

桂枝拮抗麻黄中枢氧化应激损伤及 NLRP3 炎症小体上调作用分析

王文倩, 童东, 黄婉奕, 左芳, 魏志成, 曾勇*, 孟宪丽
(成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] **目的:**研究桂枝对麻黄中枢神经系统损伤的保护作用,并初步探讨其保护作用机制。**方法:**KM 小鼠按体重随机分为生理盐水组,麻黄组($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),麻黄-桂枝 3:2 组($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1} + 6.67\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),麻黄-桂枝 3:1 组($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1} + 3.33\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),桂枝组($6.67\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),灌胃给药 14 d,酶联免疫吸附(ELISA)法检测各组小鼠脑组织中超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA),一氧化氮(NO),一氧化氮合酶(NOS)活性,蛋白免疫印迹法(Western blot)测定小鼠脑组织 NLRP3 炎症小体表达水平。**结果:**与生理盐水组比较,麻黄组小鼠 SOD 活力下降($P < 0.01$),MDA,NO,TNOS,iNOS 含量增加($P < 0.01$),Nod 样受体蛋白 3(NLRP3),凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)蛋白表达上调($P < 0.01$),桂枝组无明显差异;与麻黄组比较,化学法结果显示麻黄-桂枝 3:2 组和 3:1 组均能够明显升高脑组织中 SOD 活力($P < 0.05$, $P < 0.01$),降低 MDA,NO,TNOS,iNOS 含量($P < 0.05$, $P < 0.01$),Western blot 结果显示 3:2 组能够显著降低 NLRP3,ASC 和 Caspase-1 蛋白表达($P < 0.05$, $P < 0.01$),3:1 组能够降低 Caspase-1 蛋白表达($P < 0.05$)。**结论:**桂枝对麻黄中枢神经系统损伤具有保护作用,且具有一定的量效关系,随着桂枝比例的增加,桂枝拮抗麻黄中枢毒性更为显著,其作用机制可能与其增加抗氧化活性,减少氧化应激损伤,抑制 NLRP3 炎症小体上调有关。

[关键词] 桂枝;麻黄;中枢神经系统;氧化应激损伤;NLRP3 炎症小体

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0133-05

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2017170133

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.0957.020.html>

[网络出版时间] 2017-05-26 9:57

Effect of Cinnamomi Ramulus in Resisting Ephedrine Herba Central Oxidant Damages and NLRP3 Inflammasome Up-regulation

WANG Wen-qian, TONG Dong, HUANG Wan-yi, ZUO Fang, WEI Zhi-cheng, ZENG Yong*, MENG Xian-li
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the underlying mechanism of Cinnamomi Ramulus (CR)'s protective effect on the central nervous system damages in mice induced by Ephedrine Herba (EH). **Method:** According to weight, KM mice were randomly assigned into saline group, EH group, EH-CR 3:2 group, EH-CR 3:1 group and CR group. After intragastric administration for 14 days, superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), and nitric oxide synthase (NOS) levels in brain tissues were detected with ELISA, and NLRP3 inflammasome was detected by Western blot. **Result:** As compared with the normal saline group, SOD activity was reduced in EH group, while the levels of MDA, NO, TNOS and iNOS were increased ($P < 0.01$); the expression levels of Nod-like receptor protein 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein (ASC) and cysteine aspartic acid protease-1 (Caspase-1) were up-regulated ($P < 0.01$); but CR

[收稿日期] 20170413(010)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81001469);四川省教育厅资助科研项目(16ZA0118)

[第一作者] 王文倩,在读硕士,从事中药的药效与毒理研究,Tel:17761248764,E-mail:441535826@qq.com

[通讯作者] *曾勇,博士,教授,从事中药的药效与毒理研究,Tel:18982095682,E-mail:286840942@qq.com

group showed no significant difference. As compared with EH group, CR combined with EH could significantly increase SOD activity in brain tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$), reduce the MDA, NO, TNOS, iNOS production ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and down-regulate the NLRP3, ASC and Caspase-1 protein expressions ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** CR has protective effect on the central nervous system damages induced by EH, and its mechanism may be associated with increasing antioxidant ability, reducing oxidant damage and attenuating NLRP3 inflammasome expression.

[Key words] Cinnamomi Ramulus; Ephedrae Herba; central nervous system; oxidant damage; NLRP3 inflammasome

麻黄、桂枝皆始载于《神农本草经》，其记载麻黄“主中风伤寒头痛温疟，发表出汗去邪热气，止咳逆上气，除寒热破证坚积聚”，桂枝“主上气咳逆，结气，喉痹吐吸，利关节”，历代本草麻黄、桂枝多配伍应用。20 世纪在美国麻黄及其生物碱类成分广泛应用于膳食补充剂，主要用于减肥，提升活力水平、运动水平^[1]。但由于麻黄明确的中枢兴奋作用，大剂量使用能够引起心悸、失眠、抽搐、精神失常等不良反应，这严重影响了麻黄的临床用药安全。

麻黄-桂枝为经方中经典药对，配伍应用已有数千年历史。课题前期研究了麻黄桂枝配伍对小鼠自主活动影响，结果显示与空白组比较，麻黄提高了小鼠自发活动次数，具有兴奋小鼠中枢神经的作用，桂枝对小鼠水平活动次数没有影响，不具有中枢兴奋作用，而与麻黄组比较，药对配伍后小鼠自发活动次数的提高作用减弱，说明桂枝能够拮抗麻黄中枢神经兴奋性毒性，反映了桂枝杀麻黄，麻黄畏桂枝的配伍关系^[2]。罗佳波等^[3-5]研究表明，桂枝可助麻黄发汗解表平喘，同时能够通过体外影响麻黄生物碱煎出量，体内影响麻黄生物碱的药动学参数，起到降低麻黄毒副作用的效果。实验室前期研究亦表明，桂枝配伍后能降低麻黄水煎液中麻黄碱与伪麻黄碱的溶出率，同时相较于麻黄组而言，麻黄桂枝配伍组小鼠脑内麻黄碱 (E) 与伪麻黄碱 (PE) 的 t_{max} , $AUC_{0-\infty}$ 降低, E 的 $MRT_{0-\infty}$ 降低, 提示桂枝能延缓小鼠脑内 E, PE 的分布, 降低其入脑量, 加速 E, PE 的消除过程, 从而降低麻黄的中枢毒副作用^[6-7]。基于此, 为了进一步探索桂枝拮抗麻黄中枢神经毒性作用及其作用机制, 本研究拟从氧化应激损伤和 NLRP3 炎症小体上调方面进行探索。

1 材料

1.1 动物 雄性 KM 小鼠 40 只, SPF 级, 体重 18 ~ 22 g, 购自四川成都达硕实验动物有限公司, 合格证号 SCXK(川)2014-0124。由成都中医药大学实验动物伦理委员会审核通过, 符合实验动物伦理委员

会规定。

1.2 药物与试剂 麻黄、桂枝(四川新荷花中药饮片股份有限公司, 批号分别为 1508050, 1608060) 由成都中医药大学中药鉴定室王光志教授鉴定为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* 的干燥草质茎和樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* 的干燥嫩枝。BCA 法蛋白定量试剂盒(批号 20161006), 超氧化物歧化酶(SOD, 批号 20160928), 丙二醛(MDA, 批号 20160924), 一氧化氮(NO, 批号 20190913), 一氧化氮合酶分型酶联免疫吸附(ELISA)测定试剂盒(NOS, iNOS, 批号 20160927)均购自南京建成生物工程研究所; BCA 蛋白浓度测定试剂盒(南京凯基生物公司, 批号 KGP903); ECL 发光试剂盒(美国 Thermo 公司, 批号 BL520A)。PVDF 膜(美国 Hybond 公司); 凋亡相关斑点样蛋白(ASC)兔多克隆抗体(批号 NBP1-78977), Nod 样受体蛋白 3(NLRP3)兔多克隆抗体(批号 NBP2-12446)均购自美国 Novus 公司; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)兔单克隆抗体(批号 ab108362), 生物素化山羊抗兔 IgG(H + L)(批号 ab6721)均购自英国 Abcam-艾博抗(上海)贸易有限公司; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H + L)(Beyotime 公司, 批号 A0208); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(亚太恒信, 货号 ZB001)。

1.3 仪器 VARIOSKAN FLASH 2.4.3 型全波长多功能读数仪(美国 Thermo 公司); DYY-6C 型电泳仪, UV Transilluminator 型化学发光凝胶成像仪, ChemiDoc XRS + Systems 型凝胶扫描成像仪, Image Lab 型凝胶分析系统(美国 Bio-Rad 公司); TS-2 型水平脱色摇床(海门 Kylin-Bell 仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 水煎液的制备 郑芳昊^[8]研究表明, 以 SD 大鼠作为研究对象, $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 是麻黄灌胃给药的有效剂量。结合前期预实验最终确定麻黄组给药剂量为

10 g·kg⁻¹, 连续 14 d, 桂枝组给药剂量为 6.67 g·kg⁻¹。各组水煎液制备: 称取麻黄药材 12 g, 加 10 倍量水, 浸泡 30 min, 煎煮 20 min, 去沫, 再煎 30 min, 纱布过滤定容, 浓缩至 0.5 g·mL⁻¹ 作为麻黄组给药液。称取麻黄药材 12 g, 加 10 倍量水, 浸泡 30 min, 煎煮 20 min, 去沫, 加入桂枝 8 g 再煎 30 min, 纱布过滤定容, 浓缩至含麻黄生药量 0.5 g·mL⁻¹ 作为麻黄-桂枝 3:2 组给药液。称取麻黄药材 12 g, 加 10 倍量水, 浸泡 30 min, 煎煮 20 min, 去沫, 加入桂枝 4 g 再煎 30 min, 纱布过滤定容, 浓缩至含麻黄生药量 0.5 g·mL⁻¹ 作为麻黄-桂枝 3:1 组给药液。称取桂枝 8 g, 加入 10 倍量水煎煮 30 min 纱布过滤定容, 浓缩至 0.333 g·mL⁻¹ 作为桂枝组给药液。每 3 d 配制 1 次。

2.2 分组及给药 小鼠按体重随机分为 5 组, 每组 8 只, 分别为生理盐水组, 麻黄组, 麻黄-桂枝 3:2 组, 麻黄-桂枝 3:1 组, 桂枝组。麻黄组, 麻黄-桂枝 3:2 组, 麻黄-桂枝 3:1 组给药量折合麻黄生药量 10 g·kg⁻¹, 桂枝组折合桂枝生药量 6.67 g·kg⁻¹。各组小鼠灌胃 (ig) 给药, 每次 0.01 mL·g⁻¹, 每天 2 次, 连续 14 d。

2.3 ELISA 检测氧化应激指标 各组小鼠末次给药 1 h 后脱颈椎处死取大脑, 在冷冻的 PBS 中漂洗, 用小刀迅速切分大脑, 取相同部位制备 10% 组织匀浆, 按照试剂盒说明书测定脑组织中 SOD, MDA, NO, NOS 活力, 其余脑组织用锡箔纸包好存放于液氮中。

2.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 测定脑组织 NLRP3 炎症小体蛋白表达 每组随机选取 6 个样本, 精密称取大脑相同部位适量转移至离心管中, 按照组织-裂解液 1:5 加入 RIPA 裂解液裂解, 用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取一定量蛋白上样, 接通电源, 稳定电压 100 V, 15 min, 当溴酚兰染料到分离胶以后将电压调至 180 V 继续电泳, 到达凝胶底部时终止电泳, 将分离的蛋白质转移到 PVDF 膜。将 PVDF 膜放入用 TBST Buffer 稀释的 5% 脱脂奶粉中, 用保鲜膜封好, 摇床上轻摇 2 h 后用 TBST 将 PVDF 膜洗 3 次, 每次 5 min。分别加入 NLRP3 (1:200), Caspase-1 (1:200), ASC (1:200) 一抗封闭摇床上轻摇, 4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min。分别加入对应二抗 (1:5 000), 摇床上轻摇, 室温孵育 2~3 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。将 PVDF 膜放入三抗 (1:500) 中, 摇床上轻摇, 室温孵育 2~3 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。采用 ECL 化学发光试剂, 放入化学发光凝胶成像仪

的暗室中, 根据信号的强弱适当调整曝光时间, 曝光。用凝胶图像分析成像系统进行扫描分析, 结果以目的蛋白灰度值/内参灰度值表示相对表达量。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多样本均数间比较采用 One-Way ANOVA 检验, 方差齐则采用 LSD 检验, 方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验, 检验结果以 $P < 0.05$ 为其差异有统计学意义。

3 结果

3.1 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 SOD 活力和 MDA 含量影响 与生理盐水组比较, 麻黄组脑组织中 SOD 活力显著降低 ($P < 0.01$), MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与麻黄组比较, 桂枝组, 麻黄-桂枝 3:2 组, 3:1 组 SOD 活力明显升高 ($P < 0.05$), MDA 含量明显降低 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 SOD 活力和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD	MDA
生理盐水	-	135.13 ± 36.16	1.99 ± 0.41
麻黄	10	84.42 ± 14.34 ¹⁾	3.86 ± 1.17 ¹⁾
麻黄-桂枝 3:2	10 + 6.67	120.35 ± 31.51 ²⁾	2.75 ± 0.40 ²⁾
麻黄-桂枝 3:1	10 + 3.33	97.28 ± 6.91 ²⁾	2.93 ± 0.39 ²⁾
桂枝	6.67	133.73 ± 24.14 ³⁾	1.47 ± 0.27 ³⁾

注: 与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与麻黄组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 NO, TNOS, iNOS 含量影响 与生理盐水组比较, 麻黄组脑组织中 NO, TNOS, iNOS 含量显著升高 ($P < 0.01$), 与麻黄组比较, 桂枝组、麻黄-桂枝 3:2 组, 3:1 组 NO, TNOS, iNOS 含量明显降低 ($P < 0.05$), 见表 2。

3.3 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 NLRP3 炎症小体蛋白表达的影响 与生理盐水组比较, 麻黄组脑组织中 NLRP3, ASC, Caspase-1 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$), 与麻黄组比较, 桂枝组、麻黄-桂枝 3:2 组 NLRP3, ASC, Caspase-1 蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$), 麻黄-桂枝 3:1 组 NLRP3, ASC, Caspase-1 蛋白表达均有不同程度降低, 且 Caspase-1 蛋白表达符合统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1, 2。

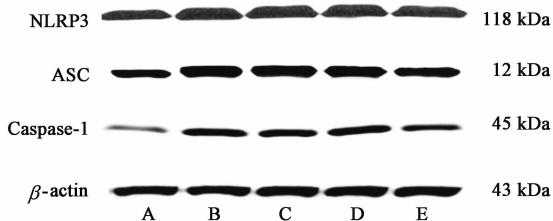
4 讨论

“七情合和”是中药配伍的基本理论, 传统中医学理论认为桂枝有增强麻黄发汗解表之功效, 体现了相须为用的配伍原则^[8]。《伤寒杂病论》中麻黄与

表 2 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 NO, TNOS, iNOS 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of different proportion of EH and CR on NO, TNOS and iNOS content ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

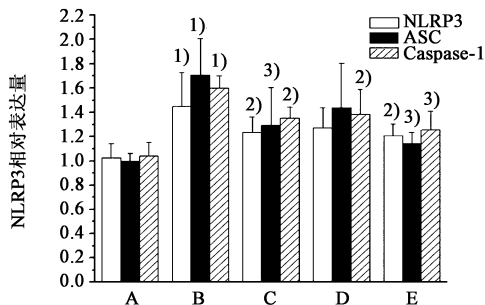
组别	剂量/g·kg ⁻¹	NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	TNOS/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	iNOS/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$
生理盐水	-	0.96 ± 0.21	0.69 ± 0.19	0.39 ± 0.11
麻黄	10	4.69 ± 0.99 ¹⁾	2.17 ± 0.46 ¹⁾	1.21 ± 0.35 ¹⁾
麻黄-桂枝 3:2	10 + 6.67	2.01 ± 0.31 ³⁾	1.15 ± 0.26 ³⁾	0.78 ± 0.18 ³⁾
麻黄-桂枝 3:1	10 + 3.33	2.85 ± 0.24 ³⁾	1.34 ± 0.22 ³⁾	0.88 ± 0.09 ²⁾
桂枝	6.67	1.43 ± 0.43 ²⁾	0.99 ± 0.22 ³⁾	0.63 ± 0.11 ³⁾



A. 生理盐水组; B. 麻黄组; C. 麻黄-桂枝 3:2 组; D. 麻黄-桂枝 3:1 组; E. 桂枝组(图 2 同)

图 1 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 NLRP3, ASC, Caspase-1 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of different proportion of EH and CR on NLRP3, ASC, Caspase-1 inflammasome expressions



与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与麻黄组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$

图 2 麻黄-桂枝不同配比对 KM 小鼠 NLRP3 炎症小体蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of different proportion of EH and CR on NLRP3 inflammasome relative expressions ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

桂枝的用量规律体现在桂麻各半汤与桂枝二麻黄一汤之中^[9]。经典名方大青龙汤麻黄-桂枝配伍比例为 3:1^[8]，麻黄汤中记载麻黄 9 g，桂枝 6 g，本实验中为了进一步探究麻黄与桂枝的配伍剂量关系，选取了 3:2 和 3:1 两种药对组。本课题组前期结合体内外药理实验研究，从桂枝降低水煎液中 E，PE 的煎出量、小鼠的血药浓度及脑内药物浓度 3 个方面阐释了桂枝与麻黄间相畏、相杀的配伍原则，肯定了桂枝对麻黄中枢神经损伤具有保护作用，但其保护作用机制尚需进一步探索。

麻黄碱类似物甲基苯丙胺 (METH) 的神经毒性机制国内外研究结果尚未完全明确，其中氧化应激

是 METH 所致神经毒性损伤的重要机制作用之一^[8,10]。MDA 是脂质过氧化物的分解产物，其含量反映了组织细胞损伤的程度，SOD 为自由基清除剂，抗氧化反应非常显著^[11-12]。当细胞膜及细胞器发生脂质过氧化反应时，会释放大量的自由基，导致 SOD 降低，产生大量的 MDA，从而对机体造成损伤^[12]。有研究报道 METH 通过诱导激活 DDAH/ADMA/NOS 通路，激活 NOS，产生过量的 NO，NO 氧化应激致蛋白质硝酸化，导致小胶质细胞的活化，促进神经元细胞的凋亡^[13-16]。而桂枝具有抗炎、抗氧化的药理功效，尚未见其对中枢神经毒性的报道^[8]。本研究中，与生理盐水组比较，麻黄组脑组织中 SOD 显著下降，MDA，NO，TNOS，iNOS 显著上升，与文献报告一致，说明麻黄对小鼠中枢神经造成了氧化应激损伤。而配伍组与麻黄组比较，均有不同程度的改善，其中药对 3:2 组效果更为明显，随着桂枝配伍比例的加大，SOD 的升高与 MDA，NO，TNOS，iNOS 的下降更为显著，提示桂枝对麻黄中枢神经保护作用机制可能与其增加抗氧化活性因子水平，抑制脂质过氧化反应，抑制 NOS 激活，减少 NO 含量有关，且具有一定的量效关系。

NLRP3 炎症小体是一种由 NLRP3，ASC 和 Caspase-1 等组成的一种细胞内蛋白复合体，其主要作用是活化 pro-Caspase-1，产生具有酶活性的 Caspase-1^[17]。激活后的 Caspase-1 再对白细胞介素-1 β 前体 (pro-IL-1 β) 和 pro-IL-18 进行加工，引起 IL-1 β 和 IL-18 过度释放，导致炎症反应引发机体损伤^[17]。本研究中，与生理盐水组比较，麻黄组脑组织中 NLRP3，ASC 和 Caspase-1 蛋白表达显著增加，说明麻黄引起了中枢神经炎症反应。而配伍组与麻黄组比较，NLRP3 炎症小体均有不同程度降低，其中药对 3:2 组 NLRP3，ASC 和 Caspase-1 蛋白均有显著差异，药对 3:1 组 Caspase-1 蛋白有显著差异，NLRP3，ASC 蛋白有下降趋势，随着桂枝配伍比例的加大，NLRP3 炎症小体下调更为显著，提示桂枝对

麻黄中枢神经保护作用机制可能与抑制 NLRP3 炎症小体上调,抑制炎症反应有关,且具有一定量效关系。

本研究围绕氧化应激损伤以及 NLRP3 炎症小体上调激发炎症反应两种作用机制进一步探讨了桂枝对麻黄中枢神经损伤的保护作用,肯定了桂枝与麻黄之间相杀、相畏的配伍关系,对麻黄临床用药安全具有一定的实验参考价值。但桂枝拮抗麻黄中枢神经毒性的作用机制尚未完全明确,其保护作用途径与作用靶点有待进一步完善。综上所述,桂枝拮抗麻黄中枢神经毒性,且具有一定的量效关系,随着桂枝比例的增加,桂枝拮抗麻黄中枢毒性更为显著,其作用机制可能与其增加抗氧化活性,减少氧化应激损伤,抑制 NLRP3 炎症小体上调,抑制炎症反应有关。

[参考文献]

[1] Shekelle P, Hardy M L, Morton S C, et al. Ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance enhancement: clinical efficacy and side effects [J]. *Evid Rep Technol Assess*, 2003, 289(76): 1537-1545.

[2] 曾岑,童东,王文倩,等. 麻黄桂枝配伍对小鼠自主活动及脑内氨基酸水平的影响[J]. *中药药理与临床*, 2016, 7(5): 69-73.

[3] 罗佳波,余林中,贺丰,等. 麻黄汤组方原理的研究[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2007, 9(2): 6-14.

[4] 徐文杰,陈飞龙,谢颖,等. 不同配伍对比对麻黄-桂枝药对有效成分含量的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(10): 84-88.

[5] 郑芳昊,罗佳波. 微透析采样考察麻黄-桂枝药对配伍对麻黄碱药代动力学的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(16): 80-83.

[6] 曾岑,李睿,曾勇,等. 桂枝对麻黄中麻黄碱和伪麻黄碱在小鼠脑内分布动力学的影响[J]. *中草药*, 2014, 45(11): 1597-1601.

[7] 曾岑. 麻黄桂枝配伍对中枢神经系统的作用及分布

动力学差异研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2015.

[8] 郑芳昊. 麻黄-桂枝药对配伍对麻黄碱引起的大鼠中枢神经系统毒副作用的保护机制研究[D]. 广州:南方医科大学, 2015.

[9] 甄淑贤. 张仲景运用麻黄的规律研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2011.

[10] Melo A S, Monteiro M C, Silva J B D, et al. Antinociceptive, neurobehavioral and antioxidant effects of *Eupatorium triplinerve* Vahl on rats [J]. *J Ethnopharm*, 2013, 147(2): 293-301.

[11] 李辉,吴颢昕,岳晓杰,等. 双根清脑颗粒对血管性痴呆模型大鼠行为学及血清超氧化物歧化酶、丙二醛、一氧化氮、一氧化氮合酶的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(7): 134-137.

[12] 宫健伟,叶蕾,张秀丽,等. 地黄饮子对脑缺血再灌注模型大鼠血清、脑组织 SOD, CAT 和 GSH-Px 及 MDA 的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(14): 247-250.

[13] ZHANG F, CHEN L, LIU C, et al. Up-regulation of protein tyrosine nitration in methamphetamine-induced neurotoxicity through DDAH/ADMA/NOS pathway[J]. *Neurochem Int*, 2013, 62(8): 1055-1064.

[14] 周国庆,周孝达,金泳清,等. 一氧化氮与帕金森病大鼠模型神经损伤的研究[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2000, 17(5): 288-289.

[15] Thomas D M, Francescutti-Verbeem D M, Kuhn D M. The newly synthesized pool of dopamine determines the severity of methamphetamine-induced neurotoxicity[J]. *J Neurochem*, 2008, 105(3): 605-616.

[16] Friend D M, Fricksgeleason A N, Keefe K A. Is there a role for nitric oxide in methamphetamine-induced dopamine terminal degeneration? [J]. *Neurotox Res*, 2014, 25(2): 153-160.

[17] 毛开睿,孙兵. NLRP3 炎症小体研究进展[J]. *现代免疫学*, 2011, 31(1): 1-4.

[责任编辑 邹晓翠]