

# 栝楼桂枝颗粒激活 Nrf2 信号通路减轻脑缺血再灌注 损伤大鼠氧化应激损伤作用

张玉琴, 李鸢, 李煌, 徐伟, 褚克丹, 黄婷婷, 林羽\*  
(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

**[摘要]** **目的:**探讨栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠氧化应激的保护作用及分子机制。**方法:**建立大鼠脑缺血再灌注损伤模型,栝楼桂枝颗粒灌胃给药后,核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检测大鼠脑梗死面积,化学荧光法测定脑组织活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平,硫代巴比妥酸法(TBA)测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,水溶性四唑蓝法(WST)测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性,紫外法测定过氧化氢酶(catalase, CAT)和比色法测定谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活力;蛋白免疫印迹法(Western blot)和实时荧光定量PCR法(Real-time PCR)分别检测脑组织中核转录因子-E2相关因子2(NF-E2-related factor 2, Nrf2),细胞质中血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1),醌氧化还原酶1[NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, NQO1]及Kelch样ECH联合蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1)的蛋白表达和mRNA相对含量。**结果:**栝楼桂枝颗粒能够明显减小大鼠脑梗死面积,减少ROS和MDA的产生( $P < 0.01$ ),增加SOD, CAT和GSH-Px活力( $P < 0.01$ )。此外,栝楼桂枝颗粒能够上调脑组织中Nrf2, HO-1, NQO1及Keap1的表达。**结论:**栝楼桂枝颗粒可能通过上调Nrf2信号通路,从而抑制脑缺血再灌注损伤引起的氧化应激反应。

**[关键词]** 栝楼桂枝颗粒; 脑缺血再灌注; 氧化应激; Nrf2/血红素加氧酶-1 (HO-1)

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)21-0112-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2017210112

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1125.046.html>

**[网络出版时间]** 2017-08-09 11:25

## Effect of Gualou Guizhi Granule in Active Nrf2 Pathway and Alleviating Oxidative Stress in Rats with Cerebral Ischemia-reperfusion Injury

ZHANG Yu-qin, LI Zhi, LI Huang, XU Wei, CHU Ke-dan, HUANG Ting-ting, LIN Yu\*

(School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the protective effect of Gualou Guizhi granule on oxidative stress and its molecular mechanism. **Method:** Magnetic resonance imaging (MRI) was performed to measure cerebral infarction area. The levels of reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA) activity and antioxidant enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity were determined by respective kits. Meanwhile, Western blot and Real-time PCR were used to detect the protein and gene expressions of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1), NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) and Kelch-like ECH-associated protein1 (Keap1). **Result:** Gualou Guizhi granule can significantly reduce the area of cerebral infarction and the production of MDA and ROS ( $P < 0.05$ ), and increase the activities of SOD, CAT and GSH-Px ( $P < 0.01$ ). In addition, Western blot and Real-time PCR showed that Nrf2, HO-1, Keap1 and NQO1 mRNA and protein expressions were up-regulated ( $P < 0.05$ ) by Gualou Guizhi

**[收稿日期]** 20170621(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81674046,81503204);福建中医药大学校管课题项目(X2016017)

**[第一作者]** 张玉琴,博士,讲师,从事中药药效学及作用机制研究, Tel:0591-22861135, E-mail: zyyqfj@hotmail.com

**[通讯作者]** \*林羽,硕士,教授,从事中药质量标准研究, Tel:0591-22861693, E-mail: lyfjlab@163.com

granule. **Conclusion:** Gualou Guizhi granule may inhibit oxidative stress by suppressing Nrf2 pathways in the rat model with cerebral ischemia-reperfusion injury.

**[Key words]** Gualou Guizhi granule; cerebral ischemia-reperfusion injury; oxidative stress; NF-E2-related factor 2 (Nrf2) /heme oxygenase-1 (HO-1)

随着人口老龄化的加剧,脑卒中的发病率也逐年上升,给人类健康造成了巨大的威胁,也给患者本身及其家庭和社会造成了沉重的经济负担<sup>[1-2]</sup>。尤其是缺血性脑卒中已成为社会和医学界关注的重要课题。近年来,中药及其复方因具有多靶点、多途径的治疗作用,吸引了越来越多的目光。因此,深入研究药物抗脑缺血再灌注损伤的作用靶点和分子机制,对脑卒中的防治具有重要意义。

栝楼桂枝颗粒为福建省第二人民医院的院内制剂,现代临床用于治疗脑卒中后痉挛性偏瘫<sup>[3]</sup>。课题组在临床上观察到栝楼桂枝方对中风后患者的运动功能、痉挛状态、以及日常生活活动能力有明显的改善<sup>[3-5]</sup>,同时体内外研究也表明栝楼桂枝方具有抗氧化、抗炎及抗兴奋性氨基酸毒性损伤的作用<sup>[6-9]</sup>。核转录因子-E2 相关因子 2 (NF-E2-related factor 2, Nrf2) 信号通路是细胞抗氧化应激反应的重要调控信号通路,是细胞抵抗各种环境应激和内源性应激防御机制中不可缺少的部分<sup>[10]</sup>。然而,栝楼桂枝颗粒对 Nrf2 信号通路的作用尚不清楚。因此,本研究在前期药效学研究基础上,选择栝楼桂枝颗粒的临床剂量作为本次实验的研究剂量,观察基于 Nrf2 信号通路的栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠的抗氧化应激损伤作用,探讨栝楼桂枝颗粒作用的分子机制。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠 54 只,体重 240 ~ 280 g,购于上海斯莱克实验动物有限公司,合格证号 SCXK(沪)2007-0005,饲养于福建中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房,实验动物开展并取得了福建中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号 2016075)。适用性饲养后用于实验,大鼠手术前 12 h 禁食不禁水。

**1.2 药物** 栝楼桂枝颗粒由福建中医药大学附属第二人民医院药剂科提供(批号 闽 2013S0001)。

**1.3 试剂** 活性氧(reactive oxygen species, ROS),丙二醛(malondialdehyde, MDA),超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),过氧化氢酶(catalase, CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批分别

为号 20170207, 20170207, 20170213, 20170213, 20170117);核转录因子 Nrf2 (NF-E2-related factor 2, Nrf2),Kelch 样 ECH 联合蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1), $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体 (Cell Signaling Technology 公司,货号分别为 #12721, # 8047, # 4970);血红素加氧酶-1 [heme oxygenase-1, HO-1] (美国 Santa Cruz 公司,货号 # sc-1796);醌氧化还原酶 1 [NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1, NQO1] (英国 Abcam 公司,货号 ab28947)。

**1.4 仪器** Infinite M200 Pro 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司);ChemiDocXRS<sup>+</sup> 型凝胶成像分析系统,785 型转印系统,Mini-protean 3 型垂直电泳槽(美国 Bio-Rad 公司);PrimoR 型高速台式冷冻离心机(美国 ThermoFisher 公司);ICON 型动物核磁成像(MRI)系统(德国 Bruker 公司)。

## 2 方法

**2.1 大鼠脑缺血再灌注损伤模型的建立** 参考文献[6],行左侧大脑中动脉结扎(middle cerebral artery occlusion, MCAO)手术,采用线栓法阻断该侧大脑中动脉的血流导致脑缺血,2 h 后小心将线栓向外拔出,实现再灌注 7 d。模型根据 Zea Longa 5 分制神经行为学评分进行评价。

**2.2 动物分组及给药** 将造模后神经行为学评分在 1 ~ 3 分的大鼠纳入实验,并随机分为 MCAO 模型组(18 只),栝楼桂枝颗粒组(18 只)。假手术组(18 只)和 MCAO 模型组按 10 mL·kg<sup>-1</sup>灌胃给予生理盐水,根据人体与动物药物等效剂量换算栝楼桂枝颗粒组灌胃给予 3.6 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>的栝楼桂枝颗粒<sup>[6]</sup>。各组均在再灌注 1 h 后开始给药,并连续给药 7 d,每天 1 次。

**2.3 核磁共振成像(MRI)检测大鼠脑梗死面积** 大鼠末次给药 1 h 后,将大鼠放置于气体麻醉机装置利用异氟烷进行气体麻醉。麻醉后,固定于小动物核磁共振成像仪的动物床上,对大鼠进行 T2WI (T2-weighted image)扫描,并应用 IMAGE J 软件对扫描图像进行分析处理,计算大鼠的脑梗死面积。

**2.4 氧化应激水平检测** 大鼠 MRI 检测大鼠脑梗死面积后,大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后,迅

速取出脑组织,于冰上迅速分离缺血侧皮层脑组织,置于玻璃匀浆器中,加入适量生理盐水,匀浆,1 000 × g 离心 10 min,取上清液,按照试剂盒说明书步骤检测其中 ROS 水平,MDA 含量,SOD,CAT 和 GSH-Px 活性。

## 2.5 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 法检测 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 mRNA 的表达

### 2.5.1 逆转录反应

采用 trizol 法提取脑组织中总 RNA,取样本 RNA 2 μg 按照逆转录试剂盒说明书步骤进行逆转录,逆转录体系见表 1。

表 1 逆转录反应体系

Table 1 Reverse transcriptional reaction system

试剂	体积/μL
Template RNA	x
Oligo(dT) <sub>18</sub> Primer	1
5 × Reaction Buffer	4
Ribolock™ RNase Inhibitor(20 U·μL <sup>-1</sup> )	1
10 mmol·L <sup>-1</sup> dNTP mix	1
Reverse Aid™ M-MuLV Reverse Transcriptase(200 U·μL <sup>-1</sup> )	1
Water, Nuclease-Free	12 - x

### 2.5.2 Real-time PCR 法检测

各目的基因的引物委托上海生工生物工程有限公司合成,目的基因引物名称、序列见表 2。按照试剂盒配制 20 μL 的扩增体系,见表 3。上机检测。以 β-actin 为内参基因,采用 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 表示 mRNA 相对表达。用 cDNA 模板对相关基因分别进行 PCR 扩增,扩增条件 95 °C,预变性 2 min,95 °C 变性 10 s,退火 58 °C 10 s,72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环。

表 2 实验相关引物序列

Table 2 Experiment related primer sequence

引物	长度/bp	序列
Nrf2	96	上游 5'-ACACGGTCCACAGCTCATC-3'
		下游 5'-TGCCTCCAAAGTATGTCAATCA-3'
HO-1	185	上游 5'-ATGCCGGTCTAGCTACTCAG-3'
		下游 5'-GGCGGTCTTAGCCTCTTCTCTGT-3'
Keap1	66	上游 5'-GGGTCCCCTACAGCCAAG-3'
		下游 5'-TGGGGTTCAGAAAGATAAGC-3'
NQO1	170	上游 5'-GGAAATGATGGATTGAAGT-3'
		下游 5'-ATGGTCCGAGAAAGAGC-3'
β-actin	150	上游 5'-GTCCCAGTTGCTGACGATGC-3'
		下游 5'-CCGCTCTCCCTCCATCG-3'

## 2.6 蛋白免疫印迹 (Western blot) 法检测 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 蛋白的表达

用含 1% PMSF 的蛋白裂解液提取脑组织中总蛋白,并按 BCA 法测定

表 3 实时荧光定量 PCR 反应体系

Table 3 Real-time PCR reaction system

试剂	体积/μL
Power SYBR Green PCR Master Mix(2 ×)	10
Reverse primer(600)	2
Forward primer(600)	2
Template	1
Nuclease-free water	5
Total Volume	20

每组蛋白含量,样品经 12% 的凝胶电泳分离,转膜,封闭,将膜与溶于封闭液中的一抗(1:1 000)中 4 °C 孵育过夜。将膜浸入二抗稀释液,室温孵育 1 h 洗涤,在暗室内将 ECL 显影液加到膜的蛋白面,静置 1 min,充分显色后,曝光,凝胶成像仪显影、拍照,并利用凝胶图像分析软件分析各目的蛋白相对表达量,其中以 β-actin 为内参基因,并计算目标蛋白与内参的比值。

### 2.7 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件,实验结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异采用单因素方差(one-way ANOVA)分析。以  $P < 0.05$  认为具有统计学差异。

## 3 结果

### 3.1 栝楼桂枝颗粒对大鼠脑梗死体积的影响

与假手术组比较,造模后大鼠冠状切面梗死面积显著( $P < 0.05$ )。栝楼桂枝颗粒组与模型组比较,大鼠的脑梗死体积明显减小,且具有显著性差异( $P < 0.05$ )。见图 1,表 4。

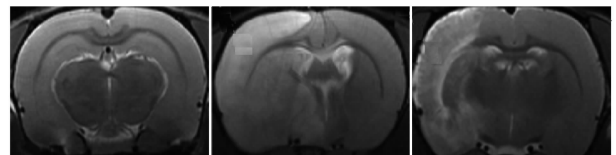


图 1 栝楼桂枝颗粒对大鼠脑梗死体积的影响 (MRI)

Fig. 1 Effect of Gualou Guizhi granule on cerebral infarct volume (MRI)

表 4 栝楼桂枝颗粒对大鼠脑梗死体积的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of Gualou Guizhi granule on cerebral infarct volume ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量	脑梗死面积/%
假手术	-	0
模型	-	58.226 ± 8.8 <sup>1)</sup>
栝楼桂枝颗粒	3.6 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	35.169 ± 5.2 <sup>2)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

### 3.2 栝楼桂枝颗粒对大鼠脑组织中 MDA 含量, ROS, SOD, CAT 和 GSH-Px 活力的影响

与假手术

组比较,模型组脑组织中 SOD, CAT 和 GSH-Px 活力显著降低 ( $P < 0.05$ ), MDA 含量, ROS 活性显著升高;而栝楼桂枝颗粒干预后,脑组织中 SOD, CAT 和

GSH-Px 活力均升高, MDA 含量, ROS 活性显著降低 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

### 3.3 栝楼桂枝颗粒对脑组织中 Nrf2, HO-1, Keap1

表 5 栝楼桂枝颗粒对大鼠脑组织中 MDA 含量, ROS, SOD, CAT 和 GSH-Px 活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 5 Effect of Gualou Guizhi granule on MDA content vitality of ROS, SOD, CAT and GSH-Px in brain tissue ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	MDA/ $\mu mol \cdot g^{-1}$	ROS/%	SOD / $U \cdot mg^{-1}$	CAT/ $\mu mol \cdot g^{-1}$	GSH-Px/ $\mu mol \cdot L^{-1}$
假手术	-	8.739 $\pm$ 0.36	100.023 $\pm$ 11.2	37.300 $\pm$ 4.25	356.518 $\pm$ 4.52	66.510 $\pm$ 4.52
模型	-	43.106 $\pm$ 2.37 <sup>1)</sup>	206.520 $\pm$ 24.25 <sup>1)</sup>	20.032 $\pm$ 3.24 <sup>1)</sup>	27.982 $\pm$ 5.85 <sup>1)</sup>	25.892 $\pm$ 5.85 <sup>1)</sup>
栝楼桂枝颗粒	3.6	24.210 $\pm$ 1.49 <sup>3)</sup>	162.531 $\pm$ 16.8 <sup>3)</sup>	25.344 $\pm$ 2.58 <sup>2)</sup>	126.668 $\pm$ 5.85 <sup>3)</sup>	56.668 $\pm$ 5.85 <sup>3)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ (表 6 同)。

及 NQO1 mRNA 的表达影响 与假手术组相比,模型组 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 基因相对表达减弱,具有明显的统计学差异 ( $P < 0.05$ )。栝楼桂枝

颗粒组与模型组相比, Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 基因相对表达升高,且均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见表 6。

表 6 栝楼桂枝颗粒对 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 mRNA 相对表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 6 Effect of Gualou Guizhi granule on relative mRNA expressions of Nrf2, HO-1, Keap1 and NQO1 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Nrf2	HO-1	Keap1	NQO1
假手术	-	1.00 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.04	1.00 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.02
模型	-	0.42 $\pm$ 0.03 <sup>1)</sup>	0.52 $\pm$ 0.03 <sup>1)</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>1)</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>1)</sup>
栝楼桂枝颗粒	3.6	0.79 $\pm$ 0.05 <sup>3)</sup>	0.65 $\pm$ 0.03 <sup>3)</sup>	0.60 $\pm$ 0.04 <sup>3)</sup>	0.37 $\pm$ 0.04 <sup>2)</sup>

### 3.4 栝楼桂枝颗粒对脑组织中 Nrf2, HO-1, Keap1

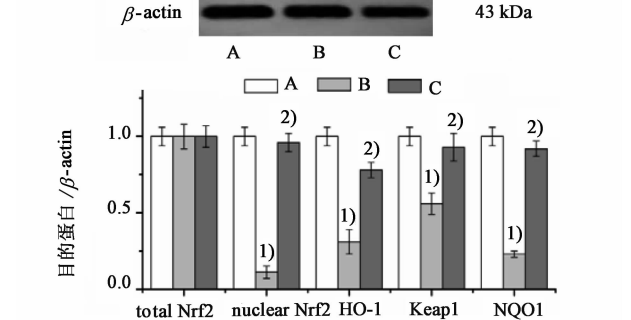
及 NQO1 蛋白表达的影响 与假手术组相比,模型组 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 蛋白相对表达减弱,具有明显的统计学差异 ( $P < 0.01$ )。栝楼桂枝颗粒组与模型组相比, Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 蛋白相对表达升高,且均有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。见图 2。

### 颗粒组与模型组相比, Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1

蛋白相对表达升高,且均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见表 6。

## 4 讨论

研究认为,氧化应激是脑缺血缺氧后引起大脑神经损伤的关键因素之一<sup>[11]</sup>。神经细胞在经过脑缺血缺氧以及在灌注后受到损伤,从而引起其氧化磷酸化的能力大幅下降,进一步使 ATP 在大脑内部的合成减少,最终导致体内活性氧 (ROS) 蓄积 (脑内氧化和抗氧化作用失衡),产生氧化应激反应。其中,ROS 蓄积 (表现为脑内 ROS 活性增强) 并作用于神经细胞膜后会生成具有趋化作用的白三烯等生物活性物质,这些物质可通过在病灶组织中富集大量中性粒细胞而引起炎症反应。另外 ROS 的蓄积还会导致神经细胞膜上的多不饱和脂肪酸 (中枢神经系统含有大量不饱和脂肪酸) 发生脂质过氧化,转化为脂质过氧化物,脂质过氧化水平的升高,引起人体内生物大分子 (如蛋白质,脂质, DNA 等)



A. 假手术组; B. 模型组; C. 栝楼桂枝颗粒组。与假手术组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组相比<sup>2)</sup>  $P < 0.01$

图 2 栝楼桂枝颗粒对 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 蛋白表达影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 2 Effect of Gualou Guizhi granule on relative protein expressions of Nrf2, HO-1, Keap1 and NQO1 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

结构和功能的改变,从而对机体造成损伤。同时脂质过氧化物还可以分解为自由基,进一步引起自由

基级联损伤反应。

机体组织中的内源性抗氧化物(如 GSH-Px, SOD 等)和非酶性抗氧化物(如 GSH, 维生素 C 和维生素 E 等)可以催化自由基,通过增加其水溶性或是转变为无毒性物质,减少自由基的含量,起到对抗氧化应激反应的效果。另外,研究发现 HO-1, NQO-1 等 II 相抗氧化酶同样作为体内重要的抗氧化物质。这些抗氧化物的表达水平由细胞核内的抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)进行调控,此外,ARE 还能够与 Nrf2 在体内相互作用,生成 Nrf2/ARE 通路。因此,Nrf2/ARE 通路所发挥的调控作用在人体抗氧化还原方面具有重要地位,成为了抗氧化药物的关键作用靶点。

大量研究发现 Nrf2/ARE 通路在抗脑缺血缺氧氧化应激损伤中发挥着重要作用<sup>[10,12-13]</sup>。本研究证实栝楼桂枝颗粒可降低脑缺血再灌注后脑梗死面积,能明显降低缺血皮层 MDA 含量,ROS 活性,提高 GSH-Px, SOD, CAT 活性,可有效抑制脑缺血再灌注损伤细胞后氧化应激。进一步实验观察到,栝楼桂枝颗粒可以有效上调 Nrf2, HO-1, Keap1 及 NQO1 的表达。以上实验证实了栝楼桂枝颗粒能改善脑缺血再灌注损伤引起的氧化应激,而其抑制 Nrf2 信号通路能减轻脑缺血再灌注损伤大鼠氧化应激损伤作用。越来越多的研究证明,Nrf2/ARE 通路作为脑缺血损伤保护的关键靶点,可通过多种途径起到抗氧化应激作用和抗炎作用,达到保护人体神经细胞的目的。因此,进一步研究以激活 Nrf2/ARE 信号通路从而在脑缺血缺氧环境中保护神经细胞的潜在治疗药物具有重要的意义,并为其推广于临床提供坚实的理论基础和实验依据。

[参考文献]

[1] Donnan G A, Fisher M, Macleod M, et al. Stroke [J]. Lancet, 2008, 371 (9624): 1612-1623.  
[2] HONG K S, Saver J L. Quantifying the value of stroke disability outcomes: WHO global burden of disease project disability weights for each level of the modified Rankin Scale [J]. Stroke, 2009, 40(7): 3828-3833.

[3] 杨春梅, 陈立典, 陶静. 古方今用瓜蒌桂枝汤[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(8): 1599-1600.  
[4] 陈瑛玲, 陈立典, 陶静. 栝楼桂枝汤治疗中风后肢体痉挛的临床研究[J]. 中医临床研究, 2013, 5(4): 7-9.  
[5] 祝玉朴. 应用栝楼桂枝汤治疗脑卒中后下肢痉挛的临床效果分析[J]. 中国医药指南, 2015, 13(29): 27-28.  
[6] ZHANG Y Q, LI H, HUANG M, et al. Neuroprotective effects of Gualou Guizhi decoction *in vivo* and *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 158(Pt A): 76-84.  
[7] ZHANG Y Q, ZHANG S N, LI H, et al. Ameliorative effects of Gualou Guizhi decoction on inflammation in focal cerebral ischemic-reperfusion injury[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 988-994.  
[8] ZHANG S N, ZHANG Y Q, LI H, et al. Antioxidant and anti-excitotoxicity effect of Gualou Guizhi decoction on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(6): 2121-2126.  
[9] 林羽, 徐伟, 张玉琴, 等. 栝楼桂枝颗粒抗缺血性脑卒中大鼠神经元及原代海马神经元凋亡的实验研究[J]. 康复学报, 2015, 25(1): 38-43.  
[10] GUO H, LI M J, LIU Q Q, et al. Danhong injection attenuates ischemia/reperfusion-induced brain damage which is associating with Nrf2 levels *in vivo* and *in vitro* [J]. Neurochem Res, 2014, 39(9): 1817-1824.  
[11] Neymotin A, Calingasan N Y, Wille E, et al. Neuroprotective effect of Nrf2/ARE activators, CDDO ethylamide and CDDO trifluoroethylamide, in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis [J]. Free Radic Biol Med, 2011, 51(1): 88-96.  
[12] WANG A L, NIU Q, SHI N, et al. Glutamine ameliorates intestinal ischemia-reperfusion injury in rats by activating the Nrf2/are signaling pathway [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(7): 7896-7904.  
[13] HAN J, WANG M, JING X, et al. (-)-Epigallocatechin gallate protects against cerebral ischemia-induced oxidative stress *via* Nrf2/ARE signaling [J]. Neurochem Res, 2014, 39(7): 1292-1299.

[责任编辑 邹晓翠]