**[摘要]** 目的:研究补阳还五汤中保护缺氧缺糖(oxygen-glucose deprivation, OGD)损伤 PC12 细胞的主要药味。方法:将补阳还五汤中 7 种单味药(黄芪、赤芍、当归尾、地龙、川芎、桃仁、红花)作为实验因素,每个因素选取有或无 2 个水平,按  $L_8(2^7)$  正交试验表设计 8 种拆方。普通级新西兰兔分为 9 组,空白血清组和 8 个拆方含药血清组,分别 ig 蒸馏水和临床等效剂量 5 倍的拆方药液,24 h 内连续 ig 3 次后,提取血清。运用四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)和微量酶标法,以细胞活力和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放量为指标,观察 10% 补阳还五汤及其拆方含药血清对 OGD 损伤 18 h 的 PC12 细胞的影响。结果:PC12 细胞 OGD 损伤后,其 LDH 释放量增加( $P < 0.01$ ),补阳还五汤能显著抑制 OGD 损伤 PC12 细胞的 LDH 释放量( $P < 0.01$ )。正交试验结果显示,含黄芪、当归尾、赤芍的拆方组其细胞活力显著增加( $P < 0.01$ ),LDH 释放量显著降低( $P < 0.01$ );而含桃仁的拆方组其细胞活力显著下降( $P < 0.01$ ),含地龙的拆方组其 LDH 释放量显著升高( $P < 0.01$ );红花、川芎对细胞活力及 LDH 释放量的作用不明显。结论:补阳还五汤对 OGD 损伤 PC12 细胞具有保护作用,其中黄芪、当归尾、赤芍是保护 OGD 损伤 PC12 细胞的主要药味,桃仁、地龙可加重 PC12 细胞 OGD 损伤,红花、川芎对细胞的作用不明显。

**[关键词]** 正交试验; 补阳还五汤; 缺氧缺糖; PC12 细胞

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0134-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110134

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1604.018.html>

**[网络出版时间]** 2014-03-24 16:04

## Main Ingredients of Buyang Huanwu Decoction in Protecting PC12 Cells During OGD by Orthogonal Test

ZHANG Ji-ping<sup>1</sup>, LIU Jun<sup>2-e</sup>, YAO Hui<sup>1\*</sup>, FANG Yong-qi<sup>2</sup>, LI Ling<sup>2</sup>, WEN Feng-ni<sup>1</sup>, ZHU Yong-kun<sup>3</sup>

**[收稿日期]** 20131107(007)

**[基金项目]** 广东省中药局中医药强省项目(2010008,20111058,20121088)

**[第一作者]** 张继平,医学硕士,硕士生导师,研究员,主任中药师,从事中药药理研究,Tel:0757-88032005,E-mail:fszjping@163.com

**[通讯作者]** \*姚晖,医学博士,硕士生导师,副主任药师,从事中药药理、临床药学研究,Tel:0757-88032029,E-mail:fsyaohui@126.com

- [6] 迟磊,符州,戴继宏,等. 过敏性哮喘大鼠模型的建立[J]. 重庆医学,2003,32(4):429.
- [7] 闻玉梅. 天然免疫与中西医结合[J]. 中西医结合学报,2004,2(1):1.
- [8] 莫万勇. VEGF、HIF-1 $\alpha$  在大鼠哮喘模型中的表达及柴朴汤的干预研究[D]. 衡阳:南华大学,2010.
- [9] 孙敬方. 实验动物方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:478.
- [10] 陆源. 生理科学实验教程[M]. 杭州:浙江大学出版社,2004:99.
- [11] Petra Seidel, Stephanie Goulet. DMF inhibits PDGF-BB induced airway smooth muscle cell proliferation through induction of heme-oxygenase-1 [J]. Respiratory Research, 2010(11):145.
- [12] Halwanir, AL-Muhsens, AL-Jahdalih, et al. Role of transforming growth factor- $\beta$  in airway remodeling in asthma [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 44(2):127.

[责任编辑] 聂淑琴

- (1. *The Second People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, China;*
2. *The First Hospital Affiliated to Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;*
3. *The Shilong People's Hospital of Dongguan, Dongguan 523326, China)*

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the main ingredients of Buyang Huanwu decoction (BYHWD) in protecting PC12 cells during oxygen-glucose deprivation (OGD). **Method:** Seven factors were selected from seven ingredients of BYHWD: Astragali Radix, Paeoniae Radix Rubra, Angelica Sinensis Radix Tail, Pheretima, Chuanxiong Rhizoma, Persicae Semen and Carthami Flos. Each factor was divided into two levels, contained or not contained. The experiment was arranged according to  $L_8 (2^7)$  orthogonal test table. Conventional New Zealand rabbits were divided into 9 groups randomly, rabbits of the blank control group were fed with distilled water, rabbits of the other eight groups were fed with eight prescriptions. After three times a day feeding, serum were prepared. PC12 cells were cultured with 10% serum during OGD for 18 hours. Viability and lactate dehydrogenase (LDH) leakage was detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) and micro enzyme-linked immunosorbent assay. **Result:** The increased LDH leakage was observed on PC12 cells during OGD ( $P < 0.01$ ). BYHWD could markedly decrease the LDH leakage ( $P < 0.01$ ). Orthogonal analysis showed, PC12 cell viability of prescription with Astragali Radix, Paeoniae Radix Rubra and Angelica Sinensis Radix Tail was significantly increased ( $P < 0.01$ ), LDH leakage of prescription with Astragali Radix, Paeoniae Radix Rubra and Angelica Sinensis Radix Tail was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). PC12 cell viability of prescription with Persicae Semen was reduced ( $P < 0.01$ ). PC12 cell LDH leakage of prescription with Pheretima was increased ( $P < 0.01$ ). Effect of other medicines was not obvious. **Conclusion:** BYHWD has protective effects on PC12 cells during OGD. Astragali Radix, Paeoniae Radix Rubra and Angelica Sinensis Radix Tail play a major role. Persicae Semen and Pheretima can aggravate cell injury. Carthami Flos and Rhizoma has not obvious effect on PC12 cells during OGD.

**[Key words]** orthogonal test; Buyang Huanwu decoction; oxygen-glucose deprivation; PC12 cells

在诸多神经系统疾病中,神经元损伤是主要原因<sup>[1]</sup>,研发神经细胞保护药物对防治神经系统疾病具有重要意义。补阳还五汤由黄芪、当归尾、赤芍、川芎、桃仁、红花、地龙 7 味中药组成,临床用于防治缺血性脑卒中疗效显著<sup>[2]</sup>,实验发现其可抑制缺氧损伤神经元的凋亡<sup>[3,4]</sup>、提高谷氨酸损伤皮质神经细胞的活力<sup>[5]</sup>。本课题组前期研究表明 5%、10% 补阳还五汤含药血清可减轻缺氧缺糖 (OGD) 对 PC12 细胞形态损伤、提高细胞活力<sup>[6]</sup>。但该方药味较多,方中保护缺血损伤神经细胞的主要药味目前尚未见报道。本文运用 OGD 诱导 PC12 细胞损伤模型模拟脑缺血损伤神经细胞,采用正交试验方法,研究补阳还五汤中保护神经细胞的主要药味,为该方在神经系统疾病的临床应用和处方优化提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 普通级新西兰兔 18 只,体重 2.0 ~ 2.5kg,雌雄各半,由广州中医药大学实验动物中心提供动物和动物设施,动物生产许可证号 SCXK (粤)2008-0020,动物质量合格证明编号 0083958,

动物使用许可证号 SYXK(粤)2008-0001,动物实验证明编号 0054544。

**1.2 细胞株** PC12 细胞由广州中医药大学第一附属医院实验中心馈赠,购自中国科学院上海细胞生物研究所。

**1.3 药物** 黄芪(批号 1103193),赤芍(批号 1101098),当归尾(批号 1009036),地龙(批号 1101139),川芎(批号 1102065),桃仁(批号 1009046),红花(批号 1101133),以上中药配方颗粒由广东一方制药有限公司生产。

**1.4 试剂** 高糖 DMEM 培养基(批号 8111100)、无糖 DMEM 培养基(批号 933304)、青霉素-链霉素(批号 847137),均为 Gibco 公司产品;胎牛血清(批号 NVJ0313)、马血清(批号 AVJ82494)为 HyClone 公司产品;0.25% 胰酶(批号 10090801)、磷酸盐缓冲液(PBS,批号 10123001,杭州吉诺生物医药技术有限公司;四甲基偶氮唑盐(MTT,批号 2497B516, Sigma 公司产品);二甲基亚砜(DMSO,批号 1948B407, Amresco 公司),乳酸脱氢酶(LDH)测试盒(批号 20110715,南京建成生物工程研究所)。

**1.5 仪器** HW0301T-VBA 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Harris 公司), 3131 型三气培养箱(美国 Thermo Scientific 公司), LX70 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司), Multiskan MK3 型酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司), AE200 型电子分析天平(美国 Mettler 公司)。

**2 方法**

**2.1 含药血清的制备** 以补阳还五汤原方的 7 种单味药为因素, 每个因素设 1(有)或 2(无)2 个水平, 根据正交试验表设计 8 种拆方, 见表 2。各拆方取 3.2 倍临床用量的单味中药配方颗粒, 充分混匀, 加入煮沸的去离子水 240 mL, 搅拌至完全溶解, 配制成临床等效剂量的 5 倍剂量。将普通级新西兰兔 18 只随机分为 9 组, 即 8 个拆方组和空白血清组, 每组 2 只。拆方组以 8 种拆方药液 15 mL·kg<sup>-1</sup>ig; 空白血清组则以蒸馏水 15 mL·kg<sup>-1</sup>ig。给药次数和时间间隔: ig 前禁食 12 h, 连续 ig 3 次, 第 1, 2 次间隔 20 h, 第 2, 3 次间隔 4 h。末次给药 1 h 后, 无菌条件下取耳中央动脉血 15 mL, 室温静置 1 h, 2 500 r·min<sup>-1</sup>离心 30 min 分离血清, 同组血清混匀, 于 56 °C 水浴 30 min 灭活处理, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌, 用一次性冻存管分装, 置 -80 °C 冰箱保存备用。

**2.2 细胞培养** 复苏后的 PC12 细胞接种于含 5% 胎牛血清、5% 马血清的高糖 DMEM 培养基中, 于 37 °C 95% 空气 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱内培养。根据细胞生长情况, 2~3 d 传代 1 次。取对数生长期的 PC12 细胞, 按 1 × 10<sup>5</sup> 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μL, 每组 6 孔。培养 48 h 后分组继续实验。

**2.3 实验分组** ①设对照组、模型组、补阳还五汤组, 吸弃上清, 对照组加入含 10% 空白血清的高糖 DMEM 培养基 100 μL, 置 37 °C 95% 空气 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中; 模型组加入含 10% 空白血清的无糖 DMEM 培养基 100 μL, 补阳还五汤组加入含 10% 1 号拆方血清的无糖 DMEM 培养基 100 μL, 置 37 °C 94% N<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub> 的三气培养箱中。18 h 后, 检测培养上清中 LDH 释放量; ②设 8 个拆方组, 吸弃上清, 分别加入含 10% 1~8 号拆方血清的无糖 DMEM 培养基 100 μL, 置 37 °C 94% N<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub> 的三气培养箱中。18 h 后, 检测细胞活力和培养上清中 LDH 释放量。

**2.4 LDH 检测** 取各组细胞培养上清, 按 LDH 试剂盒说明书进行操作。除测定孔外, 每次实验均同时做空白孔(以双蒸水代替样品)、标准孔(以丙酮

酸对照品代替样品)及样品对照孔(无辅酶)。酶标仪测定各孔吸光度(A), 波长 450 nm。LDH 释放量(U·L<sup>-1</sup>) = [(测定孔 A - 对照孔 A) / (标准孔 A - 空白孔 A)] × 对照品浓度(0.2 mmol·L<sup>-1</sup>) × 1 000。

**2.5 细胞活力检测** 采用 MTT 法, 每孔加入 MTT 溶液(5 g·L<sup>-1</sup>) 20 μL, 于 37 °C 95% 空气 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱内避光孵育 4 h 后, 弃上清, 每孔加入 DMSO 150 μL, 振摇 5 min 使甲瓚结晶完全溶解, 用酶标仪检测各孔 492 nm 处的吸光度, 重复检测 3 遍, 取 6 孔的均值代表一个样本的 MTT 值, 同时以细胞培养液直接接种于培养板作为调零孔。

**2.6 统计学分析** 应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析, 计量资料数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两样本均数的比较采用 t 检验, 正交试验结果分析采用直观分析和方差分析法, 以  $\alpha = 0.05$  (双侧) 为检验水准,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 补阳还五汤对 OGD 损伤 PC12 细胞 LDH 释放的影响** 与对照组相比, 模型组 PC12 细胞 OGD 损伤后其释放至培养上清中的 LDH 量增加, 差异具有显著性统计学意义( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 补阳还五汤组 PC12 细胞的 LDH 释放量减少, 差异具有显著性统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 补阳还五汤对 OGD 损伤 PC12 细胞 LDH 释放的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

分组	细胞培养条件	LDH/U·L <sup>-1</sup>
对照	10% 空白血清, 普通培养箱	119.048 ± 12.86
模型	10% 空白血清, 缺氧培养箱	399.70 ± 39.95 <sup>1)</sup>
补阳还五汤	10% 1 号拆方血清, 缺氧培养箱	243.45 ± 27.84 <sup>2)</sup>

注: 与对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组相比<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.2 8 种拆方对 OGD 损伤 PC12 细胞活力和 LDH 释放的影响** 正交试验中, 极差 R 值的大小排序反映各因素对 OGD 损伤 PC12 细胞观察指标影响的主次顺序。MTT 结果直观分析显示,  $R_{\text{黄芪}} > R_{\text{当归尾}} > R_{\text{赤芍}} > R_{\text{桃仁}} > R_{\text{地龙}} > R_{\text{川芎}} > R_{\text{红花}}$ , 即各药味对细胞活力影响的主次顺序为黄芪 > 当归尾 > 赤芍 > 桃仁 > 地龙 > 川芎 > 红花, 其中含有黄芪、当归尾、赤芍的拆方组其细胞活力增加, 含有桃仁的拆方组其细胞活力降低; 方差分析显示, 对细胞活力具有显著性影响的药味为黄芪、当归尾、赤芍、桃仁( $P < 0.01$ ), 地龙、川芎、红花对细胞活力的影响不明显。见表 2, 3。

LDH 检测结果直观分析显示,  $R_{\text{地龙}} > R_{\text{黄芪}} > R_{\text{赤芍}} > R_{\text{当归尾}} > R_{\text{川芎}} > R_{\text{桃仁}} > R_{\text{红花}}$ , 即各药味对细胞

表 2 正交试验结果的直观分析

拆方号	生黄芪	赤芍	当归尾	地龙	川芎	桃仁	红花	MTT 均值/ $A$ ( $n=6$ )	LDH 均值 $/U \cdot L^{-1}$ ( $n=6$ )
1	1(120 g)	1(4.5 g)	1(6 g)	1(3 g)	1(3 g)	1(3 g)	1(3 g)	0.98	262.26
2	1(120 g)	1(4.5 g)	1(6 g)	2	2	2	2	1.08	91.04
3	1(120 g)	2	2	1(3 g)	1(3 g)	2	2	0.82	321.23
4	1(120 g)	2	2	2	2	1(3 g)	1(3 g)	0.82	146.23
5	2	1(4.5 g)	2	1(3 g)	2	1(3 g)	2	0.76	352.36
6	2	1(4.5 g)	2	2	1(3 g)	2	1(3 g)	0.82	232.55
7	2	2	1(6 g)	1(3 g)	2	2	1(3 g)	0.81	383.49
8	2	2	1(6 g)	2	1(3 g)	1(3 g)	2	0.79	223.11
MTT $K_1$	0.925	0.911	0.918	0.845	0.855	0.838	0.858		
MTT $K_2$	0.797	0.811	0.804	0.877	0.867	0.884	0.864		
MTT R	0.128	0.100	0.114	0.032	0.012	0.046	0.006		
LDH $K_1$	203.96	233.33	239.22	329.08	258.56	244.76	255.38		
LDH $K_2$	298.35	268.99	263.09	173.23	243.75	257.55	246.93		
LDH R	94.39	35.66	23.87	156.85	14.81	12.79	8.45		

注: $K_1$  为各列因素 1 水平的平均值, $K_2$  为各列因素 2 水平的平均值,极差  $R = |K_1 - K_2|$ 。

LDH 释放影响的主次顺序为地龙 > 黄芪 > 赤芍 > 当归尾 > 川芎 > 桃仁 > 红花,其中含有黄芪、赤芍、当归尾的拆方组其细胞 LDH 释放量减少,含有地龙的拆方组其细胞 LDH 释放量增加;方差分析显示,对细胞 LDH 释放具有显著性影响的药味为地龙、黄芪、赤芍、当归尾( $P < 0.01$ ),川芎、桃仁、红花对细胞 LDH 释放的影响不明显。见表 2,4。

表 3 对细胞活力影响的正交试验结果的方差分析

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	$F$	$P$
黄芪	0.197	1	0.197	60.435	0.000
赤芍	0.119	1	0.119	36.498	0.000
当归尾	0.156	1	0.156	47.751	0.000
地龙	0.012	1	0.012	3.822	0.058
川芎	0.002	1	0.002	0.597	0.444
桃仁	0.025	1	0.025	7.775	0.008
红花	0.001	1	0.001	0.163	0.688

表 4 对细胞 LDH 释放影响的正交试验结果的方差分析

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	$F$	$P$
黄芪	89 088.666	1	89 088.666	142.423	0.000
赤芍	12 716.625	1	12 716.625	20.330	0.000
当归尾	5 696.778	1	5 696.778	9.107	0.005
地龙	242 889.284	1	242 889.284	388.298	0.000
川芎	2 193.752	1	2 193.752	3.507	0.070
桃仁	1 634.056	1	1 634.056	2.612	0.116
红花	712.909	1	712.909	1.140	0.294

#### 4 讨论

在体外模拟神经细胞损伤的模型主要有缺氧损伤模型、缺糖损伤模型、谷氨酸损伤模型、一氧化氮(NO)神经毒性模型、葡萄糖氧化酶损伤模型等<sup>[7]</sup>。目前公认细胞缺氧合并培养基缺糖能够较好的模拟体内缺血<sup>[8]</sup>,PC12 细胞株来源于大鼠的肾上腺嗜铬细胞瘤细胞,其细胞形态和功能都接近神经元,被广泛运用于神经系统疾病的体外研究<sup>[9]</sup>,因此本文采用 OGD 损伤 PC12 细胞模拟脑缺血神经细胞的损伤。

LDH 是存在于细胞浆内参与细胞能量代谢(糖酵解)中的一个重要的酶,若细胞受损、死亡或质膜破裂,LDH 就会由胞浆内释放出来,因此 LDH 是细胞膜完整性的标志,也是反映细胞受损或死亡的指标。本文运用微量酶标法发现 PC12 细胞 OGD 损伤后释放至培养上清中的 LDH 量增加,表明 PC12 细胞在 OGD 诱导下胞膜的完整性被破坏,导致 LDH 大量外漏;而补阳还五汤可抑制由 OGD 诱导的 PC12 细胞 LDH 释放,说明其可减轻 OGD 诱导的 PC12 细胞损伤。

补阳还五汤的配伍特点是大剂量补气之黄芪配以少量活血通络之品,使气旺促血行,活血而不伤正。本文正交试验结果显示,含黄芪、当归尾、赤芍的拆方组其细胞活力显著增加( $P < 0.01$ ),LDH 释放量显著降低( $P < 0.01$ );而含桃仁的拆方组其细胞活力显著下降( $P < 0.01$ ),含地龙的拆方组其 LDH 释放量显著升高( $P < 0.01$ );红花、川芎对细胞

活力及LDH释放量的作用不明显。表明补阳还五汤中保护细胞活力、抑制细胞LDH释放的主要药味为黄芪、赤芍、当归尾;桃仁可降低OGD损伤PC12细胞的活力,地龙可增加OGD损伤PC12细胞的LDH释放,红花、川芎对细胞的作用不明显。

现代药理学研究表明,黄芪注射液可增加缺氧缺糖海马神经元的存活率<sup>[10]</sup>、提高缺氧缺糖后复氧复糖海马神经细胞的活性<sup>[11]</sup>;黄芪的有效部位群黄芪总苷可以提高缺氧/复氧后神经元的活力<sup>[12]</sup>。当归尾的有效化学成分阿魏酸能明显改善谷氨酸诱导损伤的PC12细胞的形态和活力,并能使损伤细胞培养上清中的LDH含量明显减少<sup>[13]</sup>。赤芍的提取物赤芍总苷可显著提高损伤模型神经细胞的存活数并降低细胞释放LDH的水平<sup>[14]</sup>。本文发现,方中黄芪、当归尾、赤芍是保护OGD损伤PC12细胞的主要药味,其中补气药黄芪作用最明显。

研究报道,地龙提取物具有明显的抑制神经母细胞SH-SY5Y的细胞活力现象<sup>[15]</sup>,而桃仁对神经细胞的作用尚未见报道。本文发现,方中桃仁、地龙可加重PC12细胞OGD损伤。桃仁、地龙皆属活血药,两者在活血过程中可能会破坏细胞,加重缺血神经细胞的损伤,而大剂量黄芪佐以当归尾、赤芍具有阻止两者攻伐太过、保护缺血损伤神经细胞的作用,充分体现了补阳还五汤配方的合理性。

#### [参考文献]

[1] 潘树义,王苏平,钟世镇. 神经细胞损害机制和保护治疗的若干进展[J]. 国外医学:脑血管疾病分册, 2001, 9(1):24.

[2] 陈冬,杨洁红. 补阳还五汤抗脑缺血作用的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(1):72.

[3] 曲宏达,佟丽,沈剑刚,等. 补阳还五汤药物血清对体外培养大鼠皮层神经元缺氧后p53和p21表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(2):133.

[4] 郭咏霞,吴正治,张继平,等. 补阳还五汤含药血清对缺氧损伤PC12细胞的保护作用[J]. 中医药导报, 2010, 16(10):80.

[5] 邹纯朴,陈晓,杨柳. 补阳还五汤含药脑脊液对受损皮质神经细胞应激反应的调节作用[J]. 四川中医, 2008, 26(11):9.

[6] 刘俊娥,张继平,姚晖,等. 补阳还五汤含药血清对缺氧缺糖损伤PC12细胞形态和活力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19):189.

[7] 邓奕,汪宁,朱荃,等. 神经细胞损伤的细胞模型研究概况[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(2):374.

[8] Huang H M, Yu J Y, Ou H C, et al. Effect of naloxone on the induction of immediately early genes following oxygen-and glucose-deprivation in PC12 cells [J]. Neurosci Lett, 2008, 438(2):252.

[9] Westerink R H, Ewing A G. The PC12 cell as model for neurosecretion [J]. Acta Physiol (Oxf), 2008, 192(2):273.

[10] 郑龙,武胜昔,许杰华. 黄芪对原代培养海马神经元的作用及其对抗缺血缺氧损伤的机制[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(16):1452.

[11] 张雅丽,高维娟,闫凤霞,等. 黄芪注射液抑制缺氧缺糖后复氧复糖大鼠海马神经细胞凋亡的研究[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(7):793.

[12] 尹艳艳,朱芬芳,吴国翠,等. 黄芪总苷对大鼠神经元缺氧/复氧损伤的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(11):1173.

[13] 邓奕,汪宁,朱荃. 阿魏酸对损伤神经细胞的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(6):32.

[14] 何丽娜,何素冰,江怡,等. 赤芍总苷对大鼠皮层神经细胞钙超载损伤的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3):212.

[15] 王玉,伍风云,刘丹,等. 地龙提取物对神经母细胞SH-SY5Y细胞增殖的影响[J]. 实用中西医结合临床, 2010, 10(3):83.

[责任编辑 聂淑琴]

欢迎投稿

欢迎订阅