

灯盏细辛和赤芍配伍组方对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及对NF- κ B通路的影响

刘亭¹, 刘香香^{1,2}, 陈亭亭^{1,2}, 刘帆^{1,2}, 侯佳^{1,2}, 孙佳¹, 王爱民^{3*}

(1. 贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 药学院, 贵阳 550025;
3. 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004)

[摘要] **目的:**探讨灯盏细辛和赤芍配伍组方(辛芍)对大鼠中动脉阻断(MCAO)局灶脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。**方法:**随机将SPF级SD大鼠分为假手术组、模型组、尼莫地平组(12.6 mg·kg⁻¹)和辛芍组(12.5 g·kg⁻¹)。给药组连续灌胃给药3 d,然后选用改良Zea Longa方法建立大鼠局灶脑缺血再灌注损伤模型,术后再连续给药7 d。采用Zea Longa 5分制法对各组大鼠进行神经行为学判别;用2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法测定脑梗死面积;用酶联免疫吸附法(ELISA)测定白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量;并用蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测p65和I κ B α 的磷酸化水平。**结果:**与假手术组比较,模型组出现明显神经功能缺失体征($P < 0.01$),脑梗死面积明显增加($P < 0.01$),说明大鼠局灶脑缺血再灌注损伤模型构建成功。与模型组比较,辛芍组方能明显改善脑缺血再灌注损伤模型大鼠的神经行为功能($P < 0.05$),明显降低脑梗死面积比($P < 0.05$),显著降低IL-6,IL-1 β 和TNF- α 的水平($P < 0.01$),并显著降低p65和I κ B α 的磷酸化水平($P < 0.01$)。**结论:**辛芍具有减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的作用,其作用机制可能与抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)通路激活相关。

[关键词] 灯盏细辛; 赤芍; 脑缺血再灌注; 核转录因子- κ B(NF- κ B)通路

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)09-0111-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20180930

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180227.0906.005.html>

[网络出版时间] 2018-02-27 13:21

Effect of Combined Formula of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra on Cerebral Ischemia Reperfusion Injury and NF- κ B Pathway in Rats

LIU Ting¹, LIU Xiang-xiang^{1,2}, CHEN Ting-ting^{1,2}, LIU Fan^{1,2}, HOU Jia^{1,2}, SUN Jia¹, WANG Ai-min^{3*}

(1. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;
2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
3. Engineering Research Center for Development and Application of Ethnic Medicine and Traditional Chinese Medicine Under Ministry of Education, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect and mechanism of combined formula of Erigerontis Herba and Paeoniae Radix Rubra (Xinshao) on cerebral ischemia reperfusion injury in rats. **Method:** The rats were randomly divided into four groups: sham operation group, model group, nimodipine group (12.6 mg·kg⁻¹) and Xinshao group (12.5 g·kg⁻¹). Rats were administrated with drugs for 3 days; then the cerebral ischemia-reperfusion model was established by improved Zea longa method. After surgery, the rats were administrated with drugs for 7 days. The neurological behavior was evaluated by Zea Longa method.

[收稿日期] 20171122(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81760699,81260636);贵州省科学技术厅人才团队项目(黔科合平台人才[2016]5613\5677);贵州省教育厅项目(黔教合协同创新字[2013]04)

[第一作者] 刘亭,博士,副教授,从事中药药理学研究,Tel:0851-86908468,E-mail:t-liu@163.com

[通信作者] *王爱民,教授,从事药物质量控制研究,Tel:0851-86908468,E-mail:gywam100@163.com

triphenyltetrazolium Chloride (TTC) staining was performed to determine the area of cerebral infarction. interleukin-6 (IL-6), IL-1 β and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels in serum were examined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels of phosphorylation of p65 and I κ B α were detected by Western blot. **Result:** Compared with sham operation group, the score of neurological behavior and the percentage of infarct area were significantly increased in model group, which indicated the successful establishment of the MACO model. Xinshao could significantly ameliorate the neurological behavior ($P < 0.05$), and decrease the percentage of infarct area ($P < 0.05$). Compared with model group, the levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum were significantly lowered in Xinshao group ($P < 0.01$). Western blot analysis showed that Xinshao could reduce the phosphorylation levels of p65 and I κ B α ($P < 0.01$). **Conclusion:** Xinshao has a protective effect on cerebral ischemia reperfusion injury in rats, which may be associated with the inhibition of nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) pathway.

[**Key words**] Erigerantis Herba; Paeoniae Radix Rubra; cerebral ischemia reperfusion; nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) pathway

缺血性脑血管疾病具有发病急、致残率高等特点^[1]。临床上对缺血性脑血管病的治疗原则是恢复血流。但当大脑缺血一段时间,再恢复血液供应后,会导致缺血再灌注损伤,反而使得脑组织及其功能的进一步受到损害^[2]。灯盏细辛具有活血通络止痛、祛风散寒,用于治疗中风偏瘫、胸痹心痛等症^[3]。赤芍具有清热凉血、散瘀止痛等功效^[3]。贵州少数民族常将两者配伍组方(辛芍),汤剂煎服,用于预防和辅助治疗中风、偏瘫,具有较好的临床效果^[4],但其基础研究薄弱,缺少现代药理学研究,限制了该组方进一步开发应用。针对该现状,本课题组首先完善了辛芍的制备工艺,并对辛芍的安全性和药效作用展开了研究。前期急毒研究表明,制备的灯盏细辛提取物半数致死量(LD₅₀)以生药量计算为 86.65 g·kg⁻¹,赤芍提取物 LD₅₀ = 112.38 g·kg⁻¹,而辛芍提取物 LD₅₀ = 100.46 g·kg⁻¹,说明合用安全性较高^[5]。课题组还利用 PC12 细胞氧糖剥夺模型筛选出了药效较好的辛芍组方配比(灯盏细辛-赤芍 2:3)^[6]。该配比下,辛芍对氧糖剥夺/复氧损伤的 PC12 细胞中的核转录因子- κ B (NF- κ B) 通路有抑制作用^[7]。但目前尚无相关体内实验数据来确证该结果。因此,本文采用改良的 Zea longa 方法^[8]制备大鼠脑缺血再灌注损伤模型,通过考察大鼠的神经行为学、脑梗死面积比、血清样品中白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平和脑组织中 NF- κ B p65 和 I κ B α 的磷酸化程度等指标,来确证 2:3 配比的辛芍对脑缺血再灌注损伤的保护作用并初步研究其机制,为辛芍进一步开发提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SD 大鼠,SPF 级,体质量

280 ~ 300 g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2014-0011。实验前 1 周适应环境[室温(22 ± 2) °C,相对湿度 45% ~ 65%],实验过程中大鼠自由摄食和饮水。动物实验经贵州医科大学实验动物伦理委员会审核批准,批准编号为 1603113。

1.2 药物与试剂

1.2.1 灯盏细辛提取物制备 受试药材经贵州医科大学大学生药学教研室龙庆德教授鉴定为菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* 的干燥全草。灯盏细辛提取工艺:药材经水提(每次 10 倍量水,共 3 次,每次 1 h,合并滤液,浓缩至比重 1.09 ~ 1.11),醇沉,滤液浓缩至比重 1.10 ~ 1.12,调 pH 2 ~ 3,滤过,沉淀水洗至 pH 3 ~ 4,收集沉淀物;滤液过聚酰胺柱,水洗,弃去水洗液,90% 乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩;合并上述沉淀物和浓缩液,干燥,得提取物,得率 4.7%。提取物由贵州省药物制剂重点实验室提供。

1.2.2 赤芍提取物制备 受试药材经贵州医科大学大学生药学教研室龙庆德教授鉴定为毛茛科植物川赤芍 *Paenia veitchii* 的干燥根。赤芍提取工艺:药材经水提(第 1 次 10 倍量水,第 2,3 次 8 倍量水,每次 1 h,合并滤液,浓缩至比重 1.06 ~ 1.08),醇沉,滤液浓缩,饱和正丁醇提取 4 次,合并,减压回收正丁醇,残留物用 45% 乙醇溶解,上聚酰胺柱,45% 乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩干燥,得赤芍提取物,得率 3.5%。提取物由贵州省药物制剂重点实验室提供。

1.2.3 试剂 尼莫地平片(山西亚宝药业,批号 150444);IL-6,IL-1 β ,TNF- α 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20161021,20161028,20161023);抗 p65,抗 p-p65,抗 I κ B α ,抗 p-I κ B α ,抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶

(GAPDH),羊抗鼠,羊抗兔抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab16502, ab86299, ab32518, ab133462, ab8245, ab205719, ab205718);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,美国 Sigma 公司,批号 17779);其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器 EL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);Allegra 64R 型低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司);Biomate3S 型蛋白核酸分析仪(美国 Thermo Scientific 公司);Model 680 型酶标仪,PowerPac Basic 型电泳仪,Mini-Sub Cell GT 型垂直电泳槽(美国 Bio-Rad 公司);G;BOXChemXL1.4 型凝胶成像仪(英国 Syngene 公司);MCAO 线栓(北京沙东生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 SD 大鼠随机分为 4 组,分别为假手术组、模型组、辛芍组、尼莫地平组,每组 12 只。根据人体与动物药物等效剂量换算,得辛芍组给药量。辛芍组按生药 $12.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药(灯盏细辛-赤芍 2:3,其中灯盏细辛为生药 $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,赤芍为生药 $7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),该剂量远远低于辛芍的 LD_{50} 。尼莫地平组按 $12.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药,假手术组和模型组给予等量蒸馏水。连续给药 3 d 后造模,造模结束后再给药 7 d。给药结束后,每组取 6 只大鼠进行 TTC 染色,余下 6 只大鼠检测其余指标。

2.2 制备大鼠中动脉阻断(MCAO)模型 采用改良的 Zea Longa 方法^[8]建立 MCAO 模型。大鼠术前禁食 12 h,腹腔注射 10% 水合氯醛($350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉。麻醉后,颈正中切开,将右侧颈总动脉(CCA),颈外动脉(ECA),颈内动脉(ICA)分离,用 0 号线结扎 ECA 和 CCA 近心端,用微动脉夹夹闭 ICA。用维纳斯剪在 CCA 上开小口,将栓线自 CCA 小口插入,经分叉处通过 ICA 入颅至大脑中动脉(MCA),插入线栓深度为 18~20 mm。用 4 号非吸收性缝合线固定插入 MCA 的线栓,防止滑落。2 h 后缓慢外拉栓线,进行再灌注。假手术组除不插栓线外其余步骤同上。

2.3 神经行为学评分 参照 Longa^[8]的 5 级 4 分法,对缺血再灌注 24 h 后的大鼠进行评分,0 分,未观察到神经功能缺陷症状;1 分,手术对侧前爪不能完全伸展;2 分,向手术对侧转圈;3 分,向手术对侧倾倒;4 分,不能自发行走,意识昏迷。评分为 1~3 分为造模成功,纳入实验。剔除建模未成功的大鼠,并严格按实验条件补充。

2.4 脑梗死面积比的测定 给药结束后,将大鼠开

颅取脑,去除小脑和嗅球后,放置于冰箱 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,20 min 后取出,将大脑以冠状面均匀切成 5 片,每片厚度约 2 mm。将脑片置于 2% TTC 的磷酸缓冲液 10 mL 中, $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴避光孵育 20 min,期间每隔 5 min 翻动 1 次。TTC 染色后,梗塞组织呈白色而正常组织呈玫瑰红色,界限分明。水浴后用 4% 多聚甲醛溶液固定,3 d 后将脑片照相。利用 Image-pro Plus 6.0 进行梗死面积的计算。脑梗死面积比 = 梗死面积/全脑片面积 $\times 100\%$ 。

2.5 IL-6,IL-1 β 和 TNF- α 水平的测定 给药结束后,各组大鼠腹主动脉取血,分离血清,用 ELISA 试剂盒检测血清中 IL-6,IL-1 β 和 TNF- α 的水平。按试剂盒说明书操作。

2.6 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 p65, p-p65,I κ B α 和 p-I κ B α 的蛋白水平 给药结束后,分别取假手术组、模型组、辛芍组大鼠的缺血侧脑组织皮层,用放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解液提取蛋白,并用 BCA 试剂盒进行蛋白定量。取蛋白样品 30 μg 用 10% 的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)电泳分离后转膜。用 5% BSA 封闭 2 h,分别加入抗 GAPDH 抗体(1:2 000),抗 p65 抗体(1:2 000),抗 p-p65 抗体(1:500),抗 I κ B α 抗体(1:1 000)和抗 p-I κ B α 抗体(1:500), $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。洗膜后,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2 000),室温孵育 2 h。洗膜后,用 ECL 显影并用凝胶成像系统成像。利用 Quantity One 软件计算 p-p65/p65 和 p-I κ B α /I κ B α 。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据采用单因素方差分析分析后,用 t 检验来比较两组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠神经行为学评分的影响 除假手术组,将神经行为学评分为 0 分,4 分的或者死亡的大鼠剔除。大鼠缺血再灌注 24 h 后,假手术组大鼠神经行为学得分为 0,无明显神经功能缺失体征;模型组神经行为学得分为 (2.67 ± 0.25) 分,明显高于假手术组($P < 0.05$),出现明显神经行为失常特征;与模型组比较,辛芍组与尼莫地平组大鼠神经功能评分均具有不同程度的降低($P < 0.05$),说明辛芍能够改善脑缺血再灌注损伤大鼠的神经行为学评分。见表 1。

3.2 对大鼠脑梗死面积比的影响 假手术组未出现梗死灶,模型组以及辛芍组,尼莫地平组均出现不同程度梗死灶,经 TTC 染色后,模型组梗死面积占 24.24%,

表 1 辛芍组方对 MACO 损伤大鼠神经行为学评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Xinshao on neurologic deficit in MCAO rats

($\bar{x} \pm s, n=6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 神经行为学评分/分 |
|------|-----------------------|---------------------------|
| 假手术 | - | 0 |
| 模型 | - | 2.67 ± 0.25 ¹⁾ |
| 辛芍 | 12.5 | 2.07 ± 0.11 ²⁾ |
| 尼莫地平 | 0.012 6 | 1.91 ± 0.10 ²⁾ |

注:与假手术组比较¹⁾P < 0.05;与模型组比较²⁾P < 0.05(表 2 同)。

辛芍组与尼莫地平组梗死面积比分别为 19.22%, 18.98%, 两组的梗死面积比均小于模型组(P < 0.05), 以上结果表明, 辛芍组方可以明显缩小由脑缺血再灌注损伤造成的脑梗死面积。见图 1, 表 2。

表 2 辛芍对 MCAO 损伤大鼠脑梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Xinshao on cerebral infarct area in MCAO rats

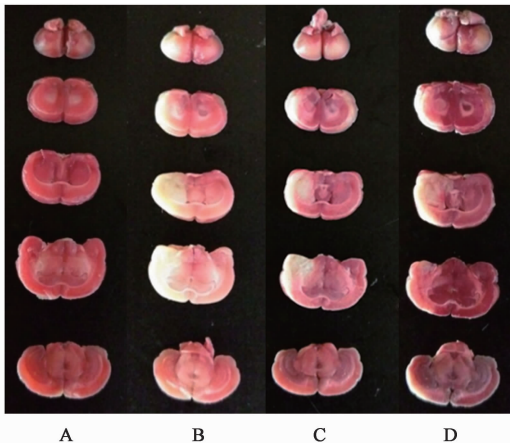
($\bar{x} \pm s, n=6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 脑梗死面积比/% |
|------|-----------------------|----------------------------|
| 假手术 | - | 0 |
| 模型 | - | 24.24 ± 4.60 ¹⁾ |
| 辛芍 | 12.5 | 19.22 ± 2.40 ²⁾ |
| 尼莫地平 | 0.012 6 | 18.98 ± 2.82 ²⁾ |

3.3 对大鼠血清中 IL-6, IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响 SD 大鼠进行 MACO 手术后, 模型组大鼠血清中的 IL-6, IL-1 β 和 TNF- α 水平均有不同程度的上升(P < 0.01)。与模型组比较, 辛芍组大鼠血清中的 IL-6, IL-1 β 和 TNF- α 水平显著降低(P < 0.01)。而尼莫地平组大鼠血清中 IL-6, IL-1 β 和 TNF- α 水平与模型组比较没有明显差异。说明尼莫地平虽然在预防再灌注损伤上疗效明显, 可以在药效实验中作为一个良好的阳性药, 但是其作为一种钙通道阻滞剂^[9], 在抑制炎症反应上没有明显作用。见表 3。

3.4 对大鼠脑组织中 p65 和 I κ B α 磷酸化的影响

由于尼莫地平在抑制炎症反应上没有明显作用, 因此本文也未研究尼莫地平对脑组织中 p65 和 I κ B α 磷酸化程度的影响。与假手术组比较, 模型组的 p-p65/p65 和 p-I κ B α /I κ B α 显著升高(P < 0.01); 与模型组比较, 辛芍组的 p-p65/p65 和 p-I κ B α /I κ B α 显著降低(P < 0.01)。说明辛芍能降低 p65 和 I κ B α 的磷酸化程度。见表 4, 图 2。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 辛芍组; D. 尼莫地平组(图 2 同)

图 1 辛芍对脑梗死面积的影响

Fig. 1 Effect of Xinshao on cerebral infarct area

表 3 辛芍对 MACO 损伤大鼠血清中 IL-6, IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Xinshao on levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum of MCAO rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

ng·L⁻¹

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | IL-6 | IL-1 β | TNF- α |
|------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| 假手术 | - | 245.68 ± 27.74 | 473.00 ± 44.49 | 343.10 ± 29.2 |
| 模型 | - | 1 241.57 ± 116.00 ¹⁾ | 1 178.74 ± 124.32 ¹⁾ | 885.68 ± 76.88 ¹⁾ |
| 辛芍 | 12.5 | 744.47 ± 67.31 ²⁾ | 825.16 ± 78.12 ²⁾ | 591.54 ± 49.24 ²⁾ |
| 尼莫地平 | 0.012 6 | 1 140.35 ± 122.10 | 1 081.72 ± 129.24 | 812.64 ± 96.12 |

注:与假手术组比较¹⁾P < 0.01;与模型组比较²⁾P < 0.01(表 4 同)。

表 4 辛芍对 MACO 损伤大鼠脑组织中 p65 和 I κ B α 磷酸化程度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Xinshao on phosphorylation levels of p65 and I κ B α in brain tissue of MACO rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | p-p65/p65 | p-I κ B α /I κ B α |
|-----|-----------------------|-----------------------------|--|
| 假手术 | - | 0.925 ± 0.037 | 0.882 ± 0.034 |
| 模型 | - | 1.661 ± 0.122 ¹⁾ | 1.418 ± 0.116 ¹⁾ |
| 辛芍 | 12.5 | 1.230 ± 0.061 ²⁾ | 0.921 ± 0.094 ²⁾ |

4 讨论

大脑血管突然发生破裂或处于缺氧、缺血时会导致脑中风。临床上治疗都倾向于尽快重建微血管侧枝循环, 恢复供血^[10]。然而缺血后的血液恢复会导致再灌注损伤, 进一步加重脑损伤程度^[2]。本文采用大鼠 MACO 模型, 并通过预实验选择了疗效较好的尼莫地平作为阳性药, 采用神经行为学评分、脑梗死面积比等指标, 来研究民间习惯给药剂量下辛

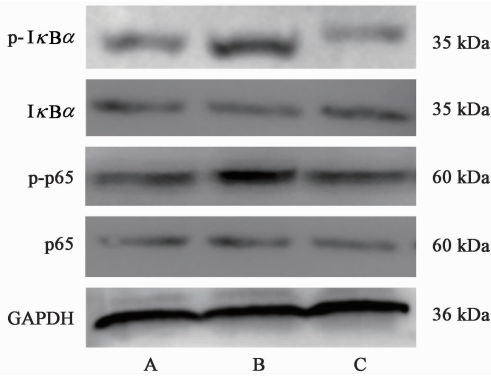


图 2 各组大鼠脑组织 p65 和 p-IκBα 磷酸化程度的水平
Fig. 2 Phosphorylation levels of p65 and p-IκBα in brain tissue of each groups

芍的药效。实验结果表明辛芍不仅能提高 MACO 模型大鼠的神经行为学评分,还能明显降低脑梗死面积,并且其效果和尼莫地平基本一致,这说明在民间习惯给药剂量下,2:3 配比的辛芍具有较好的疗效。

NF-κB 是调节炎症反应的一种重要转录因子,常以 p50/p65 异源二聚体形式存在于细胞质,与 IκBα 结合处于静息状态^[11]。当细胞受到炎症因子、细胞因子或者钙超载等因素刺激时,IκBα 发生磷酸化,从而与 p50/p65 解离,使 NF-κB 活化发生核转移。转移至细胞核内后,磷酸化的 p65 调控细胞因子的表达,从而加剧炎症反应^[7]。脑缺血再灌注时常伴随炎症反应,使得脑组织发生炎症性损伤^[12]。炎症反应可激活 NF-κB,活化的 NF-κB 又可诱导细胞因子、黏附分子的表达,形成炎症反应恶性循环^[13]。近年来,NF-κB 信号通路已经成为了治疗缺血性脑血管病的一个重要靶点^[14]。在前期的研究中,发现辛芍能够抑制 PC12 细胞中 NF-κB 通路的激活^[7],这表明辛芍可能具有抑制炎症反应的作用。因此本文通过检测血清中 IL-6,IL-1β 和 TNF-α 水平,并分析脑组织中 p65 和 IκBα 磷酸化程度,从抑制 NF-κB 通路的角度来研究辛芍脑缺血再灌注损伤保护作用的机制。实验结果表明,辛芍不仅能下调血清中 IL-6,IL-1β 和 TNF-α 水平,缓解炎症反应,还抑制脑组织中 p65 和 IκBα 磷酸化程度,起到抑制 MACO 模型大鼠缺血脑组织中 NF-κB 通路激活的作用。

综上所述,辛芍能减轻大鼠 MACO 局灶脑缺血再灌注造成的损伤,其机制可能和辛芍抑制 NF-κB 通路激活,从而降低 IL-6,IL-1β 和 TNF-α 等炎症因子的释放有关。

[参考文献]

- [1] 黄丹,屈云. 缺血后处理对脑缺血保护作用的实验研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(5): 599-602.
- [2] Mohamed R A, Agha A M, Abdel-Rahman A A, et al. Role of adenosine A2A receptor in cerebral ischemia reperfusion injury: signaling to phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase (pERK1/2) [J]. *Neurosci*, 2016, 314: 145-159.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:147,158-159.
- [4] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:172.
- [5] 陈祖云,迟明艳,王永林. 辛芍提取物对大鼠的毒性研究[J]. 贵阳医学院学报,2010,35(2):151-153.
- [6] 董莉,董永喜,刘宗炎,等. 不同配比辛芍组方对 PC12 细胞氧糖剥夺损伤的保护作用[J]. 贵阳医学院学报,2014,39(4):451-454.
- [7] 董永喜,王霞,董莉,等. 辛芍组方对缺血再灌注损伤后神经细胞氧化应激及 NF-κB 信号通路的影响[J]. 山东医药,2016,56(42):5-8.
- [8] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [9] 李瑶,魏振平. 尼莫地平脑内靶向递送的研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2017,48(4):589-596.
- [10] 李桂平,石磊,杜元灏,等. 脑梗死早期侧支循环重建及电针干预效应研究[J]. 天津中医药大学学报, 2011,30(2):102-104.
- [11] CAO L, LI R, CHEN X, et al. Neougonin a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses via downregulation of the NF-κB signaling pathway in RAW 264.7 macrophages[J]. *Inflammation*, 2016, 39(6): 1939-1948.
- [12] ZHANG J, FANG X, ZHOU Y, et al. The possible damaged mechanism and the preventive effect of monosialotetrahexosylganglioside in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(7): 1471-1478.
- [13] 王萍,张密霞,庄朋伟,等. 脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制研究进展[J]. 天津中医药大学学报,2014, 33(5):317-320.
- [14] 葛建彬,卢红建,宋新建,等. 枸杞多糖对小鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及其抑制 NF-κB, TNF-α, IL-6 和 IL-1β 表达的机制[J]. 中国中药杂志,2017,42 (2):326-331.

[责任编辑 周冰冰]