

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.19.005

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230927.1720.004\(2023-09-28\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230927.1720.004(2023-09-28))

迷迭香酸通过抑制 ROS/NLRP-3 炎症小体信号通路对 脑缺血再灌注小鼠的保护作用*

刘勇, 杨涛, 梁艳山, 曹兴华[△], 柯雪茹, 陈杰, 马晓媛
(新疆医科大学附属中医医院手术麻醉科, 乌鲁木齐 830099)

[摘要] **目的** 探讨不同剂量迷迭香酸对脑缺血再灌注小鼠活性氧自由基(ROS)/Nod 样受体蛋白-3(NLRP-3)炎症小体信号通路表达的影响,以及迷迭香酸抑制脑缺血再灌注损伤的作用机制。**方法** 60 只雄性美国癌症研究所(ICR)小鼠分为假手术组、模型组、迷迭香酸 10、20、40 mg/kg 组,每组 12 只。采用改良的 Longa 线栓法,缺血 60 min 后进行再灌注建立急性局灶性脑缺血小鼠模型,再灌注后即刻腹腔注射迷迭香酸 10、20、40 mg/kg,小鼠清醒后行神经功能学评分,24 h 后取脑组织标本,通过苏木素-伊红(HE)染色法观察小鼠脑组织形态学变化,通过免疫荧光分析测定受损侧脑组织标本中 ROS 水平,Western blot 检测超氧化物歧化酶(SOD)1、SOD2、血红素氧合酶-1(HO-1)、核因子-E2 相关因子-2(Nrf-2)、NLRP-3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、caspase-1、白细胞介素-1 β (IL-1 β)相对表达水平。**结果** 假手术组术后神经功能学评分均为 0 分。与模型组比较,迷迭香酸 10、20、40 mg/kg 组神经功能学评分降低,其中迷迭香酸 40 mg/kg 组降低最明显($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组脑损伤病理评分、ROS 水平增高($P < 0.05$);与模型组比较,迷迭香酸 20 mg/kg 组 ROS 水平降低,迷迭香酸 40 mg/kg 组脑损伤病理评分、ROS 水平降低,其中迷迭香酸 40 mg/kg 组降低最明显($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 相对表达水平降低($P < 0.05$);与模型组比较,迷迭香酸 20 mg/kg 组 SOD1、HO-1、Nrf-2 相对表达水平升高,迷迭香酸 40 mg/kg 组 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 相对表达水平升高,其中迷迭香酸 40 mg/kg 组升高最明显($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组 NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 相对表达水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,迷迭香酸 10、20、40 mg/kg 组 NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 相对表达水平降低,其中迷迭香酸 40 mg/kg 组降低最明显($P < 0.05$)。**结论** 迷迭香酸可下调 ROS/NLRP-3 炎症小体信号通路,抑制炎性及氧化应激反应,减轻小鼠脑缺血再灌注的神经损伤。

[关键词] 迷迭香酸;脑缺血再灌注损伤;ROS/NLRP-3 信号通路;炎症小体;活性氧;自由基;脑保护

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)19-2905-07

Rosmarinic acid protected against brain injury in mice with cerebral ischemia reperfusion via oxidative stress and ROS/NLRP-3 signal pathway inhibition*

LIU Yong, YANG Tao, LIANG Yanshan, CAO Xinghua[△], KE Xueru, CHEN Jie, MA Xiaoyuan
(Department of Surgical Anesthesiology, The Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830099, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of different doses of rosmarinic acid on the expression of inflammatory signal pathway of reactive oxygen species (ROS)/Nod like receptor protein-3 (NLRP-3) in mice with cerebral ischemia-reperfusion injury, and to explore the mechanism of rosmarinic acid in inhibiting cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** Sixty male American Institute for Cancer Research (ICR) mice were divided into the sham group, the model group, the rosmarinic acid 10, 20, 40 mg/kg group, with 12 mice in each group. A mouse model of acute focal cerebral ischemia was established by reperfusion after 60 minutes of ischemia with modified Longa suture method. Rosmarinic acid 10, 20, 40 mg/kg was injected intraperitoneally immediately after reperfusion. Neurofunctional scores were performed after the mice waking, and brain tissue samples were collected 24 h later. The morphological changes of mouse brain tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the ROS levels in the damaged side brain tissue samples were determined by immunofluorescence analysis. Western blot analysis of superoxide dismutase (SOD)1, SOD2, heme

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2022D01C546)。 作者简介:刘勇(1997-),副主任医师,在读博士研究生,主要从事中西医结合麻醉研究。 [△] 通信作者, E-mail: mazuicxh@163.com。

oxygenase-1 (HO-1), nuclear factor E2 associated factor 2 (Nrf-2), NLRP-3, apoptosis-associated motle-like protein (ASC), cysteinyl aspartate specific proteinase (caspase)-1, interleukin-1 β (IL-1 β) relative expression level. **Results** The neurofunctional scores of the sham group were 0. Compared with the model group, the neurofunctional scores of the rosmarinic acid 10, 20, 40 mg/kg group were decreased, and the rosmarinic acid 40 mg/kg group had the most significant decrease ($P < 0.05$). Compared with sham operation group, brain injury pathological score and ROS levels were increased in model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, ROS level in the rosmarinic acid 20 mg/kg group was decreased, brain injury pathological score and ROS level in the rosmarinic acid 40 mg/kg group were decreased, and the rosmarinic acid 40 mg/kg group had the most significant decrease ($P < 0.05$). Compared with the sham group, the relative expression levels of SOD1, SOD2, HO-1 and Nrf-2 in the model group were decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the relative expression levels of SOD1, HO-1, Nrf-2 in the rosmarinic acid group 20 mg/kg were increased, and the relative expression levels of SOD1, SOD2, HO-1, Nrf-2 in the rosmarinic acid group 40 mg/kg were increased, and the rosmarinic acid 40 mg/kg group had the most significant increase ($P < 0.05$). Compared with the sham group, the relative expression levels of NLRP-3, ASC, caspase-1, IL-1 β in the model group were increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the relative expression levels of NLRP-3, ASC, caspase-1, IL-1 β in the rosmarinic acid 10, 20, 40 mg/kg group were decreased, and the rosmarinic acid 40 mg/kg group had the most significant decrease ($P < 0.05$). **Conclusion** Rosmarinic acid can decrease the ROS/NLRP-3 signal pathway, inhibit inflammatory and oxidative stress responses, and against brain injury in mice with cerebral ischemia reperfusion.

[Key words] rosmarinic acid; cerebral ischemia-reperfusion injury; ROS/NLRP-3 signal pathway; inflammasome; reactive oxygen species; free radicals; brain protection

迷迭香为是双子叶植物纲、唇形科、迷迭香属植物灌木,其提取物迷迭香酸具有抗氧化、抗炎和免疫抑制作用^[1]。前期研究表明,小鼠腹腔注射迷迭香酸可减轻脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI),减轻运动神经元变性^[2],但迷迭香酸对 CIRI 具有保护作用的药理机制尚不清楚。目前认为氧化应激反应是导致 CIRI 的重要原因,而活性氧是影响氧化应激的主要因素^[3],活性氧可诱导多种生物反应,包括组织损伤、炎症反应、休克和凋亡。本课题组期望通过观察不同剂量迷迭香酸对脑缺血再灌注小鼠活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)/Nod 样受体蛋白-3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein-3, NLRP-3)炎症小体信号通路表达的影响,探讨迷迭香酸抑制 CIRI 的作用机制,为进一步的临床使用和新药研发提供依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

60 只体重 27~30 g 雄性美国癌症研究所(institute of cancer research, ICR)小鼠购自新疆医科大学动物实验室,饲养于清洁环境,昼夜 12 h 光照节律,自由饮水进食,适应性饲养 1 周后进行实验。本实验通过新疆医科大学动物实验伦理委员会批准,实验操作符合伦理要求,伦理审批编号:IACUC-20210301-27。

1.1.2 试剂

迷迭香酸(货号 R4033)购自美国默克公司。超

氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)1 兔多克隆抗体、SOD2 小鼠单克隆抗体、荧光探针 DHE 购自上海碧云天生物技术有限公司。兔抗血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)单克隆抗体、核因子-E2 相关因子-2(nuclear factor-E2 related factor-2, Nrf-2)多克隆抗体、caspase-1 兔单克隆抗体、GAPDH 小鼠单克隆抗体、兔抗 NLRP-3 单克隆抗体、兔抗凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis related spot like protein, ASC)多克隆抗体、IL-1 β 小鼠单克隆抗体购自美国 CST 公司。辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的多克隆山羊抗兔或山羊抗鼠 IgG 二级抗体购自武汉谷歌生物公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组与给药方法

按随机数字表法将 60 只小鼠分为假手术组、模型组、迷迭香酸 10、20、40 mg/kg 组,每组 12 只。迷迭香酸水溶性白色粉末用生理盐水稀释成 1 mg/mL,采用腹腔注射给药模式,尾静脉注射最大剂量不超过 0.5 mL,参考前期相关文献均采用腹腔注射方式。

1.2.2 建模方法

手术前用 50 mg/kg 体重的戊巴比妥钠对小鼠进行麻醉,手术期间体温保持在(37.0 \pm 0.5) $^{\circ}$ C。缺血再灌注损伤伴大脑中动脉闭塞,单丝插入持续 60 min,大脑中动脉由硅树脂涂层尼龙单丝制成,该单丝被引入左颈总动脉的切口,并延伸至颈动脉分叉的远端,以暂时闭塞大脑中动脉。大脑中动脉闭塞 60 min 后,拔出单丝恢复血流。缺血再灌注损伤治疗后,小

鼠腹腔注射迷迭香酸 10、20、40 mg/kg, 24 h 后再处死小鼠进行以下研究。将整个脑组织放置于 4 °C 冰台上, 或冷冻在液氮中并保存在 -80 °C 进行分析, 或固定在 4% 多聚甲醛中进行组织学研究。

1.2.3 假手术组小鼠制备方法

采用相同的麻醉和手术方法建模, 小鼠模型制备好后, 只游离血管, 不插入单丝栓线; 术后腹腔注射同等容量温度的无菌蒸馏水。

1.2.4 小鼠神经功能学评分测定

用迷迭香酸处理小鼠后, 由 1 名不了解小鼠处理情况的观察者对其进行评估。小鼠经适应训练后进行 3 次重复实验, 每次实验时间 5 min, 实验间隔为 30 min。参考 Longa 的 6 级 5 分法评分标准: 0 分为无神经损伤症状, 1 分为提尾时病灶对侧前肢不能完全伸直, 2 分为提尾时病灶对侧前肢屈曲, 3 分为行走时轻度向瘫痪侧转圈, 4 分为行走时严重向瘫痪侧转圈, 5 分为不能自发行走、向对侧跌倒。

1.2.5 ROS 检测

取出脑组织, 立即在室温下用甲醛溶液固定 1 d, 并用 70% 乙醇保存, 然后用石蜡包埋。在旋转切片机上将每个标本切成 7 μm 厚的切片, 并安装在涂有 3-氨基丙基三乙氧基硅烷 (3-aminopropyltriethoxysilane, APES) 的载玻片上。每个部分在二甲苯中脱蜡, 在水中乙醇浓度降低的情况下再水化, 并用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 滑梯上装有中性香脂。另一方面, 脑组织于 -80 °C 在 APES 涂层玻片上制备 6 μm 厚的冷冻切片。细胞接种在 96 孔黑色透明的底部微孔板上。处理后, 用磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 洗涤 2 次, 并用 10 μmol/L 荧光探针 DHE 在 PBS 中培养, 然后用外荧光显微镜观察荧光强度。

1.2.6 Western blot

将约 100 mg 冷冻脑组织均匀化于 1 mL RIPA 缓冲液中, 然后以 10 000 × g 离心 20 min。用 Bradford 法测量上清液的蛋白质浓度。总蛋白在沸水中培养 5 min。在 6%~12% 聚丙烯酰胺上分离等量的总蛋白, 并电泳转移至由甲醇预活化的聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜。用 5% 脱脂牛奶封闭膜 2 h, 并在 4 °C 下与特定一级抗体孵育过夜。用 HRP 偶联的山羊抗兔或山羊抗鼠 IgG 作为二级抗体 (1:6 000) 检测免疫反应带。免疫反应带使用光敏 HRP Western blot 检测系统显示, 并使用分子分析软件通过密度测定法定量。主要抗体包括针对 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2、NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1β 的兔和小鼠多克隆抗体。

HO-1、Nrf-2 的 Western blot 是将所取得的实验小鼠脑组织标本按比例 (1 mg:10 μL) 加入裂解液进

行冰浴匀浆, 4 °C 下 12 000 × g 离心 10 min, 取上清液用于总蛋白定量测定。10%~12% 的十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 凝胶电泳分离蛋白并转移至 PVDF 膜上, 5% BSA 封闭 90 min 后, 4 °C 孵育一抗 Nrf-2 (1:800)、HO-1 (1:1 000) 过夜。PBS 清洗后 37 °C 孵育二抗 (1:5 000) 90 min。TBST 清洗后显影、保存图片并采用 Quantity One 软件分析目标蛋白及其同块胶内参的灰度值, 计算相对蛋白表达水平。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用单因素方差分析后进行 Dunnett 多重比较; 计数资料以例数和百分比表示, 比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组神经功能学评分比较

假手术组术后神经功能学评分均为 0 分。与模型组比较, 迷迭香酸 10、20、40 mg/kg 组神经功能学评分总体降低, 其中迷迭香酸 40 mg/kg 组总体降低最明显 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组神经功能学评分比较 ($n=12, n$)

项目	假手术组	模型组	迷迭香酸	迷迭香酸	迷迭香酸
			10 mg/kg 组 ^a	20 mg/kg 组 ^a	40 mg/kg 组 ^a
5分	0	0	0	0	0
4分	0	8	4	2	0
3分	0	4	5	4	3
2分	0	0	3	6	9
1分	0	0	0	0	0
0分	12	0	0	0	0

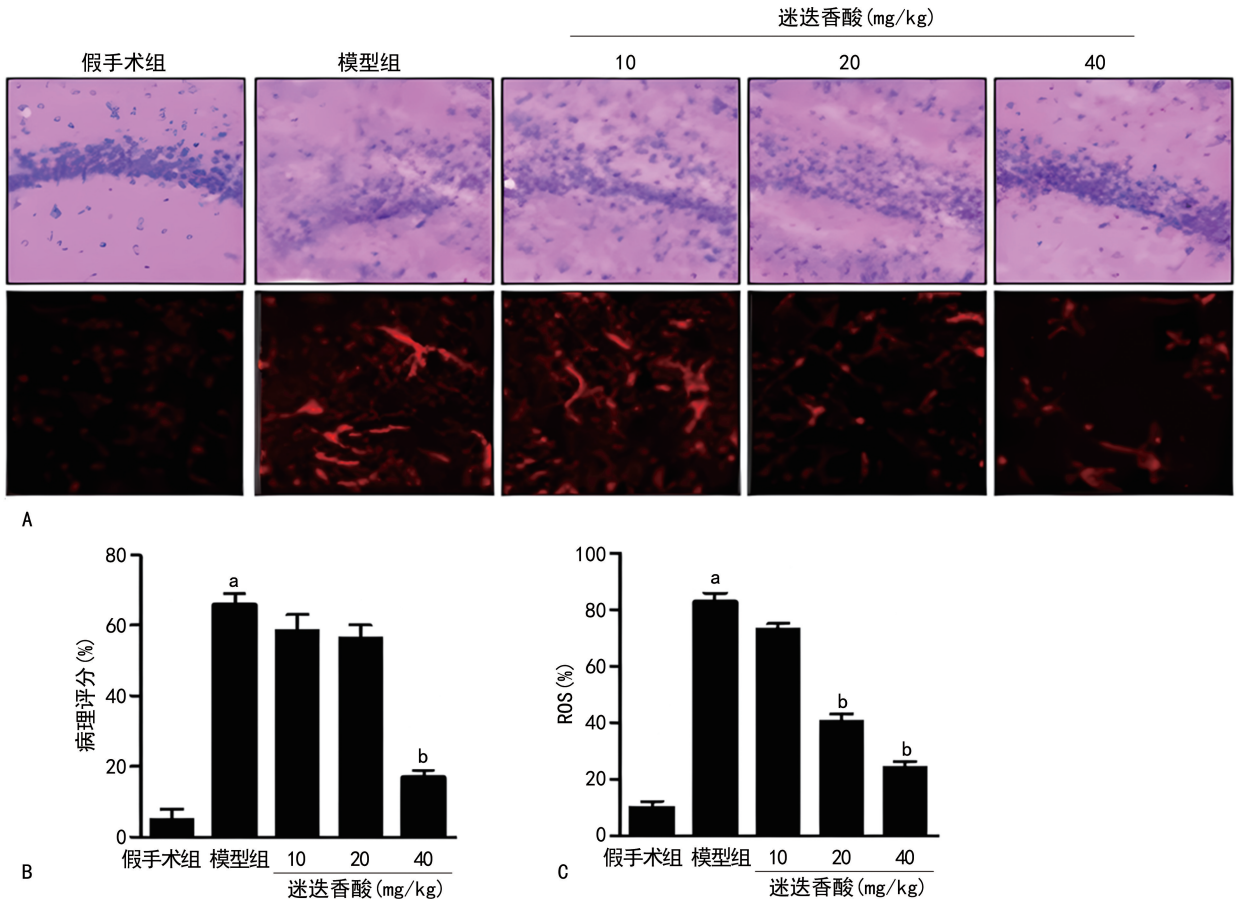
^a: $P < 0.05$, 与模型组比较。

2.2 各组脑损伤病理改变及 ROS 水平比较

与假手术组比较, 模型组脑损伤病理评分、ROS 水平增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 迷迭香酸 20 mg/kg 组 ROS 水平降低, 迷迭香酸 40 mg/kg 组脑损伤病理评分、ROS 水平降低, 其中迷迭香酸 40 mg/kg 组降低最明显 ($P < 0.05$), 见图 1。

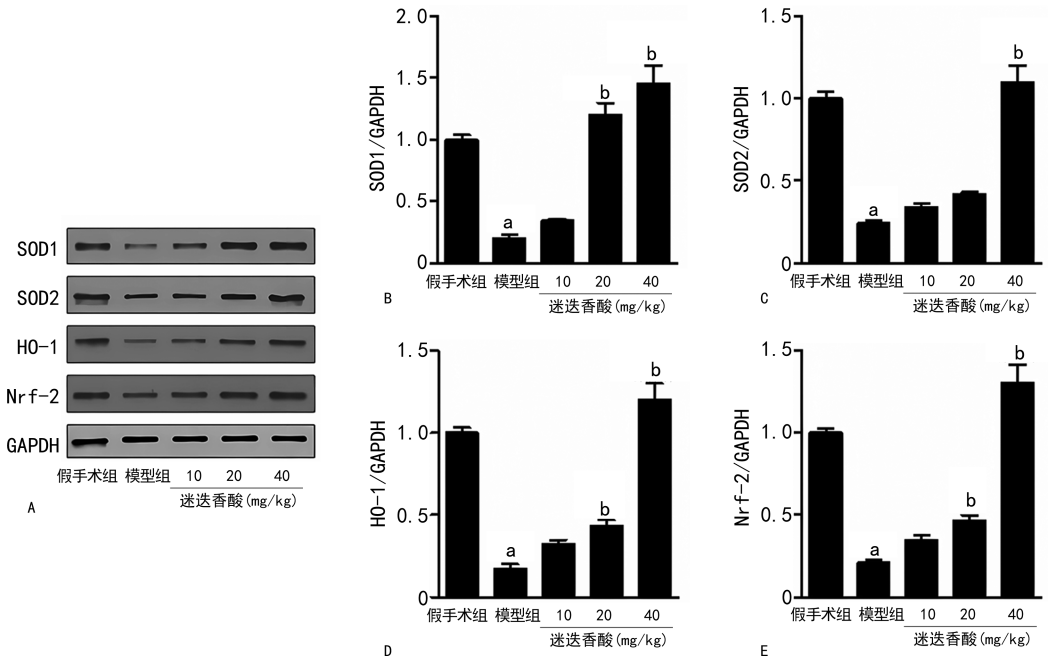
2.3 各组 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 相对表达水平比较

与假手术组比较, 模型组 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 相对表达水平降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 迷迭香酸 20 mg/kg 组 SOD1、HO-1、Nrf-2 相对表达水平升高, 迷迭香酸 40 mg/kg 组 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 相对表达水平升高, 其中迷迭香酸 40 mg/kg 组升高最明显 ($P < 0.05$), 见图 2。



A: 各组病理图片染色(上排, HE, 200×)和荧光显微镜观察 ROS 水平(下排)结果; B: 基于 HE 标准的病理评分结果; C: 用荧光探针 DCFH-DA 测量 ROS 水平; ^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

图 1 各组脑损伤病理改变及 ROS 水平比较



A: Western blot 检测结果; B: 各组 SOD1 相对表达水平比较; C: 各组 SOD2 相对表达水平比较; D: 各组 HO-1 相对表达水平比较; E: 各组 Nrf-2 相对表达水平比较; ^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

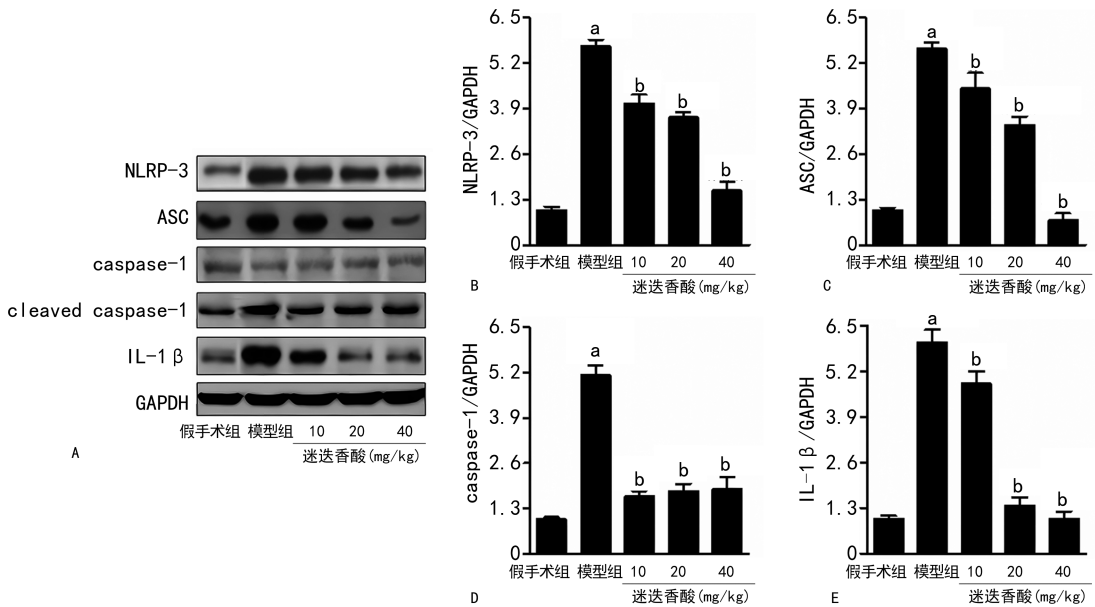
图 2 各组 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 相对表达水平比较

2.4 各组 NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 相对表达水平比较

与假手术组比较, 模型组 NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 相对表达水平升高 ($P < 0.05$); 与模型组比

较,迷迭香酸 10、20、40 mg/kg 组 NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 相对表达水平降低,其中迷迭香酸 40

mg/kg 组降低最明显 ($P < 0.05$),见图 3。



A: Western blot 检测结果; B: 各组 NLRP-3 相对表达水平比较; C: 各组 ASC 相对表达水平比较; D: 各组 caspase-1 相对表达水平比较; E: 各组 IL-1 β 相对表达水平比较; ^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

图 3 各组 NLRP-3、ASC、caspase-1、IL-1 β 相对表达水平比较

3 讨论

随着生活水平的提高、生活方式的改善及人口老龄化,以高瘫痪率和死亡率为特征的卒中发病率明显增加^[4-5],卒中是成年人严重长期残疾的主要原因^[6],脑缺血再灌注模型已被公认为脑缺血模型。根据既往研究,缺血性脑损伤的主要病理机制与氧化应激、兴奋性毒性、炎症、线粒体功能障碍和细胞凋亡有关^[7-9],甚至可能在几分钟内导致细胞死亡^[10-12]。迷迭香酸作为重要的抗氧化剂之一,已被证明可以去除活性氮、过氧亚硝酸盐和许多其他各种活性氧^[13-15],且可通过磷脂酰肌醇三激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/丝氨酸/苏氨酸激酶 (serine/threonine kinase, AKT) 介导的抗氧化作用对肺缺血再灌注损伤产生保护作用^[16-18]。还有研究表明,迷迭香酸通过激活 Nrf-2 信号通路、减少抗氧化损伤、抑制炎症反应和抑制肝细胞凋亡^[19-20]。此外,其他学者也认为迷迭香酸可通过 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B cell lymphoma/leukemia 2 gene, Bcl-2) 信号通路对氧化应激和细胞凋亡具有明显的神经保护作用^[21-23]。然而,迷迭香酸是否在脑缺血再灌注诱导的脑损伤中发挥作用且如何发挥作用,目前尚不清楚。

本研究中证实,与假手术组比较,脑缺血再灌注确实会导致脑损伤,并伴有更高的神经功能缺损、脑梗死体积和脑水肿。注射迷迭香酸后,神经功能学评分明显下降,表明迷迭香酸有逆转小鼠脑损伤的潜在作用。由于脑缺血再灌注与 ROS 水平升高和脑水肿

密切相关,导致患者预后恶化^[24-25]。同时,本研究评估了 ROS 信号通路,发现当 ROS 在细胞内积累时,就会产生氧化应激,从而对机体造成损害。本研究还发现,脑损伤小鼠的 ROS 水平明显升高,迷迭香酸给药后 ROS 水平明显降低,表明迷迭香酸可通过抑制 ROS 保护小鼠免受脑缺血再灌注诱导的脑损伤。此外,与 ROS 比较,受损脑组织标本中的 SOD1、SOD2、HO-1、Nrf-2 蛋白相对表达水平受到抑制,这表明抗氧化剂水平下调,预防 CIRI 的能力降低。此外,由于炎症小体在通过 IL-1 β 释放调节炎症反应中的重要作用,ROS 调节的 NLRP-3 信号通路也被进一步评估^[26]。本研究发现,NLRP-3 信号通路在脑缺血再灌注中被激活,随后激活其下行信号表达,包括 ASC 和 caspase-1。但注射迷迭香酸后,NLRP-3 通路失活,最终导致 IL-1 β 分泌,表明迷迭香酸通过抑制 ROS 和 NLRP-3 对脑损伤起到保护作用。

本研究采用 Western blot、HE 染色和免疫组织化学法分析各组相关指标的蛋白表达和组织标本的损伤情况。结果表明,迷迭香酸通过改变脑缺血再灌注诱导小鼠脑内 ROS/NLRP-3 信号通路的表达,进而抑制氧化应激对抗脑损伤,这些发现可为研究人员从自然生产功能的角度研究 CIRI。

综上所述,迷迭香酸对 CIRI 小鼠具有保护作用,保护性作用与抑制 ROS/NLRP-3 炎症小体信号通路和抗氧化作用的改善有关,这为将来临床治疗提供了一种有前景的治疗策略和途径。

参考文献

- [1] GHASEMZADEH RAHBARDAR M, HOSSEINZADEH H. Effects of rosmarinic acid on nervous system disorders; an updated review [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2020, 393:1779-1795.
- [2] NOOR S, MOHAMMAD T, RUB M A, et al. Biomedical features and therapeutic potential of rosmarinic acid [J]. *Arch Pharm Res*, 2022, 45(4):205-228.
- [3] QIN H, FU Y, JIANG Y, et al. Total flavonoids in *prema fulva* craib alleviates brain neurological impairment and influences Nrf2 and HO-1 expressions in rats with ischemia-reperfusion [J]. *Cell Mol Biol*, 2022, 68:155-160.
- [4] SZELENBERGER R, KOSTKA J, SALUK-BIJAK J, et al. Pharmacological interventions and rehabilitation approach for enhancing brain self-repair and stroke recovery [J]. *Curruropharmacol*, 2020, 18(1):51-64.
- [5] MAREI H E, YANG C, CENCIARELLI C, et al. Inflammation in ischemic stroke and novel therapeutic strategies for stroke treatment [J]. *Front Neurol*, 2022, 13:1071557.
- [6] PAUDEL R, TUNKL C, SHRESTHA S, et al. Stroke epidemiology and outcomes of stroke patients in Nepal; a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Neurol*, 2023, 23(1):337.
- [7] SADEGHZADEH J, HOSSEINI L, MOBED A, et al. The impact of cerebral ischemia on antioxidant enzymes activity and neuronal damage in the hippocampus [J/OL]. [2023-01-15]. *Cell Mol Neurobiol*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37740074/>.
- [8] GUO S, QIAN C, LI W, et al. Modulation of neuroinflammation; advances in roles and mechanisms of IL-33/ST2 axis involved in ischemic stroke [J/OL]. *Neuroimmunomodulation*. [2023-01-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37729881/>.
- [9] ZHOU A F, ZHU K, PU P M, et al. Neuroprotective effect and possible mechanisms of ginsenoside-RD for cerebral ischemia/reperfusion damage in experimental animal; a meta-analysis and systematic review [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:7650438.
- [10] QIN C, YANG S, CHU Y H, et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke; molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1):215.
- [11] DEMIR A, EREN F. The relationship between age shock index, and severity of stroke and in-hospital mortality in patients with acute ischemic stroke [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2022, 31(8):106569.
- [12] HE F, BLACKBERRY I, YAO L, et al. Pooled incidence and case-fatality of acute stroke in mainland china, hong kong, and macao; a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2022, 17(6):e0270554.
- [13] MUSILLO C, GIONA L, RISTOW M, et al. Rosmarinic acid improves cognitive abilities and glucose metabolism in aged C57Bl/6N mice while disrupting lipid profile in young adults in a sex-dependent fashion [J]. *Nutrients*, 2023, 15(15):3366.
- [14] VO Q V, BAY M V, NAM P C, et al. Theoretical and experimental studies of the antioxidant and antinitrosant activity of syringic acid [J]. *J Org Chem*, 2020, 85(23):15514-15520.
- [15] LU Y H, HONG Y, ZHANG T Y, et al. Rosmarinic acid exerts anti-inflammatory effect and relieves oxidative stress via Nrf2 activation in carbon tetrachloride-induced liver damage [J]. *Food Nutr Res*, 2022, 18:66.
- [16] LUO W, TAO Y, CHEN S, et al. Rosmarinic acid ameliorates pulmonary ischemia/reperfusion injury by activating the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:860944.
- [17] LUO C, ZOU L, SUN H, et al. A review of the anti-inflammatory effects of rosmarinic acid on inflammatory diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:153.
- [18] LIU Y, XU X, TANG H, et al. Rosmarinic acid inhibits cell proliferation, migration, and invasion and induces apoptosis in human glioma cells [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(5):67.
- [19] JIA B, SHANG J, ZENG H, et al. Hepatoprotective effects of rosmarinic acid on ovalbumin-

- induced intestinal food allergy mouse model [J]. *Molecules*, 2023, 28(2):788.
- [20] WANG J, WANG S, GUO H, et al. Rosmarinic acid protects rats against post-stroke depression after transient focal cerebral ischemic injury through enhancing antioxidant response[J]. *Brain Res*, 2021, 1757:147336.
- [21] FARAG M R, KHALIL S R, ZAGLOOL A W, et al. Thiacloprid induced developmental neurotoxicity via Ros-oxidative injury and inflammation in chicken embryo: the possible attenuating role of chicoric and rosmarinic acids[J]. *Biology*, 2021, 10(11):1100.
- [22] EL-HUNEIDI W, ANJUM S, MOHAMMED A K, et al. Rosemarinic acid protects β -cell from STZ-induced cell damage via modulating NF- κ B pathway[J]. *Heliyon*, 2023, 9(9):e19234.
- [23] HUANG L, CHEN J, QUAN J, et al. Rosmarinic acid inhibits proliferation and migration, promotes apoptosis and enhances cisplatin sensitivity of melanoma cells through inhibiting ADAM17/EGFR/AKT/GSK3 β axis [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1):3065-3076.
- [24] WU X, JIAO W, CHEN J, et al. Ulinastatin alleviates early brain injury after intracerebral hemorrhage by inhibiting oxidative stress and neuroinflammation via ROS/MAPK/Nrf2 signaling pathway[J]. *Acta Cir Bras*, 2022, 37(6):e370606.
- [25] ZHOU T, MO J, XU W, et al. Mild hypothermia alleviates oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced apoptosis by inhibiting ROS generation, improving mitochondrial dysfunction and regulating DNA damage repair pathway in PC12 cells[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(3):447-457.
- [26] BLEVINS H M, XU Y, BIBY S, et al. The NLRP-3 inflammasome pathway: a review of mechanisms and inhibitors for the treatment of inflammatory diseases [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14:879021.
- (收稿日期:2023-01-18 修回日期:2023-06-29)
(编辑:袁皓伟)
-
- (上接第 2904 页)
- [13] TADOKORO T, IKEDA M, IDE T, et al. Mitochondria-dependent ferroptosis plays a pivotal role in doxorubicin cardiotoxicity [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(9):e132747.
- [14] MA S, WANG X, LAI F, et al. The beneficial pharmacological effects and potential mechanisms of picoside II: evidence of its benefits from in vitro and in vivo[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130:110421.
- [15] WANG T, ZHAI L, ZHANG H, et al. Picoside II inhibits the MEK-ERK1/2-COX2 signal pathway to prevent cerebral ischemic injury in rats[J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 57(3):335-351.
- [16] SHEN B, ZHAO C, CHEN C, et al. Picoside II protects rat lung and A549 cell against LPS-induced inflammation by the NF- κ B pathway[J]. *Inflammation*, 2017, 40(3):752-761.
- [17] ZHAI L, LIU M, WANG T, et al. Picoside II protects the blood-brain barrier by inhibiting the oxidative signaling pathway in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0174414.
- [18] CHANG H C, GUARENTE L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(3):138-145.
- [19] WANG A J, ZHANG J, XIAO M, et al. Molecular mechanisms of doxorubicin-induced cardiotoxicity: novel roles of sirtuin 1-mediated signaling pathways [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(7):3105-3125.
- (收稿日期:2022-12-05 修回日期:2023-05-11)
(编辑:张芑捷)