

白果内酯对脑缺血损伤保护作用的研究进展

唐永鑫, 李慧琴*

成都百裕制药股份有限公司, 四川 成都 610000

摘要: 白果内酯是从银杏叶中提取到的倍半萜内酯, 是银杏类制剂抗脑缺血作用的重要活性成分之一。白果内酯对脑缺血损伤保护作用具有一定的量效关系和时效关系, 作用机制主要包括: 改善缺血后脑组织的能量代谢, 抗炎症免疫损伤, 抗兴奋性氨基酸神经毒性, 抑制神经细胞的凋亡、促进神经元的增殖分化, 并能减轻脑水肿的发生和脑部循环障碍, 能全面针对脑缺血损伤的各种病理过程。简述白果内酯对脑缺血损伤保护的药效作用及其作用机制的研究进展。

关键词: 白果内酯; 脑缺血损伤; 脑保护; 能量代谢改善; 抗炎; 抗兴奋性氨基酸; 神经元保护; 抗脑水肿

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2018) 07-1203-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.07.007

Research progress on protective effect of bilobalide on cerebral ischemia injury

TANG Yongxin, LI Huiqin

Chengdu Baiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610000, China

Abstract: Bilobalide is an important active ingredient of Ginkgo preparations against cerebral ischemia extracted from *Ginkgo biloba* leaves. The protective effect of bilobalide on cerebral ischemic injury is dose-dependent and time-dependent. The main protective mechanism of bilobalide on cerebral ischemia injury is improving the energy metabolism of cerebral tissue after ischemia, anti-inflammatory immune injury, anti-excitatory amino acid neurotoxicity, inhibition of neuronal apoptosis, promoting neuronal proliferation and differentiation, alleviating encephaledema, and improving cerebral circulation disorder. Bilobalide can fully target various pathological processes of cerebral ischemia injury. This review explores research progress on the effect and mechanism of bilobalide on the protection of cerebral ischemia injury.

Key words: bilobalide; cerebral ischemia injury; cerebral protection; energy metabolism improvement; anti-inflammatory; anti-excitatory amino acid; neuroprotection; anti-encephaledema

银杏叶作为中药在我国具有悠久的药用历史, 传统中医理论认为其具有“活血化瘀, 通络止痛, 敛肺平喘”的功效, 长期应用于心脑血管疾病的防治, 衰老的延缓, 免疫力的增强和抗癌等。白果内酯是从银杏叶提取而得的唯一倍半萜内酯, 虽然在银杏叶中含量极低, 却是银杏叶提取物的核心药效成分之一, 可部分解释银杏叶提取物的神经保护功能^[1]。据 2010 年《中国卫生年鉴》的统计数据: 脑卒中已经成为我国国民第一位的疾病死亡原因, 其中缺血性脑卒中的患病率、发病率最高, 分别占全部脑卒中的 77.8%和 69.6%^[2]。目前缺血性脑卒中急性期治疗的重点是血管再通和脑缺血损伤保护。随着静脉溶栓联合支架取栓等脑血管介入治疗手

段的发展, 血管再通治疗已取得了长足的进步, 然而脑缺血损伤保护仍未取得突破性进展。越来越多的研究证实白果内酯具有突出的神经血管保护作用^[3], 日渐成为脑缺血损伤保护的研究热点。本文在查阅国内外研究文献的基础上, 就近年来白果内酯对脑缺血损伤保护作用及其作用机制作一综述。

1 保护脑缺血损伤的药效学研究

目前国内外对白果内酯抗脑缺血损伤的研究主要为临床前的药理试验研究, 多个研究团队采用线栓法制备大鼠脑缺血 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 和缺血/再灌注 (middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R) 模型来观察白果内酯对脑缺血损伤的保护作用, 试验结果充分

收稿日期: 2017-12-28

第一作者: 唐永鑫, 硕士, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13036680319 E-mail: 18711500@qq.com

*通信作者: 李慧琴, 研究方向为中药药理与临床研究。E-mail: lihuiqin@baiyujituan.com

显示白果内酯能明显改善脑缺血和缺血再灌注后动物神经功能缺损症状,减少脑梗死范围,减轻脑组织形态学改变^[4-5]。

为了探明白果内酯抗脑缺血的量效关系,Klein教授的研究团队设计了多个剂量组(10、3、1、0.3 mg/kg),结果显示ip白果内酯10、3 mg/kg具有显著的抗脑缺血作用,且10 mg/kg的作用优于3 mg/kg;而白果内酯1 mg/kg仅有作用趋势无统计学差异,0.3 mg/kg时没有观察到白果内酯抗脑缺血的作用,证明白果内酯抗脑缺血作用呈量效关系^[4]。该结果与Jiang等^[5]研究结论一致。Klein教授等还研究了给药时间与白果内酯抗脑缺血关系,结果显示造模前1 h、造模后1 h和3 h分别ip白果内酯10 mg/kg都表现出抗脑缺血的作用,但以造模前1 h和造模后1 h作用较为明显^[4]。这些研究说明白果内酯不仅可以用于脑缺血缺氧的预防,还具有良好的治疗价值,早期使用疗效更为明显。

2 对脑缺血损伤保护的机制

正因为白果内酯抗脑缺血作用明确,存在一定的量效关系和时效关系,具有潜在的临床价值,近年来越来越多的研究团队对白果内酯抗脑缺血损伤的作用机制进行了深入、多方面的探究,目前已研究明确的机制如下。

2.1 改善能量代谢

脑细胞在脑缺血后产生损伤级联反应,其中能量代谢障碍被认为是缺血后细胞损伤的始动环节,是脑缺血损伤的主要病理机制之一^[6]。增加脑组织中能量物质及其利用率,提高脑组织的能量代谢,具有重要的治疗意义^[7-8]。白果内酯虽然不能直接提高缺血区脑组织中的葡萄糖含量^[4, 9],仅对正常氧含量状态下葡萄糖的转运起促进作用^[10],但能显著抑制缺血区脑组织中的三磷酸腺苷(ATP)下降,延迟组织缺血缺氧后糖酵解的激活,抑制缺氧后组织中的乳酸堆积量增加^[9-10]。

白果内酯对细胞内ATP水平的保护作用与白果内酯保护线粒体的活性和功能密切相关。Janssens等^[11]证实白果内酯能剂量(2~8 mg/kg)相关地增加缺氧条件下大鼠线粒体呼吸控制率(respiratory control ratio, RCR),也能降低线粒体第3状态和第4状态下复合体I和复合体III氧消耗的敏感性,同时还能增加复合体I的活性。Chandrasekaran等^[12]以神经生长因子鉴别的大鼠PC12细胞为研究对象,结果表明,在培养介质中

加入白果内酯15.3、30.6 $\mu\text{mol/L}$,而不是银杏内酯B 11.8、23.6 $\mu\text{mol/L}$,能将细胞色素C氧化酶的线粒体DNA(mtDNA)编码的COX III亚单位提高了两倍。此外,白果内酯能显著抑制钙离子超载诱发的线粒体肿胀^[9],保护缺血状态下线粒体的形态和功能的完整,延迟缺血损伤的进程。因此,白果内酯能使线粒体在缺血的低氧状态下仍维持呼吸链的功能,只要存在一些氧气,就能保存线粒体,重新生成ATP。这些发现均支持了白果内酯调节脑能量代谢和神经保护功能的观点。

2.2 抗炎

脑缺血/再灌注的炎症损伤是一个复杂的病理过程,研究资料显示,首先是缺血缺氧诱导炎性细胞因子产生,然后诱导黏附分子和趋化因子的表达,进而促使炎性细胞浸润到缺血组织,炎性细胞及其产生的细胞因子又相互诱导激活,而再灌注带来大量的炎性介质和炎性细胞进一步加重炎症反应^[13-14]。过度表达的各种细胞因子和炎性细胞不但能加重微循环障碍,还参与炎症损伤,启动细胞凋亡等,因此有效控制炎症反应可降低缺血所造成的脑组织损伤^[15-16]。炎性细胞因子过度表达是脑缺血后炎症免疫反应的始动因素。陈琴等^[17]研究显示白果内酯能显著减少MCAO/R大鼠脑组织中白介素-6(IL-6)、IL-1 β 以及核因子- κB (NF- κB)的含量。Priyanka等^[18]通过离体试验也证明白果内酯能明显降低缺氧状态下组织中升高的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、IL-1 β 和干扰素- γ (IFN- γ)等炎性细胞因子水平。体内和体外试验中均观察到缺血缺氧导致缺血阴影区的脑组织中TNF- α 、IL-1 β 和丙二醛(MDA)的含量显著升高,超氧化物歧化酶(SOD)水平明显下降,而白果内酯能反向调节上述炎性细胞因子的紊乱;进一步研究表明,白果内酯抗炎作用与下调p-JNK1/2和p-p38 MAPK的表达有关,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号转导通路是白果内酯抗炎的重要信号通路之一^[5]。

NO作为重要的信号分子,在炎症免疫应答中起着关键的作用。Cheung等^[19]研究结果显示白果内酯处理的THP-1巨噬细胞中诱导性酶(iNOS)蛋白质量和mRNA的水平降低,NO生成减少,但白果内酯处理的人体内皮细胞(HUVEC)内一氧化氮合酶(eNOS)蛋白质和mRNA的表达,NO生成均无明显改变。这些结果表明,白果内酯对iNOS表达具有选择性的抑制作用,不会影响以

eNOS 为媒介的 NO 的正常生成。

小胶质细胞是中枢神经系统的巨噬细胞,是大脑第一道也是最重要的免疫防线,在各种脑损伤的炎症反应中起到关键的作用。Zhou 等^[20]报道了白果内酯对 BV2 小胶质细胞的氧糖剥夺和复氧 (oxygen-glucose deprivation and reoxygenation, OGD/R) 体外模型的影响。研究显示在 OGD/R 的条件下, BV2 小胶质细胞释放大量的 IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- α , 而白果内酯能减少相关炎症介质的释放。同时白果内酯降低了 OGD/R 诱导下 TLR2、TLR4、MyD88、Bak 和 RIP3 的水平, 反向调节 OGD/R 诱导下裂解 caspase-3/caspase-3、Bax/Bcl-2 和裂解 PARP-1/PARP-1 的比值, 进而下调 BV2 小胶质细胞的 p-TAK1、p-I κ B α 、p-IKK β 的表达和抑制 NF- κ B p65 从细胞质进入细胞核。TLRs/MyD88/NF- κ B 的信号转导通路也与白果内酯抗炎作用密切相关。这些研究成果均表明白果内酯能通过抗炎途径发挥抗脑缺血和神经保护的作用。

2.3 抗兴奋性氨基酸毒性

兴奋性氨基酸 (excitatory amino acid, EAA) 是中枢神经系统的兴奋性递质, 主要为谷氨酸 (Glu) 和天门冬氨酸 (ASP), 其中 Glu 在脑内含量最丰富, 主要分布于皮层与海马。在脑缺血性损伤时, 神经元与星形胶质细胞摄取 Glu 能力下降, 使得 Glu 合成与分解、摄取与释放的动态过程遭到破坏, Glu 在细胞间隙的含量剧增, 进而过度激活其受体, 引起钙超载、一氧化氮生成增多、自由基激活一系列反应, 对中枢神经系统有明显的毒性作用即兴奋性神经毒性作用^[21-22]。Klein 教授采用微量渗析方法观察白果内酯对 MCAO 模型大鼠 Glu 的影响, 证实白果内酯延迟缺血后纹状体和海马区域的细胞外 Glu 的释放, 显著降低 Glu 的释放峰值, 同时体外试验还证实白果内酯能使缺血诱导的 Glu 释放总量减少 65%^[4]。其他研究结果表明白果内酯不但具有降低缺血区 Glu 含量的作用^[23, 9], 还有减少 ASP 释放的作用^[23]。

N-甲基-D-门冬氨酸 (NMDA) 是 EAA 的一类离子型受体, 是介导兴奋性神经毒性的主要受体。当缺血损伤时 NMDA 受体被 Glu 激活后, 会使细胞膜对 K⁺、Na⁺ 以及 Ca²⁺ 的通透性增加, 主要是增加细胞内 Ca²⁺ 水平, 导致膜磷脂降解、结构破坏、自由基生成、细胞骨架分解等, 从而加剧兴奋性毒性作用^[24]。Jochen Klein 研究表明白果内酯能减少

NMDA 受体诱导的大鼠海马组织切片的细胞内胆碱溢出, 说明白果内酯具有抑制 NMDA 受体介导的磷脂酶 A2 活化和磷脂膜降解的作用^[25]。通过观察 NMDA 受体和各种配体结合后细胞内胆碱和氯离子的溢出, 进一步明确了白果内酯抑制 NMDA 受体所介导的神经细胞磷脂膜降解的作用^[26-27]。

因此, 白果内酯从干预缺血区 EAA 的释放和影响 NMDA 受体两方面发挥抗兴奋性神经毒性作用。Chandrasekaran 等^[12]报道在体外试验中白果内酯剂量相关性地抑制 Glu 兴奋性毒性诱导的小脑颗粒神经元的细胞死亡, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 5 μ g/mL。大连医科大学脑疾病研究所研究证实白果内酯可提高 Glu 损伤的海马神经元细胞的存活率、降低细胞凋亡率、减少细胞中 LDH 的漏出, 具有剂量相关性^[28]。因而白果内酯抗兴奋性神经毒性的作用是其抗脑缺血和神经保护的明确机制之一。

2.4 抑制神经细胞凋亡

脑缺血后的几个小时内, 能量代谢障碍、炎症免疫效应、兴奋性氨基酸毒性和自由基损伤等最终都会诱导梗死区周围或缺血半暗带的神经元细胞死亡或凋亡^[29]。白果内酯不但能增加氧化物处理的鸡胚胎前脑细胞的细胞存活率, 还能抑制血清剥夺或十字孢碱 (staurosporine, STS) 处理诱导的鸡胚胎神经细胞和大鼠海马神经元的细胞凋亡^[30-31]。白果内酯在黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶 (自由基生成系统) 诱导的 PC12 细胞凋亡试验中也表现出显著的抑制作用^[32]。进一步研究表明, 白果内酯是通过调控细胞内升高的 c-myc、p53 和 Bax 的水平和半胱天冬酶-3 (caspase-3) 的活性发挥抗细胞凋亡的作用^[2]。Shi 等^[33]证实白果内酯能剂量相关地提高磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 的活性和磷酸化的 Akt 水平 (Ser473 和 Thr308), 并通过 PI3K/Akt 信号转导通路抑制 A β 1-42、H₂O₂ 和血清剥夺诱导的人类 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞和原代海马神经元细胞的凋亡。

最新研究表明, 白果内酯还通过促进神经元自噬并抑制神经元凋亡。白果内酯 7 mg/kg 能够升高小鼠缺血半影区脑组织 LC3 荧光表达并抑制 Cleaved caspase-3 荧光表达, 其中 LC3 与 Cleaved caspase-3 荧光都与神经元细胞有部分共标; 白果内酯能够降低小鼠缺血半影区脑组织凋亡相关蛋白 Bax、Cleaved caspase-3、自噬底物蛋白 p-62 蛋白的表达, 提升 Bcl-2、LC3-II 和 Beclin-1 的蛋白表达;

自噬抑制剂 3MA 能够部分取消白果内酯对 Bax、Cleaved caspase-3 蛋白表达的抑制作用；流式细胞术结果显示白果内酯能够减少处于早期凋亡和晚期凋亡及坏死的细胞数目，而 3MA 部分取消白果内酯对细胞凋亡的抑制作用^[34]。

2.5 对神经细胞分化、增殖及营养作用

除了能抑制神经元细胞凋亡，白果内酯还能促进神经元细胞分化增殖。试验表明，白果内酯能增加磷酸化环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (p-CREB) 和脑源性神经营养因子的水平，从而剂量相关地促进海马神经元的神经形成和突触形成^[35]。Liu 等^[36]体外细胞试验也发现白果内酯能剂量相关性和时间相关地诱导 P19 胚胎癌细胞 (embryonic carcinoma cells, ECCs) 向神经元细胞分化。白果内酯能使非活化的 GSK-3 β 磷酸化增加，进一步诱导细胞核的 β -联蛋白积聚，同时上调 Wnt 配体 Wnt1 和 Wnt7a 的表达。白果内酯诱导神经元细胞分化的作用可被 Wnt/ β -联蛋白的信号转导通路的抑制剂 XAV939 所抑制。因此，白果内酯促进神经元细胞分化的作用与 Wnt/ β -联蛋白的信号转导通路相关。胡刚教授的团队^[37]也研究证明了白果内酯能够促进成体神经干细胞存活、自我更新、增殖和向神经元的分化，并且其对分化的积极作用与其对神经干细胞 JNK MAPK 通路的抑制作用相关。

胶质细胞是数量最多、体积最大的神经细胞，占神经细胞的 95% 以上，近些年来是神经保护机制靶点的研究热点。胶质源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 是新近发现的一种神经营养因子，具有广泛的应用前景。中国科学院上海药物研究所上世纪 90 年代即开始白果内酯对胶质细胞的作用研究，Zheng 等^[38]用白果内酯 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理大鼠星形胶质细胞 12 h 后 GDNF 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) mRNA 的细胞内表达显著增加，24 h 后在星形胶质细胞细胞质内检测到 GDNF 和 VEGF 蛋白。有研究表明^[31]，白果内酯 100 $\mu\text{mol/L}$ 能抑制血清剥夺或 STS 处理诱导的星形胶质细胞的细胞凋亡。因此，白果内酯不但能抑制神经元和神经胶质细胞的凋亡，还能促进神经元的增殖分化，能促进神经胶质细胞分泌神经营养因子，这些研究成果都证明了白果内酯的神经保护作用。

2.6 抗脑水肿

脑水肿是缺血性脑卒中最危险的并发症之一^[39]。

Mdzinarishvili 等^[40]观察到白果内酯能减轻氧糖剥夺 (oxygen-glucose deprivation, OGD) 培养条件下海马组织切片的水肿程度；降低 MCAO 模型大鼠缺血侧脑组织的含水量；但对水中毒（短时间内大量饮水）所致脑水肿无效。通过体内试验证实，白果内酯能有效地缓解缺血性脑水肿。纪雪飞等^[41]研究表明：白果内酯 7、14、28 mg/kg 可剂量相关性改善大脑中动脉缺血再灌注损伤大鼠神经功能缺失症状，降低脑梗死面积；降低脑指数及缺血侧脑组织中伊文思蓝的含量；减轻毛细血管周围星形胶质细胞终足的水肿，减少内皮细胞间紧密连接的松解，维持正常的细胞形态和结构；增加紧密连接蛋白 occludin、claudin-5 的表达，降低 VEGF、p-PI3K、p-Akt 的表达。白果内酯对血管源性脑水肿具有显著的防治作用，其机制可能与影响 VEGF-PI3K-Akt-eNOS 调节通路，保护血脑屏障的基础结构等有关。秦海明等^[42]研究还发现：白果内酯通过抑制神经细胞中 AQP9 mRNA 和蛋白质的合成减少脑水肿。由于皮质中胶质细胞数量远大于神经元细胞，抑制 AQP9 合成的作用就更加明显。由此来看，白果内酯抗脑水肿的作用是其抗脑缺血作用的具体表现之一。

2.7 对脑部循环系统的作用

87% 的中风患者是因为血栓或其它栓子突然阻塞脑部血管而导致的缺血性中风，早期恢复血供和防止血栓再形成能是治疗中的关键问题^[43]。重庆医科大学徐露等^[44]体外血小板聚集试验表明，银杏总内酯 5 mg/kg（白果内酯 48%+二萜内酯 51%）、银杏二萜内酯 5 mg/kg（银杏内酯 ABC 组合物）、银杏内酯 B 5 mg/kg 抗血小板聚集作用别为 43.76%、35.30%、30.81%，说明白果内酯能与银杏二萜内酯在抗血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 作用上具有协同增效的效果。Maerz 等^[45]揭示了白果内酯抗 PAF 协同作用的机制，结果表明白果内酯能剂量相关性地下调 PAF 受体 mRNA 的表达，而不影响 PAF 的代谢蛋白 (PAF 乙酰水解酶)，从而整体上下调 PAF 的信号转导作用。在大鼠 MCAO/R 模型中还观察到白果内酯能在血流重新恢复时增加脑血流量 (cerebral blood flow, CBF)，而银杏内酯并无此作用^[46]。新生血管对缺血区的血供恢复具有一定作用，血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 由周细胞 (神经祖细胞)、血管内皮细胞分泌，对血管内皮细胞的

生成、修复至关重要。中国科学院上海药物研究所及国外研究团队研究发现：白果内酯能促进周细胞、血管内皮细胞分泌并生成 VEGF，促进血管内皮细胞分化、生成并形成管状^[38]。刘秀萍等^[47]通过 MCAO/R 大鼠研究表明 BB 不但可促进 VEGF 表达，还能通过促进 VEGF 受体的表达进一步增强缺血区血管生成。

3 结语

白果内酯作为银杏内酯中唯一一个倍半萜类内酯，能改善缺血后脑组织的能量代谢，具有抗炎免疫和兴奋性氨基酸神经毒性作用，能抑制神经细胞的凋亡、促进神经元的增殖分化，并能减轻脑水肿的发生和脑部循环障碍。目前研究已表明，白果内酯保护脑缺血损伤的作用具有作用机制明确，作用靶点全面的特点。笔者认为，结构和作用机制明确是天然药物区别于传统中药的要点。结构和作用机制明确不但能保证药物的疗效，还能降低药物的使用风险，是现代中药发展的方向之一。从这一点来看，白果内酯是具有脑保护作用的天然药物。众所周知，脑缺血损伤是一个级联损伤的过程，其中包含了多种病理过程。然而，回顾以往脑保护的药物治疗，不难发现大多失败的药物仅仅只作用于单一靶点，从某一个病理机制入手，往往难以取得满意的临床效果，这也是脑缺血损伤保护研究相对滞后的原因之一。笔者认为，只有全面针对这些病理过程，进行多靶点治疗，全方位保护，才能达到脑保护的目的。从多靶点脑保护的角度，白果内酯也是一个极其具有潜力的脑保护化合物。根据我国最新的脑卒中流行病学数据，我国仍是全球脑卒中负担大国^[2]。因此，白果内酯作为潜在的脑保护药将有巨大的市场前景和社会效益。

然而，白果内酯抗脑缺血的临床研究还未有报道，但含有白果内酯的银杏叶制剂在临床上已取得了一定的成果。一项纳入 25 个银杏叶提取物治疗急性脑梗死随机对照试验的 Meta-分析显示^[48]，银杏叶提取物治疗急性脑梗死的疗效和神经功能缺损评分均优于对照组，证明临床上银杏叶提取物具有提高治疗急性脑梗死有效率、改善神经功能缺损的作用；该 Meta-分析对不良反应的研究表明，银杏叶提取物的不良反应主要是潮红、头痛、头晕、上腹部不适等，均自行好转或对症处理后好转，无严重不良反应报道。在众多银杏叶制剂中，银杏内酯注射液对白果内酯和银杏内酯的含量占比分别

为 48%和 51%，相对传统的银杏叶制剂，有效成分更纯，含量更高，杂质更少。在一项多中心评价银杏内酯注射液治疗缺血性脑卒中药物经济学的研究中发现^[49]，经银杏内酯注射液治疗患者较未接受其治疗患者临床效果更佳，成本效果比更优，证明了银杏内酯注射液具有安全有效、远期经济收益良好的特点。这些临床研究从一个侧面填补了白果内酯脑保护临床研究的空白。因此，有理由相信白果内酯是银杏叶制剂中脑保护的主要物质基础，期待具有更高证据的临床研究进一步证实，以便造福更多的缺血性脑卒中患者。

参考文献

- [1] Strømgaard K, Nakanishi K. Chemistry and biology of terpene trilactones from *Ginkgo biloba* [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2004, 43(13): 1640-1658.
- [2] Wang W Z, Jiang B, Sun H X, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China [J]. Circulation, 2017, 135(8): 759-771.
- [3] DeFeudis F V. Bilobalide and neuroprotection [J]. Pharmacol Res, 2002, 46(6): 565-568.
- [4] Lang D, Kiewert C, Mdzinarishvili A, et al. Neuroprotective effects of bilobalide are accompanied by a reduction of ischemia-induced glutamate release *in vivo* [J]. Brain Res, 2011, 24(1425): 155-163.
- [5] Jiang M J, Li J, Peng Q X, et al. Neuroprotective effects of bilobalide on cerebral ischemia and reperfusion injury are associated with inhibition of pro-inflammatory mediator production and down-regulation of JNK1/2 and p38 MAPK activation [J]. J Neuroinf, 2014, 26(11): 167.
- [6] 刘明, 孙建宁, 董世芬, 等. 大鼠脑缺血不同时间脑能量代谢的变化研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 216-218.
- [7] 黄小平, 王蓓, 邱咏园, 等. 黄芪甲苷和三七的主要有效成分配伍对小鼠脑缺血再灌注后脑组织能量代谢的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(2): 220-226.
- [8] Nielson C, Fleming R M. Blood glucose and cerebrovascular disease in nondiabetic patients [J]. Angiology, 2007, 58(5): 625-629.
- [9] Schwarzkopf T M, Koch K A, Klein J. Neurodegeneration after transient brain ischemia in aged mice: Beneficial effects of bilobalide [J]. Brain Res, 2013, 5(1529): 178-187.
- [10] Janssens D, Michiels C, Delaive E, et al. Protection of hypoxia-induced ATP decrease in endothelial cells by *Ginkgo biloba* extract and bilobalide [J]. Biochem Pharmacol, 1995, 50(7): 991-999.

- [11] Janssens D, Remacle J, Drieu K, et al. Protection of mitochondrial respiration activity by bilobalide [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(1): 109-119.
- [12] Chandrasekaran K, Liu L I, Hatanpaa K, et al. Neuroprotective effects of bilobalide, a component of Ginkgo biloba extract (EGb 761) in global brain ischemia and in excitotoxicity-induced neuronal death [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2003, 36(Suppl 1): S89-S94.
- [13] Iadecola C, Alexander M. Cerebral ischemia and inflammation [J]. *Curr Opin Neurol*, 2001, 14(1): 89-94.
- [14] Masahito K, Midori A, Yenari. Inflammatory responses in brain ischemia [J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(10): 1258-1277.
- [15] Khan M, Elango C, Ansari M A, et al. Caffeic acid phenethyl este reduces neur-ovascular inflammation and protects rat brain following transient focal cerebral ischemia [J]. *Neurochem*, 2007, 102(2): 365-377.
- [16] Wang Q, Tang X N, Midori A. The inflammatory response in stroke [J]. *Neuroimmunol*, 2007, 184(1/2): 53-68.
- [17] 陈 琴, 余俊健, 钟文敏, 等. 研究白果内酯对大鼠脑缺血/再灌注损伤的保护作用 [J]. *赣南医学院学报*, 2017, 37(2): 188-193.
- [18] Priyanka A, Nisha V M, Anusree S S, et al. Bilobalide attenuates hypoxia induced oxidative stress, inflammation, and mitochondrial dysfunctions in 3T3-L1 adipocytes via its antioxidant potential [J]. *Free Radic Res*, 2014, 48(10): 1206-1217.
- [19] Cheung F, Siow Y L, O K. Inhibition by ginkgolides and bilobalide of the production of nitric oxide in macrophages (THP-1) but not in endothelial cells (HUVEC) [J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(4): 503-510.
- [20] Zhou J M, Gu S S, Wang H M, et al. Ginkgolides and bilobalide protect BV2 microglia cells against OGD/reoxygenation injury by inhibiting TLR2/4 signaling pathways [J]. *Cell Str Chap*, 2016, 21: 1037-1053.
- [21] 赵 刚, 李树清. 兴奋性氨基酸毒性与缺血性脑损伤 [J]. *国外医学: 脑血管病分册*, 2004, 12(6): 426-429.
- [22] Mehta S L, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics [J]. *Brain Res Rev*, 2007, 54(1): 34-66.
- [23] Davies J A, Johns L, Jones F A. Effects of bilobalide on cerebral amino acid neurotransmission [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2003, 36(Suppl 1): S84-S88.
- [24] 王 卉, 闫海涛, 郑建全. 不同发育期大鼠海马 N-甲基-D-天冬氨酸受体 3A 亚基的表达及其抗缺血缺氧能力 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2012, 26(3): 282-287.
- [25] Weichel O, Hilgert M, Chatterjee S S, et al. Bilobalide, a constituent of Ginkgo biloba, inhibits NMDA-induced phospholipase A 2 activation and phospholipid breakdown in rat hippocampus [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1999, 360(6): 609-615.
- [26] Klein J, Weichel O, Hilgert M, et al. Excitotoxic hippocampal membrane breakdown and its inhibition by bilobalide: role of chloride fluxes [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2003, 36(Suppl 1): S78-83.
- [27] Cornelia K, Vikas K, Oksana H, et al. Role of glycine receptors and glycine release for the neuroprotective activity of bilobalide [J]. *Brain Res*, 2008, 27(1201): 143-150.
- [28] 徐 静, 孙长凯, 王冬梅, 等. 白果内酯对谷氨酸兴奋毒性致神经损害的保护作用 [J]. *中草药*, 2009, 40(10): 1593-1597.
- [29] 宋修云, 胡金凤, 陈乃宏. 神经细胞凋亡与脑缺血疾病 [J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(3): 307-310.
- [30] Ahlemeyer B, Krieglstein J. Pharmacological studies supporting the therapeutic use of Ginkgo biloba extract for Alzheimer's disease [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2003, 36(Suppl 1): S8-S14.
- [31] Ahlemeyer B, Möwes A, Krieglstein J. Inhibition of serum deprivation- and staurosporine-induced neuronal apoptosis by Ginkgo biloba extract and some of its constituents [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 367(2/3): 423-430.
- [32] Zhou L J, Zhu X Z. Reactive oxygen species-induced apoptosis in PC12 cells and protective effect of bilobalide [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 293(3): 982-988.
- [33] Shi C, Wu F M, David T, et al. Bilobalide prevents apoptosis through activation of the PI3K/Akt pathway in SH-SY5Y cells [J]. *Apoptosis*, 2010, 15(6): 715-727.
- [34] 华 骏. 白果内酯对缺血性脑损伤的神经保护作用及其机制研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2017: 32-54.
- [35] Tchantchou F, Lacor P N, Cao Z, et al. Stimulation of neurogenesis and synapto-genesis by bilobalide and quercetin via common final pathway in hippocampal neurons [J]. *J Alzheimers Dis*, 2009, 18(4): 787-798.
- [36] Liu M, Guo J J, Wang J, et al. Bilobalide induces neuronal differentiation of P19 embryonic carcinoma cells via activating Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2014, 34(6): 913-923.
- [37] 华 骏. 白果内酯对缺血性脑损伤的神经保护作用及其机制研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2017: 55-88.
- [38] Zheng S X, Zhou L J, Chen Z L, et al. Bilobalide promotes expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor in rat astrocytes [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(2): 151-155.

- [39] Steiner T, Ringleb P, Hacke W. Treatment options for large hemispheric stroke [J]. *Neurology*, 2001, 57 (Suppl 1): S61-S68.
- [40] Mdznarishvili A, Kiewert C, Kumar V, et al. Bilobalide prevents ischemia-induced edema formation *in vitro* and *vivo* [J]. *Neuroscience*, 2007, 144(1): 217-222.
- [41] 纪雪飞, 孙明亮, 贺晓露, 等. 白果内酯对缺血性脑水肿的保护作用及其机制探讨 [A].//石家庄: 2014 年中国药学会大会暨第十四届中国药师周论文集 [C]. 2014.
- [42] 秦海明, 宋福林, 袁鹏程, 等. 白果内酯对大鼠栓塞后脑水肿模型脑内水通道蛋白 9 的影响 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(8): 630-634.
- [43] Go A S, Mozaffarian D, Roger V L, et al. Heart disease and stroke statistics - 2014 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2014, 129(3): e28-e292.
- [44] 徐 露, 黄 彦. 百裕银杏内酯注射液抑制家兔血小板聚集的实验研究 [J]. *中国中医急症*, 2014, 23(4): 638-643.
- [45] Maerz S, Liu C H, Guo W, et al. Anti-ischaemic effects of bilobalide on neonatal rat cardiomyocytes and the involvement of the platelet-activating factor receptor [J]. *Biosci Rep*, 2011, 31(5): 439-447.
- [46] Huang M H, Qian Y S, Guan T, et al. Different neuroprotective responses of Ginkgolide B and bilobalide, the two Ginkgo components, in ischemic rats with hyperglycemia [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 677(1/3): 71-76.
- [47] 刘秀萍, 邓 方. 银杏内酯和白果内酯对大鼠脑缺血再灌注损伤后 VEGF 的表达的影响 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2015, 32(2): 108-111.
- [48] 秦劭晨, 陈 健, 黑赏艳等. 银杏叶提取物治疗急性脑梗死随机对照试验的 Meta 分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(12): 190-195.
- [49] 孙 毅, 李慧琴. 多中心评价银杏内酯注射液治疗缺血性脑卒中药物经济学 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(6): 759-763.