

乐尔脉胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达的影响[△]

池宁娟*,刘明义,冯娟,石小鹏,杨志福,文爱东[#](空军军医大学第一附属医院药剂科,西安 710032)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1525-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.17

摘要 目的:研究乐尔脉胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠大脑皮层组织中氧化应激损伤的影响及机制。方法:将65只大鼠随机分为假手术组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、阳性对照组(脑心通胶囊,3.40 g/kg)和乐尔脉胶囊高、低剂量组(0.37、0.18 g/kg),每组13只。除假手术组大鼠行假手术外,其余各组大鼠均采用线栓法复制大鼠中动脉闭塞/再灌注(MCAO/R)模型。造模后24 h开始灌胃给药,每天给药1次,连续给药7 d。末次给药2 h后,采用2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法测定大鼠脑缺血面积;苏木精-伊红(HE)染色后在显微镜下观察脑组织病理学变化;Western blot法检测大鼠大脑皮层组织中血红素加氧酶1(HO-1)、铜锌超氧化物歧化酶(SOD1)、锰超氧化物歧化酶(SOD2)和核因子E2相关因子2(Nrf2)蛋白表达水平。结果:与假手术组比较,模型组大鼠脑缺血面积显著增加($P<0.05$),间质重度水肿,炎性细胞浸润明显;大脑皮层组织中HO-1和SOD1蛋白表达水平显著升高($P<0.05$),SOD2和Nrf2蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,乐尔脉胶囊高、低剂量组大鼠脑缺血面积均显著减小($P<0.05$),间质水肿减轻,炎性细胞浸润减少,小胶质细胞增生减弱;大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。结论:乐尔脉胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠具有一定改善作用,可能与上调皮层组织中抗氧化因子HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白的表达有关。

关键词 乐尔脉胶囊;脑缺血再灌注损伤;氧化应激;血红素加氧酶1;铜锌超氧化物歧化酶;锰超氧化物歧化酶;核因子E2相关因子2;大鼠

Effect of Le' ermai Capsule on Protein Expression of HO-1, SOD1, SOD2 and Nrf2 in the Cerebral Cortex of Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury Rats

CHI Ningjuan, LIU Mingyi, FENG Juan, SHI Xiaopeng, YANG Zhifu, WEN Aidong (Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects and mechanism of Le' ermai capsule on oxidative stress injury in the cerebral cortex of cerebral ischemia-reperfusion injury rats. METHODS: Totally 65 rats were randomly divided into sham operation group (normal saline), model group (normal saline), positive control group (Naoxintong capsule, 3.40 g/kg), Le' ermai capsule high-dose and low-dose groups (0.37, 0.18 g/kg), with 13 rats in each group. Except that sham operation group received sham operation, and middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) model was induced by suture-occluded method. 24 h after modeling, they were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 7 d. 2 h after last administration, cerebral ischemic area was determined by TTC staining. The pathological changes of cerebral tissue were observed by HE staining. The protein expressions of HO-1, SOD1, SOD2 and Nrf2 in cerebral cortex were detected by Western blot assay. RESULTS: Compared with sham operation group, the area of cerebral ischemic was increased significantly in model group ($P<0.05$), interstitial edema was serious, inflammatory cell infiltration increased significantly; and the protein expression levels of HO-1 and SOD1 in cortex tissue were significantly increased ($P<0.05$), and the protein expression levels of SOD2 and Nrf2 were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with model group, the area of cerebral ischemic area of Le' ermai capsule high-dose and low-dose groups were significantly decreased ($P<0.05$). The interstitial edema, inflammatory cell infiltration and microcytes proliferation were decreased. The protein expression levels of HO-1, SOD1, SOD2 and Nrf2 in the cerebral cortex tissue were significantly increased ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Le' ermai capsule can improve cerebral ischemia/reperfusion injury to certain extent, and which may be associated with up-regulating the protein expression of antioxidant factors HO-1, SOD1, SOD2 and Nrf2 in the cortex.

KEYWORDS Le' ermai capsule; Cerebral ischemia/reperfusion injury; Oxidative stress; HO-1; SOD1; SOD2;Nrf2; Rat

[△] 基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(No.81573549)

* 主管药师,硕士。研究方向:中药药效物质和药理。E-mail: ningjuanchi@163.com

[#] 通信作者:主任药师,博士。研究方向:中药药理与临床药学。E-mail: wenad@fmmu.edu.cn

脑缺血再灌注(Cerebral ischemia/reperfusion, CI/R)后会引一系列病理生理损伤,包括氧自由基损伤、钙离子内流、兴奋性氨基酸大量释放等^[1-2]。目前,已认识到神经保护剂可作为治疗CI/R损伤的方式,但大量神经保护剂在临床试验中的转化失败和不良反应,使得抗

CI/R 损伤药物的研究成为世界性难题^[3-5]。中医药因其多靶点、多途径等优势在治疗 CI/R 损伤方面发挥着重要作用,成为近年来治疗缺血性脑卒中的研究热点^[6-7]。

乐尔脉胶囊为我院研制的中药复方制剂,由当归、黄芪、延胡索等五味药组成,具有益气、活血、化瘀等功效,临床上用于治疗缺血性脑血管疾病和脑中风,能够有效治疗脑梗死兼瘀血症、明显改善患者的神经功能。本课题组以往的研究表明,乐尔脉胶囊可作用于 CI/R 损伤后的炎症反应和大脑皮层细胞凋亡环节^[8-10],从而发挥抗 CI/R 损伤的作用,但乐尔脉胶囊对 CI/R 诱导的氧化应激性脑损伤的作用还不清楚。核因子 E2 相关因子 2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 是调控机体抗氧化应激反应的核转录因子,氧化应激条件下可激活抗氧化酶包括血红素加氧酶 1 (HO-1)、超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶等^[11]。故本研究拟采用大鼠大脑中动脉闭塞/再灌注 (MCAO/R) 模型,观察乐尔脉胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠大脑皮层组织中抗氧化应激反应因子 HO-1、铜锌超氧化物歧化酶 (Copper-zinc superoxide dismutase, SOD1)、锰超氧化物歧化酶 (Mn-superoxide dismutase, SOD2) 和 Nrf2 蛋白的影响,阐明其治疗脑缺血的作用机制,为其临床用药提供依据。

1 材料

1.1 仪器

BSA224S 电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; RM2235 轮转式石蜡切片机 (德国 Leica 公司); 680 酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司); SH01D 台式高速离心机 (上海知信实验仪器技术有限公司); Aquaplore 3S 超纯水机 (美国 Aquapro 公司)。

1.2 药品与试剂

乐尔脉胶囊 (由空军军医大学第一附属医院药剂科提供,批号:160402,规格:0.35 g); 脑心通胶囊 (西安步长制药有限公司,批号:160547,规格:0.4 g); 2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (TTC,上海埃彼化学试剂有限公司,批号:20160218); 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒 (北京雷根生物技术有限公司,批号:DH0006); 二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白定量试剂盒、RIPA 裂解液 (杭州弗德生物科技有限公司,批号:FD2001、FD008); HO-1、SOD1、SOD2、Nrf2 兔抗人多克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司,批号:SC-164941、SC-160347、SC-160648、SC-160851); β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (内参)、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 蛋白上样缓冲液 (武汉博士德生物工程有限公司,批号:BM0627、BA1054、AR1112); 其余试剂均为分析纯,水为双蒸水。

1.3 动物

健康 SD 大鼠 65 只,♂,体质量 (270 ± 10) g,由空军军医大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:

SCXK (军) 2016-0007。所有大鼠均在环境温度 (25 ± 1) °C、相对湿度 45% ~ 65%、光照时间 12 h 的清洁环境中饲养 1 周后进行实验,饲养期间大鼠自由进食标准饲料和饮水。本实验方案通过空军军医大学第一附属医院动物实验伦理审查。

2 方法

2.1 分组、造模和给药

将 65 只大鼠随机分为 5 组,分别为假手术组、模型组、阳性对照组和乐尔脉胶囊高、低剂量组,每组 13 只。大鼠禁食过夜、自由饮水。次日,采用线栓法^[12]复制 MCAO/R 大鼠模型。待大鼠清醒后回笼饲养,术后 24 h 开始灌胃给药,其中假手术组和模型组大鼠灌胃蒸馏水 10 mL/kg,阳性对照组大鼠灌胃脑心通胶囊 3.40 g/kg^[13],乐尔脉胶囊高、低剂量组大鼠分别灌胃乐尔脉胶囊 0.37、0.18 g/kg (参考前期研究^[8-9]及长期毒性实验结果确定给药剂量,分别为人临床用量的 16.1、7.8 倍),各组大鼠均每天灌胃 1 次,连续给药 7 d。

2.2 大鼠脑缺血面积测定

末次给药 2 h 后,麻醉大鼠,每组取 6 只,断头取脑,置于预冷的生理盐水中,冰浴 10 min 后,将其以冠状面切成 2.5 mm 的切片,共取 5~6 片置于 5 mL 含有 1.5% TTC 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液中,避光 37 °C 孵育 40 min,期间轻摇 2 次,待正常脑组织为玫瑰红色、缺血区呈苍白色时,弃去染液,将组织置于 4% 多聚甲醛中固定过夜,然后用数码相机拍照,用 MiasPro 图像分析软件测定缺血面积,并计算缺血面积比 [缺血面积比 (%) = 缺血面积/全脑面积 × 100%]。

2.3 大鼠皮层组织病理学观察

取“2.2”项下的大鼠大脑皮层组织,在 4 °C 条件下置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,常规脱钙、脱水、透明、浸蜡、包埋制成石蜡标本,行 4~6 μ m 切片,HE 染色后,在显微镜下观察其病理学变化。

2.4 大鼠大脑皮层组织中 HO-1、SOD1、SOD2 和 Nrf2 蛋白表达水平测定

每组取剩余 7 只大鼠,麻醉,断头取脑,取损伤侧皮层组织,置于液氮中过夜,移至 -80 °C 冰箱中冻存,备用。临用时,取出冻存的大脑皮层组织,采用全蛋白提取液提取组织蛋白,以 BCA 法进行蛋白定量,调整上样量为 25 μ g 蛋白/泳道,经 10% SDS-PAGE 电泳,湿法转膜、封闭,分别与 HO-1、SOD1、SOD2、Nrf2 兔抗人多克隆抗体和 β -actin 抗体 (稀释比例均为 1:300) 杂交,4 °C 孵育过夜,次日以 TBST 缓冲液洗膜 4 次,每次 5 min; 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗 (稀释比例为 1:5000),37 °C 孵育 50~70 min,然后以 TBST 缓冲液洗膜 4 次,每次 5 min; 化学发光显影,压片,最后采用 Gel-Pro Analyzer 软件对蛋白条带进行分析,以目的蛋白条带灰度值与内参 β -actin 条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达水平。

2.5 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 q 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 乐尔脉胶囊对MCAO/R模型大鼠脑缺血面积的影响结果

TTC染色结果显示,假手术组大鼠脑组织无缺血情况;模型组大鼠脑组织损伤严重,脑缺血面积比为18.77%;与模型组比较,阳性对照组和乐尔脉胶囊高、低剂量组大鼠脑缺血面积比均显著减小($P < 0.05$),分别减小到12.19%、13.25%和11.35%。各组大鼠脑组织TTC染色图见图1,脑缺血面积比测定结果见图2。

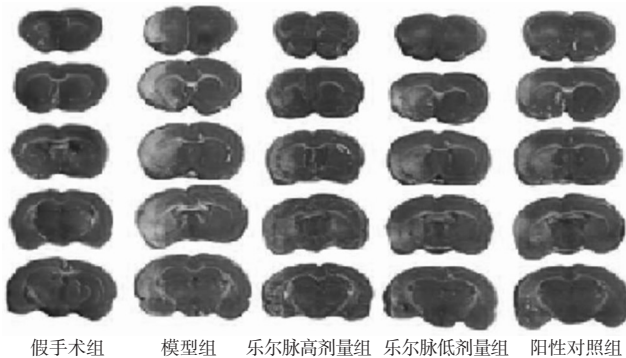
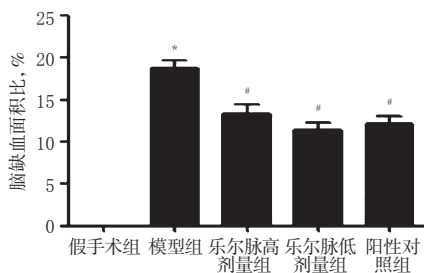


图1 各组大鼠脑组织TTC染色图

Fig 1 TTC staining of cerebral tissue in rats in each group



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

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

图2 各组大鼠脑缺血面积比测定结果

Fig 2 Determination results of cerebral ischemia area rate of rats in each group

3.2 大鼠皮层组织病理学观察结果

假手术组大鼠大脑皮层组织结构完整,神经细胞嗜色均匀,锥体细胞突起明显,未见炎性细胞浸润。模型组大鼠大脑皮层损伤侧间质重度水肿,细胞间隙明显增大,炎性细胞浸润明显增加,小胶质细胞肿胀,神经纤维断裂,核深染,胞浆嗜酸性增多。与模型组比较,阳性对照组大鼠大脑皮层损伤侧坏死区缩小,间质水肿明显降低,有少量炎性细胞浸润和小胶质细胞增生;乐尔脉胶囊高剂量组和阳性对照组大鼠大脑皮层损伤侧范围相

对缩小,间质水肿减轻,炎性细胞浸润减少,小胶质细胞增生减弱;乐尔脉胶囊低剂量组大鼠大脑皮层损伤侧组织损伤程度较模型组有明显改善,损伤区中心炎性细胞浸润明显减少,坏死空白区少见,形态完整,未见坏死区呈结节状分布。各组大鼠大脑皮层组织病理学观察显微镜图见图3。

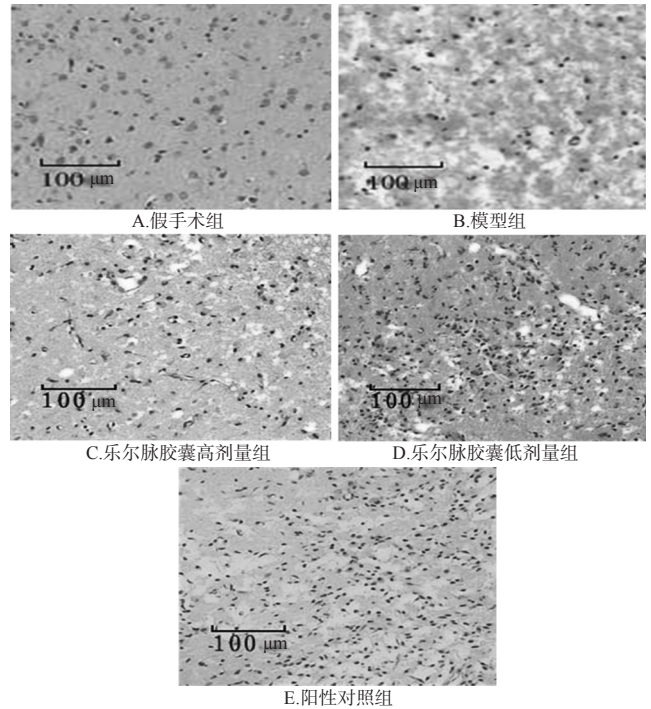


图3 各组大鼠大脑皮层组织病理学观察显微镜图(HE染色,×40)

Fig 3 Histopathological micrograph of cerebral cortex in rats of each group(HE staining, ×40)

3.3 乐尔脉胶囊对大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达水平的影响结果

与假手术组比较,模型组大鼠大脑皮层组织中HO-1、SOD1蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$),SOD2、Nrf2蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较,阳性对照组大鼠大脑皮层组织中SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$),HO-1蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$);而乐尔脉胶囊高、低剂量组大鼠大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达均显著升高($P < 0.05$)。各组大鼠大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2的蛋白电泳图见图4,测定结果见图5。

4 讨论

在引起CI/R损伤的诸多因素中,备受关注的是氧化应激损伤。氧化应激损伤可导致脂质过氧化、DNA损伤等,最终导致神经元损伤和凋亡,因此抑制氧化应激能够有效减轻CI/R损伤^[13]。生物在进化过程中不断完善自身复杂的防御功能,其中Nrf2、HO-1和SOD是体内抗氧化应激和维持氧化还原平衡的几个重要因子^[14-15]。Nrf2为调控机体抗氧化应激反应的核转录因子,参与激

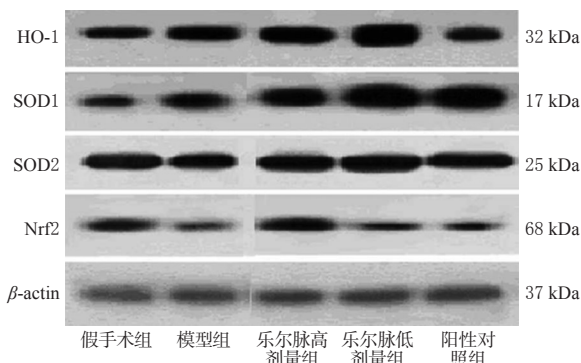
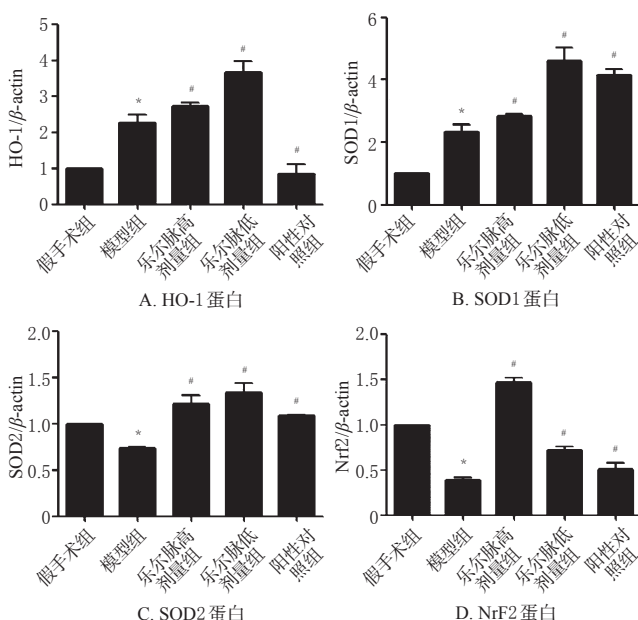


图4 各组大鼠大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2的蛋白电泳图

Fig 4 Electrophoretic diagrams for protein expression of HO-1, SOD1, SOD2 and Nrf2 in cerebral cortex of rats in each group



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

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

图5 各组大鼠大脑皮层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达水平测定结果

Fig 5 Protein expression of HO-1, SOD1, SOD2 and Nrf2 in cerebral cortex of rats in each group

活多种与细胞保护和解毒相关基因的表达,在氧化应激状态下,Nrf2被激活,使得Nrf2从细胞质转移到细胞核,和下游基因HO-1抗氧化反应片段结合,在氧化应激细胞反应中起重要作用^[16-17]。SOD为生物体内重要的抗氧化酶,其按照结合金属离子种类不同可分为SOD1、SOD2、铁超氧化物歧化酶(Fe-superoxide dismutase)等,而SOD1和SOD2都能参与清除氧自由基,从而保护细胞免受氧化性损伤^[18]。

脑心通胶囊具有益气活血、化痰通络的功效,临床上用于气虚血滞、脉络瘀阻所致中风的治疗。有研究表

明,脑心通胶囊能够在一定程度上改善患者神经功能缺损症状、提高脑梗死患者治疗效果、降低脑梗死疾病复发率^[19],故本研究根据临床疗效和安全性,综合考虑选则脑心通胶囊为本研究的阳性对照药。本研究结果显示,模型组大鼠脑缺血面积较假手术组显著增加,大脑皮层损伤侧间质水肿明显,炎性细胞浸润增加;灌胃高、低剂量乐尔脉胶囊后可明显减小模型大鼠脑缺血面积,缩小其大脑皮层损伤侧范围,减轻其间质水肿和炎性细胞浸润,明显改善大脑皮质组织形态,并且低剂量乐尔脉胶囊的效果优于高剂量乐尔脉胶囊和阳性对照药。笔者分析其可能原因,可能是由于乐尔脉胶囊为中药复方制剂,其成分复杂,灌胃高剂量时对大鼠的副作用明显增加,或有效成分入脑减少。Western blot检测结果显示,模型组大鼠大脑皮层组织中HO-1和SOD1蛋白表达水平升高,SOD2、Nrf2蛋白表达水平降低;灌胃高、低剂量乐尔脉胶囊后大鼠大脑皮质层组织中HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白表达水平均显著升高。本研究结果显示,MCAO/R后能引起抗氧化因子HO-1和SOD1蛋白表达增加,这是因为术后7d随着脑氧化应激反应的增强,自由基生成增加,机体抗氧化应激系统也被动员,以对抗氧化应激增强所致的组织损伤。有研究也证实,在CI/R损伤后,HO-1存在过表达,并可上调凋亡抑制基因的表达,而SOD1的过表达可减缓急性CI/R损伤^[13,17]。

综上所述,本研究在以往研究基础上进一步证实了乐尔脉胶囊可通过抗氧化应激反应发挥抗CI/R损伤的作用,其作用机制可能是通过调控HO-1、SOD1、SOD2和Nrf2蛋白的表达,但更多的机制有待进一步考察。

参考文献

- [1] 秦燕霞,徐旭东,戴伟娟,等.中国脑缺血再灌注损伤文献计量分析[J].中国老年学杂志,2018,38(21):5137-5140.
- [2] 刘磊,刘丽华,马玉奎.脑缺血再灌注损伤机制研究进展[J].药学研究,2016,35(9):542-544.
- [3] TALLURI MR, KILLARI KN, MANEPALLI VM, et al. Protective effect of *Canna indica* on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Agriculture and Natural Resources*, 2017, 51(5):470-477.
- [4] 汤轶波,孔冉,白雪,等.脑缺血再灌注损伤的中西医治疗研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(10):1100-1103.
- [5] 刘磊,戴晓莉,马玉奎.脑缺血再灌注损伤治疗药物研究进展[J].食品与药品,2016,18(5):370-374.
- [6] 李宝龙,黄家鹏,王娇娇,等.中医药对脑缺血再灌注损伤后血脑屏障保护作用机制的研究进展[J].中医药学报,2019,47(1):116-119.
- [7] 梁源,付珂,王张,等.藏药七十味珍珠丸灌胃给予脑缺血再灌注损伤模型大鼠的量-时-效关系研究[J].中国药房,2019,30(1):94-98.
- [8] 王胜春,李剑锋,王俊琴,等.乐尔脉对脑缺血再灌注神经细胞凋亡与相关基因表达的影响[J].中成药,2009,31(3):358-363.

甘草中黄酮类化合物的网络药理学研究^Δ

张霞^{1,2*}, 张芳³, 赵建军^{1,2}, 雍婧姣^{1,2}, 高晓娟^{1,2}, 张文华⁴, 王汉卿^{1,2#}(1.宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 2.回医药现代化省部共建教育部重点实验室, 银川 750004; 3.南京中医药大学药学院, 南京 210023; 4.百瑞源枸杞股份有限公司, 银川 750299)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1529-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.18

摘要 目的:分析、预测甘草中黄酮类化合物的潜在药理作用及可能作用机制。方法:采用网络药理学方法,依据中药整合药理学计算平台(TCMSP)等数据库,以化合物的口服药物生物利用度(OB)>30%和类药性(DL)>0.18为标准,筛选甘草中的黄酮类化合物。采用药效团匹配与PharmMapper数据库预测其潜在的作用靶点,随后借助生物学信息注释数据库V 6.8(DAVID V 6.8)分析工具对获得的靶点蛋白进行京都基因与基因组数据库(KEGG)信号通路分析和基因本体(GO)生物过程富集分析(以 $P < 0.05$ 为标准判断相关),并运用Cytoscape 3.5.1软件构建甘草中黄酮类化合物-靶点蛋白-信号通路网络图。结果:共从甘草中筛选出了19个黄酮类化合物(如甘草苷、异甘草苷、甘草素等),涉及细胞视黄酸结合蛋白2、脑啡肽酶等78个靶点蛋白(共188次),以及胰岛素信号通路、磷脂酰肌醇3激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶(PI3K-Akt)等40条信号通路(其中与癌症相关的通路8条、与内分泌系统相关的通路7条、与信号转导相关的通路6条、与传染病相关的通路5条、与代谢相关的通路3条等);所建黄酮类化合物-靶点蛋白-信号通路网络图显示,甘草中黄酮类化合物可通过多个靶点作用于不同的疾病代谢通路。结论:甘草中黄酮类化合物对癌症、内分泌系统、传染病、代谢系统等方面疾病可能具有治疗作用,且可能有潜在的抗帕金森症作用。

关键词 甘草;网络药理学;黄酮;靶点蛋白;信号通路

Research on Network Pharmacology of Flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis*

ZHANG Xia^{1,2}, ZHANG Fang³, ZHAO Jianjun^{1,2}, YONG Jingjiao^{1,2}, GAO Xiaojuan^{1,2}, ZHANG Wenhua⁴, WANG Hanqing^{1,2}(1.School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2.Key Lab of Hui Ethnic Medicine Modernization, Ministry of Education, Yinchuan 750004, China; 3.School of Pharmacy, Nanjing University of TCM, Nanjing 210023, China; 4. Bairuiyuan Gouqi Co., Ltd., Yinchuan 750299, China)

- [9] 陈晓莉, 汤海峰, 刘明义, 等. 乐尔脉胶囊对大鼠缺血再灌注后期大脑皮层细胞凋亡的干预作用[J]. 中国药房, 2008, 19(27): 2089-2092.
- [10] 李剑锋, 刘明义, 田卫斌, 等. 乐尔脉对脑缺血再灌注损伤大鼠海马组织炎症反应的影响[J]. 中国现代应用药学, 2009, 26(9): 703-708.
- [11] LI F, LIANG J, TANG DF, et al. Brahma-related gene 1 ameliorates the neuronal apoptosis and oxidative stress induced by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation through activation of Nrf2/HO-1 signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.144.
- [12] BAI S, HU Z, YANG Y, et al. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of triptolide via the NF- κ B signaling pathway in a rat MCAO model[J]. *Anat Rec*, 2015, 299(2): 256-266.
- [13] REN JW, FAN CC, CHEN N, et al. Resveratrol pretreatment attenuates cerebral ischemic injury by upregulating expression of transcription factor Nrf2 and HO-1 in rats[J]. *Neurochemical Research*, 2011, 36(12): 2352-2362.
- [14] 吴露, 黄小平, 邓常清, 等. 人参皂苷 Rg1 对小鼠脑缺血再灌注后脑组织损伤及 Nrf2/HO-1 途径的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(11): 2066-2071.
- [15] 袁牧, 王昌留, 王一斐, 等. 超氧化物歧化酶的研究进展[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(6): 550-558.
- [16] ZHANG W, WEI R, ZHANG L, et al. Sirtuin 6 protects the brain from cerebral ischemia/reperfusion injury through NRF2 activation[J]. *Neuroscience*, 2017. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.09.035.
- [17] 王宁, 马慧萍, 漆欣筑, 等. Nrf2-ARE 信号通路在机体氧化应激损伤防护中的研究进展[J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(12): 21-27.
- [18] 于利人, 周蔚, 陈立军, 等. 大鼠脑组织总超氧化物歧化酶、锰超氧化物歧化酶和铜锌超氧化物歧化酶活性在不同训练条件下的变化[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(6): 546-549, 554.
- [19] 王盼盼. 脑心通胶囊治疗脑梗死的临床疗效与安全性 Meta 分析[D]. 郑州: 河南中医药大学.

(收稿日期: 2019-02-08 修回日期: 2019-03-27)

(编辑: 林 静)

^Δ 基金项目: 宁夏自然科学基金资助项目(No.2018AAC03095)
* 高级工程师, 硕士。研究方向: 中药药效物质与质量控制。电话: 0951-6980170。E-mail: ydzhx@126.com
通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药资源开发与利用。电话: 0951-6880693。E-mail: wwwhhq@163.com