

羟基红花黄色素 A 改善缺血性脑卒中机制的研究进展

马嘉翼, 褚松龄* (北京大学第一医院, 北京 100034)

摘要: 脑卒中作为全球范围内主要致死因素之一, 对社会造成了很大的负担。羟基红花黄色素 A 作为红花主要的有效水溶性成分, 具有抗炎、抗氧化、抗凋亡、改善微循环、纠正受损代谢通路、调控血管平滑肌细胞增殖和迁移等药理作用, 能够有效治疗缺血性脑卒中。目前, 利用大脑中动脉栓塞等模型探究羟基红花黄色素 A 对于缺血性脑卒中治疗及预后的相关研究日益增多。本文根据相关文献资料进行分析、整理和归纳, 综述了羟基红花黄色素 A 改善缺血性脑卒中的药理机制以及相关治疗和预后。

关键词: 羟基红花黄色素 A; 脑缺血; 炎症; 氧化应激

中图分类号: R961

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2019)08-1012-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.08.023

引用本文: 马嘉翼, 褚松龄. 羟基红花黄色素 A 改善缺血性脑卒中机制的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(8): 1012-1017.

Mechanism of Hydroxysafflor Yellow A Meliorating Ischemia Stroke: A Literature Review

MA Jiayi, CHU Songling* (Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

ABSTRACT: As one of the leading causes of mortality worldwide, stroke brings a great burden to the society. Hydroxysafflor yellow A is a major active water-soluble component of the flower of *Carthamus tinctorius*, which is an effective agent against ischemia stroke. Hydroxysafflor yellow A has wide-reaching biological activities, including anti-inflammation, antioxidation, anti-apoptosis, improving microcirculation, corrections of the impaired metabolic pathways, modulating the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells and so on. Currently, there is an increasing number of related research devoted in investigating the effect of hydroxysafflor yellow A on treatment and prognosis of ischemia stroke through models including middle cerebral artery occlusion. This article aims at analyzing and concluding the information from relevant literatures, summing up the pharmacological mechanisms, treatment and prognosis of hydroxysafflor yellow A in ischemia stroke.

KEYWORDS: hydroxysafflor yellow A; brain ischemia; inflammation; oxidative stress

随着老龄化进程的日益加快, 脑卒中作为全球范围内第 2 位的致死疾病和导致残疾的主要因素^[1]愈发受到社会的广泛关注。而其中, 缺血性脑卒中约占卒中总发生率的 87%^[2]。缺血性脑卒中是一种由于脑组织局部供血减少或中断导致的脑血管意外^[3], 缺血组织会出现相应区域神经功能缺损症状的表现, 引发一系列复杂的生化分子级联反应^[4], 如能量代谢紊乱、兴奋性毒性谷氨酸信号通路激活、自由基反应等。这些改变会引发一系列与凋亡坏死有关的炎症级联反应导致细胞完整性的破坏, 最终表现为神经元功能损伤。目前西医治疗缺血性脑卒中以溶栓、抗凝、抗血小板激活和保护神经细胞为目的的药物治疗为主, 另有手术治疗与行为康复治疗, 而中医治疗则包括中药煎剂、中成药、针灸等相关手段^[5]。传统西医治疗方法可有效避免卒中患者死亡, 但是药物所造成

的不良反应以及相关并发症也不容忽视。近些年从传统中药中所提取的一些有效成分因其治疗缺血性脑卒中的有效性、安全性、经济性^[6]而受到研究者的重视。

红花是传统中药中一味重要药材, 具有活血通经、祛瘀止痛等功效, 目前临床上主要用于治疗缺血性心脑血管疾病^[7], 且在缺血性脑卒中的治疗中占有一席之地。红花含有多种化学成分, 而其中由 Meselhy 等^[8]于 1993 年首次分离得到的醌式查尔酮苷类结构化合物, 羟基红花黄色素 A(hydroxysafflor yellow A, HSYA)是红花黄色素中含量最高, 且药理功效最强的水溶性成分。近些年有许多研究团队对 HSYA 的效用及相关机制及作用靶点进行了深入的研究, 发现 HSYA 具有保护心血管系统^[7]、抗炎^[9]、抗氧化^[10-11]、抗肿瘤^[12]、抗脑缺血再灌注损伤^[13-15]等作用, 这为药物的进

作者简介: 马嘉翼, 男 Tel: 13641276663 E-mail: 1410301103@pku.edu.cn
(010)83572634 E-mail: Chusl734@163.com

*通信作者: 褚松龄, 女, 硕士, 副主任医师 Tel:

一步研发与缺血性脑卒中的治疗方案提供了新的方向与依据。本文根据相关文献资料进行分析、整理和归纳,对 HSYA 改善缺血性脑卒中的药理作用及机制进行综述。

1 抑制以 NF- κ B 为核心的炎性通路

在脑缺血几个小时后,促炎因子会作用于血管内皮细胞激发一系列炎症反应,一方面会造成脑缺血区域血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的崩坏和神经元的死亡;另一方面会招募中性粒细胞、小胶质细胞等迁移到缺血性病变,导致创伤后过度炎症反应与继发性脑损伤^[16]。目前认为 HSYA 主要通过抑制 NF- κ B 相关通路进而抑制促炎症基因和凋亡相关基因的表达,而保护 BBB 的功能。

1.1 抑制 NF- κ B 上游通路

NF- κ B 上游通路主要由 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)激活通路所介导^[17]。TLR4 是细菌内毒素的固有免疫受体之一,同时可以激活 NF- κ B、p38 蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinase, p38 MAPK)等下游因子^[17]。Lv 等^[9,18]发现 HSYA 能够直接同细胞表面的 TLR4 相互作用,并能显著抑制大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型鼠中 TLR4 的表达,在缺血早期上调皮质区和海马区神经元脑源性神经营养因子的表达,进而起到神经元保护作用。近年来也有研究表明 HSYA 也可通过抑制 Toll 样受体 9 通路^[19]与 p38 MAPK 通路而抑制 NF- κ B 的激活^[20]。

1.2 调节 NF- κ B 下游炎性因子

HSYA 也可以直接抑制 NF- κ B 激活后表达的炎性因子,并上调部分抗炎因子的表达。Liu 等^[21]发现,HSYA 可透过 BBB,抑制 p65 亚基脱氧核糖核酸(p65 deoxyribonucleic acid, p65 DNA)结合活性和包括组织坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β 和白细胞介素-6 在内的促炎因子转录翻译水平,同时促进白细胞介素-10 的转录翻译。研究说明 HSYA 通过抑制促炎性细胞因子的表达,抑制了 p65 亚基的转位和结合活性进而抑制 NF- κ B 信号通路,同时上调抗炎因子活性发挥保护作用。而 Jin 等^[22]通过 Western blot 检测发现 NF- κ B p65 亚基的 DNA 结合数量和 NF- κ B 抑制蛋白 α 磷酸化水平在给予 HSYA 后显著下调,这说明 HSYA 对脂多糖诱导的内皮细胞炎症损伤具有改善作用。

2 相对恢复糖酵解相关代谢平衡

缺血性脑卒中发生时,葡萄糖和氧的供应不足常引发糖酵解途径相关兴奋性、抑制性神经递质的失衡。目前研究认为 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, γ -GABA)和 Tau 蛋白等抑制性神经递质水平的提高,天冬氨酸(aspartic acid, Asp)、谷氨酸(glutamate, Glu)等兴奋性神经递质水平的下调与卒中后良好预后相关联。

Deng 等^[13]应用 18-氟脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层扫描技术观察不同浓度的 HSYA 对于缺血区域葡萄糖代谢的影响情况,发现给药组的代谢水平相较于模型组呈浓度依赖性提升。Liu 等^[21]通过采用代谢组学的方法比较 MCAO 模型组与给药组的不同区域代谢状况时发现,两组在皮质区和海马区具有显著差异,且给药后 Glu、Asp 等因子水平显著下调,抑制性递质 Tau、 γ -GABA 向正常状态回升。这说明 HSYA 在减少梗死面积的同时,能够部分调控由于缺血所诱发的能量代谢紊乱。

3 调控血管平滑肌细胞增殖和迁移

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)能够调控血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的迁移和增殖^[23],VEGF 与其受体结合后能激活多条信号转导通路^[23]。因此,通过阻断生长信号的转导来抑制 VSMC 增殖是防治心脑血管疾病的可行方案之一。

3.1 Ras/Raf/MEK/ERK1/2 通路

Wang 等^[24]通过构建人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)异常增殖模型监测给药后 VEGF 与 Ras/Raf/MEK/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)信号通路上蛋白的表达情况。研究发现 HSYA 能在体外抑制 VEGF 的表达;下调 Ras、p-raf、p-ERK、p-p38MAPK 蛋白表达;抑制 c-myc、N-ras、NF- κ B 的激活,说明 HSYA 可能通过 Ras/Raf/MEK/ERK1/2 通路抑制异常增殖和相应激酶分子去磷酸化,ERK1/2 可能是最佳的抑制靶点,p38 MAPK 也可能参与信号转导。赵京山等^[25]研究则提示 HSYA 通过阻断 MEK/ERK1/2 信号通路抑制 VSMC 增殖可能具有特异性。

3.2 VHL/HIF-1 α /VEGF 通路

缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)是介导细胞对低氧反应的核转录因子,可

被林希氏基因(von Hippel-Lindau gene, VHL)和抑癌基因 p53 所编码的蛋白通过泛素化过程降解^[26]。Lian 等^[27]通过构建人脐静脉内皮细胞株(EAhy926)缺氧模型发现在 1%O₂ 低氧状态下,细胞生长停滞,增殖率下降,而给予 HSYA 后内皮细胞增殖数量和存活率明显上升。体内实验发现给药 4 h 后大鼠脑缺血组织中的 HIF-1 α 蛋白表达水平明显上调;8 h 后 VHL 和 p53 蛋白表达水平明显下降。这提示在缺氧早期, HIF-1 α 表达量的上调与 VHL 及 p53 的降解调控途径相关性较差;而低氧 8 h 后上调 HIF-1 α 部分是通过下调 VHL 和 p53 等降解因子实现。也有研究表明 HSYA 可以通过激活 HIF-1 α /VEGF 通路保护缺氧内皮细胞^[28]。

4 抑制氧化应激作用的发生发展

氧化应激与缺血性卒中的发病机制有着较强的关联。缺血性脑损伤抗氧化剂的过量消耗和活性氧(reactive oxygen species, ROS)的积累造成了氧化剂和抗氧化剂之间动态平衡的破坏,引起蛋白质、脂质、核酸等物质氧化与 BBB 通透性的增加^[29]。

4.1 抑制氧化作用

秦劭晨等^[30]在临床中应用以 HSYA 为主要有效成分的注射用羟基红花黄色素 A 治疗急性缺血性脑卒中患者时发现,给药组患者血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)含量的升高和丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量的降低均具有显著性差异,提示 HSYA 能够抑制卒中后患者自由基的产生并增强清除自由基的能力。Wang 等^[10]通过构建创伤性脑损伤模型也有相似的发现,即 HSYA 能够提高 SOD 和过氧化氢酶的活性、谷胱甘肽的含量;同时能够显著下调 MDA 和谷胱甘肽的表达。

12/15-脂氧合酶(lipoxygenases, LOX)是一种由 ROS 诱发产生的脂质过氧化酶,可将花生四烯酸(arachidonic acid, AA)氧化为 12-羟基廿碳四烯酸(hydroxyeicosatetraenoic acid, HETE)、15-HETE 等产物,进而放大氧化应激效应。Sun 等^[31]研究发现 HSYA 能够呈剂量依赖性下调代谢产物 15-HETE 的表达水平,显著减轻脑水肿情况,减少 BBB 的崩解。实验说明 HSYA 可能通过减少氧化应激,抑制 12/15-LOX 的活性,保护 BBB 结构功能相对完整性,发挥保护功能。

4.2 抑制硝化作用

目前认为诱导性 NOS(inducible nitric oxide synthase, iNOS)是缺血再灌注晚期高水平过氧亚硝基阴离子(peroxynitrite, ONOO⁻)和硝基酪氨酸形成的原因, ONOO⁻所介导的酪氨酸硝化被认为是脑卒中发病的一个关键过程^[32]。Sun 等^[33]发现 HSYA 呈时间和剂量依赖性抑制硝化产物 3-硝基酪氨酸的形成,且 HSYA 抑制酪氨酸硝化的时间窗与梗死体积有平行关系;缺血后给予 HSYA 能够显著降低 iNOS 和 NO 的表达含量。实验结果揭示了缺血后给予 HSYA 能够减轻脑缺血损伤的原理,可能部分与 HSYA 通过清除 ONOO⁻和降低 iNOS 表达情况进而减少硝基酪氨酸有关。

4.3 线粒体保护作用

缺血后再灌注会发生 ROS 积累、磷酸盐浓度升高、细胞内 Ca²⁺含量升高等现象,为线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的开放提供了理想条件^[34]。为探讨 HSYA 通过作用于线粒体相关途径发挥神经保护作用, Ramagiri 等^[35]设立羧基苍术苷(carboxyatractyloside, CAT)加 HSYA 的对照组,其中 CAT 可以激活 mPTP 开启,加入 CAT 后出现 TNF- α 水平部分上升,神经功能学评分下降,氧化损伤加重等现象,这说明 HSYA 治疗缺血再灌注损伤的作用可能与 mPTP 通道的抑制相关。

5 拮抗血小板的激活

血小板的激活是缺血性脑卒中重要的病理机制之一,应用抗血小板激活药物可以减少炎症因子的表达,说明血小板黏附和激活可能导致血栓的形成进而引发炎症级联反应^[36]。而引起血小板激活的诱导因素很多,如 AA、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)、血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)等。

龙雅丽等^[37]临床应用注射用红花黄色素治疗急性脑卒中患者时发现,14 d 后给药组患者相较于对照组患者的血小板凝集率和 PAF 指标有明显改善,验证了红花抗凝抑栓、改善血液流变学参数的作用。徐露等^[38]分别构造由 AA、ADP、PAF 诱导激活的血小板模型探究 HSYA 对血小板聚集功能及超微结构的影响发现, HSYA 能够显著抑制 AA、PAF 诱导的血小板聚集,并能使树突型血小板突起变少。这说明 HSYA 可通过抑制血小板表面 AA、PAF 受体的活性抑制血小板的活化。Sun

等^[14]发现 HSYA 的浓度与血小板聚集的抑制程度呈正相关, 其中 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 HSYA 对于 PAF 诱导的血小板凝集的抑制率可达到 74.6%。

6 抗神经元凋亡

6.1 PI3K/Akt/GSK3 β 通路

在局灶性脑缺血模型中, 细胞凋亡主要集中于缺血半影区。研究发现缺血后磷脂酰肌醇激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)依赖途径的激活可以促进细胞存活。活化的 Akt 磷酸化糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)使其失活, 进而启动线粒体内源性凋亡和死亡受体介导外源性凋亡信号途径^[39]。

Chen 等^[40]通过建立 MCAO 模型发现, 给药组皮质半影区凋亡细胞数量较模型组显著减少; Akt 和 GSK3 β 的磷酸化水平有较为明显的升高; 抗凋亡因子 Bcl-2 蛋白水平明显上升, 而促凋亡因子 Bax 蛋白水平显著下降。为进一步探究 HSYA 是否通过激活 PI3K/Akt 信号通路所产生的抗凋亡效应, Chen 等在给药组加入 PI3K 抑制剂后, 凋亡细胞的数量显著上升, 且决定膜完整性和细胞凋亡负荷的 Bcl-2/Bax 指标显著下降, 这说明 HSYA 的抗凋亡作用部分由 Akt/GSK3 β 通路所介导。Yang 等^[41]最近的研究表明, HSYA 可能同时通过激活 PI3K/Akt 信号通路抑制细胞自噬而产生保护作用。

6.2 NMDAR 抑制途径

缺血脑组织中 N-甲基-D-天冬氨酸谷氨酸受体(N-methyl-D-aspartic glutamic acid receptor, NMDAR)的过度激活会引起兴奋性神经元死亡。Yang 等^[42]研究提示 HSYA 通过下调皮质神经元中 NMDAR 表达情况发挥抗凋亡作用。Wang 等^[43]发现 HSYA 能够呈浓度依赖性抑制细胞内 Ca^{2+} 浓度增加、突触前神经元神经递质的释放, 并减少神经元凋亡的数量。电生理实验表明 HSYA 能够抑制 NMDAR 介导的兴奋性突触后电流, 并降低了由氧糖剥夺所诱发 NMDAR 介导的细胞膜去极化电流的大小和 NMDAR 依赖的缺血性突触长时程增强。

6.3 其他通路

Liu 等^[44]构建血管紧张素 II 诱导 HUVECs 模型并给予 HSYA 后发现, 给药组细胞增殖能力明显增强, 同时 ROS 的生成、细胞色素 C 活性、细胞凋亡率均显著降低, 提示 HSYA 通过抑制血管

紧张素 II 诱导的内皮细胞凋亡, 抑制 ROS 生成保护细胞线粒体为可能机制之一。

7 讨论

缺血性脑卒中是一种高度复杂的异质性疾病, 供血血管的堵塞所导致的梗死和神经功能预后取决于多种因素, 如缺血所持续的时间、梗死的病因及定位等。相较于传统的溶栓抗凝药物, HSYA 的优势在于能够作用于缺血再灌注损伤过程中多个靶点进而激活不同通路, 且不同通路间存在交叉关系。如 Ras/Raf/MEK/ERK 通路被激活调控 VSMC 增殖时, 也会影响 PI3K/Akt 通路发挥抗凋亡和抑制细胞自噬的作用; HSYA 发挥抗氧化作用抑制 ROS 的生成与 mPTP 的开放, 能够较大程度限制相关炎症因子的表达; 当 HSYA 作用于血小板表面受体发挥抗凝作用时, 同时能够抑制 NF- κ B 下游炎症因子的表达而阻断炎症级联反应。

随着对分子机制研究的不断深入, 以 HSYA 为主要成分制剂的吸收代谢途径与安全性等方面逐渐受到临床工作者的重视。研究表明 HSYA 在体内的代谢符合一级动力学改变, 由于 HSYA 的胃肠吸收较差, 生物利用度约为 1.2%^[45], 且半衰期较短^[46], 因此目前 HSYA 主要应用方式为静脉给药。以 HSYA 为主要成分的活血化瘀制剂如丹参注射液、注射用红花黄色素具有稳定性高、安全性强的特点, 能够有效改善患者的生活质量^[11, 47]。2005 年, 注射用红花黄色素已被国家药品监督管理局批准用于急性脑梗死患者的治疗。1 项纳入 10 项随机对照实验的 meta 分析表明, 临床应用注射用红花黄色素治疗急性脑卒中具有较好的疗效并能显著改善神经功能缺损的情况^[15]。目前 HSYA 与其他药物联合治疗缺血性脑卒中的效果受到肯定, 其协同机制在进一步研究中^[48]。但由于临床和实验研究样本量仍相对较少局限了制剂的适用范围和用量。关于 HSYA 制剂应该在发生卒中后什么时间开始使用、以怎样的频率进行给药、最适给药浓度是多少等问题仍没有明确的答案。相信未来有更多高质量的研究予以证实, 为缺血性脑卒中危险人群的治疗及预后提供更多的可能性。

REFERENCES

- [1] MATHERS C D, BOERMA T, MA FAT D. Global and regional causes of death [J]. Br Med Bull, 2009(92): 7-32.
- [2] MOZAFFARIAN D, BENJAMIN E J, GO A S, et al. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the

- American Heart Association [J]. *Circulation*, 2015, 131(4): e29-322.
- [3] CHEN L, ZHANG G, GU Y, et al. Meta-analysis and systematic review of neural stem cells therapy for experimental ischemia stroke in preclinical studies [J]. *Sci Rep*, 2016(6): 32291.
 - [4] SOMMER C J. Ischemic stroke: experimental models and reality [J]. *Acta Neuropathol*, 2017, 133(2): 245-261.
 - [5] 郭笑冬. 缺血性脑卒中中西医治疗研究进展 [J]. *医学理论与实践*, 2012, 25(1): 31-33.
 - [6] 郝光磊, 朱文涛, 庄乾竹, 等. 中药注射剂治疗急性脑梗死效果与经济性评价的 Meta 分析 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2013, 8(12): 1193-1195.
 - [7] 陈可冀, 付长庚, 丛伟红, 等. 红花黄色素临床应用中国专家共识 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(10): 1167-73.
 - [8] MESELHY M R, KADOTA S, MOMOSE Y, et al. Two new quinochalcone yellow pigments from *Carthamus tinctorius* and Ca²⁺ antagonistic activity of tinctormine [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1993, 41(10): 1796-802.
 - [9] LV Y, QIAN Y, FU L, et al. Hydroxysafflor yellow A exerts neuroprotective effects in cerebral ischemia reperfusion-injured mice by suppressing the innate immune TLR4-inducing pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015(769): 324-332.
 - [10] WANG Y, ZHANG C, PENG W, et al. Hydroxysafflor yellow A exerts antioxidant effects in a rat model of traumatic brain injury [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3690-3696.
 - [11] 秦昉晨. HSYA 治疗急性缺血性中风(血瘀证)患者生存质量及相关量表的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
 - [12] YANG F, LI J, ZHU J, et al. Hydroxysafflor yellow A inhibits angiogenesis of hepatocellular carcinoma via blocking ERK/MAPK and NF-kappaB signaling pathway in H22 tumor-bearing mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015(754): 105-114.
 - [13] DENG L, WAN H, ZHOU H, et al. Protective effect of hydroxysafflor yellow A alone or in combination with acetylglutamine on cerebral ischemia reperfusion injury in rat: A PET study using (18)F-fluorodeoxyglucose [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018(825): 119-132.
 - [14] SUN Y, XU D P, QIN Z, et al. Protective cerebrovascular effects of hydroxysafflor yellow A (HSYA) on ischemic stroke [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018(818): 604-609.
 - [15] 朱大胜, 王莉梅, 付秀娟. 红花黄色素注射剂治疗急性脑梗死的 Meta 分析 [J]. *中国药物与临床*, 2011, 11(9): 1026-9.
 - [16] HUA F, TANG H, WANG J, et al. TAK-242, an antagonist for Toll-like receptor 4, protects against acute cerebral ischemia/reperfusion injury in mice [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(4): 536-542.
 - [17] HU H, LI Z, ZHU X, et al. Gualou GuiZhi decoction inhibits LPS-induced microglial cell motility through the MAPK signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(6): 1281-1286.
 - [18] LV Y, FU L. The potential mechanism for Hydroxysafflor yellow A attenuating blood-brain barrier dysfunction via tight junction signaling pathways excavated by an integrated serial affinity chromatography and shotgun proteomics analysis approach [J]. *Neurochem Int*, 2018(112): 38-48.
 - [19] GONG Z, PAN J, LI X, et al. Hydroxysafflor yellow A reprograms TLR9 signalling pathway in ischaemic cortex after cerebral ischaemia and reperfusion [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2018, 17(5): 370-382.
 - [20] LI J, ZHANG S, LU M, et al. Hydroxysafflor yellow A suppresses inflammatory responses of BV2 microglia after oxygen-glucose deprivation [J]. *Neurosci Lett*, 2013(535): 51-56.
 - [21] LIU Y, LIAN Z, ZHU H, et al. A systematic, integrated study on the neuroprotective effects of hydroxysafflor yellow A revealed by (1)H NMR-based metabolomics and the nf-kappab pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013; 2013: 147362.
 - [22] JIN M, SUN C Y, ZANG B X. Hydroxysafflor yellow A attenuate lipopolysaccharide-induced endothelium inflammatory injury [J]. *Chin J Integr Med (中国结和医学杂志)*, 2016, 22(1): 36-41.
 - [23] SHIBUYA M, CLAESSEON-WELSH L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(5): 549-560.
 - [24] WANG J, WANG J, WANG X, et al. Molecular mechanism of inhibition of the abnormal proliferation of human umbilical vein endothelial cells by hydroxysafflor-yellow A [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(9): 1800-1807.
 - [25] ZHAO J S, GUO Q Y, LAI S H, et al. Hydroxysafflor yellow A inhibits rat vascular smooth muscle cells proliferation possibly via blocking signal transduction of MEK-ERK1/2 [J]. *Chin J Cardiol (中华心血管病杂志)*, 2015, 43(8): 728-731.
 - [26] MAXWELL P H, WIESENER M S, CHANG G W, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis [J]. *Nature*, 1999, 399(6733): 271-275.
 - [27] LIAN Z Q, ZHAO D L, ZHU H B. Hydroxysafflor yellow A up-regulates HIF-1alpha via inhibition of VHL and p53 in Eahy 926 cell line exposed to hypoxia [J]. *Acta Pharm Sin (药理学学报)*, 2008, 43(5): 484-489.
 - [28] JI D B, ZHU M C, ZHU B, et al. Hydroxysafflor yellow A enhances survival of vascular endothelial cells under hypoxia via upregulation of the HIF-1 alpha-VEGF pathway and regulation of Bcl-2/Bax [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, 52(2): 191-202.
 - [29] EHSAEI M, KHAJAVI M, ARJMAND M H, et al. Prooxidant-antioxidant balance in patients with traumatic brain injury [J]. *Acta Neurol Belg*, 2015, 115(1): 69-73.
 - [30] QIN S C, LIANG W X, WEN X W, et al. Clinical efficacy of hydroxysafflor yellow A injection for acute ischemic stroke with blood stasis syndrome treated [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2016, 22(21): 157-61.
 - [31] SUN L, YANG L, XU Y W, et al. Neuroprotection of hydroxysafflor yellow A in the transient focal ischemia: inhibition of protein oxidation/nitration, 12/15-lipoxygenase and blood-brain barrier disruption [J]. *Brain Res*, 2012(1473): 227-235.
 - [32] RADI R. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(37): 26464-26472.
 - [33] SUN L, YANG L, FU Y, et al. Capacity of HSYA to inhibit nitrotyrosine formation induced by focal ischemic brain injury [J]. *Nitric Oxide*, 2013(35): 144-151.
 - [34] KROEMER G, DALLAPORTA B, RESCHE-RIGON M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis [J]. *Annu Rev Physiol*, 1998(60): 619-642.
 - [35] RAMAGIRI S, TALIAN R. Neuroprotective effect of hydroxy safflor yellow A against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats: putative role of mPTP [J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2016, 27(1): 1-8.
 - [36] VOGTLE T, CHERPOKOVA D, BENDER M, et al. Targeting platelet receptors in thrombotic and thrombo-inflammatory disorders [J]. *Hamostaseologie*, 2015,

- 35(3): 235-243.
- [37] 龙雅丽, 陈魁, 胡风云. 注射用红花黄色素治疗急性脑梗死分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 11(09): 1092-1093.
- [38] 徐露, 董志. 羟基红花黄色素 A 注射剂对家兔血小板聚集、超微结构及血浆 GMP-140 含量的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(04): 35-37.
- [39] BEUREL E, GRIECO S F, JOPE R S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2015(148): 114-131.
- [40] CHEN L, XIANG Y, KONG L, et al. Hydroxysafflor yellow A protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by anti-apoptotic effect through PI3K/Akt/GSK3 β pathway in rat [J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(11): 2268-2275.
- [41] YANG G, WANG N, SETO S W, et al. Hydroxysafflor yellow A protects brain microvascular endothelial cells against oxygen glucose deprivation/reoxygenation injury: Involvement of inhibiting autophagy via class I PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Brain Res Bull*, 2018(140): 243-257.
- [42] YANG Q, YANG Z F, LIU S B, et al. Neuroprotective effects of hydroxysafflor yellow A against excitotoxic neuronal death partially through down-regulation of NR2B-containing NMDA receptors [J]. *Neurochem Res*, 2010, 35(9): 1353-1360.
- [43] WANG X, MA Z, FU Z, et al. Hydroxysafflor yellow A protects neurons from excitotoxic death through inhibition of NMDARs [J]. *ASN Neuro*, 2016, 8(2): 1759091416642345. Doi: 10.1177/1759091416642345.
- [44] LIU Y G, LI F J. Protective effect of hydroxy-safflor yellow A on human umbilical vein endothelial cell apoptosis induced by angiotensin II [J]. *Chin Med Mater(中药材)*, 2013, 36(7): 1128-1131.
- [45] ZHANG H F, GUO J X, HUANG L S, et al. Pharmacokinetics of hydroxysafflor yellow A in rats [J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2006(5): 456-460.
- [46] TIAN Y, YANG Z F, YANG J, et al. Study on pharmacokinetics of hydroxysafflor yellow A in Chinese healthy volunteers [J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*, 2009, 44(10): 781-783.
- [47] PU W, ZHANG H, WANG M, et al. Superior stability of hydroxysafflor yellow A in xuebijing injection and the associated mechanism [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): E2129. Doi: 10.3390/molecules22122129.
- [48] XU H, LIU W, LIU T, et al. Synergistic neuroprotective effects of Danshensu and hydroxysafflor yellow A on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(70): 115434-115443.

收稿日期: 2018-07-19

(本文责编: 曹粤锋)