

注射用丹参多酚酸对MCAO/R大鼠Nrf2/Keap1/HO-1信号通路的影响

李汶泽¹, 李智^{2,3}, 倪秀一⁴, 万梅绪^{2,3}, 张燕欣^{2,3}, 王蕴华^{2,3}, 庄朋伟¹, 李德坤^{2,3*}, 鞠爱春^{2,3*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

3. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

4. 河北中医学院, 河北 石家庄 050200

摘要: 目的 采用大鼠大脑中动脉栓塞/再灌注(MCAO/R)模型考察注射用丹参多酚酸(SAFI)对脑缺血再灌注大鼠核因子E2相关因子2(Nrf2)/Kelch样ECH相关蛋白(Keap1)/血红素氧合酶-1(HO-1)信号通路的影响。方法 线栓法构建大鼠MCAO/R模型,于术后24 h进行神经功能评分,将造模成功的大鼠随机分为模型组、丁苯酞(5 mL·kg⁻¹)组和SAFI低、中、高剂量(5.76、11.51、23.02 mg·kg⁻¹)组,尾iv给药,连续14 d。考察给药后各组大鼠神经功能缺损评分;ELISA法检测血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、脑源性神经营养因子(BDNF)水平;TTC染色法检测脑梗死体积;HE染色观察脑组织病理变化;Western blotting法检测Nrf2、Keap1、HO-1蛋白表达。结果 与模型组比较,SAFI中、高剂量组和丁苯酞组大鼠的神经功能缺损评分显著降低($P<0.05, 0.01$);SAFI各剂量组和丁苯酞组脑梗死体积显著减少($P<0.01, 0.001$),血清BDNF、SOD水平均显著升高($P<0.05, 0.01, 0.001$),MDA水平显著降低($P<0.05, 0.01$),脑组织病理变化明显减轻,水肿减轻;SAFI高、中剂量组及丁苯酞组Keap1、Nrf2、HO-1蛋白表达显著升高($P<0.05, 0.01, 0.001$),SAFI低剂量组Keap1、HO-1蛋白表达显著升高($P<0.01, 0.001$)。结论 SAFI可以减轻大鼠脑缺血再灌注损伤,可能是通过促进Nrf2/Keap1/HO-1信号通路,抑制氧化损伤实现的。

关键词: 注射用丹参多酚酸;脑缺血/再灌注损伤;Nrf2/Keap1/HO-1信号通路;氧化损伤

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2023)08-1638-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.08.002

Effect of Salvianolic Acid for Injection on Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway in MCAO/R rats

LI Wenzhe¹, LI Zhi^{2,3}, NI Xiuyi⁴, WAN Meixu^{2,3}, ZHANG Yanxin^{2,3}, WANG Yunhua^{2,3}, ZHUANG Pengwei¹, LI Dekun^{2,3}, JU Aichun^{2,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

3. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300410, China

4. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

Abstract: Objective To investigate the effect of Salvianolic Acid for Injectionon (SAFI) on the Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway in rats with cerebral ischemia-reperfusion using the rat middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) model. **Methods** The rats were constructed with MCAO/R model using suture method, and rats with successful modeling were randomly divided into model groups, butylphthalide (5 mL·kg⁻¹) group, SAFI low, medium, and high dose (5.76, 11.51, and 23.02 mg·kg⁻¹) group, with 17 rats in each group. According to the volume of 5 mL·kg⁻¹, the rats in each group were injected into the tail vein for 14 d. After administration, the severity of neurological impairment in each group was scored. The contents of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in ischemic cerebral tissue were detected by ELISA. TTC staining was used to detect the cerebral infarct size. HE staining was used to observe the pathological changes of brain tissue.

收稿日期: 2023-05-25

第一作者: 李汶泽,男,在读硕士研究生,主要从事中药药理学研究。E-mail:1425543591@qq.com

*共同通信作者: 鞠爱春,男,正高级工程师,主要从事中药注射剂工艺及质量控制研究。E-mail:juach@tasly.com

李德坤,男,高级工程师,主要从事中药工艺、质量控制、中药药理及药物警戒研究。E-mail: lidekun@tasly.com

The expression of Nrf2/Keap1/HO-1 related pathway protein was detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the neurological deficit scores of rats in the SAFI medium, high-dose, and butylphthalide groups were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$). The cerebral infarction volume was significantly reduced ($P < 0.01, 0.001$) in each dose group of SAFI and the butylphthalide group, while serum BDNF and SOD levels were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), MDA levels were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$), pathological changes in brain tissue were significantly reduced, and edema was alleviated. The expression of Keap1, Nrf2, and HO-1 proteins was significantly increased in the high and medium dose SAFI groups and the butylphthalide group ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), while the expression of Keap1 and HO-1 proteins was significantly increased in the low dose SAFI group ($P < 0.01, 0.001$). **Conclusion** SAFI can alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. Its mechanism of action may be related to promote the Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway and inhibiting oxidative damage.

Key words: Salvianolic Acid for Injection; cerebral ischemia/reperfusion injury; Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway; oxidative damage

脑缺血再灌注损伤(CIRI)常发生于缺血性脑卒中经临床治疗血流恢复通行之后,症见病人恢复明显欠佳,继而炎症反应、氧化应激反应愈加严重,大脑功能继续出现损伤^[1-3]。目前我国脑卒中发生率日益增加,脑卒中可分为出血性脑卒中和缺血性脑卒中2类,其致死率、致残率颇高,其中又以缺血性脑卒中发病率较高^[4-5]。核因子E2相关因子2(Nrf2)/Kelch样ECH相关蛋白(Keap1)/血红素氧合酶-1(HO-1)信号通路是细胞应对氧化应激损伤重要的防御系统,是增强机体抗氧化能力的关键信号通路。Nrf2/Keap1/HO-1作为体内重要的抗氧化信号通路,在人体各组织器官中广泛存在。Keap1/Nrf2是氧化还原反应的内源性抗氧化防御模块,Nrf2是一种氧化还原敏感转录因子。Keap1则在激活和稳定方面调节着Nrf2。Nrf2与Keap1形成稳定的三聚体。在氧化应激的状态下,Nrf2与Keap1解离,Nrf2进入细胞核,激活内源性抗氧化剂血红素氧化酶-1(HO-1)、醌氧化还原酶1(NQO-1),清除活性氧(ROS),进而降低氧化应激对脑神经细胞的损伤^[6-7]。

注射用丹参多酚酸(SAFI)系天津天士力之骄药业公司生产的冻干粉针剂,目前国内在治疗缺血性脑卒中领域得到广泛的应用。SAFI是利用中药丹参的水提取物中的多种丹酚酸有效成分组成的中药制剂。其功能活血通络,主要应用于卒中病中(轻、中度脑梗死)经络恢复期瘀血阻络证^[8]。主要化学成分为丹酚酸B、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸D、丹酚酸Y、丹酚酸A等水溶性酚酸^[9]。现代药理研究表明,SAFI具有抗炎损伤、抗氧化应激损伤、促进细胞再生和保护脑神经血管单元等药理作用^[10]。本实验拟通过观察SAFI对大鼠大脑中动脉栓塞/再灌注(MCAO/R)模型的影响,探究其发挥药效作用的可能机制是否与Nrf2/Keap1/HO-1信号通

路相关。

1 材料

1.1 药品和主要试剂

SAFI(天津天士力之骄药业有限公司,每支装0.13 g,含丹参多酚酸100 mg,批号20211015);丁苯酞氯化钠注射液(石药集团恩必普药业有限公司,含丁苯酞 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号6182008130);异氟烷(香港友诚生物科技有限公司);0.9%氯化钠注射液(陕西圣奥动物药业有限公司,批号2022091174);RIPA裂解液、BCA蛋白浓度检测试剂盒、HO-1抗体(碧云天生物技术有限公司);Keap1抗体(批号EP1808Y)、Nrf2抗体(批号ab227828),英国Abcam公司;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、脑源性神经营养因子(BDNF)ELISA检测试剂盒,购于上海酶联生物科技有限公司。

1.2 主要仪器

T1000型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂);FSH-2型可调高速匀浆机(常州荣华仪器有限公司);ST16R型高速冷冻离心机、902-ULTS型-80℃低温冰箱(美国Thermo Fisher公司);多功能酶标仪(TECAN公司);ASP300型全自动脱水机(德国Leica公司);EG1150H型包埋机、RM2235型轮转式切片机、HI1220型烤片机(德国Leica公司);图像分析系统(美国Motic Digital Pathology公司);凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);Bio-rad-Mini Transblot Cell蛋白电泳仪(美国Bio-Rad公司);SE302型蛋白转膜仪(美国Bio-Rad公司)。

1.3 实验动物

SPF级SD大鼠130只,雄性,体质量180~200 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0011,所有实验操作均严格按照天士力实验动物管理及福利

伦理委员会标准执行(TSL-IACUC-2022-30)。实验开始前,所有大鼠适应性饲养1周,环境为SPF级,实验期间自由饮水、进食,隔日更换垫料1次。

2 方法

2.1 MCAO/R大鼠模型构建

SD大鼠适应性喂养1周,体质量控制控制在220~240 g,术前禁食12 h,使用小动物麻醉机进行麻醉。参考文献报道方法构建MCAO/R大鼠模型^[11-12]。暴露大鼠右侧颈总动脉,插入线栓阻塞动脉,缝合伤口,1 h后拔出线栓,实现再灌注。假手术组操作与模型组相同,但是不阻塞动脉。各组大鼠手术完成后按照每只60万单位im青霉素钠溶液,连续注射3 d,防止术后感染。

2.2 实验分组与给药

术后24 h对大鼠进行神经功能缺损评分,评分 ≥ 1 者即可入组,评分标准见表1。将造模成功的大鼠按照神经功能缺损评分随机分组,每组17只,分别为模型组、丁苯酞($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)组和SAFI低、中、高剂量(5.76 、 11.51 、 $23.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组,于术后24 h神经功能缺损评分结束后进行尾iv给药,连续给药14 d,给药体积 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。假手术组与模型组予以等体积0.9%氯化钠注射液。

表1 神经功能缺损评分

Table 1 Neurological deficit score

评分	观察指标
0	肢体功能无明显异常
1	眯眼,捉尾时梗阻对侧前肢屈伸不利
2	捉尾时梗阻对侧前肢屈曲
3	难以直行,向梗阻侧转大圈
4	难以行走,向梗阻侧转小圈,或向对侧跌倒,意识水平下降

2.3 神经功能评分

术后24 h和给药结束后对大鼠进行神经功能缺损评分,标准见表1。

2.4 梗死体积测定

每组随机取6只大鼠安乐死,断头取脑,低温状态分离剥取大鼠大脑,迅速置于 -20°C 环境中冷冻30 min,取出后用刀片从枕叶至额极区间进行大脑冠状面切片,厚度为2 mm。将切片浸入0.5% TTC染液中染色, 37°C 避光正反面各孵育20 min,使组织的非梗死区呈现玫红色,梗死区显白色为止,加入4%多聚甲醛溶液固定,观察拍照,Image J图像分析软件测定脑梗死体积。

2.5 大鼠脑HE染色

每组随机选取3只大鼠安乐死,迅速取大鼠脑组织,置于10%甲醛溶液固定过夜,将组织脱水、透明、浸蜡包埋,切厚度为 $5 \mu\text{m}$ 的冠状片,切片经脱蜡、复水后进行HE染色,光学显微镜下观察脑组织形态情况。

2.6 血清生化指标检测

每组随机选取6只大鼠,异氟烷麻醉,腹主动脉取血,低温高速(4°C 、 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)离心10 min,取上清,用试剂盒检测BDNF、SOD、MDA水平。

2.7 Western blotting检测相关蛋白

提取各组大鼠脑总蛋白,用BCA试剂盒测定总蛋白含量,采用SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白,再将蛋白转移至PVDF转膜上,使用5%的BSA封闭2 h后,分别加入Kcap1($1:4\,000$)、Nrf2($1:1\,000$)、HO-1($1:1\,000$)一抗, 4°C 孵育过夜。次日孵育HRP标记的二抗1 h后,加入显影液。用超灵敏多功能成像仪曝光目的条带,采用Image J软件分析各目的蛋白/GAPDH的灰度值。

2.8 统计学方法

所有实验数据均用GraphPad Prism 8.0.1分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)比较各组间差异。

3 结果

3.1 SAFI对神经功能损伤的影响

如表2所示,给药前各组大鼠神经功能缺损评分无明显差异;给药结束后,与模型组比较,SAFI中、高剂量组和丁苯酞组大鼠的神经功能缺损评分显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),其中SAFI高剂量组效果最好。实验结果表明,SAFI能够有效降低MCAO/R大鼠的神经功能缺损评分。

3.2 SAFI对脑梗死体积的影响

如图1所示,假手术组脑组织无梗死,模型组大

表2 各组大鼠给药前后神经功能缺损评分比较($\bar{x} \pm s, n=17$)

Table 2 Comparison of neurological deficit score before and after administration in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=17$)

组别	剂量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	神经功能缺损评分	
		给药前	给药后
模型	—	2.72 ± 0.52	2.61 ± 0.64
SAFI	5.76	2.85 ± 0.72	2.21 ± 0.54
	11.51	2.88 ± 0.81	$2.13 \pm 0.68^*$
	23.02	2.90 ± 0.76	$2.04 \pm 0.74^{**}$
丁苯酞	$5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.86 ± 0.85	$2.11 \pm 0.79^*$

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs model group

鼠脑梗死明显;与模型组比较,丁苯酞组和SAFI各剂量组脑梗死体积显著减少($P<0.01$ 、 0.001),其中SAFI高剂量组效果最好。实验结果表明,SAFI能有效减少MCAO/R大鼠脑梗死体积。

3.3 SAFI对血清生化指标的影响

如表3所示,与假手术组比较,模型组血清MDA、BDNF水平显著升高($P<0.05$),SOD水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,SAFI各剂量组、丁苯酞组血清BDNF、SOD水平均显著升高($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001),MDA水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01)。其中SAFI高剂量组效果最好。结果提示SAFI可以提高MCAO模型大鼠BDNF、SOD的表

达,降低MDA表达。

3.4 SAFI对大鼠脑组织病理变化影响

如图2所示,与假手术组比较,模型组大鼠的脑组织中出现了广泛的组织结构疏松紊乱、神经细胞水肿和毛细血管充血。SAFI各剂量组和丁苯酞给药组大鼠脑组织结构较好,水肿减轻。能有效减轻受损组织的组织学异常。实验结果说明SAFI能显著改善MCAO/R大鼠组织病理学改变。

3.5 SAFI对Keap1、Nrf2、HO-1蛋白表达的影响

如图3所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中Keap1、Nrf2、HO-1蛋白表达显著降低($P<0.001$);与模型组比较,SAFI高、中剂量组及丁苯酞

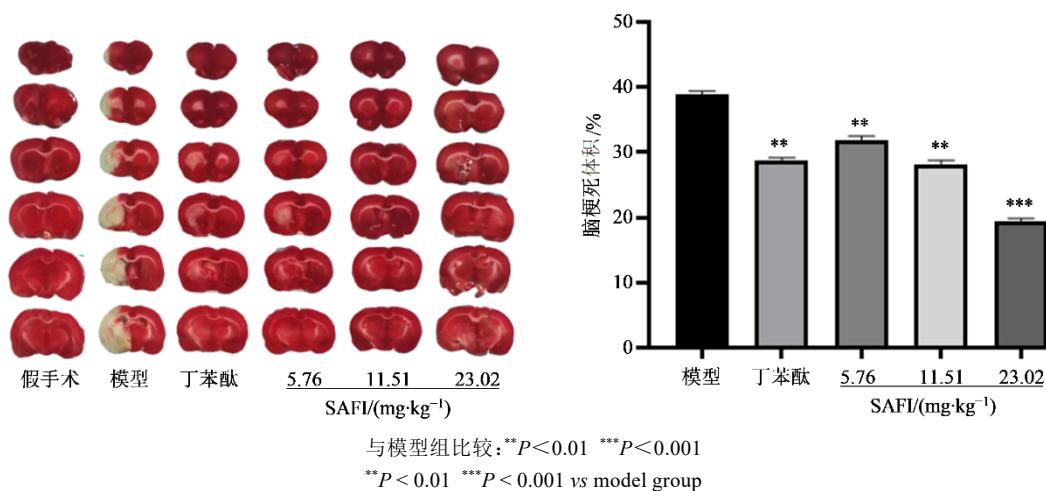


图1 各组大鼠TTC染色结果($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig. 1 TTC staining results of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表3 各组大鼠给药前后血清BDNF、SOD、MDA水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 3 Comparison of serum BDNF, SOD and MDA level in rats before and after administration ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)				
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BDNF/(pg·mL ⁻¹)	SOD/(mg·mL ⁻¹)	MDA/(mmol·L ⁻¹)
假手术	—	140.49±11.87	150.01±10.21	2.25±0.65
模型	—	146.81±15.91 [#]	99.68±9.25 ^{##}	4.62±0.49 [#]
SAFI	5.76	151.47±12.03 [*]	101.47±9.62 [*]	4.21±0.73 [*]
	11.51	157.35±15.40 ^{**}	108.05±8.74 ^{**}	3.99±0.57 ^{**}
	23.02	165.49±13.27 ^{***}	115.16±9.64 ^{***}	3.27±0.59 ^{**}
丁苯酞	5 mL·kg ⁻¹	164.37±13.92 ^{***}	113.61±9.95 ^{***}	3.41±0.64 ^{**}

与假手术组比较:[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$;与模型组比较:^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$

[#] $P<0.01$ ^{##} $P<0.01$ vs sham-operated group; ^{*} $P<0.01$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group

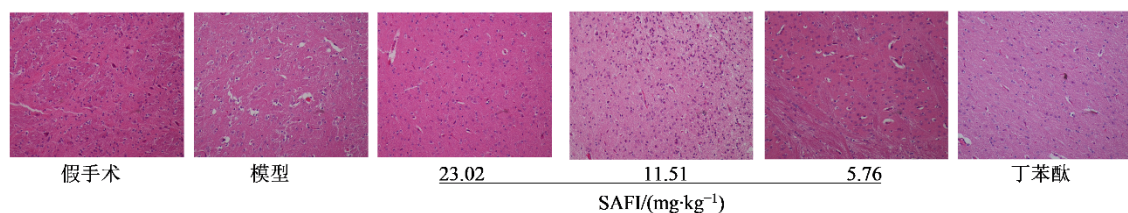
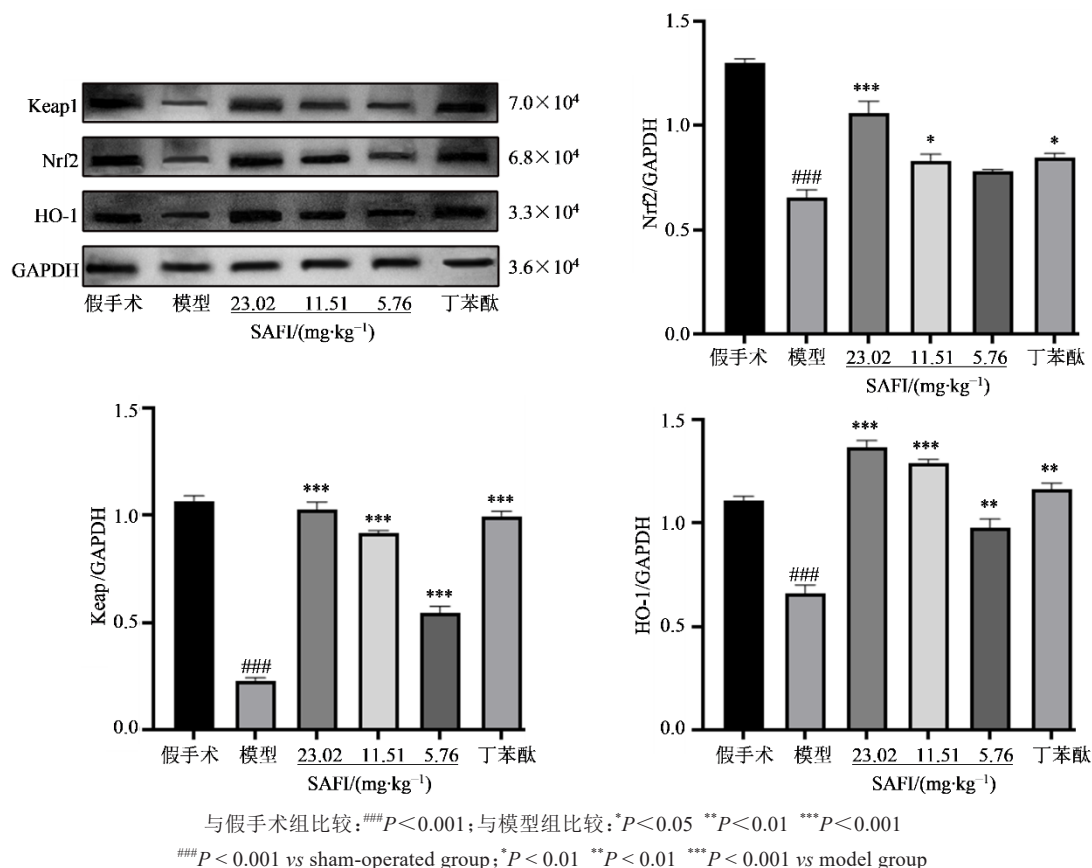


图2 SAFI对MCAO/R大鼠组织病理学改变的影响($\times 200$)

Fig. 2 Effect of SAFI on histopathological changes in MCAO/R rats ($\times 200$)

图3 SAFI对MCAO/R大鼠脑组织中Keap1、Nrf2、HO-1蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 3 Effects of SAFI on expression of Keap1, Nrf2 and HO-1 proteins in brain tissues of MCAO/R rat ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组Keap1、Nrf2、HO-1蛋白表达显著升高($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),SAFI低剂量组Keap1、HO-1蛋白表达显著升高($P < 0.01$ 、 0.001)。结果表明,SAFI可以促进Keap1、HO-1蛋白表达,激活Keap1/Nrf2/HO-1信号通路,从而发挥神经保护作用。

4 讨论

缺血性脑卒中是一种严重的脑血管疾病,发生时出现脑血管狭窄或闭塞,导致脑组织缺氧,产生一系列损伤^[13]。一味丹参,功同四物。丹参长于活血祛瘀,又善养血,缺血性脑卒中中医辨证多为虚证,丹参兼能补血,治疗中往往尤见其效^[14-15]。SAFI主要组成是丹参水溶性提取物,采用冷冻干燥法制备。广泛应用于临床急性缺血性脑卒中的治疗。

BDNF是重要的神经营养素,广泛存在于大脑之中^[16],在大脑皮层和海马体中含量较多。其促进神经元生长功能较好,可以提高神经元的活性,减少CIRI后神经元的死亡,促进树突、轴突的生长,进而起到恢复神经损伤的功效^[17-18]。SOD对氧化自由基过度生成产生抑制作用,进而缓解神经纤维线粒体的损伤程度,抑制神经元细胞凋亡,避免神经元细胞大量坏死。而MDA促进了氧化自由基和氮自

由基对脑组织的损伤,使脑功能进一步恶化。客观上调了氧化应激过程,增加氧化自由基对于脑血管内皮的损伤,使局部血流灌注障碍发生的风险提高^[19]。

Keap1/Nrf2是氧化还原反应的内源性抗氧化防御模块,Keap1的相对分子质量为69 000,是Nrf2的负性调节因子,通常在细胞内与Nrf2结合,形成耦连复合物抑制后者活性。Nrf2与Keap1形成稳定的三聚体。当细胞氧化应激发生时,Keap1与Nrf2解耦连,稳定状态的Nrf2发生转位进入细胞核,通过与抗氧化剂结合基因如HO-1、谷氨酸-半胱氨酸连接酶修饰亚基(GCLM)等的抗氧化反应元件(ARE)相结合,促进抗氧化因子的表达,增强细胞抗氧化能力、抑制活性氧及炎症等有害物质的释放,发挥对细胞的保护作用^[20]。

本研究利用MCAO/R大鼠模型,考察了SAFI对缺血再灌注氧化损伤的改善作用,结果发现SAFI能够提高模型大鼠SOD水平、降低MDA表达、促进BDNF的表达,降低脑梗死体积,改善神经功能评分。进一步深入考察了SAFI对Nrf2/Keap1/HO-1信号通路的影响,发现SAFI能显著促进Keap1、

Nrf2、HO-1 的蛋白表达,因此推测 SAFI 可能通过调控 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路,抑制缺血再灌注对脑卒中的氧化损伤。Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路关系复杂,上下游相关蛋白众多。本实验选取关键蛋白加以探索,但相关通路的深层机制有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Huang J, Zhu M Z, Wang X Y, et al. Research progress of traditional Chinese medicine regulating signal transduction of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2022, 34(5): 985-989.
- [2] Nakamura K, Kageyama S, Kupiec-Weglinski J W. Innate immunity in ischemia-reperfusion injury and graft rejection [J]. Curr Opin Organ Transplant, 2019, 24(6): 687-693.
- [3] 李瑞, 张雯, 宋俊科, 等. 注射用丹参多酚酸通过 PI3K/Akt 和 JAK2/STAT3 信号通路减轻 OGD/R 导致 PC12 细胞损伤 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(5): 419-425.
Li R, Zhang W, Song J K, et al. Salvianolic Acid for Injection alleviates PC12 cell damage induced by OGD/R through PI3K/Akt and JAK2/STAT3 signaling pathways [J]. Chin Pharm J, 2023, 58(5): 419-425.
- [4] Wang L D, Liu J M, Yang Y, et al. Stroke prevention and treatment in China still faces great challenges: Summary of China stroke prevention report 2018 [J]. Chin Circul J, 2019, 34(2): 105-119.
- [5] Li D, Wu S P, Hou J C, et al. Protective effect of Dan Deng Tong Nao Capsule on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Chin Pharm J, 2019, 54(20): 1670-1676.
- [6] Liang X Q, Hu C, Liu C Y, et al. Dihydrokaempferol (DHK) ameliorates severe acute pancreatitis (SAP) via Keap1/Nrf2 pathway [J]. Life Sci, 2020, 261: 118340.
- [7] 严伟莲. 加味润肺清肝汤对 2 型糖尿病大鼠 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路的影响 [D]. 延吉: 延边大学, 2022.
Yan W L. Effect of Jiawei Runfei Qinggan Decoction on Keap1-Nrf2/ARE signal pathway in type 2 diabetic rats [D]. Yanji: Yanbian University, 2022.
- [8] 苏小琴, 张磊, 李海燕, 等. 基于 Q-marker 的中药注射剂质量控制研究思路: 以注射用丹参多酚酸为例 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4663-4672.
Su X Q, Zhang L, Li H Y, et al. Quality control of Chinese materia medica injection based on Q-marker: Taking salvianolic acids for injection as an example [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(19): 4663-4672.
- [9] 杨婷, 谢涛, 张臻臻, 等. 一标多测法同时测定注射用丹参多酚酸中 5 种成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(1): 42-49.
- Yang T, Xie T, Zhang Z Z, et al. Simultaneous determination of five components in Salvianolic Acid for Injection by quantitative analysis of multi-components with single-marker method [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2023, 40(1): 42-49.
- [10] 李汶泽, 李智, 万梅绪, 等. 注射用丹参多酚酸对脑缺血再灌注后脑功能保护作用的研究进展 [J]. 中南药学, 2022, 20(11): 2658-2664.
Li W Z, Li Z, Wan M X, et al. Research progress in the protective effect of Salvianolic Acid for Injection on cerebral function after the cerebral ischemia-reperfusion [J]. Central South Pharm, 2022, 20(11): 2658-2664.
- [11] 胡志斌, 黄纛, 丁玉强. 脑缺血动物模型的制备及评估进展 [J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(4): 271-283.
Hu Z B, Huang Y, Ding Y Q. Construction and evaluation of animal models for cerebral ischemia [J]. Lab Animal Comp Med, 2021, 41(4): 271-283.
- [12] 赵正梅. 线栓法制作大鼠 MCAO 模型的技术改进与评价 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(10): 1407-1408.
Zhao Z M. Technical improvement and evaluation of MCAO model rats induced by monofilament [J]. J Qiqihar Univ Med, 2014, 35(10): 1407-1408.
- [13] Campbell B C V, Khatri P. Stroke [J]. Lancet, 2020, 396 (10244): 129-142.
- [14] 刘艳华, 周德生, 张梦雪, 等. 周德生教授辨治缺血性中风临床经验 [J]. 亚太传统医药, 2022, 18(5): 129-132.
Liu Y H, Zhou D S, Zhang M X, et al. Clinical experience of professor Zhou Desheng on differentiation and treatment of ischemic stroke [J]. Asia Pac Tradit Med, 2022, 18(5): 129-132.
- [15] 陈珍, 侯阳波, 胡寅钦, 等. 基于数据挖掘探讨《类证治裁》治疗中风的用药规律 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1342-1345.
Chen Z, Hou Y B, Hu Y Q, et al. Based on data mining, this paper discusses the medication law of treating apoplexy with "Lei Zheng Zhi Jian" [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(4): 1342-1345.
- [16] Ashwal S, Tone B, Tian H R, et al. Core and penumbral nitric oxide synthase activity during cerebral ischemia and reperfusion in the rat pup [J]. Pediatr Res, 1999, 46 (4): 390-400.
- [17] Liu Y F, Chen H I, Wu C L, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: Roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I [J]. J Physiol, 2009, 587(13): 3221-3231.
- [18] 王国军, 张琳成, 陈冰, 等. 丹参中丹酚酸 B 对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 40(1): 42-49.

- 2019, 37(7): 1566-1568.
- Wang G J, Zhang L C, Chen B, et al. Protective effects of salvianolic acid B on cerebral ischemic reperfusion injury in rats [J]. *China Ind Econ*, 2019, 37(7): 1566-1568.
- [19] 陈亚楠. 急性脑梗塞患者 TNF- α 、IL-6、CRP、MDA 和 SOD 水平及其临床意义 [J]. *医学信息*, 2020, 33(24): 107-109.
- Chen Y N. The levels of TNF- α , IL-6, CRP, MDA and SOD in patients with acute cerebral infarction and their clinical significance [J]. *Med Inf*, 2020, 33(24): 107-109.
- [20] Li H, Song F, Duan L R, et al. Paeonol and danshensu combination attenuates apoptosis in myocardial infarcted rats by inhibiting oxidative stress: Roles of Nrf2/HO-1 and PI3K/Akt pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23693.

【责任编辑 兰新新】