

白藜芦醇苷对脑缺血再灌注模型大鼠的保护作用[△]

徐冰^{1*}, 林焕冰², 王茜³, 徐江平^{2#}(1.解放军第97医院, 江苏徐州 221004; 2.南方医科大学药理学系, 广州 510515; 3.南方医科大学附属何贤纪念医院, 广州 511400)

中图分类号 R285; R737 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)43-4040-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.43.03

摘要 目的: 研究白藜芦醇苷对脑缺血再灌注模型大鼠的保护作用。方法: 采用栓线法制备大鼠急性局部脑缺血再灌注损伤模型。140只SD大鼠随机分为假手术(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、依达拉奉(6 mg/kg)组与白藜芦醇苷①、②、③、④(40、20、10、5 mg/kg)组。再灌注1 h后舌下静脉给药。给药24 h后断头取脑行TTC染色, 测定脑梗死体积百分比与脑组织含水量。180只SD大鼠随机分为假手术(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、依达拉奉(6 mg/kg)组与白藜芦醇苷高、中、低剂量(20、10、5 mg/kg)组。再灌注3 h后舌下静脉给药, 每天1次, 连续8 d。在给药第2、4、6、8天时称定体质量并计算变化率, 进行姿势反射、肢体不对称实验。结果: 与假手术组比较, 模型组大鼠脑梗死体积百分比与脑组织含水量显著增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 白藜芦醇苷①、②、③组大鼠脑梗死面积百分比与脑组织含水量显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与假手术组比较, 模型组大鼠体质量变化率显著增加($P < 0.01$), 姿势反射、肢体不对称实验评分显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 白藜芦醇苷高剂量组大鼠在给药第2、6、8天时姿势反射实验评分显著降低($P < 0.01$), 白藜芦醇苷高、中、低剂量组大鼠在给药第4天时姿势反射实验评分显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 白藜芦醇苷高剂量组大鼠在给药第2、6天时肢体不对称实验评分显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 白藜芦醇苷高、中、低剂量组大鼠在给药第4天时肢体不对称实验评分显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: 白藜芦醇苷对脑缺血再灌注模型大鼠具有一定保护作用。

关键词 缺血再灌注; 白藜芦醇苷; 梗死面积; 脑组织含水量; 神经损伤评分

Protective Effects of Resveratrol on Cerebral Ischemia-reperfusion Model Rats

XU Bing¹, LIN Huan-bing², WANG Qian³, XU Jiang-ping²(1.No. 97 Hospital of PLA, Jiangsu Xuzhou 221004, China; 2.Dept. of Pharmacology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 3.The Affiliated Hexian Memorial Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 511400, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of resveratrol in rats after focal cerebral ischemia-reperfusion injury. METHODS: Focal cerebral ischemia-reperfusion injury model was induced by thread occlusion method. 40 SD rats were randomly divided into sham operation group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), edaravone group (6 mg/kg) and first, second, third and forth resveratrol groups (40, 20, 10, 5 mg/kg). Those were given medicines via sublingual vein 1 h after reperfusion. Rats were decapitated and cerebral TTC staining were performed 24 h after medication, the volume of cerebral infarction and water content were determined. 180 SD rats were randomly divided into sham operation group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), edaravone group (6 mg/kg) and resveratrol high-dose, medium-dose and low-dose groups (20, 10, 5 mg/kg). They were given medicines via sublingual vein 3 h after perfusion, once a day, for consecutive 8 days. The body weight of rats was determined on 2nd, 4th, 6th and 8th day after medication and the change rate was also calculated. Postural reflex test and limbs asymmetry test both were performed. RESULTS: Compared with sham operation group, the percentage of cerebral infarction volume and water content of cerebral tissue were increased significantly in model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the percentage of cerebral infarction volume and water content of cerebral tissue were decreased significantly in first, second and third resveratrol groups ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Compared with sham operation group, the change rate of body weight was increased significantly in model group ($P < 0.01$), and postural reflex test and limbs asymmetry test score were increased significantly ($P < 0.01$). Compared with model group, postural reflex test score of resveratrol high-dose group was decreased significantly on 2nd, 6th and 8th day of medication ($P < 0.01$); postural reflex test scores of resveratrol high-dose, medium-dose and low-dose groups were decreased significantly on 4th day of medication ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The limbs asymmetry test score of resveratrol high-dose group was decreased significantly on 2nd and 6th day of medication ($P < 0.01$ or $P < 0.05$); limbs asymmetry test score of resveratrol high-dose group, medium-dose group and low-dose group was decreased significantly on 4th day of medication ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). CONCLUSIONS: Resveratrol has protective effects against cerebral ischemia-reperfusion injury.

KEY WORDS Ischemia-reperfusion; Resveratrol; Infarction size; Water content of brain tissue; Neurologic function defect scoring

[△] 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(No.7117782)

* 主管药师, 硕士。研究方向: 新药临床前评价。电话: 0516-83349248。E-mail: xb97xz@126.com

通信作者: 教授, 博士研究生导师, 博士。研究方向: 神经精神药理和新药临床前评价。电话: 020-61648236。E-mail: jpx@fimmu.com

缺血性脑血管病的本质就是因为动脉供血减少或中止而引起局部脑组织缺血或梗死,导致神经细胞变性、坏死。脑组织缺血及随后的再灌注过程可引起一系列细胞、分子及其调节过程的变化,主要包括线粒体能量代谢障碍、兴奋性氨基酸毒性、离子平衡失调、氧化应激、炎症反应、细胞凋亡、血脑屏障破坏、信号转导特点改变、修复性变化等。白藜芦醇苷为植物虎杖的干燥根茎中一种有效成分。研究发现其具有抗肿瘤、抗炎、清除自由基、抗氧化、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化、雌激素样作用等多方面药理活性^[1]。大量的体内、外研究已经证实,白藜芦醇苷能缓解多个器官/组织的缺血性损伤,包括心脏、脑、肾脏、肝脏、肠、骨骼肌、脊髓和卵巢等。研究显示白藜芦醇苷可通过与人体内雌性激素受体的结合调节血液中胆固醇水平,抑制血小板形成血块黏附于血管壁,从而抑制和减轻心血管病的发生和发展,减少人体患心血管病的风险,表明白藜芦醇苷在血管性疾病的治疗中具有巨大的潜在价值^[2]。目前,白藜芦醇苷对脑缺血再灌注诱导的行为改变的研究还比较少,本文旨在研究短期与较长周期给药白藜芦醇苷对模型大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用。

1 材料

1.1 仪器

BP121S型电子天平(德国Sartorius公司);-20℃冰箱(日本Sanyo公司);Image-Proplus5.0图像分析软件(美国Mdia Cybernetics公司);40℃烤箱(德国Heraeus公司);550型照相机(日本Canon公司)。

1.2 药品与试剂

依达拉奉注射液(江苏先声药业有限公司,批号:2013342);白藜芦醇苷(批号:20121207,规格:20 mg/ml,纯度:≥98%)由深圳海王药业股份有限公司提供;水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 动物

健康SD大鼠320只,♂,体质量200~240 g,由南方医科大学实验动物中心提供[实验动物许可证号:SCXK(粤)2006-0015]。

2 方法

2.1 模型的复制

参照文献^[3-4]方法制备大鼠右侧大脑中动脉栓塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,缺血2 h后再灌注24 h,轻轻提拉所留线头至有阻力时提示血流再通。术后大鼠苏醒,出现提尾时左前肢屈曲和前进时左侧划圈症状,证明右侧大脑中动脉阻塞成功。在实验过程中死亡大鼠均被废弃。假手术组除不进行血管闭塞外,其余步骤同上。

2.2 短期给药实验

2.2.1 分组与给药^[5] 140只SD大鼠随机分为七组,即假手术(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、依达拉奉(6 mg/kg)组与白藜芦醇苷①、②、③、④(40、20、10、5 mg/kg)组。再灌注1 h后舌下iv给药1次,自由喂养24 h后断头取脑行TTC染色,测定脑组织含水量。

2.2.2 TTC染色测定脑梗死面积百分比^[6] 再灌注24 h后取脑,冷冻固定大鼠脑组织,切成2 mm厚的冠状切片,行TTC染色,应用图像分析系统测量脑梗死面积,计算梗死面积百分比。

2.2.3 脑组织含水量的测定^[7] 实验结束取大鼠脑组织,称湿

质量,于100℃烤箱中烤干至恒质量,称干质量,计算脑组织含水量:脑组织含水量(%)=(湿质量-干质量)/湿质量×100%。

2.3 较长周期给药实验

2.3.1 分组与给药 将180只SD大鼠随机分为六组,即假手术(等容生理盐水)、模型(等容生理盐水)组、依达拉奉(6 mg/kg)组与白藜芦醇苷高、中、低剂量(20、10、5 mg/kg)组。缺血再灌注3 h后舌下iv给药,每天1次,连续8 d。所有大鼠行为学评价采用盲法由同一研究人员完成,在复制模型后第2、4、6、8天称体质量并计算其变化率,进行姿势反射、肢体不对称实验。

2.3.2 姿势反射实验^[8-9] 距地面1 m提起鼠尾,观察其前肢屈曲的情况,评分标准如下:0分,双前肢完全伸展;1分,左前肢贴向前胸,右前肢伸展;2分,左前肢贴向前胸,上半身卷曲。每次每只鼠记录20次活动,最后得分为20次的平均分。

2.3.3 肢体不对称实验^[9-10] 用于测试的器械是一直径18 cm、高30 cm透明的玻璃圆桶。正常大鼠在圆桶中会不时站立,用双侧前肢交替或同时触及桶壁,应用双侧前肢的频率应该大致相等。缺血脑损伤的大鼠偏瘫侧肢体应用较少,观察并记录双侧前肢的应用情况,对每只大鼠每次记录20次活动,以肢体应用的百分率计算最后得分:得分=(R-L)/(R+L+B)×100%(式中,R:右侧前肢(健侧)独立应用次数;L:左侧前肢(患侧)独立应用次数;B:双前肢同时应用次数)。

2.4 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据统计采用SPSS13.0软件,组间差异采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 短期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠脑梗死面积百分比和脑组织含水量的影响

假手术组大鼠脑组织无梗死,模型组大鼠缺血侧脑组织有梗死现象;与模型组比较,白藜芦醇苷①、②、③组大鼠脑梗死面积百分比显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组大鼠脑组织含水量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,白藜芦醇苷①、②、③组大鼠脑组织含水量显著减少($P < 0.05$),并呈一定的剂量依赖性。短期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠脑梗死面积百分比和脑组织含水量的影响见表1、图1。

表1 短期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠脑梗死面积百分比和脑组织含水量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab1 Effects of short-term administration of resveratrol on rate of infarction area and water content of brain tissue in model rats($\bar{x} \pm s$)

组别	n	梗死面积百分比,%	脑组织含水量,%
假手术组	16	0.23±0.95	62.27±0.60
模型组	18	28.30±7.92*	65.81±1.75*
白藜芦醇苷④组	16	19.21±14.72	64.27±1.45
白藜芦醇苷③组	20	15.32±13.53*	63.91±1.53*
白藜芦醇苷②组	17	14.47±10.85**	63.68±1.80*
白藜芦醇苷①组	13	13.74±12.89*	63.57±1.65*
依达拉奉组	16	14.52±11.42*	64.69±2.63

与假手术组比较:* $P < 0.01$;与模型组比较:** $P < 0.05$,** $P < 0.01$
vs.sham operation group: * $P < 0.01$; vs. model group: * $P < 0.05$,
** $P < 0.01$

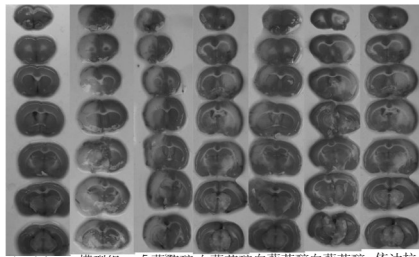


图1 白藜芦醇苷对模型大鼠脑梗死面积的影响

Fig 1 Effects of resveratrol on infarction area in model rats

3.2 较长周期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠体质量变化率、姿势反射和肢体不对称实验的影响

与假手术组比较,模型组大鼠体质量变化率显著增加($P<0.01$),姿势反射和肢体不对称实验评分显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,给药第2、6、8天时白藜芦醇苷高剂量组大鼠姿势反射实验评分显著降低($P<0.01$);给药第4天时,白藜芦醇苷高、中、低剂量组大鼠姿势反射实验评分显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);给药第2、6天时,白藜芦醇苷高剂量组大鼠肢体不对称实验评分显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);给药第4天时,白藜芦醇苷高、中、低剂量组大鼠肢体不对称实验评分显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。较长周期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠体质量变化率、姿势反射和肢体不对称实验的影响见表2、表3、表4。

表2 较长周期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠体质量变化率的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effects of long-term administration of resveratrol on the weight variation ratio in model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	大鼠体质量变化率,%			
		2 d	4 d	6 d	8 d
假手术组	14	1.26±8.40	4.44±6.84	7.22±6.18	10.80±5.81
模型组	9	-7.61±5.71 [*]	-10.57±10.49 [*]	-12.40±12.29 [*]	-12.05±13.52 [*]
白藜芦醇苷低剂量组	12	-6.52±8.05	-4.45±11.04	-3.63±13.12	-1.66±14.71
白藜芦醇苷中剂量组	10	-9.07±3.85	-9.44±11.97	-10.90±15.82	-13.25±22.87
白藜芦醇苷高剂量组	15	-8.55±5.30	-12.15±12.80	-13.25±13.89	-10.35±13.94
依达拉奉组	11	-9.58±3.09	-9.12±6.56	-9.43±7.67	-7.50±8.46

与假手术组比较: * $P<0.01$

vs. sham operation group: * $P<0.01$

表3 较长周期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠姿势反射实验的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab3 Effects of long-term administration of resveratrol on the postural reflex test in model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	复制模型后			
		2 d	4 d	6 d	8 d
假手术组	14	0±0	0±0	0±0	0±0
模型组	9	1.42±0.48 [*]	1.36±0.33 [*]	1.29±0.51 [*]	0.91±0.30 [*]
白藜芦醇苷低剂量组	12	1.19±0.45	1.06±0.29 [#]	1.08±0.45	0.85±0.18
白藜芦醇苷中剂量组	10	1.16±0.38	1.01±0.30 ^{##}	1.04±0.33	0.69±0.35
白藜芦醇苷高剂量组	15	1.01±0.37 ^{###}	0.78±0.42 ^{###}	0.77±0.28 ^{###}	0.59±0.39 ^{###}
依达拉奉组	11	1.08±0.31 ^{###}	0.78±0.31 ^{###}	0.87±0.63 ^{###}	0.64±0.44 [#]

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

vs. sham operation group: * $P<0.01$; vs. model group: # $P<0.05$,

$P<0.01$

4 讨论

表4 较长周期给药后白藜芦醇苷对模型大鼠肢体不对称实验的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Effects of long-term administration of resveratrol on the limb asymmetry test in model rats($\bar{x}\pm s$)

组别	n	复制模型后			
		2 d	4 d	6 d	8 d
假手术组	14	9.5±21.51	-0.75±25.77	4.25±23.64	4±24.42
模型组	9	66.43±32.78 [*]	69.29±23.69 [*]	50.36±17.81 [*]	51.79±40.03 [*]
白藜芦醇苷低剂量组	12	61.5±31.63	47.5±18.60 [#]	44±13.08	46.5±15.47
白藜芦醇苷中剂量组	10	48.75±34.51	46.88±19.07 ^{##}	34.38±24.99	35±12.25
白藜芦醇苷高剂量组	15	35.67±34.69 ^{###}	29±27.33 ^{###}	28.33±27.82 [#]	25±16.58
依达拉奉组	11	26.56±29.98 ^{###}	44.38±28.57 ^{###}	33.13±27.5 [#]	21.25±40.97

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

vs. sham operation group: * $P<0.01$; vs. model group: # $P<0.05$,

$P<0.01$

缺血性脑损伤是一个多环节、多因素、多途径损伤的复杂病理生理过程,可导致脑组织不可逆损害和神经功能及行为障碍。而大脑中动脉(MCA)是临床上脑缺血与脑梗死的易患部位,故本研究采用了MCAO模型来研究白藜芦醇苷对缺血再灌脑组织的保护作用。结果显示,大鼠脑组织缺血再灌注损伤表现为脑内出现明显的梗死灶、脑组织含水量显著增加,且行为学评分(姿势反射和肢体不对称实验)显著增高。

白藜芦醇苷即3'4'5'-三羟基芪-3-β-D-葡萄糖苷,为二苯乙烯类化合物,对心肌细胞、血管平滑肌细胞、抗血小板聚集、抗氧自由基、抗炎症介质、改善微循环等有显著作用。本研究结果显示,白藜芦醇苷可以减轻模型大鼠脑水肿程度、缩小脑组织出血坏死灶、减轻缺血再灌注后出现的脑梗死,且呈现一定的剂量依赖性。同时,较长时间给予白藜芦醇苷能改善脑缺血再灌注引起的体质量下降、姿势反射和肢体不对称实验评分升高,改善其运动功能,也呈现出剂量依赖性趋势。因此,白藜芦醇苷对缺血再灌注脑组织具有保护作用确无疑的。但是,由于缺血再灌注病理生理机制的复杂性和白藜芦醇苷作用的多样性,白藜芦醇苷对该过程发挥作用的分子机制尚待阐明,可能其抗氧化、抗凋亡、抗血小板等作用均参与其中。而且只有远期效果才能正确评估该药对于缺血再灌注的治疗价值和临床意义,因此白藜芦醇苷对于缺血再灌注的影响还有待于进一步的研究。

参考文献

- [1] Philipp S, Akos S, Walter J, *et al.* Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad [J]. *Mutat Res*, 2008, 658(1/2):68.
- [2] Cal C, Garban H, Jazirehi A, *et al.* Resveratrol and cancer: chemoprevention, apoptosis, and chemoimmunosenesitizing activities[J]. *Curr Med Chem*, 2003, 3(2):77.
- [3] Zhu XL, Xiong LZ, Wang Q, *et al.* Therapeutic time window and mechanism of tetramethylpyrazine on transient focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 449(1):24.
- [4] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84.
- [5] Jia J, Zhang X, Hu YS, *et al.* Protective effect of tetraethyl pyrazine against focal cerebral ischemia/reperfusion in-

三七中与牛血清白蛋白结合的活性成分研究^Δ

罗朵生^{1*}, 曾翠香¹, 胡因铭¹, 郭 姣^{2#}(1. 国家中医药管理局高脂血症“调肝降脂”重点研究室/国家中医药管理局“脂代谢”三级实验室/广东药学院中医药研究院, 广州 510006; 2. 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广州 510006)

中图分类号 R285;R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)43-4043-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.43.04

摘要 目的: 研究三七中与牛血清白蛋白(BSA)有结合作用的潜在活性成分。方法: 采用平衡透析与高效液相色谱联用技术筛选三七中与BSA有结合作用的成分; 考察BSA浓度、缓冲液pH值对三七皂苷与BSA结合作用的影响; 比较三七中主要皂苷单体与BSA单独作用和三七总皂苷与BSA作用的区别。结果: 三七中有3个化学成分与BSA结合作用明显, 分别为人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁; 各皂苷单独结合作用强于联合结合作用, 各皂苷在与BSA结合过程中存在竞争作用。结论: 蛋白结合-平衡透析-高效液相色谱法联用可有效、快速地预测三七中多种成分在体内的吸收情况, 筛选其潜在活性成分, 且能体现中药整体作用的特点。

关键词 三七; 皂苷; 牛血清白蛋白; 平衡透析-高效液相色谱法; 活性成分

Study on Active Ingredients in *Panax notoginseng* Combined with Bovine Serum Albumin

LUO Duo-sheng¹, ZENG Cui-xiang¹, HU Ying-min¹, GUO Jiao²(1. Key Unit of Modulating Liver to Treat Hyperlipemia SATCM/Three-level Lab of Lipid Metabolism SATCM/Institute of Chinese Medical Science of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong TCM Key Lab for Metabolic Disease, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study potential active ingredients in *Panax notoginseng* combined with bovine serum albumin (BSA). METHODS: The synergistic action components in *P. notoginseng* combined with BSA was studied by equilibrium dialysis coupled with HPLC. The effects of the concentration of BSA and pH value on their bindings were also investigated; the binding between sanchinoside monomers of *P. notoginseng* and BSA was compared with that between total saponins of *P. notoginseng* and BSA. RESULTS: Result showed that 3 components of *P. notoginseng* had combined with BSA, including ginsenosides Rg₁, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁. The binding degrees of sanchinoside monomers were better than those of total saponins; the sanchinoside monomers acted competitively each other in binding BSA process. CONCLUSIONS: Protein binding-equilibrium dialysis-HPLC is rapid and effective to predict the absorption of various components of *P. notoginseng*, screen potential active ingredients and present the characteristics of TCM.

KEY WORDS *Panax notoginseng*; Saponin; Bovine serum albumin; Equilibrium dialysis-HPLC; Active ingredients

jury in rats: therapeutic time window and its mechanism [J]. *Thromb Res*, 2009, 123(5):727.

[6] Abe T, Kunz A, Shimamura M, et al. Anrather, and C. Iadecola, The neuroprotective effect of prostaglandin E₂ EP₁ receptor inhibition has a wide therapeutic window, is sustained in time and is not sexually dimorphic[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(1): 66.

[7] Ley JJ, Belayev L, Saul I, et al. Neuroprotective effect

Δ 基金项目: 广东省自然科学基金团队项目(No.10351022401000000); 广东省教育部产学研结合项目(No.2009B090300349); 广州市科技支撑资助项目(No.2009Z1-E361)

* 助理研究员, 硕士。研究方向: 中药药效物质基础。电话: 020-39352609。E-mail: lds0901@163.com

通信作者: 教授, 博士研究生导师。研究方向: 中医药防治代谢紊乱性疾病。电话: 020-39359898。E-mail: gyguoyz@163.com

of STAZN, a novel azulenyl nitron antioxidant, in focal cerebral ischemia in rats: dose-response and therapeutic window[J]. *Brain Res*, 2007, 1180:101.

[8] Hua, YT, Schallert, RF, Keep J, et al. Behavioral tests after intracerebral hemorrhage in the rat[J]. *Stroke*, 2002, 33(10):2 478.

[9] Zhang L, Schallert T, Zhang ZG, et al. A test for detecting long-term sensorimotor dysfunction in the mouse after focal cerebral ischemia[J]. *J Neurosci Methods*, 2002, 117(2):207.

[10] Hunter AJ, Hatcher J, Virley D, et al. Functional assessments in mice and rats after focal stroke[J]. *Neuropharmacology*, 2000, 39(5):806.

(收稿日期:2013-07-31 修回日期:2013-09-02)