

大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制

万浩芳, 万海同, 周惠芬, 虞立, 陈烨, 胡锦涛, 石森林*
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** 探讨大黄总蒽醌提取物抗脑缺血再灌注损伤的作用机制, 为开发大黄总蒽醌类药物预防治疗脑缺血再灌注损伤提供参考依据。**方法** 将雄性SD大鼠随机分为模型组、假手术组、尼莫地平组, 大黄总蒽醌提取物高、中、低剂量组, 每组8只, 造模前一周开始灌胃给药, 假手术组与模型组给予等体积生理盐水。末次给药30 min后, 建立大鼠大脑中动脉局灶性栓塞(MCAO)模型, 造模1.5 h再灌注24 h后, 进行神经功能评分、脑指数、脑含水量、脑梗死体积的测定, 使用ELISA试剂盒检测脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性, 丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及血清中白介素-6(IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子(TNF)的含有量。**结果** 大黄总蒽醌提取物能显著改善大鼠神经功能评分, 降低脑指数、脑含水量, 减小脑梗死面积($P < 0.05$), 能显著提高脑组织中SOD活性($P < 0.01$), 降低MDA、NO的水平($P < 0.01$), 同时还可以显著降低血清中IL-6、TNF、IL-1 β 的含有量($P < 0.01$)。**结论** 大黄总蒽醌提取物对大鼠脑缺血再灌注损伤有一定的保护及改善作用, 其机制可能与抑制炎症反应和抗氧化相关。

关键词: 大黄; 总蒽醌; 炎症反应; 抗氧化; 脑缺血再灌注

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)04-0771-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.04.002

Protective effect and mechanism of total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* on cerebral ischemia-reperfusion injury

WAN Hao-fang, WAN Hai-tong, ZHOU Hui-fen, YU Li, CHEN Ye, HU Jin-xiang,
SHI Sen-lin*

(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the effect and mechanism of total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* on cerebral ischemia-reperfusion injury and to provide relevant data references for its promising use in the management of cerebral ischemia-reperfusion injury. **METHODS** SD rats randomly assigned to model group, sham operation group, nimodipine group, total anthraquinone extract groups (high, medium and low dose), 8 in each group, were orally administered with corresponding drugs daily for a week, with rats of the model group and sham operation group given the same volume of normal saline before the models established by middle cerebral artery occlusion (MCAO). MCAO started thirty minutes after final oral administration, and the induced ischemia went on for 1.5 h for a further reperfusion, 24 h after which the neurological function score, brain index, brain water content and cerebral infarct volume were measured. Elisa kits were used to detect superoxide dismutase (SOD), Malondialdehyde (MDA), Nitric oxide (NO), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6). **RESULTS** The total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* significantly improved the neurological function score, decreased the brain index, brain water content, reduced the cerebral infarct volume ($P < 0.05$), increased the activity of SOD in brain tissue ($P < 0.01$), and reduced the levels of MDA and NO in brain tissue ($P < 0.01$), and the levels of IL-6, TNF and IL-1 β in serum ($P < 0.01$) as well. **CONCLUSION** The

收稿日期: 2017-11-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81630105, 81374053)

作者简介: 万浩芳(1992—), 女, 硕士生, 从事中药制剂新剂型、新技术研究。E-mail: 1124022039@qq.com

* 通信作者: 石森林(1971—), 男, 教授, 从事中药制剂新剂型、新技术研究。Tel: 13157106148, E-mail: pjstone@163.com

obviously protective effect on rats' cerebral ischemia-reperfusion injury by total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* may contribute to its inhibition of inflammatory response, and its existence as an antioxidant as well.

KEY WORDS: *Rhei Radix et Rhizoma*; total anthraquinone; inflammatory response; antioxidant; cerebral ischemia-reperfusion

脑缺血疾病,即缺血性脑血管病(ICVD),其发生发展是由于脑部病变、动脉硬化或心脏损伤等多因素导致的脑部血流减少或血液循环障碍、脑组织受损而引发的局灶性脑功能障碍^[1],其临床表现为持久性或短暂性的神经功能损伤症状^[2],比例约为脑卒中的75.0%~90.0%。脑缺血类疾病具有高发病率、高复发率、高致残率和高死亡率等特点,极大地危害了人类的生命安全和生存质量,给社会带来沉重负担。缺血性脑血管病在临床上以脑血栓形成和脑梗塞为主,早期治疗常使用溶栓药物,能迅速恢复脑组织血供,但在多数情况下,脑缺血后血液再灌注不仅没有使组织功能恢复,反而进一步加重缺血导致的结构破坏和功能障碍,即缺血再灌注损伤,甚至引发脑水肿和脑出血^[3]。

大黄为蓼科植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill 的干燥根及根茎^[4],始载于《神农本草经》,药用历史悠久,作用广泛,是内服外用皆宜的良药,具有泻下攻积、清热泻火、解毒、抗炎、抗氧化、活血祛瘀的作用^[5],化学成分复杂,主要为蒽醌类衍生物。中医学认为,腑实为中风的主要病机之一,泻下法是中风的主要治疗方法^[6],大黄作为通腑泻下代表药,味苦、性寒,具有较好的通便导滞、活血祛瘀、泻火凉血的效果^[7],因其具有显著的泻下作用,临床上多用于治疗胃肠疾病,而大黄的抗炎、抗氧化作用亦值得人们关注。本研究基于中医“痰热腑实证”理论基础及大黄固有的泻下、抗炎、止血作用,探讨大黄中有效活性物质总蒽醌对脑缺血再灌注损伤的保护作用及作用机制。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Molecular Devices Spectra MAX Plus 384 酶标仪(美国BD公司); Millipore Simplicity 纯水仪(美国Millipore公司); 电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司); TD24A-WS 低速台式离心机(湘仪离心机仪器有限公司); GZX-9240MBE 电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司)。

1.2 材料 大黄(浙江中医药大学中药饮片有限公司,由资源鉴定教研室教师鉴定为正品,产地浙江,批号160701); 生理盐水注射液(杭州民生药

业集团有限公司,批号41012201); BCA蛋白定量测定试剂盒、超氧化歧化酶(SOD,批号20170325)、丙二醛(MDA,批号20170326)、一氧化氮(NO,批号20170405)、白介素-6(IL-6,批号20170426)、肿瘤坏死因子(TNF,批号20170520)、白介素-1 β (IL-1 β ,批号20170428)试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 动物 SD大鼠,雄性,清洁级,许可证号SCXK(沪)2012-0016,体质量(250 \pm 20)g,由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供,饲养于浙江中医药大学动物实验中心。

2 方法

2.1 分组以及给药 将SD大鼠随机分为6组:模型组(脑缺血再灌注组),假手术组,大黄总蒽醌提取物低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg),阳性药尼莫地平组(20 mg/kg),每组8只。造模前一周开始给药,假手术组与模型组给予等体积生理盐水。

2.2 大黄总蒽醌提取物的制备 大黄粉碎后过60目筛,按照实验前期确定的工艺条件,用乙醇回流法制得大黄提取液,再经D101大孔树脂纯化后,真空干燥成浸膏粉末,即得,含有量52%。

2.3 大鼠中动脉栓塞模型的制备^[8-10] 大鼠末次给药30 min后,采用Longa-Zea改良的线栓法略加改进,制备大鼠大脑中动脉局灶性栓塞(MCAO)模型。大鼠称重后,腹腔注射10%水合氯醛(0.35 mL/kg)进行麻醉,仰卧位固定,颈部正中切口,分离大鼠右侧颈外动脉、颈内动脉和颈总动脉,结扎颈总动脉与颈外动脉近心端,临时夹闭颈内动脉,用血管剪在颈外动脉与颈内动脉的分叉处作一“V”字型斜行切口,将准备好的石蜡栓线从切口处轻轻插入,打开颈内动脉动脉夹,将栓线经分叉处缓缓推入颈内动脉,进入距颈内动脉和颈外动脉分叉处约为2 cm时,会有微微阻挡感,说明石蜡栓线已越过大脑中的动脉(MCA)而到达大脑前动脉的起始部。记录栓塞开始时间,结扎颈总动脉的上端,缝合肌肉、皮肤,栓塞1.5 h后轻轻拉回线头,使栓线的头端退至颈外动脉的切口处,实现再灌注。再灌注24 h后,进行各项指标测定。

2.4 神经功能评分 大鼠再灌注 24 h 后, 观察其神经功能症状, 参照 Bederson^[11] 等报道的方法对各组大鼠进行行为学评分。评分标准为: 0 分, 无神经学症状; 1 分, 不能伸展对侧前爪; 2 分, 前肢抵抗对侧推力能力下降; 3 分, 除 1 级、2 级征象外, 大鼠向对侧转圈。

2.5 大鼠脑含水量、脑指数的测定^[12-13] 采用干、湿比重法, 在大鼠脑缺血再灌注 24 h 后断头取脑, 用生理盐水冲洗后用滤纸将水分吸干。使用电子天平称取脑组织的湿重, 记录数据后, 放入恒温干燥箱烘干至恒重, 称取干重。脑含水量以及脑指数的公式如下:

$$\text{脑组织含水量} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} \times 100\%$$

$$\text{脑指数} = \frac{m_1}{M} \times 100\%$$

其中, m_1 指的是脑组织的湿重, m_2 指的是脑组织的干重, M 指的是大鼠的体质量。

2.6 大鼠脑梗死面积的测定^[14-15] 大鼠再灌注 24 h 后, 断头取脑, 用生理盐水洗净残血, 再用滤纸吸干。除去小脑、低位脑干, 放入 -20 °C 冰箱中冷冻 20 min, 作均匀的冠状切片, 共 6 片。迅速将脑片浸入 1% 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑 (TTC) 溶液中, 37 °C 暗处中孵育 20 min, 梗死面积呈白色区域, 没有梗死显示红色。用 4% 多聚甲醛溶液固定, 6 h 后取出脑片, 滤纸吸去表面液体, 用数码相机拍照, Med Brain 2.0 系统测量脑梗死的面积。

2.7 脑组织匀浆液中 NO、SOD、MDA 水平检测 大鼠再灌注 24 h 后, 断头取脑, 用生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干, 称重, 加入 1:9 体积的生理盐水, 在冰浴条件下制作成 10% 的脑匀浆液。以 BCA 法在 562 nm 波长下检测总蛋白含量, 以硝酸还原酶法在 550 nm 波长下检测 NO 含量, 以酶联免疫法在 550 nm 波长下检测 SOD 含量, 以 TBA 法在 532 nm 波长下检测 MDA 含量。以上测定均严格按照试剂盒说明进行操作, 用酶标仪测定各孔的吸光度。

2.8 血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF 含量检测 大鼠再灌注 24 h 后, 腹主动脉处进行采血, 设置离心机条件为 4 °C、3 500 r/min, 离心 15 min 后, 取上清液置 -20 °C 冰箱保存备用, 按 IL-6、IL-1 β 、TNF 试剂盒说明进行操作, 在 450 nm 下用酶标仪测定各孔的光密度。以标准物浓度为横坐标, 光密

度为纵坐标绘制标准曲线, 根据标准曲线及相应的稀释倍数计算。

2.9 统计学处理 所有实验数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 student's *t* 检验, 多组间比较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 大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注大鼠神经功能评分的影响 由表 1 可见, 与假手术组比较, 模型组大鼠的神经功能评分明显增高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 100、200 mg/kg 的大黄总蒽醌提取物均能使大鼠的神经功能评分显著降低 ($P < 0.01$), 表现出改善神经功能症状的作用; 与阳性药尼莫地平组相比, 200 mg/kg 大黄总蒽醌对大鼠脑缺血再灌注所引起的行为障碍改善效果更好。

表 1 神经功能评分结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	行为学评分(0~3分)
假手术组	-	0.00 ± 0.00
模型组	-	2.63 ± 0.52 ^{##}
大黄总蒽醌提取物组	50	2.25 ± 0.46
大黄总蒽醌提取物组	100	1.88 ± 0.64 [*]
大黄总蒽醌提取物组	200	0.88 ± 0.35 ^{**}
尼莫地平组	20	1.13 ± 0.82 ^{**}

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

3.2 大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注大鼠脑含水量、脑指数的影响 由表 2 可见, 与假手术组比较, 模型组大鼠的脑指数、脑含水量均有所上升 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 大黄总蒽醌提取物 100、200 mg/kg 剂量均能使大鼠的脑指数、脑含水量显著降低 ($P < 0.01$), 其对脑指数和脑含水量的影响与阳性药相当。

表 2 大黄总蒽醌提取物对脑指数、脑含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 2 Effects of total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* on brain index and brain water content ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	脑指数/%	脑含水量/%
假手术组	-	0.59 ± 0.02	82.59 ± 0.35
模型组	-	0.71 ± 0.02 ^{##}	84.02 ± 0.67 ^{##}
大黄总蒽醌提取物组	50	0.66 ± 0.02	83.49 ± 0.86
大黄总蒽醌提取物组	100	0.62 ± 0.01 ^{**}	83.32 ± 0.34 [*]
大黄总蒽醌提取物组	200	0.63 ± 0.03 ^{**}	82.90 ± 0.56 ^{**}
尼莫地平组	20	0.62 ± 0.02 ^{**}	82.77 ± 0.52 ^{**}

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

3.3 大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注大鼠脑梗

死面积的影响 由表3和图1可见,与假手术组比较,模型组大鼠的脑梗死面积明显增高 ($P < 0.01$);与模型组比较,大黄总蒽醌提取物 100、200 mg/kg 剂量均能使大鼠的脑梗死体积显著降低 ($P < 0.01$),对大鼠脑缺血再灌注引起的脑损伤有明显的保护作用。其中,与阳性药尼莫地平组相比,大黄总蒽醌 200 mg/kg 剂量对大鼠脑缺血再灌注损伤的减轻作用更优。

表3 脑梗死面积测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 3 Measurement results of cerebral infarction area ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	给药剂量/(mg·kg ⁻¹)	脑梗死面积/%
假手术组	-	0.00 ± 0.00
模型组	-	31.73 ± 3.06 ^{##}
大黄总蒽醌提取物组	50	28.36 ± 1.19 [*]
大黄总蒽醌提取物组	100	20.64 ± 0.81 ^{**}
大黄总蒽醌提取物组	200	10.14 ± 0.74 ^{**}
尼莫地平组	20	14.66 ± 1.71 ^{**}

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

3.4 大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注大鼠脑组织匀浆液中 NO、SOD、MDA 水平的影响 由表4可见,与假手术组相比,模型组 SOD 活性显著降低,MDA、NO 水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型

表4 大黄总蒽醌提取物对 SOD、MDA、NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 4 Effects of total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* on levels of SOD, MDA and NO ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	给药剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	NO/(μmol·mg ⁻¹)
假手术组	-	34.92 ± 2.53	4.81 ± 0.66	2.03 ± 0.33
模型组	-	12.42 ± 2.24 ^{##}	14.86 ± 2.03 ^{##}	5.91 ± 0.62 ^{##}
大黄总蒽醌提取物组	50	14.75 ± 1.56	12.82 ± 2.12	5.71 ± 0.27
大黄总蒽醌提取物组	100	26.08 ± 2.92 ^{**}	9.31 ± 0.82 ^{**}	4.76 ± 0.17 ^{**}
大黄总蒽醌提取物组	200	30.50 ± 4.80 ^{**}	6.13 ± 0.72 ^{**}	2.96 ± 0.30 ^{**}
尼莫地平组	20	26.30 ± 4.32 ^{**}	8.29 ± 0.90 ^{**}	3.52 ± 0.34 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$

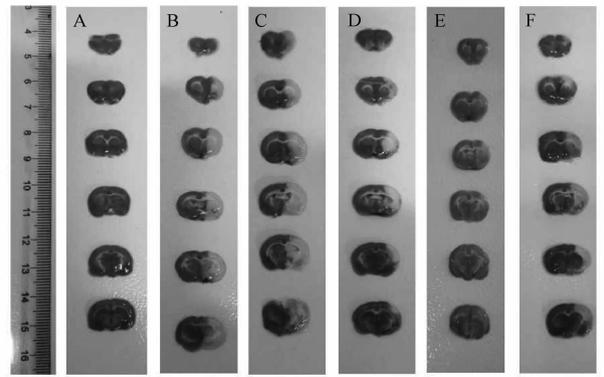
3.5 大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注大鼠血清中 IL-6、IL-1β、TNF 含量的影响 由表5可见,与假手术组相比,模型组的 IL-6、TNF、IL-1β 的含有量均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,大黄总蒽醌提取物 100、200 mg/kg 剂量均能使 IL-6、TNF、

表5 大黄总蒽醌提取物对 IL-6、TNF、IL-1β 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 5 Effects of total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* on contents of IL-6, TNF and IL-1β ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	给药剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)
假手术组	-	114.09 ± 6.12	251.03 ± 11.80	70.65 ± 5.40
模型组	-	254.51 ± 10.32 ^{##}	540.54 ± 32.41 ^{##}	188.18 ± 8.13 ^{##}
大黄总蒽醌提取物组	50	245.08 ± 7.78	514.20 ± 14.99	181.20 ± 9.58
大黄总蒽醌提取物组	100	196.52 ± 7.80 ^{**}	407.28 ± 21.92 ^{**}	143.41 ± 8.26 ^{**}
大黄总蒽醌提取物组	200	141.44 ± 5.81 ^{**}	342.32 ± 21.36 ^{**}	101.22 ± 5.27 ^{**}
尼莫地平组	20	160.53 ± 5.09 ^{**}	352.81 ± 19.81 ^{**}	108.20 ± 6.69 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$



A. 假手术组 B. 模型组 C. 大黄总蒽醌提取物低剂量组
D. 大黄总蒽醌提取物中剂量组 E. 大黄总蒽醌提取物高剂量组
F. 尼莫地平组

图1 大黄总蒽醌提取物对 MCAO 大鼠脑梗死面积的影响 (TTC 染色)

Fig. 1 Effect of total anthraquinone extract of *Rhei Radix et Rhizoma* on cerebral infarction area in MCAO rats (TTC staining)

组相比,大黄总蒽醌提取物 100、200 mg/kg 剂量能使 SOD 活性显著升高,MDA、NO 水平显著降低 ($P < 0.01$);与阳性药尼莫地平组相比,大黄总蒽醌 200 mg/kg 剂量调节大鼠脑缺血再灌注后的氧化应激反应作用更明显。

IL-1β 含有量显著降低 ($P < 0.01$),表明大黄总蒽醌提取物有一定的抗炎作用;与阳性药尼莫地平组比较,200 mg/kg 大黄总蒽醌对炎症因子 IL-6、IL-1β、TNF 的减少作用更明显,说明大黄总蒽醌提取物可通过抗炎机理减轻脑缺血再灌注损伤。

4 讨论

目前,治疗脑缺血的临床目标是恢复脑组织供血,但是再灌注后对机体产生的损伤也很大,其过程涉及多种病理级联反应,如细胞凋零、氧化应激、炎症反应等^[16-17]。

研究表明,脑缺血损伤是级联反应的过程,自由基在激发缺血性神经元损伤中起着关键性的作用^[18-19]。SOD是天然的抗氧化酶,通过歧化的方式能够清除体内的氧自由基,其活性可以代表机体抗氧化的能力^[20-21];MDA是自由基损伤细胞引发的生物膜不饱和脂肪酸的脂质过氧化物,能够反映细胞受损伤的程度^[22-23]。本实验中,大鼠再灌注后SOD活性显著降低,MDA含量显著升高,说明再灌注后大量的氧自由基使SOD含量减少,从而加大细胞受损程度,使得MDA含量升高。

NO参与缺血性损伤的病理机制^[24],具有十分重要的信号传导功能,在脑缺血再灌注损伤的发生发展过程中起到保护作用,可以扩张血管、改善缺血组织的血供^[25]。随着NO的持续增加,将以氧自由基的方式形成神经毒性,最终通过诸多途径引发细胞凋亡^[26]。本实验中大鼠再灌注后,NO含量增高,说明机体细胞的损伤程度增加。

炎症反应在脑缺血再灌注损伤机制中担任着重要角色^[27]。脑缺血产生后,白细胞浸润、炎性细胞因子大量聚集于受损部位,参与了缺血所致组织损伤的过程,IL-6、IL-1 β 、TNF已经被证实在脑缺血的发生过程中起着重要的作用^[28]。IL-1 β 是一种炎症的免疫源性细胞因子,能够协同其他细胞因子促进T细胞与B细胞的活化,也可诱导其他炎性介质的产生、白细胞浸润的增多、黏附分子的表达,促进自由基与兴奋性氨基酸的产生,启动多种细胞因子的级联反应等^[29];IL-6在大脑中主要由小胶质细胞和星形胶质细胞产生,是一种与炎症调节和免疫反应有关的重要炎性细胞因子,是脑缺血急性期的重要炎症介质,参与了神经损伤过程^[30];TNF作为一种具有多效性功能的促炎细胞因子,在脑缺血再灌注后诱导的白细胞浸润和组织损伤中起着关键性作用,可引发多核白细胞聚集、激活并释放炎症介质。如果可以通过各种途径去阻断TNF的表达,则能减少缺血性神经元的损伤^[31]。与模型组相比,大黄总蒽醌提取物能降低IL-6、IL-1 β 、TNF水平,从而减缓缺血再灌注后的炎症反应程度,改善脑组织的微环境。

实验结果表明,与模型组相比,大黄总蒽醌提

取物能显著降低大鼠神经功能评分、脑指数、脑含水量,减小脑梗死体积($P < 0.05$),能显著增加脑组织中SOD活性,降低MDA、NO含量($P < 0.01$),同时还可以显著降低血清中IL-6、TNF、IL-1 β 含量($P < 0.01$)。综上所述,大黄总蒽醌提取物对大鼠脑缺血再灌注损伤有一定的保护及改善作用,其机制可能与抑制炎症反应和抗氧化相关。大黄因其越来越广泛的药理作用,在治疗心脑血管疾病方面也引起了人们的关注,具有良好的发展前景,对其深入研究必将有利于开发保护脑缺血损伤的新药,从而为脑血管病的早期防治提供新途径与新思路^[32]。

参考文献:

- [1] 陈焱. 防己黄芪汤对脑缺血再灌注模型大鼠脑损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 134-138.
- [2] 邹景霞, 李巧霞, 陈学忠, 等. 脑缺血再灌注损伤的中医药防治进展[J]. 甘肃中医, 2009, 22(1): 74-76.
- [3] 张玮, 李树清. 糖皮质激素诱导的蛋白激酶在缺血大鼠海马神经元细胞中的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(6): 1300-1301.
- [4] 钟希文, 王贤儿, 吴惠妃, 等. 正交试验优选蛇鳞草-大黄酒体脂质纳米粒制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 15-18.
- [5] 张慧林, 赵妍. 大黄的药理作用及临床应用分析[J]. 光明中医, 2015, 30(5): 1119-1121.
- [6] 侯秀娟, 李小黎, 王至婉, 等. 泻下法治疗中风病的研究进展[J]. 河南中医药学刊, 2001, 16(2): 77-80.
- [7] 潘海珍. 单味大黄治疗缺血性脑中风的临床疗效观察[J]. 中国医药指南, 2013, 11(32): 515-516.
- [8] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S R, et al. Reversible middle artery occlusion without craniectomy[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [9] 陈卫伟, 杨留才, 潘施文, 等. 线栓法制备SD大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型[J]. 中国组织工程研究, 2011, 15(50): 9377-9380.
- [10] 李建玲, 何斌, 李琳琳. 原花青素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(6): 463-466.
- [11] Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. *Stroke*, 1986, 17(3): 472-476.
- [12] 龚雪媛, 楼烨亮, 黄真, 等. 刘寄奴醇提取物抗局灶性脑缺血有效部位筛选研究[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(10): 1243-1248.
- [13] 肖文喜, 汪红, 钟晓明, 等. 丹酚酸B对小鼠急性局灶性脑缺血的神经保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17): 163-166.
- [14] 舒明春, 万海同, 周惠芬, 等. 谷红注射液抗脑缺血性再

- 灌注损伤的作用及其机制[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(24): 4829-4833.
- [15] 张翠香, 刘建勋, 李 丹, 等. 冠脉通片对大鼠脑缺血再灌注模型神经行为、小胶质细胞活化和 SOD 与 MDA 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 401-404.
- [16] 刘秀平, 许栋明, 王 文, 等. 莫诺昔对大鼠局灶性脑缺血再灌注模型脑梗死体积的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2009, 15(10): 913-915.
- [17] Sauser K, Burke J F, Reeves M J, *et al.* A systematic review and critical appraisal of quality measures for the emergency care of acute ischemic stroke[J]. *Ann Emerg Med*, 2014, 64(3): 235-244.
- [18] 李建生, 刘 轲, 宋张杰, 等. 脑脉通对老龄大鼠脑缺血/再灌注后 Ang/Tie 系统表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(1): 200-203.
- [19] 张宇燕, 李 剑, 万海同, 等. 黄芪甲苷与川芎嗪合用对大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(9): 2788-2792.
- [20] 唐映红, 黄小平, 谭 华, 等. 三七总皂苷对脑缺血再灌注后细胞外基质破坏及氧化应激的影响[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(11): 2327-2330.
- [21] 张翠香, 刘建勋, 李 丹, 等. 冠脉通片对大鼠脑缺血再灌注模型神经行为、小胶质细胞活化和 SOD 与 MDA 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 401-404.
- [22] 江承平, 刘 福, 李 毅, 等. 参附注射液对脑缺血再灌注大鼠 MDA、SOD、TXB2 及 6-keto-PGF1a 的影响及意义[J]. 中国医科大学学报, 2012, 41(2): 124-127.
- [23] 武继彪, 李克明, 隋在云, 等. 水蛭微粉对脑缺血再灌注损伤大鼠血清及脑匀浆 SOD、MDA、NO 的影响[J]. 山东中医杂志, 2008, 27(4): 265-267.
- [24] Malinski T, Bailey F, Zhang Z G, *et al.* Nitric oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1993, 13(3): 355-358.
- [25] Kida K, Ichinose F. Preventing ischemic brain injury after sudden cardiac arrest using NO inhalation[J]. *Crit Care*, 2014, 18(2): 212.
- [26] 杨 娟, 许 立, 方泰惠. 淫羊藿总黄酮对实验性脑缺血的保护作用初探[J]. 安徽医药, 2009, 13(3): 259-260.
- [27] 王 斌, 于绍坤, 孙建宁, 等. 清脑宣窍滴丸对急性脑缺血损伤大鼠的保护作用及机理初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 37-41.
- [28] 段为钢, 云 宇. 分子药理学[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [29] 李芳君, 谢少玲. 醒脑静注射液对大鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用[J]. 中药材, 2011, 34(7): 1111-1113.
- [30] 陈淑增, 李国前, 王杰华, 等. 瑞舒伐他汀对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 IL-6 和 IL-8 表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2014, 45(6): 1027-1029.
- [31] Benveniste E N. Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action[J]. *Am J Physiol*, 1992, 263(1 Pt 1): C1-C16.
- [32] 房亚兰, 罗玉敏, 赵咏梅. 大黄对缺血性脑血管病的保护作用及机制研究[J]. 首都医科大学学报, 2015, 36(5): 718-722.