

大黄酸配伍羟基红花黄色素 A 对大鼠单侧输尿管结扎慢性肾病的作用及机制研究

李会会^{1,2}, 胡娜平^{1,2}, 刘美佑², 李帆², 鹿成韬^{2*}, 文爱东^{1,2*}

1. 第四军医大学西京医院药剂科, 陕西 西安 710032

2. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712000

摘要: **目的** 研究大黄酸 (RH) 配伍羟基红花黄色素 A (HSYA) 对慢性肾病 (CKD) 模型大鼠抗炎、抗氧化、抗凋亡能力的影响及其可能机制。**方法** 30 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、RH (100 mg/kg) 组、HSYA (50 mg/kg) 组和 RH (100 mg/kg)+HSYA (50 mg/kg) 组, 采用单侧输尿管结扎 (UUO) 建立 CKD 模型。试剂盒法测定大鼠肾组织丙二醛 (MDA) 水平、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性; Masson 染色观察肾组织病理变化; TUNEL 染色检测细胞凋亡情况; Western blotting 检测肾组织中 I κ B α 、p-I κ B α 、NF- κ B p-65、p-p65 和 Bcl-2、Bax 蛋白表达。**结果** RH 和 HSYA 配伍使用明显降低 MDA 水平, 提高 SOD 及 GSH-Px 活性; 减少肾小球炎细胞浸润, 改善肾小管间质纤维化等病理改变; 抑制细胞凋亡; 抑制磷酸化的 I κ B α 及 p65 蛋白表达; 使 Bcl-2 蛋白表达上调、Bax 表达下调, 且效果好于单用组。**结论** 在 CKD 进程中, RH 和 HSYA 配伍使用可抑制肾脏组织的氧化损伤, 抑制肾小球炎细胞浸润, 降低细胞凋亡, 且效果好于两个药物单用。

关键词: 大黄酸; 羟基红花黄色素; 输尿管结扎; 抗炎; 氧化应激; 凋亡

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2016)04-0547-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.04.007

Effects and mechanisms of compatibility of rhein and hydroxysafflower yellow A on rat chronic kidney with unilateral ureteral obstruction

LI Hui-hui^{1,2}, HU Na-ping^{1,2}, LIU Mei-you², LI Fan², LU Cheng-tao^{2*}, WEN Ai-dong^{1,2}

1. Department of pharmacy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, 710000, China

2. College of Pharmacy, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory, anti-oxidant, and anti-apoptotic effects of compatibility of rhein (RH) and hydroxy safflower yellow A (HSYA) on rat chronic kidney with unilateral ureteral obstruction (UUO) and its mechanisms. **Method** The model of chronic kidney disease (CKD) was induced by UUO, 30 male SD rats were divided randomly into Sham group, model group, RH (100 mg/kg) group, HSYA (50 mg/kg) group, and RH (100 mg/kg)+HSYA (50 mg/kg) group. The level of MDA, activities of SOD and GSH of kidney tissue were measured by kits. The kidney histological change was measured with Masson staining. The cell apoptosis was analyzed using TUNEL staining. The expression of I κ B α , NF- κ B p65, p-I κ B α , p-p65, Bcl-2, and Bax protein was examined by Western blotting. **Results** Compatibility of RH and HSYA significantly decreased the level of MDA and increase the activities of SOD and GSH-Px, reduced glomerular inflammatory cell infiltration, improved the renal tubular interstitial fibrosis and pathological change, inhibited apoptosis, inhibited the expression of p-I κ B α and p-p65 protein, up-regulated expression of Bcl-2 protein, and down-regulated expression of Bax, and the effects were better than those in single group. **Conclusion** In the process of CKD, the compatibility of HSYA and RH can inhibit the oxidative damage of renal tissue, inhibit the infiltration of inflammatory cells and reduce apoptosis, and the effect is better than that of the two drugs alone.

Key words: rhein; hydroxysafflower yellow A; unilateral ureteral obstruction; anti-inflammatory; oxidative stress; apoptosis

收稿日期: 2016-03-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81373947; 81302695)

作者简介: 李会会, 女, 硕士在读, 研究方向为中药药效与临床研究。E-mail: lihuihui1987011@163.com

*通信作者 鹿成韬, 女, 博士, 研究方向为新药研发和药代动力学研究。Tel: 029-84775475-8404 E-mail: lu-009@163.com

文爱东, 男, 主任药师, 研究方向为新药研发与临床药理研究。Tel: (029)84773636 E-mail: adwen-2012@hotmail.com

近年来研究表明,慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)是一类发病率高、症状隐匿、危害严重的疾病。它是多种机制共同作用的结果,包括炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、免疫损伤、高血压、高血糖等^[1-2]。

大黄酸(RH)是一种蒽醌类单体,是大黄最主要的有效成分之一,性寒味苦,具有苦寒降泄、清热泻火、活血化瘀、祛湿排毒、解毒的作用,是临床上用来治疗慢性肾功能衰竭最为广泛的中药单体之一^[3]。红花是传统的活血祛瘀类中药,性辛温,具有活血通经、祛瘀止痛、消除自由基、抗炎、抗氧化等作用^[4-5],羟基红花黄色素A(HSYA)是红花中水平较高的有效成分^[6]。近年来有研究表明,其在防治CKD方面疗效明显。

目前对于RH和HSYA防治CKD的各自药理作用均有报道^[7-9]。但RH和HSYA合用对CKD的作用及机制研究尚未见报道,基于上述理论,本课题组设计了本次实验,拟采用单侧输尿管结扎(unilateral ureteral obstruction, UUO)模型,观察RH和HSYA合用在治疗慢性肾损伤过程中对炎症、氧化应激和细胞凋亡反应的抑制作用及可能的分子机制,期望能为其治疗慢性肾脏疾病提供新的思路。

1 材料

1.1 药品与试剂

RH、HSYA(西安武本生物科技有限公司,批号140422、130807,质量分数均大于98%);丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(南京建成生物技术有限公司);亚细胞结构胞浆和胞核蛋白提取试剂盒(博士德生物);兔抗大鼠IkB α 、p-IkB α 单克隆抗体,兔抗大鼠NF- κ B p65、NF- κ B p-p65、p84多克隆抗体(美国abcam公司);兔抗大鼠Bcl-2、Bax、 β -actin抗体,辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔IgG(美国Cell Signaling Technology公司)。其他试剂为国产分析纯。

1.2 仪器

TDZ4A-WS低速台式离心机,上海安亭科学仪器有限公司;IX71+DP72倒置显微镜,Olympus公司;DK-98-1电热恒温水浴箱,天津市泰斯特仪器有限公司;移液器,Eppendorf公司;Milli-QUF纯水净化系统,Millipore公司;TG16-WS台式高速离心机,长沙湘仪离心机有限公司;1510酶标仪,赛默飞世尔科技有限公司;酶标仪、电泳仪、蛋白电泳槽,

美国Bio-Rad公司。

1.3 动物

健康雄性SD大鼠,体质量250~280g,由第四军医大学动物中心提供,动物合格证号SCXK(军)2012-0007。

2 方法

2.1 动物分组及模型的建立

依据参考文献方法^[10,11-12]建立模型和确定给药剂量。建立UUO模型,实验大鼠随机分为假手术组、模型组、RH(100mg/kg)组、HSYA(50mg/kg)组和RH(100mg/kg)+HSYA(50mg/kg)组,每组6只。于手术结束后第2天开始给药,RH和HSYA生理盐水溶解后ig给药,假手术组和模型组给予等量生理盐水,连续给药2周。

2.2 动物取材

于末次给药后的第2天用10%水合氯醛麻醉大鼠,摘取肾脏组织。将组织分为两部分,一部分用10%中性福尔马林溶液固定,切片,试剂盒法进行Masson染色和TUNEL染色;另一部分匀浆用于生化指标的检测和Western blotting实验。

2.3 试剂盒法检测UUO大鼠组织中MDA、SOD及GSH-Px水平

取上述冻存的肾组织匀浆上清液,按试剂盒操作步骤检测各因子水平,酶标仪读取450nm波长处吸光度(A)值。

2.4 石蜡切片TUNEL细胞凋亡检测

取石蜡包埋组织进行预处理,根据TUNEL检测试剂盒操作步骤进行,最后一步操作完成后,立即在倒置荧光显微镜下分析样本,绿色荧光代表凋亡细胞;蓝色荧光代表细胞核。采用Image pro-plus图像分析系统分析每张照片,计数凋亡细胞个数,每张切片选取5个不同的视野进行观察。

2.5 Western blotting检测IkB α 、p-IkB α 、NF- κ B p65、p-p65和Bcl-2、Bax蛋白表达

待大鼠处理后,取剩余的肾组织,分成两部分,一部分用剪刀剪碎,加入蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂和蛋白磷酸酶,冰上用高速分散器匀浆约2min,离心提取上清,即为总蛋白;另一部分组织,用剪刀切成及细小的碎片,按照说明书加入胞浆提取剂和胞核提取试剂,整个过程在冰上操作,提取胞核蛋白。将总蛋白及胞核蛋白分成两份,一份用考马斯亮蓝试剂盒测量蛋白的浓度,另一份加入等体积的上样缓冲液,在100℃水中煮5min使其变性,

变性的蛋白根据检测的浓度，在 10%的 SDS-PAGE 凝胶中上样。电泳分离后，转移至硝酸纤维素膜上，在 37 °C 下用 5% 脱脂牛奶或 5% BSA 封闭 30 min，然后用 TBST 洗 3 次，每次 10 min。加入一抗，4 °C 冰箱孵育过夜；TBST 洗 3~6 次后，加入二抗，37 °C 孵育 30 min，TBST 洗 3 次，每次 10 min，膜上加显色液，曝光显影，用凝胶成像仪摄像分析，条带灰度用 IPP 软件计算。

2.6 统计学处理

采用 SPSS 16.0 进行统计分析，计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 One-Way ANOVA 方差分析，组间

两两比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 对大鼠血清中 MDA、SOD 及 GSH-Px 水平的影响

与假手术组比较，模型组血清中 MDA 水平明显升高 ($P < 0.01$)，SOD、GSH 活性明显降低，说明 UUO 模型造成了肾组织损伤；与模型组比较，RH 组、HSYA 组、RH+HSYA 组均能降低大鼠肾组织中 MDA 水平 ($P < 0.01$)，升高 SOD、GSH 活性，且 RH 和 HSYA 合用治疗组比 RH、HSYA 单用 SOD、GSH 活性升高的多，差异显著 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 RH 和 HSYA 对输尿管结扎大鼠肾组织损伤 MDA 水平、SOD 及 GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of RH and HSYA on MDA content and activities of SOD and GSH-Px in rat with kidney injury induced by UUO ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(mg·mg ⁻¹)
假手术	—	0.52 ± 0.09	1304.9 ± 198.1	289.83 ± 14.88
模型	—	2.73 ± 0.35**	587.3 ± 39.1**	196.45 ± 18.52**
RH	100	1.93 ± 0.25 [#]	713.2 ± 131.9 [#]	226.23 ± 12.74 [#]
HSYA	50	1.39 ± 0.13 [#]	897.4 ± 38.3 [#]	233.67 ± 11.78 [#]
RH+HSYA	100+50	1.04 ± 0.25 ^{###&}	1023.2 ± 141.5 ^{###&}	257.37 ± 21.34 ^{###&}

与假手术组比较：** $P < 0.01$ ；与模型组比较：[#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ ；与单一成分组比较：[&] $P < 0.05$ ，下同

** $P < 0.01$ vs sham group; [#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs alone group, same as below

3.2 对肾组织病理的影响

Masson 染色结果显示，对照组肾小球、肾小管间质结构正常，小管上皮细胞排列整齐，小管之间间隙紧密，肾间质中无炎性细胞浸润；模型组大鼠肾组织局部肾盂、肾间质内大量中性粒细胞、巨噬

细胞等炎性细胞浸润，肾小管积脓，肾小球结构不完整，肾间质变宽，系膜细胞及系膜基质增生。治疗组经过治疗后，肾组织病理改变得到改善，炎性细胞浸润减少，肾间质水肿及纤维化较模型组减轻。结果见图 1。

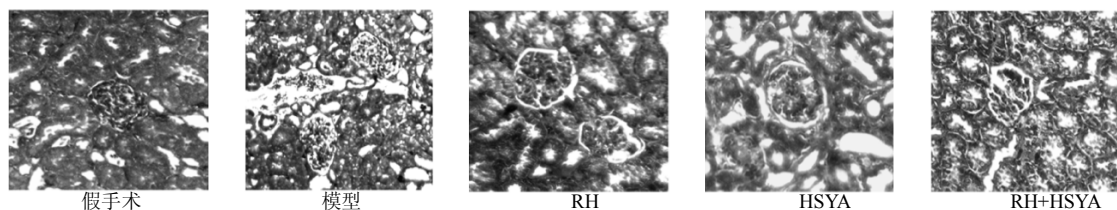


图 1 RH 和 HSYA 单用及合用对肾组织病理损伤的影响

Fig. 1 Influence of RH and HSYA used alone or in combination on CKD renal pathological changes

3.3 对 CKD 大鼠肾小管细胞凋亡的影响

倒置显微镜显示，假手术组细胞凋亡不明显，细胞核形态完整，而模型组可明显看到染色质固缩及细胞核碎裂明显，形成很多颗粒物质（图中小亮点），而经过 RH 和 HSYA 处理后细胞凋亡明显减少。TUNEL 染色及半定量分析结果见图 2。

3.4 对 CKD 大鼠肾组织 IκBα、p-IκBα、NF-κB p65 和 p-p65 蛋白表达的影响

模型组磷酸化的炎症因子 IκBα 和 NF-κB p65 表达明显增加，而治疗组能够明显抑制炎症因子 IκBα 和 p65 的磷酸化，尤其是两药配伍使用后，抑制 IκBα 和 p65 的磷酸化表达更明显。结果提示，RH 和 HSYA 联合使用对慢性肾损伤有更明显的抗炎作用。见图 3。

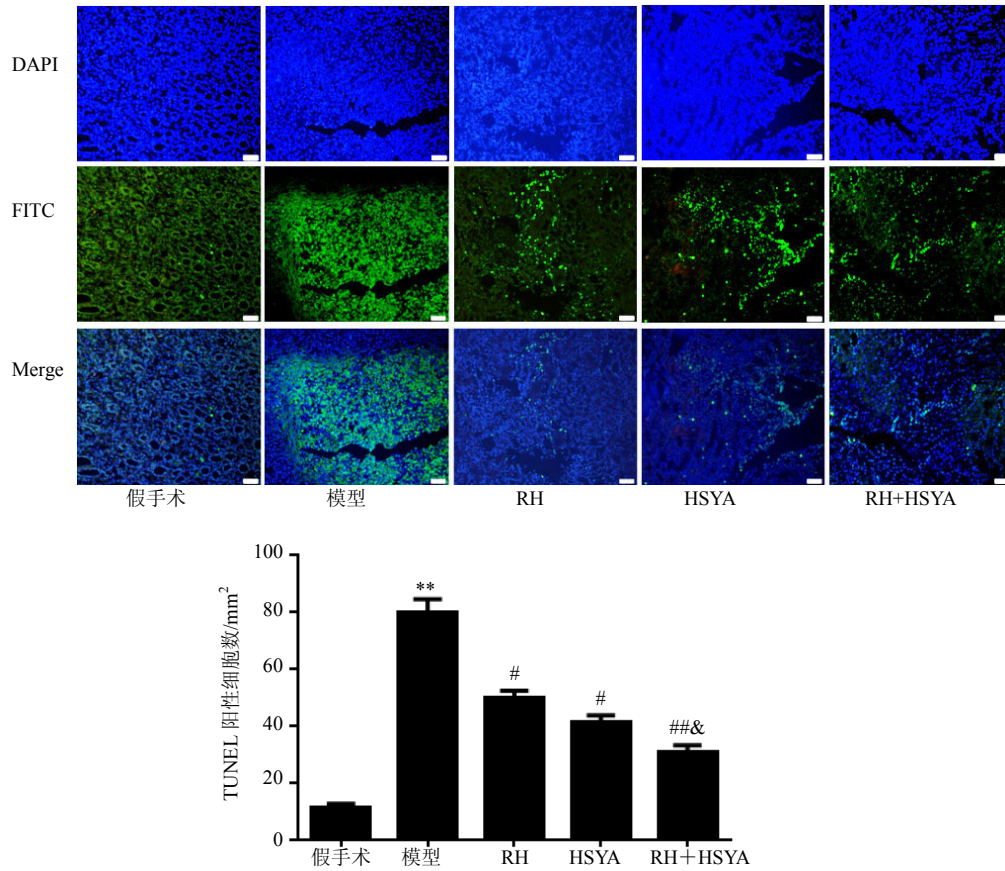


图2 RH 和 HSYA 对肾组织细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of RH and HSYA on CKD renal tubule-interstitial cell apoptosis in rats subjected to UUO ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

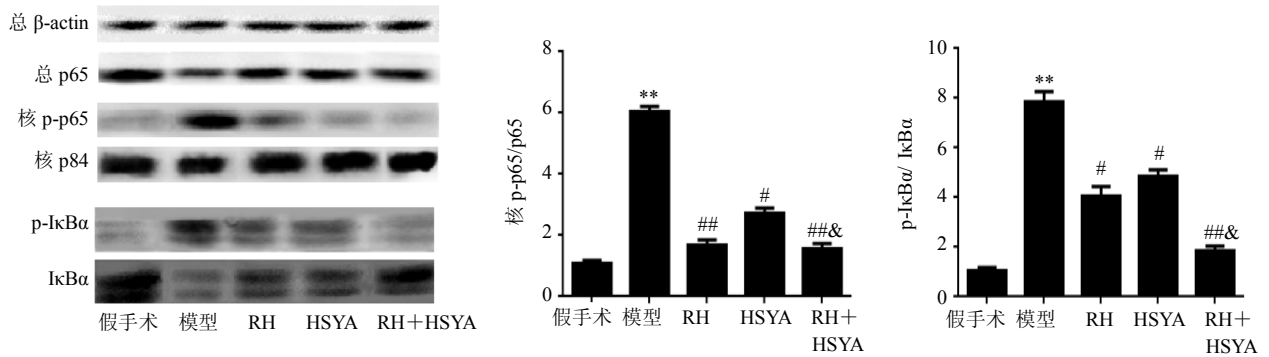


图3 Western blotting 技术检测 RH 和 HSYA 单用及合用对磷酸化的 IκBα、p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of RH and HSYA used alone or in combination on phosphorylation of IκBα and p65 in CKD rat tissue by Western blotting ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.5 对 CKD 大鼠肾组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

模型组促凋亡 Bax 蛋白表达明显增加, 而治疗组能够明显抑制促凋亡 Bax 蛋白的表达, 增加抑凋亡 Bcl-2 的蛋白表达, 尤其是两药配伍使用后, 抑凋亡 Bcl-2 蛋白表达更明显, 提示 RH 和 HSYA 配伍治疗可以更有效的抑制细胞凋亡, 对 UUO 肾损

伤有较好的保护作用。结果见图 4。

4 讨论

氧化应激在各种 CKD 及并发症的发生发展过程中起重要作用, 贯穿于整个发病过程中^[11-12]。它是指体内活性氧过度产生与抗氧化防御功能失衡而导致的组织损伤, 活性氧 ROS 如超氧阴离子、羟自由基、过氧化氢等。正常状态下, 自由基的产生和

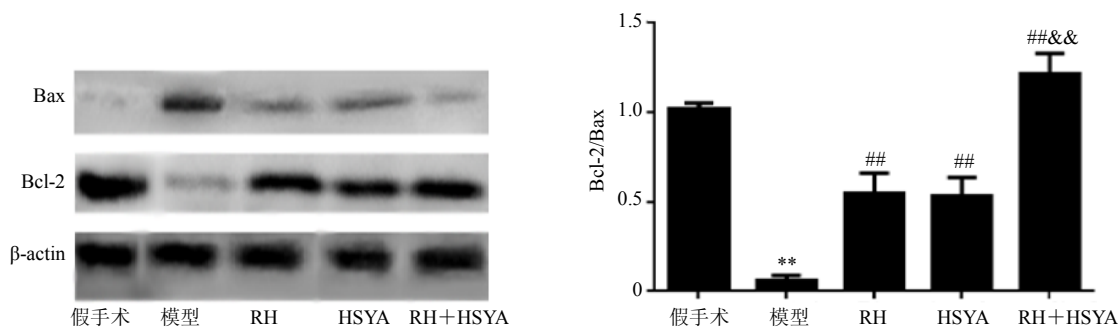


图4 Western blotting 技术检测 RH 和 HSYA 单用及合用对凋亡因子 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 4 Effect of RH and HSYA used alone or in combination on expression of Bcl-2 and Bax protein in CKD rat tissue ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

清除保持动态平衡，而在机体发生病变时，打破原来的机体平衡状态，体内自由基 ROS 大量产生，攻击生物膜的不饱和脂肪酸，引发脂质过氧化作用，形成脂质过氧化物 MDA^[13]，导致细胞和机体的损害，同时机体抗氧化防御能力下降，如 SOD、GSH-Px 等抗氧化酶活性降低。研究显示，UUO 模型肾脏病理损伤与氧化应激有关，模型组脂质过氧化物 MDA 显著增加，而 RH、HSYA、RH+HSYA 组均能抑制肾组织中脂质过氧化物 MDA 的产生，增加 SOD、GSH-Px 抗氧化酶的活性，从而减少了肾组织损伤，且 RH 和 HSYA 合用比单用抗氧化酶活性增加显著。这说明 RH 和 HSYA 合用对治疗慢性肾损伤具有较好的抗氧化作用。

NF- κ B 是炎症反应链的“基因开关”启动和控制炎症反应的中枢环节，参与细胞因子、趋化因子、黏附分子、环氧合酶-2、基质金属蛋白酶 (MMPs) 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 等重要调节因子的表达调控。正常情况下，NF- κ B 与其抑制性蛋白 I κ B α 结合，以无活性状态存在于细胞浆中，NF- κ B 激活的中心环节是 I κ B α 磷酸化导致 I κ B α 蛋白降解，从而使 NF- κ B 解离出来^[14]。此外，当 I κ B α 蛋白降解，p65 与 I κ B α 解离后，p65 磷酸化是 NF- κ B 转激活的关键。激活的 NF- κ B 可启动其下游基因转录，导致包括超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、IL-1 和 ICAM-1 在内的一系列炎症因子的过度表达^[15]，介导或直接参与血管和组织损伤，导致肾细胞增殖肥大、细胞胶原蛋白合成过多、细胞外基质增多，造成肾小球硬化及肾脏细胞外基质的沉积。本实验结果显示，RH 和 HSYA

治疗组合用比单用更能抑制大鼠组织中磷酸化的 I κ B 和 p65 蛋白表达，炎症细胞中性粒细胞明显减少，肾组织炎症细胞浸润及肾组织结构破坏减轻^[16]，表明 RH 和 HSYA 合用可有效抑制 CKD 大鼠炎症，优于单用组。

p38 MAPK 通路的激活主要是促进细胞的凋亡。本研究凋亡实验结果显示，模型组中 TUNEL 染色细胞凋亡小体显著增加，胞核或胞质内可见浓染致密的蓝色荧光颗粒及明显核形态变化，而单用及配伍治疗后，细胞凋亡小体减少。并且模型组中 Bcl-2 蛋白表达下降，Bax 表达升高；而 RH 和 HSYA 治疗组 Bcl-2 表达显著升高，Bax 表达显著降低，提示 RH 和 HSYA 具有抑制细胞凋亡的作用，同时发现合用组效果优于单用组。

而已有研究表明，MAPK 信号转导通路的激活是肾脏损伤的重要机制之一，在肾小管上皮细胞凋亡，炎症和肾损伤等过程中发挥重要作用^[17-18]。MAPK 信号通路主要包括 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK/SAPK) MAPK 通路，p38 MAPK 通路和细胞外信号调节蛋白激酶 (ERK) MAPK 通路，其中 p38 MAPK 又称 MAPK 应激信号通路，激活的 p38 MAPK 磷酸化移位入核，磷酸化核内转录因子 NF- κ B^[19]。因此，假设 RH 和 HSYA 的抗炎、抗凋亡作用机制可能与 p38 MAPK 信号通路激活有关，p38 激酶蛋白表达将在下一时间段继续完成并得到验证。

综上所述，本研究首次探讨了 RH 和 HSYA 单用及合用对 UUO 模型大鼠氧化应激、炎症损伤和细胞凋亡的抑制作用及机制研究，结果表明，RH 和 HSYA 单用、合用均可起到改善慢性肾损伤的作用，同时发现合用组疗效强于单用组，其作用机制

可能与激活的 NF- κ B 通路和 p38 通路有关。综合评价认为, RH 和 HSYA 配伍后相互促进、协同起效, 表现出较强的药理活性, 对慢性肾损伤有较好的治疗效果, 且大黄中的有效成分 RH 近来已获批作为治疗糖尿病肾病的中药一类新药即将进入 I/II 期临床试验, HSYA 治疗糖尿病肾病等 CKD 临床应用广泛, RH 和 HSYA 两种单体合用比中药复方毒副作用更小、疗效更好, 组方配伍简单, 具有较大的临床意义和实际应用价值。

参考文献

- [1] Zhong Y F, PhD M D, Deng X Y, *et al.* Recent advances in traditional Chinese medicine for kidney disease [J]. *Am J kidney Dis*, 2015, 66(3): 513-522.
- [2] Liu M, Park J, Wu X, *et al.* Shen-Kang protects 5/6 nephrectomized rats against renal injury by reducing oxidative stress through the MAPK signaling pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(4): 975-84.
- [3] 李晓红, 李蒙, 陶艳蓉. 大黄酸及其衍生物药理作用研究新进展 [J]. *现代药物与临床*, 2010, 25(6): 417-421.
- [4] Tian Y, Yang Z, Li Y, *et al.* Pharmacokinetic comparisons of hydroxysafflower yellow A in normal and blood stasis syndrome rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(1): 1-4.
- [5] Zang B X, Jin M, Si N, *et al.* Antagonistic effect of hydroxysafflower yellow A on the platelet activating factor receptor [J]. *Acta Pharm Sin*, 2002, 37(9): 696-699.
- [6] 朱海波, 王振华, 田京伟, 等. 羟基红花黄色素 A 对实验性脑缺血的保护作用 [J]. *药学学报*, 2005, 40(12): 1144-1146.
- [7] Li C Y. Curative effect analysis of Shen Kang injection combined with rhubarb preparation for retention enema in the treatment of chronic renal failure [J]. *Chin Commun Doctors*, 2014, 30(16): 95-96.
- [8] 刘美佑, 伍晓晓, 宁泽琼, 等. 大黄酸对 H₂O₂ 诱导 HK-2 细胞凋亡的保护作用及其机制研究 [J]. *中南药学*, 2015, 13(8): 823-827.
- [9] Bai X M, Li X D, Song J, *et al.* Soflor Yellow on hs-CRP and IL-8 in Patients with Early Diabetic Nephropathy [J]. *Chin J Integr Trad West Nephrol*, 2012, 13(8): 698-700.
- [10] Zhang D S, Sun L, Wang X, *et al.* Low-dose paclitaxel ameliorates renal fibrosis in rat UUO model by inhibition of TGF- β /Smad activity [J]. *Labor Invest*, 2010, 90(3): 436-447.
- [11] 黄娟, 陈文莉, 朱虹. 大黄酸对输尿管梗阻大鼠肾组织纤维化的保护机制 [J]. *中国药师*, 2009, 12(11): 1529-1531.
- [12] 王明明, 陈敏纯, 李玉文, 等. 羟基红花黄色素 A 联用 β -乳香酸对血瘀证模型大鼠凝血功能、NO、cGMP 的影响 [J]. *中国药房*, 2014, 25(47): 4417-4419.
- [13] Victor V M, Rocha M, Herance R, *et al.* Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes [J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(36): 3947-3958.
- [14] Chen H Y, Wang J H, Geng M, *et al.* Protective effect of extract of Apocynum venetum on kidneys of streptozotocin induced diabetic rats [J]. *Acta Pharm Sin*, 2010, 45(1): 26-30.
- [15] 刘慎微, 尹超, 吴泽成, 等. 红花对 2 型糖尿病大鼠肾脏氧化应激反应的影响 [J]. *中国药房*, 2009, 20(6): 409-411.
- [16] Denk A, Goebeler M, Schmid S, *et al.* Activation of NF- κ B via the I κ B kinase complex is both essential and sufficient for proinflammatory gene expression in primary endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(30): 28451-28458.
- [17] Monaco C, Andreacos E, Kiriakidis S, *et al.* Canonical pathway of nuclear factor κ B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(15): 5634-5639.
- [18] 李会会, 胡娜平, 刘美佑, 等. 大黄酸和羟基红花黄色素 A 单用及配伍对慢性肾病的保护作用研究 [J]. *药物评价研究*, 2015, 38(6): 607-611.
- [19] Popolo A, Autore G, Pinto A, *et al.* Oxidative stress in patients with cardiovascular disease and chronic renal failure [J]. *Free Radic Res*, 2013, 47(5): 346-356.
- [20] Cao Y, Zhang Y, Wang N, *et al.* Antioxidant effect of imperatorin from Angelica dahurica in hypertension via inhibiting NADPH oxidase activation and MAPK pathway [J]. *J A-m SocHypertens*, 2014, 8(8): 527-536.
- [21] Lucrezi J D, Burns T J, Matesic D F, *et al.* Inhibition of JNK and p38 MAPK phosphorylation by 5-(acetylamino)-4-oxo-6-phenyl-2-hexenoic acid methyl ester and 4-phenyl-butenoic acid decreases substance P-induced TNF- α upregulation in macrophages [J]. *Int Immuno Pharmacol*, 2014, 21(1): 44-50.