

黄芪对中枢神经系统的药理作用及毒理研究现状

周龙云^{1,2,3}, 田子睿^{1,3#}, 刘书芬^{1,3}, 陈旭青⁴, 崔学军^{1,3*}, 王拥军^{1,3*}

1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032

2. 上海中医药大学康复医学院, 上海 201203

3. 上海中医药大学脊柱病研究所, 上海 200032

4. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210000

摘要: 黄芪是著名的补气中药, 有良好的药用价值。近年来, 黄芪在抗中枢神经损伤、退变等方面的研究取得了较为显著的进展。黄芪及其活性成分具有较好的抗神经炎症、抑制细胞凋亡、促进血管神经修复等多重效应, 其机制可能与调控微观“气性”线粒体功能、恢复细胞代谢紊乱相关。从中枢神经系统的核心病理变化角度, 论述黄芪及其活性成分的药理作用及可能的机制, 梳理黄芪毒理研究现状, 以期黄芪用于中枢神经系统疾病的治疗提供一定的参考。

关键词: 黄芪; 中枢神经系统; 线粒体; 氧化应激; 毒理

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)20-4935-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.034

Review on neuroprotection effect of *Astragali Radix* on central nervous system and related toxicology

ZHOU Long-yun^{1,2,3}, TIAN Zi-rui^{1,3}, LIU Shu-fen^{1,3}, CHEN Xu-qing⁴, CUI Xue-jun^{1,3}, WANG Yong-jun^{1,3}

1. Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

2. Rehabilitation Medicine College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

3. Research Institute of Spine Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

4. Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

Abstract: *Astragali Radix* (AR) is one of the most famous drugs for enhancing Qi in Chinese herbal medicines, and shows satisfactory medicinal value. Recently, AR has made significant progress in research of central nervous system (CNS) injury and neurodegeneration. AR and its active ingredients have satisfactory effects on modulation of nerve inflammation, inhibition of apoptosis, enhancement of vascular repair and neuroregeneration. The mechanism may be related to the regulation of microscopic Qi mitochondrial function and the recovery of cell metabolic disorders. In this article, we systematically discuss the pharmacological effects and possible mechanisms of AR from the perspective of the core pathological changes, and evaluate its drug safety through combing of the related toxicology researches to provide a reference for application of AR in CNS disease treatments.

Key words: *Astragali Radix*; central nervous system; mitochondria; oxidative stress; toxicology

黄芪 *Astragali Radix* 是中药材中著名的补气中药, 其活性成分主要包括多糖类(黄芪多糖)、三萜皂苷类、黄酮类及氨基酸类、微量元素等^[1]。黄芪及其相关临床制剂安全性较高, 且有良好的药用价

值, 目前在心血管、呼吸系统、免疫系统等疾病及肿瘤的临床治疗中有较为广泛的应用, 而其活性成分药效机制的基础研究则不断深入。近年来, 黄芪在抗中枢神经损伤、退变等方面研究亦取得了显著的进

收稿日期: 2018-07-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81704096); 上海市中医慢病(恶性肿瘤、骨退行性病变)临床医学中心重中之重项目(2017ZZ01010)

作者简介: 周龙云, 男, 在读博士生, 主要从事神经退行性疾病中医药防治与研究工作。E-mail: 228970442@qq.com

*通信作者 王拥军, 男, 博士, 主任医师, 教授, 研究员, 博士生导师, 主要从事中医药防治慢性筋骨病临床基础与康复研究工作。

E-mail: yjwang8888@126.com

崔学军, 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事中医药防治慢性筋骨病临床基础与康复研究工作。

E-mail: 13917715524@139.com

#并列第一作者, 田子睿, 男, 在读硕士生, 主要从事神经退行性疾病中医药防治与研究工作。E-mail: 448459437@qq.com

展^[2-4],有望在该领域开展进一步的临床研究。中枢神经疾病发展过程中,继发性损害的扩大与神经再生功能的障碍是其核心问题所在,其中又包括胶质细胞活化、神经细胞丢失、过度氧化应激、能量代谢障碍、再生微环境紊乱等关键病理环节^[5-7]。本文从中枢神经系统的核心病理变化角度,论述黄芪及其活性成分的药理作用,构建可能的系统性效应机制,并结合毒理研究现状分析药物安全性问题,以期对黄芪治疗中枢神经系统疾病的临床转化提供一定的参考。

1 黄芪及其活性成分对中枢神经系统的作用

1.1 抗神经炎症作用

神经炎症为脑梗死、脊髓损伤、帕金森、阿尔茨海默病等诸多神经系统疾病的关键病理机制。其中,小胶质细胞、星形胶质细胞的活化以及血脑、血脊髓屏障损伤后外周免疫细胞的浸润是神经炎症发生、扩大的重要原因^[5,8]。而免疫细胞的异常应答则与 Toll 样受体 (TLR)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、核转录因子- κ B (NF- κ B)、NOD 样受体 P3 (NLRP3) 炎症小体等信号传导机制激活密切相关。

临床随机对照试验表明,常规用药基础上,黄芪注射液能有效降低气虚型急性缺血性脑卒中患者外周血清中白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平,减轻全身炎症反应综合征,改善卒中患者临床症状^[9]。基础研究显示,黄芪注射液能显著抑制自身免疫性脑脊髓炎大鼠中枢神经系统 IL-17、IL-23、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 表达,降低血清中氧自由基量,同时增加损害性细胞凋亡,减少神经组织损伤^[10];通过下调病灶周围组织炎症介质细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 的表达,减轻脑水肿,促进大鼠脑出血后神经功能恢复^[11];有效降低兔自发性蛛网膜下腔出血后脑脊液中炎症因子水平,起到抑制神经炎症、保护神经结构及功能的效应^[12]。

以黄芪多糖与黄芪总苷为主要成分的黄芪提取物,可有效下调局灶性脑缺血大鼠外周血中性粒细胞水平,升高淋巴细胞比率,抑制脑组织 IL-1 β 表达,以调节脑缺血再灌注后的炎症反应^[13-14]。黄芪提取物可通过抑制全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中 NF- κ B p65 活化,降低局部 ICAM-1、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 释放,减少多形核白细胞浸润,以减轻继发性神经损伤^[15-16]。黄芪总苷能保护自身免疫性脑脊髓炎小鼠血脑屏障完整性,抑制星形胶质细胞、小胶质细胞活化,降低中枢神经系统诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、IL-6、 γ -干扰素 (IFN- γ) 等炎症因

子表达,以减少神经系统免疫过激所致的损害^[17-18]。

研究表明,黄芪甲苷可通过稳定大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障致密连接蛋白水平,降低损伤后外周血中性粒细胞 CD11b/CD18 分子及内皮细胞 ICAM-1 的表达,限制血脑屏障通透性的升高,减少中性粒细胞黏附及迁移浸润^[19];抑制 TLR4、NF- κ B、NLRP3 炎症小体过度激活,调控脑缺血再灌注损伤状态下胶质细胞功能,以减轻神经组织炎症,保护损伤模型认知及运动功能^[2]。黄芪多糖能抑制脑星形胶质细胞的增生、小胶质细胞的活化,减轻大脑神经炎症,改善代谢应激所致肥胖糖尿病小鼠的运动功能^[20]。而毛蕊异黄酮则可通过蛋白激酶 C (PKC) 信号通路,激活核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2),下调自发性阿尔茨海默病小鼠脑组织中炎症因子水平,减轻小鼠认识功能损害^[21]。

综上,黄芪制剂及其活性成分可通过调控 TLR、MAPK、NF- κ B、NLRP3 炎症小体等信号分子,抑制外周、中枢免疫细胞活化,减轻炎症因子刺激下神经元损伤及血脑、脊髓屏障完整性的破坏。而血脑、血脊髓屏障功能的稳定,则有利于限制外周免疫细胞的中枢募集和过激免疫应答的进一步缓解,以呈现抗神经炎症的级联保护效应。

1.2 抗细胞凋亡作用

神经继发性损伤过程中,神经元等凋亡、立体网络结构的破坏是导致神经功能急剧下降、病情迅速恶化的重要因素。其涉及细胞色素 C (Cyt C) 大量释放、内质网应激、Ca²⁺超载、Caspase 家族蛋白过度活化、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) /Bax 失调等微观病理改变,共同调控细胞生命活动。

研究表明,糖尿病脑病大鼠海马区乙酰胆碱酯酶 (AChE)、Caspase-3 表达的上升可导致神经元大量凋亡及相关功能减退,而黄芪注射液则能显著降低 AChE、Caspase-3 水平,减少神经元凋亡,以改善糖尿病大鼠学习记忆功能^[22]。在缺血再灌注损伤中,黄芪注射液可抑制海马区 c-Jun 氨基末端激酶 3 (JNK3) 表达,提高海马及脑皮质区 Bcl-2、血管内皮生长因子 (VEGF) 及其受体水平,以促进神经元存活,改善神经功能的缺失^[23-26]。颅脑出血方面,黄芪注射液可减少早期脑出血灶周围神经元线粒体 Cyt C 释放,提高 Ca²⁺、Mg²⁺-ATP 酶活性,减缓细胞内钙离子聚集和线粒体跨膜电位的下降,通过调控线粒体功能抑制神经元早期凋亡信号的转导^[27]。此外,黄芪注射液亦能促进视神经损伤大鼠视网膜

组织中神经生长因子 (NGF) 表达, 增强其与高亲和力受体酪氨酸激酶 (TrkA) 结合效力, 抑制 NGF 结合低亲和力受体神经营养素受体 p75 (p75NTR) 所介导的神经细胞凋亡, 提高视神经元的抗损伤能力^[28]。

黄芪乙醇提取物可减轻大鼠脑缺血再灌注损伤导致的线粒体肿胀, 减少线粒体 Cyt C 外漏, 下调 Cyt C、Cyp D、P53、Bax 表达, 以缩小梗死体积^[29]。黄芪水提醇沉提取物能降低外周神经神经丝蛋白 H (NF-H) 磷酸化水平、转录激活因子 3 (ATF-3) 表达, 下调神经组织 Nrf2、醌氧化还原酶 1 (NQO1) mRNA 水平, 减轻化疗药物介导的神经毒性^[30]。黄芪总提取物可通过调节 JNK 信号通路, 增强 Na⁺、K⁺-ATP 酶活性, 改善线粒体能量代谢, 以抑制脑缺血再灌注损伤小鼠线粒体功能紊乱介导的细胞凋亡^[31-32]。而黄芪总苷则能增强 NGF、脑源性神经营养因子 (BDNF) 及其高亲和力受体 TrkA、TrkB 的表达, 降低亲和力受体 p75NTR 水平, 促进细胞外调节蛋白激酶 (ERK)、蛋白激酶 B (Akt/PKB) 分子磷酸化, 以抑制神经元凋亡^[33]; 下调海马区 Cyt C、Caspase-3 表达水平, 减轻地塞米松和 β -淀粉样蛋白 (A β) 诱导的阿尔茨海默病大鼠神经元的丢失及学习记忆能力的削弱^[34]。

研究显示, 通过激活 Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路, 黄芪甲苷能提高 LC3-II、Beclin-1、Atg5 和溶酶体关联膜蛋白 2 (LAMP2) 等自噬相关蛋白水平, 促进 Bcl-2 分子表达^[35]; 升高线粒体凋亡途径抑制蛋白 Livin 水平, 降低 Caspase-3、Caspase-9 含量, 以减轻脑缺血再灌注损伤后细胞结构破坏、坏死及凋亡, 降低损伤大鼠脑梗死面积^[36]。黄芪多糖可促进脑组织神经元热休克蛋白 (HSP70)、PKB、神经细胞黏附分子 (NCAM) 及转录因子 c-Fos 表达, 下调 P53 分子水平, 抑制脑缺血再灌注所致的神经元凋亡^[37-39]。而芒柄花黄素则能通过促进缺血再灌注损伤后大鼠神经细胞的存活, 以改善神经功能的损伤^[40]。

综上, 黄芪制剂及其活性成分可通过抑制 p75NTR、JNK、Cyt C、Caspase-3 等凋亡诱导分子水平, 提高保护性蛋白表达, 改善线粒体功能及代谢, 发挥抗神经损伤、凋亡作用。

1.3 抗氧化应激作用

氧化应激指机体受到损伤性刺激时, 细胞内部线粒体、内质网功能紊乱致活性氧自由基 (ROS) 和活性氮自由基 (RNS) 产生过多, 氧化系统和抗

氧化系统失衡, 从而导致氧化产物堆积、还原酶活性降低, DNA/RNA、蛋白、脂质过氧化和组织损伤的病理状态。大量研究结果证实, 氧化应激参与了神经损伤、退行性病变的发展过程, 与神经炎症、坏死、凋亡、胶质增生、再生功能障碍等密切相关, 成为联系各病理环节的中心要素之一^[41-44]。

研究表明, 围产期窒息能引起仔鼠大脑生成大量 ROS, 抗氧化酶类物质水平降低, 导致氧化、抗氧化系统平衡破坏。黄芪注射液则能调节丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 等水平, 降低 ROS 对神经细胞的损伤, 提高围产期窒息仔鼠神经元存活率^[45]。黄芪甲醇提取物可通过改善线粒体复合体活性, 恢复其跨膜电位, 抑制戊四唑诱导的癫痫小鼠脑组织中脂质过氧化、蛋白氧化反应、ROS 生成, 以发挥抗惊厥作用^[46]。黄芪总苷能有效下调 ROS 水平, 提高 SOD 活性, 抑制自身免疫性脑脊髓炎过程中过度氧化应激改变^[18]。而黄芪甲苷联合芒柄花黄素配伍丹参有效成分, 可下调心理应激大鼠脑组织中 MDA、ROS 水平, 升高总抗氧化能力 (TAC) 及 GSH、SOD、过氧化氢酶 (CAT) 水平, 改善氧化应激所致的脑损伤及其引发的神经炎症^[47]。

黄芪甲苷能调节线粒体渗透性转变、膜电位下降及 ROS 生成, 提高脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT 活性, 抑制 NF- κ B 转位、Bcl-2 水平的下调及 Caspase-3 活化, 减轻大鼠局灶性缺血再灌注及蛛网膜下出血等所致的神经损伤^[4,48-50]。其与三七活性成分配伍, 则能激活 Keap1/Nrf2/血红素加氧酶 1 (HO-1) 信号转导机制, 促进 Nrf2 合成、核转位及下游抗氧化基因 HO-1 等表达, 调控脑组织中 MDA、一氧化氮 (NO)、SOD、GSH 水平, 介导抗氧化应激效应^[51-52]; 抑制 JAK/信号传导及转录激活因子 (STAT) 信号通路活化和增强脑组织葡萄糖转运分子 (GLUT3) 表达, 促进脑组织对葡萄糖的利用, 增强神经细胞的缺氧耐受性, 以对抗脑组织氧化应激损伤^[53]。此外, 黄芪多糖可有效清除 Fe²⁺ 诱导内生的 ROS, 抑制线粒体通透性升高, 提高 SOD、CAT 等活性, 保护线粒体生理功能^[54]。毛蕊异黄酮可通过激活 PKC/Nrf2 途径, 抑制阿尔茨海默病小鼠脑组织中 MDA、GSH 活性, 抵抗氧化应激损伤, 保护小鼠神经认知功能^[21]。

线粒体功能紊乱是细胞氧化应激的主要原因, 为系统复杂病理变化的关键内在原因之一^[41,44-55]。

黄芪对神经病理变化的多重调节效应可能与保护线粒体功能,改善氧化应激密切相关。作为能量、代谢中心,线粒体构成了细胞内在“气、阳”的象征^[56-58]。黄芪通过对微观“气性”线粒体功能的保护,梳理线粒体管状网络的“滞乱”,以减轻氧化应激应答^[4,46,59],进而调节系列神经病理变化,可能是其宏观调气作用新的科学内涵。

1.4 重建微循环作用

血管退化与衰老、骨代谢疾病、心血管疾病、神经系统疾病等密切相关。毛细血管的变形、血管网的改变与破坏、微循环功能的障碍是脊髓型颈椎病、脑梗死、阿尔茨海默病、帕金森等病程中重要的病理改变。而微循环的障碍则能进一步加剧局部缺血缺氧变化,引起局部氧化应激反应、固有及外周免疫细胞的活化、神经炎症的发生、神经元的坏死与凋亡。因此,如何促进损失血管的再生,血管网的重建,恢复微循环的畅通,是寻求神经系统疾病有效干预手段的重要研究方向。

研究显示,黄芪注射液能抑制脑缺血再灌注损伤后 ICAM-1 表达的升高,保护血管内皮细胞^[60];激活缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)/VEGF 信号转导通路,提高脑缺血再灌注损伤大鼠皮质微血管密度,促进脑内血管的新生^[61];并能增加颅脑创伤后局部脑皮质血流速度,减轻蛛网膜下腔出血后血管痉挛,减少血管内皮素合成与释放,改善局部供血^[12,62]。以黄芪总苷、黄芪多糖为主的黄芪提取物,则可降低血管 ICAM-1 表达,保护血管内皮及血脑屏障完整性,以抑制外周免疫细胞的渗入,减轻脑缺血再灌注损伤后外周免疫的应答及引起的炎症级联效应^[12]。而黄芪甲苷可有效增加脑缺血再灌注损伤后脑组织 VEGF 蛋白表达,促进脑微血管的新生^[63];联合骨髓间充质干细胞移植脑缺血再灌注损伤大鼠模型,则能上调脑缺血区基质细胞衍生因子(SDF-1)表达,促进移植骨髓间充质干细胞迁移和存活,进一步提高梗死区血管内皮细胞数量及微血管密度,促进血管再生^[64]。

促进损伤血管网的功能性再生重建是神经退行性疾病等研究中的难点。目前中医药在这一方面研究尚不深入,而能有效调控血管功能的药物报道亦不多见,黄芪及其活性成分则已在该领域崭露头角。

1.5 促神经修复作用

神经修复与再生是神经损伤后功能恢复的关键,其由神经元轴突再生长、髓鞘结构的重建、神

经干细胞向神经元分化等多种细胞活动组成,受神经炎症、胶质瘢痕生成、凋亡细胞碎片堆积等影响,涉及小胶质细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞、神经干细胞等复合因素,与 BDNF、NGF、PKC、Rho/ROCK、cAMP/PKA、ERK、Notch 等信号通路或分子密切相关。

研究表明,NGF/TrkA、BDNF/TrkB 对生理病理状态下神经的可塑性、修复再生等具有重要调控作用,黄芪总苷则能通过升高脑缺血再灌注损伤后 NGF、BDNF、TrkA、TrkB 水平,并降低 p75NTR 水平,以介导损伤后神经结构及功能的重塑^[33]。而黄芪甲苷可显著上调 NGF mRNA 表达,增加短暂性前脑缺血模型大鼠海马 DG 区 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)/人微管相关蛋白 2 (MAP-2) 双阳性细胞数量,促进海马区神经干细胞增殖及神经元方向分化^[65];上调视神经损伤大鼠视网膜组织中 NGF 与其高亲和力受体 TrkA 的表达,提高 NF- κ B 转录水平,促进视神经修复^[28];联合脂肪源性干细胞移植坐骨神经缺损大鼠模型,则能显著提高损伤坐骨神经神经传导速度及波幅,缩短潜伏期,促进大鼠神经再生和运动功能恢复^[66]。

综上,黄芪及其活性成分可通过调节 VEGF、BDNF/TrkB、NGF 等分子促进血管、神经再生与修复,这可能是其扶正益气之效另一角度或层面的解答。但目前关于黄芪促进神经修复再生的研究涉及面尚窄,机制探索亦不深入,仍有待后续研究的跟进。

2 黄芪及其活性成分毒理研究

黄芪制剂及活性成分药物毒性较低,其药用安全性在临床及基础研究中亦得到较为明确的验证。近年来,有关黄芪肝肾毒性、不良反应、致死剂量等研究亦在进一步开展,以全面评估其安全性,更好地在临床上进行推广。

黄芪煎剂急性毒性研究表明,小鼠一次性 ig 黄芪煎剂的半数致死浓度(LD₅₀)为生药量 40 g/kg,而分别以 75 g/kg 和 100 g/kg 药液给药,48 h 内亦无明显不良反应发生^[67]。刘阳等^[68]以生药量 180、90、45 g/kg 黄芪煎剂连续 ig Wistar 大鼠 90 d,停药后 1、30 d 分别处死大鼠,测量体质量,检测血、尿常规和血生化指标,测定主要脏器质量系数并做病理组织学检查,以评估黄芪煎剂的长期毒性。结果显示,除停药 1 d 后高剂量组大鼠 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)高于对照组外,其他各项生化指标与对照组比较均无显著性差异。高剂量组停药 1 d 后有 8

只大鼠胃黏膜呈现糜烂性损伤并散在点状出血点,光镜组织学检查为炎性改变。另2只大鼠胃黏膜正常。停药30 d后高剂量组有6只大鼠胃黏膜出现糜烂性损伤,但范围较小,程度较轻,且未见明显出血点。研究总体提示黄芪煎剂安全性较高,可较大剂量长期服用。韩蓉等^[69]测定了黄芪注射液对昆明种小鼠的急性毒性。结果表明,黄芪注射液iv和ip小鼠的LD₅₀分别为90.39、108.11 g/kg,其95%可信限分别为87.57~93.31、102.90~113.58 g/kg。陈莹等^[70]ip给予大鼠黄芪注射液20.00、6.67、2.22 g/kg,连续给药60 d,发现大剂量黄芪注射液除可引起大鼠体质量增加,血红蛋白、白细胞总数和血糖水平升高,凝血时间加快外,无其他明显异常。且上述变化呈可逆性,停药20 d后即自动恢复,亦未见滞后性毒性反应。注射用黄芪冻干粉安全性和急性毒性实验结果表明,其无明显的促溶血、致敏效应,对肌肉、静脉血管无明显刺激作用;小鼠以200 g/kg iv及400 g/kg(相当于临床日用量0.57 g/kg的700倍)ip给药后均未出现致死现象,解剖亦未见明显脏器异常改变^[71]。而在注射用黄芪冻干粉长期毒性研究中,大鼠、比格犬分别以39.9、19.95 g/kg连续给药13周,各组动物于给药期及停药恢复期后一般情况、体质量增长、进食量、血液学指标、血生化指标、脏器系数及病理组织学变化等与对照组比较均无统计学差异^[72]。尽管上述研究均提示黄芪煎液及其相关临床制剂大剂量给药急性、长期毒性较低,对脏器功能、生理参数等影响较小,但亦有部分学者对其“无毒性”提出一定异议。丁伯良等^[73]在小鼠日粮中添加不同比例的膜荚黄芪茎叶粉饲养小鼠发现,日粮中搭配较低比例(≤10%)黄芪茎叶粉时,其不表现出明显的毒性;当搭配达20%时,小鼠会出现类似疯草中毒典型病变,病理表现为肝、肾、肺、脑等器官充血,实质细胞变性、坏死,严重者神经系统功能失常、四肢麻痹,最后在极度抑制状态下死亡;搭配至50%时,小鼠于饲养几天内便全部死亡。另一项体外研究^[74]则显示,在引入肝微粒体酶系统前提下,黄芪煎剂经培养液稀释后在生药量0.1 mg/mL质量浓度即对中国仓鼠肺成纤维细胞姐妹染色体互换具有明显影响;0.55 mg/mL时可致人淋巴细胞姐妹染色体互换计数增加,与对照组相比具有统计学意义;以黄芪煎液ig小鼠,5 mg/g剂量时,骨髓多染红细胞微核细胞率即高于对照组,且其随剂量增加而逐步升高。综上,

虽然黄芪煎剂及相关临床制剂药物安全性较高,但大剂量长期服用可能会导致一定的脏器毒性,且伴有致突变风险。其致突变风险可能是其中含有的生物碱、蒽醌衍生物等所致,亦或与其含有砷、汞、镉、铅等有害元素有关^[75-76]。因此,大剂量长期服用黄芪药物制剂有一定潜在危害,肝肾功能欠佳者、老人及孕妇等更应注意。

田辉等^[77]对以黄芪水提物为主要成分的复方制剂安全性进行测定,结果显示,小鼠急性经口实验最大耐受剂量>22 g/kg(相当于人推荐日摄入量的100倍);以人推荐剂量50倍ig给药,小鼠骨髓嗜多染性成红细胞微核实验、小鼠精子畸形实验结果均为阴性;以人推荐剂量100倍ig大鼠30 d,其一般表现、行为、死亡率、体质量、进食量和食物利用率、血常规、血液生化指标、脏器系数以及病理组织学等未见明显异常。在以黄芪多糖及黄芪皂苷为主要成分黄芪提取物的亚慢性毒性研究中,大鼠、比格犬分别以5.7~39.9、2.85~19.95 g/kg经ip或iv连续给药3个月,亦未见明显毒性反应,该剂量相当于人临床推荐剂量(0.57 g/kg)的70或35倍^[78]。中药提取液中含有微量的重金属离子,可能具有一定的致突变毒性。但谷鸣等^[79]研究显示,ig给予小鼠铅含量为2.71 μg/g的黄芪水提物混悬液,其急性毒性实验最大耐受量为30 g/kg(铅摄入量为81.3 g/kg),相当药材105 g/kg,约为临床用高剂量的210倍。该剂量下小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率与阴性对照组比较无统计学差异。王沙沙等^[80]对黄芪总黄酮急性毒性和致突变性作用研究表明黄芪总黄酮的小鼠急性经口最大耐受剂量大于15 g/kg,以10、5、2.5 g/kg剂量连续给药后小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验和小鼠精子畸形实验结果均为阴性。综上,黄芪水提物、黄芪总黄酮等药物安全性较好,诱变性作用较小,且水提物中部分微量重金属元素毒性亦不明显,其可能与黄芪本身活性成分具有抗重金属介导的毒性机制相关。

王庭祥等^[81]和昭日格图等^[82]对黄芪多糖的急性毒性、致突变性进行研究。结果表明,小鼠对黄芪多糖最大耐受量>15 g/kg(相当于人推荐剂量的300倍);2.5、5、10 g/kg黄芪多糖对小鼠骨髓细胞微核率、精子畸形率均无明显影响;Ames实验中1、2、3、4、5 mg/皿剂量药物在加和不加肝微粒条件下回变菌落数均未超过对照组回变菌落数的2倍。大鼠30 d喂养实验中,给予2.5、5.0、7.5 g/kg剂

量的黄芪多糖后,大鼠生长发育良好,血液及生化指标,肝、肾、胃、肠病理学检测均未见明显异常。刘润珍等^[83]以最大可注射剂量(6.22 g/kg)的黄芪多糖注射液对小鼠进行急性毒性实验,结果显示小鼠除个别一过性稀便、背毛逆立潮湿、脾脏显著增大外,其余一般情况、脏器解剖均无明显异常。亚慢性毒性实验中,小鼠以200、400、800 mg/kg剂量im给药,每日1次,持续给药14 d,3组动物一般情况、脏器病理检查均为阴性。刘家国等^[84]对黄芪多糖等10种天然药物成分在体外鸡胚成纤维细胞培养中最大安全质量浓度进行了测定。研究表明,黄芪多糖最大安全质量浓度为1 562.5 µg/mL,其安全质量浓度最大、毒性最低。黄芪黄酮、黄芪总苷最大安全质量浓度均为195.313 µg/mL,毒性位于10者中间。上述研究均表明,黄芪多糖安全性良好,单次耐受剂量及长期大剂量服用均无明显副作用,属无毒物范畴,但亦有研究提示其高剂量的毒性风险。吴旋等^[85]研究了4种常用水产动物中药添加剂对金丝鱼胁迫的响应变化发现,黄芪多糖对金丝鱼24、48、72、96 h的LC₅₀依次为2 938.05、2 673.40、2 520.18、2 394.89 mg/L,其安全质量浓度为239.49 mg/L。金丝鱼中毒初时表现为烦躁不安、渐行动迟缓、对外界刺激不敏感,后腹部朝上死亡、胸鳍张开、眼睛突出、腮丝充血、体色苍白、体表分泌大量黏液。综上,黄芪多糖药物急、慢性毒性很低,不同毒性反应可能与物种间差异相关,但目前黄芪多糖的毒性主要在小鼠等动物中证实,在后续人体研究中仍需谨慎。

黄芪甲苷急性毒性和致突变性研究显示,雌、雄小鼠的急性经口最大耐受剂量均大于15 g/kg。Ames实验中,无论是否加入肝微粒体,0.008~5.000 mg/皿黄芪甲苷对回变菌落数与自发回变菌落数无明显影响,且未呈现出剂量依赖性。同时,5.000 mg/kg黄芪甲苷连续ig 5 d,小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验和小鼠精子畸形率与对照组相比亦无明显差异^[86]。朱江波等^[87]和朱玉平等^[88]研究了黄芪甲苷对SD大鼠、兔发育的影响。研究表明,黄芪甲苷在0.5、1.0、2.0 mg/kg剂量下对新西兰兔孕期增质量、黄体数和着床率及胎兔发育情况无明显影响,但各受试剂量下活胎率与对照组比较有显著差异。母鼠在1.0 mg/kg剂量时增质量、活胎率和死胎率与对照组比较有显著差异;0.25、0.5 mg/kg剂量组胎鼠体质量和胎盘质量略低于对照组,但无明显剂

量依赖性。各受试剂量对胎鼠身长及骨骼、内脏发育等无明显影响。黄芪甲苷在1.0 mg/kg剂量时对SD大鼠有母体毒性,对新西兰兔和SD大鼠均有一定的胚胎毒性。综上,虽黄芪甲苷安全性较好,无明显致突变、致畸作用,但高剂量药物可能对胚胎及怀孕母体有一定毒性,提示怀孕者接受含黄芪甲苷药物治疗时需要注意其剂量问题。此外,黄芪甲苷在SD大鼠、比格犬体内药动学研究显示,黄芪甲苷与白蛋白结合率约90%,质量浓度为250~1 000 ng/mL,代谢清除率为0.004~0.005 L/(kg·min),提示其在动物体内消除较慢,容易蓄积残留,对老年受试者或肝肾代谢能力降低、脏器功能减退者,可能更易引起中毒与过敏反应^[89-90]。

除黄芪多糖、黄芪甲苷毒理研究外,近年一些黄芪成分如环黄芪醇毒理研究亦得到初步开展,研究表明,150 mg/kg环黄芪醇连续ig 91 d对SD大鼠一般情况、血常规、血生化、脏器质量系数均无明显影响,Ames实验、外周红细胞微核实验及小鼠精子畸形率实验均为阴性^[91]。

综上,不论从相关临床制剂、提取物或单体层面,黄芪均显示出较低的急性、长期毒性,其药物安全性相对较高,短期较大剂量服用风险系数较低,但大剂量长期服用则可能出现一定脏器毒性、致突变效应及生殖发育毒性。肝肾功能不良、脏器功能减退、孕妇等长期服用尤其需要谨慎。

3 结语

中枢神经系统损伤或退行性病变是临床常见而复杂的疾病,迄今尚缺少相关措施以有效控制疾病的发展与恶化。近年来,中医药在该领域的防治研究中有一定的进展,其中黄芪及其活性成分在抗神经损伤、保护神经功能等方面呈现较好的疗效。本文首次从神经系统病变的核心病理变化展开,对黄芪的神经保护效应及相关机制进行综述,为中医药治疗神经系统病变的基础及临床研究提供一定思路。

黄芪是中药材中著名的补气、和正之品,但其益气扶正之能的科学内涵或微观分子机制并不明确。微观环境并非单一因素框架,而是诸多细微分子、物质等构成的有机网络体系。细胞作为微观环境下“五脏齐备的小人”,能量之源线粒体则成为其内在“气”“阳”的象征^[56-58]。那么,黄芪调控中枢神经病理变化是否又与此相关?近年,多项研究均详细阐述了线粒体功能紊乱所致的氧化应激、能量代谢障碍等在中枢系统疾病发展中的重要地位^[92-95],

其或成为了连接神经炎症、神经细胞凋亡、胶质细胞增生、离子平衡紊乱、神经再生障碍等各部分的中心环节。黄芪及其活性成分亦证明对线粒体诸多功能具有明确调控作用^[41-42,44-55]，具有抗神经炎症、抑制神经细胞凋亡、抗氧化应激、促进神经的修复与再生等多重效应。鉴于线粒体氧化应激的“中心性”效应，推测黄芪及活性成分所调节的神经病理变化并非孤立的，而是相互关联的整体网络。其可能通过保护线粒体正常代谢，稳定其生理功能，抑制过度氧化应激应答，以调控下游炎性、凋亡相关信号分子，构建抵抗神经损伤有机体系。抑或调控上游炎性、再生相关信号转导，激活线粒体保护性分子途径，稳定线粒体功能，进一步限制神经炎症，促进神经修复等（图 1）。但鉴于已有研究的有限性，

目前尚难以围绕抗氧化应激论证黄芪通过保护线粒体功能调控各病理变化的系统机制。另一方面，线粒体不仅是传统认识上的能量供应中心，作为一个动态管状网络结构，其分裂/融合平衡、空间偶联平衡、移动/静止平衡、内部 DNA 稳定、 Ca^{2+} 内流稳态等生理变化^[96-98]，调节细胞各种复杂生命活动。那么黄芪及其活性成分究竟通过哪一环节发挥线粒体保护效应亦值得进一步思考及深入研究。总之，黄芪益气之能是一个抽象复杂概念，对微观线粒体功能的保护、梳理线粒体管状网络的“滞乱”可能是其宏观概念的某一层面体现，其较传统认识上的促进神经修复与再生等更进一步细化、深刻其内涵，可能成为中医药防治中枢神经系统疾病科学内涵新的补充。

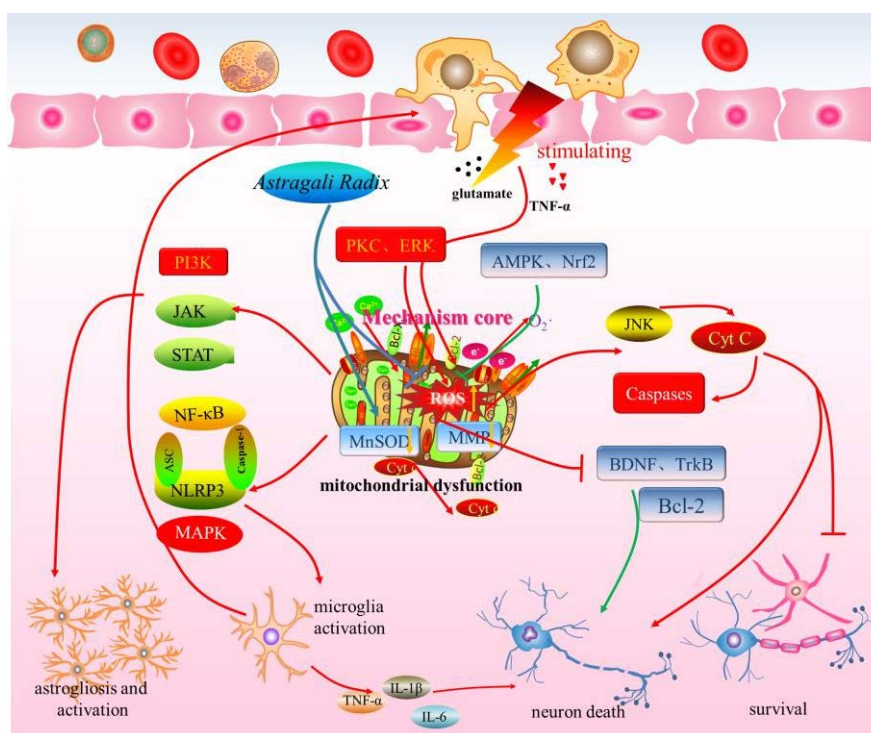


图 1 黄芪及其活性成分神经保护效应系统机制构想

Fig. 1 Potentially systematic mechanism of neuroprotective effect mediated by *Astragali Radix* and its active ingredients

综上，黄芪及部分活性成分具有较好的抗神经炎症、抑制细胞凋亡、促进血管神经修复再生等多重效应，且药用安全性较高。其可能通过调控微观“气性”线粒体功能，抵抗细胞能量、代谢紊乱，以构建多重神经保护效应网络机制。但鉴于黄芪及其活性成分的复杂性，其神经保护效应的分子机制尚不明确，且现有研究多局限于动物实验，缺乏黄芪有效成分中枢神经系统分布的药动力学研究，其结果是否适用于人体尚

缺少高质量的临床证据支持，还有待进一步证实。

参考文献

- [1] 刘傲雪, 王晶娟, 张贵君, 等. 基于大鼠体内多成分代谢的黄芪质控成分遴选 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(2): 216-222.
- [2] Li M, Li H, Fang F, et al. Astragaloside IV attenuates cognitive impairments induced by transient cerebral ischemia and reperfusion in mice via anti-inflammatory mechanisms [J]. *Neurosci Lett*, 2017, doi: 10.1016/j.

- neulet.2016.12.046.
- [3] Zhou L, Song Z, Zhou L, *et al.* Protective role of astragalus injection in spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Neurosciences*, 2018, 23(2): 116-121.
- [4] Sun Q, Jia N, Wang W, *et al.* Protective effects of astragaloside IV against amyloid beta1-42 neurotoxicity by inhibiting the mitochondrial permeability transition pore opening [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98866.
- [5] Tran A P, Warren P M, Silver J. The biology of regeneration failure and success after spinal cord injury [J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(2): 881-917.
- [6] Duris K, Splichal Z, Jurajda M. The role of inflammatory response in stroke associated programmed cell death [J]. *Curr Neuroparmacol*, 2018, doi: 10.2174/1570159X1-6666180222155833.
- [7] Pérez M J, Jara C, Quintanilla R A. Contribution of Tau pathology to mitochondrial impairment in neurodegeneration [J]. *Front Neurosci*, 2018, doi: 10.3389/fnins.2018.00441.
- [8] Kjell J, Olson L. Rat models of spinal cord injury: From pathology to potential therapies [J]. *Dis Model Mech*, 2016, 9(10): 1125-1137.
- [9] 张宏业, 邓庆平, 蔡桦杨, 等. 益气活血法对急性缺血性脑卒中并发全身炎症反应综合征患者炎症介质的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(3): 222-224.
- [10] 苏 净. 黄芪注射液治疗多发性硬化的神经保护机制研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2009.
- [11] 王登科, 谢浩平, 戴新文, 等. 黄芪注射液对脑出血后大鼠脑组织含水量及炎症介质 ICAM-1 的影响 [J]. 青海医学院学报, 2014, 35(4): 247-250.
- [12] 林 冬. 黄芪注射液对兔 SAH 后 CVS 的治疗及机制研究 [D]. 荆州: 长江大学, 2013.
- [13] 黄茸茸. 黄芪提取物对大鼠局脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2006.
- [14] 黄茸茸, 明 亮, 曹 曦, 等. 黄芪提取物对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤炎症反应的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2005, 40(6): 22-25.
- [15] 李 静. 黄芪提取物对大鼠全脑缺血再灌注后炎症损伤的作用及机理研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2006.
- [16] 王绍斌. 黄芪提取物对局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2004.
- [17] 贺一新, 高 艳, 吴晓俊, 等. 黄芪皂苷对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠的干预作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(3): 421.
- [18] He Y X, Du M, Shi H L, *et al.* Astragalosides from *Radix Astragali* benefits experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice at multiple levels [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-313.
- [19] 李 敏. 黄芪甲苷对大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障及脑的保护作用机制研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2012.
- [20] Huang Y C, Tsay H J, Lu M K, *et al.* Astragalus membranaceus-polysaccharides ameliorates obesity, hepatic steatosis, neuroinflammation and cognition impairment without affecting amyloid deposition in metabolically stressed APPswe/PS1dE9 mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, doi: 10.3390/ijms18122746.
- [21] 高 键. 毛蕊异黄酮通过 PKC/Nrf2 途径减轻 APP/PS1 小鼠认知功能损害的机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [22] 李虎虎, 魏 冰, 曾文赞, 等. 黄芪注射液抑制糖尿病大鼠海马神经元凋亡的机制研究 [J]. 天津中医药, 2017, 34(12): 836-840.
- [23] 曲友直, 赵燕玲, 秦怀洲, 等. 黄芪注射液对脑缺血再灌注后的神经细胞凋亡及相关基因表达的影响 [J]. 神经疾病与精神卫生, 2007, 7(1): 13-15.
- [24] Liu G, Song J, Guo Y, *et al.* Astragalus injection protects cerebral ischemic injury by inhibiting neuronal apoptosis and the expression of JNK3 after cerebral ischemia reperfusion in rats [J]. *Behav Brain Funct*, 2013, doi: 10.1186/1744-9081-9-36.
- [25] 黄 惠, 王 岭, 李 艳, 等. 黄芪注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用研究 [J]. 卒中与神经疾病, 2014, 21(1): 19-22.
- [26] 李 艳, 房 雷, 黄 惠, 等. 黄芪注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤后 JNK3 基因表达的影响 [J]. 中国医药指南, 2014, 12(18): 1-2.
- [27] 孙 征. 黄芪注射液对大鼠脑出血灶周围神经元线粒体功能保护作用的研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2011.
- [28] 谷新怡. 黄芪视神经保护的实验和临床研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [29] 孙念霞. 黄芪提取物对脑缺血再灌注大鼠线粒体功能的影响 [D]. 承德: 承德医学院, 2014.
- [30] Di Cesare Mannelli L, Pacini A, Micheli L, *et al.* *Astragali Radix*: Could it be an adjuvant for oxaliplatin-induced neuropathy? [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/srep42021.
- [31] Huang X P, Tan H, Chen B Y, *et al.* Astragalus extract alleviates nerve injury after cerebral ischemia by improving energy metabolism and inhibiting apoptosis [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(4): 449-454.
- [32] Huang X P, Tan H, Chen B Y, *et al.* Combination of total *Astragalus* extract and total *Panax notoginseng* saponins strengthened the protective effects on brain damage through improving energy metabolism and inhibiting apoptosis after cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(6): 445-452.
- [33] 尹艳艳. 黄芪总苷对脑缺血/再灌注损伤的保护作用及其作用机制研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2008.
- [34] 李维祖. 黄芪总苷对糖皮质激素和 β -淀粉样蛋白协同诱导神经元损伤的保护作用及其机制研究 [D]. 合肥:

- 安徽医科大学, 2010.
- [35] 史楠, 张燕, 李晋峰, 等. 黄芪甲苷通过 AKT-mTOR 信号通路促进脑缺血的自噬改善脑缺血再灌注损伤 [J]. 中国临床神经科学, 2017, 25(6): 601-612.
- [36] 王莹, 李文媛, 李明秋, 等. 黄芪皂甙 IV 对大鼠脑缺血/再灌注损伤海马神经元凋亡及 Livin、Caspase-9、Caspase-3 表达的影响 [J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27(6): 904-906.
- [37] 颜玲, 黄德彬, 刘锦红, 等. 黄芪多糖对脑缺血再灌注大鼠脑皮质中 HSP70、PKB 和 P53 蛋白表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(9): 1610-1617.
- [38] 颜玲, 周庆华. 黄芪多糖对缺血性脑损伤大鼠的神经保护作用及其机制研究 [J]. 中国应用生理学杂志, 2012, 28(4): 373-377.
- [39] 王琰, 马兴铭, 苏韫. 黄芪多糖对脑缺血再灌注大鼠脑组织 Caspase-3 表达及形态学的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2015, 50(3): 49-53.
- [40] Zhu H, Zou L, Tian J, *et al.* Protective effects of sulphonated formononetin in a rat model of cerebral ischemia and reperfusion injury [J]. *Planta Med*, 2014, 80(4): 262-268.
- [41] Liu L, Zhang K, Sandoval H, *et al.* Glial lipid droplets and ROS induced by mitochondrial defects promote neurodegeneration [J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 177-190.
- [42] Singh N, Lawana V, Luo J, *et al.* Organophosphate pesticide chlorpyrifos impairs STAT1 signaling to induce dopaminergic neurotoxicity: Implications for mitochondria mediated oxidative stress signaling events [J]. *Neurobiol Dis*, 2018, doi: 10.1016/j.nbd.2018.05.019.
- [43] Liu F T, Xu S M, Xiang Z H, *et al.* Molecular hydrogen suppresses reactive astrogliosis related to oxidative injury during spinal cord injury in rats [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(8): 778-786.
- [44] Fan L F, He P Y, Peng Y C, *et al.* Mdivi-1 ameliorates early brain injury after subarachnoid hemorrhage via the suppression of inflammation-related blood-brain barrier disruption and endoplasmic reticulum stress-based apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.003.
- [45] 苏春宏, 孙雯, 毛丽丽, 等. 黄芪注射液对降低围产期窒息鼠海马神经元氧化应激损伤的研究 [J]. 中华产科急救电子杂志, 2016, 5(2): 114-117.
- [46] Aldarma J, Liu Z, Long J, *et al.* Anti-convulsant effect and mechanism of *Astragalus mongholicus* extract *in vitro* and *in vivo*: Protection against oxidative damage and mitochondrial dysfunction [J]. *Neurochem Res*, 2010, 35(1): 33-41.
- [47] Kim H, Lee J, Choi M, *et al.* Ethanolic extract of *Astragali Radix* and *Salviae Radix* prohibits oxidative brain injury by psycho-emotional stress in whisker removal rat model [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e98329.
- [48] 卢岚英, 李敏, 谢军. 黄芪甲苷对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 药学服务与研究, 2017, 17(5): 392-396.
- [49] 杨龙, 韩冬. 黄芪甲苷对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠氧化应激的影响 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(5): 799-803.
- [50] Shao A, Guo S, Tu S, *et al.* Astragaloside IV alleviates early brain injury following experimental subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *Int J Med Sci*, 2014, 11(10): 1073-1081.
- [51] Huang X P, Qiu Y Y, Wang B, *et al.* Effects of astragaloside IV combined with the active components of *Panax notoginseng* on oxidative stress injury and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1 signaling pathway after cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. *Pharmacogn Mag*, 2014, 10(40): 402-409.
- [52] 邱咏园. 黄芪和三七的四种有效成分配伍对小鼠脑缺血再灌注后氧化应激的影响及信号转导机制的研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
- [53] 王蓓. 黄芪和三七主要成分抗脑缺血的配伍及对能量代谢和 JAK/STAT 信号通路的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
- [54] Li X T, Zhang Y K, Kuang H X, *et al.* Mitochondrial protection and anti-aging activity of *Astragalus polysaccharides* and their potential mechanism [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 1747-1761.
- [55] Lin M T, Beal M F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *Nature*, 2006, 443(7113): 787-795.
- [56] 张茂林, 张六通, 邱幸凡, 等. 论线粒体与中医“气”的关系 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(4): 60-61.
- [57] 林飞, 郭丽丽, 王阶. 基于线粒体的功能阐释中医“气”的作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(8): 903-906.
- [58] 林飞, 奚肇庆, 谢劲松, 等. 基于气与线粒体的相关性探析温病卫气营血传变机制 [J]. 中医杂志, 2016, 57(22): 1901-1906.
- [59] Huang Y F, Lu L, Zhu D J, *et al.* Effects of *Astragalus Polysaccharides* on dysfunction of mitochondrial dynamics induced by oxidative stress [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, doi: 10.1155/2016/9573291.
- [60] 郝阳泉, 屈强, 尚荣安, 等. 黄芪注射液预处理对大鼠脊髓缺血再灌注损伤脊髓 ICAM-1 表达的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(6): 10-12.
- [61] 余晴晴, 柏建峰, 王江军. 黄芪注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠脑内血管新生及 HIF-1 α /VEGF 信号转导通路的影响 [J]. 蚌埠医学院学报, 2017, 42(10): 1309-1313.
- [62] 穆士卿, 肖安平, 李拴德, 等. 黄芪对急性脑创伤后局部脑皮质血流速度变化的影响 [J]. 中国中西医结合急

- 救杂志, 2004, 11(1): 45-46.
- [63] 李文媛, 王莹, 李明秋, 等. 黄芪皂苷IV对大鼠脑缺血/再灌注后海马血管生成的影响 [J]. 医学综述, 2011, 17(11): 1727-1729.
- [64] 王莹, 李文媛, 李明秋, 等. 黄芪皂甙IV联合骨髓间充质干细胞对脑缺血再灌注大鼠血管生成的影响 [J]. 解剖学研究, 2011, 33(5): 323-326.
- [65] 王畅, 张艳军, 冯英, 等. 黄芪甲苷对短暂性前脑缺血模型大鼠海马神经再生的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 754-758.
- [66] 王莹, 李文媛, 刘贵波, 等. 黄芪皂甙IV联合ADSC对坐骨神经缺损后大鼠运动功能的修复作用 [J]. 山东医药, 2013, 53(39): 4-6.
- [67] 夏丽英. 现代中药毒理学 [M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 2005.
- [68] 刘阳, 张云鹏, 孙影, 等. 中药黄芪长期毒性试验研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(29): 3545-3546.
- [69] 韩蓉, 朱路佳, 潘建新, 等. 黄芪注射液的急性毒性和长期毒性试验 [J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(4): 50-53.
- [70] 陈莹, 谢强敏, 沈文会, 等. 黄芪注射液的大鼠长期毒性研究 [J]. 浙江中医杂志, 2000(8): 28-29.
- [71] 杨宜华, 陈玉祥, 欧阳红涛, 等. 注射用黄芪冻干粉的安全性试验和急性毒性试验 [J]. 徐州医学院学报, 2007, 27(2): 88-91.
- [72] 杨宜华, 陈玉祥, 欧阳红涛. 黄芪冻干粉对大鼠和狗的长期毒性实验 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 175-177.
- [73] 丁伯良, 王宏伟, 张联丽, 等. 膜荚黄芪茎叶粉饲喂小鼠的毒性反应研究 [J]. 西北农业学报, 1994, 3(4): 50-52.
- [74] 马宗林, 刘德祥, 殷学军, 等. 生药党参、黄芪对细胞染色体的影响 [J]. 新疆中医药, 1985(4): 40-42.
- [75] 霍星华. 镰形棘豆生物碱成分研究及毒性评价 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.
- [76] 徐厚铨, 贺国强, 韩发彬, 等. 铬、铅、镉、铜联合对植物细胞微核影响的研究 [J]. 环境与健康杂志, 1998, 15(6): 40-41.
- [77] 田辉, 杨文祥, 田洁, 等. 黄芪水提物复方制剂安全性毒理学实验研究 [J]. 公共卫生与预防医学, 2010, 21(2): 15-19.
- [78] Yu S Y, Ouyang H T, Yang J Y, *et al.* Subchronic toxicity studies of *Radix Astragali* extract in rats and dogs [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 110(2): 352-355.
- [79] 谷鸣, 叶晓川, 吴巍, 等. 黄芪水提物中微量铅对小鼠急性毒性和骨髓嗜多染红细胞微核试验的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(9): 15-16.
- [80] 王沙沙, 王莹, 郭泽, 等. 黄芪总黄酮对小鼠的急性毒性和致突变性研究 [J]. 动物医学进展, 2016, 37(3): 71-73.
- [81] 王庭祥, 杨贺, 钟丽英, 等. 黄芪多糖毒性实验研究 [J]. 现代预防医学, 2009, 36(23): 4518-4519.
- [82] 昭日格图, 娜日苏, 韩景芬, 等. 黄芪多糖的安全性研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(19): 309-313.
- [83] 刘润珍, 李世雄, 姜力, 等. 黄芪多糖注射液毒理试验研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 1996(12): 6-8.
- [84] 刘家国, 胡元亮, 陈玉库, 等. 几种天然药物成分在体外 CEF 中最大安全浓度的测定 [J]. 动物医学进展, 2002, 23(3): 88-91.
- [85] 吴旋, 于刚, 白东清, 等. 4种中草药添加剂对金丝鱼急性毒性响应的研究 [J]. 南方水产, 2010, 6(2): 73-76.
- [86] 贾贞超, 李岩, 张立实. 黄芪甲苷的急性毒性和致突变性研究 [J]. 现代预防医学, 2013, 40(6): 1032-1034.
- [87] 朱江波, 朱玉平, 张天宝. 黄芪甲苷对大鼠和兔发育毒性的评价 [J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4): 317-318.
- [88] 朱玉平, 张天宝, 万旭英, 等. 中药黄芪甲苷对SD大鼠致畸性的研究 [J]. 中成药, 2010, 32(10): 1783-1785.
- [89] Zhang W D, Zhang C, Liu R H, *et al.* Preclinical pharmacokinetics and tissue distribution of a natural cardioprotective agent astragaloside IV in rats and dogs [J]. *Life Sci*, 2006, 79(8): 808-815.
- [90] Zhang Q, Zhu L L, Chen G G, *et al.* Pharmacokinetics of astragaloside iv in beagle dogs [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2007, 32(2): 75-79.
- [91] Szabo N J. Dietary safety of cycloastragenol from *Astragalus* spp.: Subchronic toxicity and genotoxicity studie [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, doi: 10.1016/j.fct.2013.11.041.
- [92] Burbulla L F, Song P, Mazzulli J R, *et al.* Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease [J]. *Science*, 2017, 357(6357): 1255-1261.
- [93] Wang W, Wang X, Fujioka H, *et al.* Parkinson's disease-associated mutant VPS35 causes mitochondrial dysfunction by recycling DLP1 complexes [J]. *Nat Med*, 2016, 22(1): 54-63.
- [94] Liu L, Zhang K, Sandoval H, *et al.* Glial lipid droplets and ROS induced by mitochondrial defects promote neurodegeneration [J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 177-190.
- [95] Ordonez D G, Lee M K, Feany M B. α -Synuclein induces mitochondrial dysfunction through spectrin and the actin cytoskeleton [J]. *Neuron*, 2018, 97(1): 108-124.
- [96] Eisner V, Picard M, Hajnóczky G. Mitochondrial dynamics in adaptive and maladaptive cellular stress responses [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(7): 755-765.
- [97] Hirabayashi Y, Kwon S K, Paek H, *et al.* ER-mitochondria tethering by PDZD8 regulates Ca dynamics in mammalian neurons [J]. *Science*, 2017, 358(6363): 623-630.
- [98] Zhou B, Yu P, Lin M Y, *et al.* Facilitation of axon regeneration by enhancing mitochondrial transport and rescuing energy deficits [J]. *J Cell Biol*, 2016, 214(1): 103-119.