

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.13.002

丁苯酞对颈动脉狭窄大鼠认知功能及海马 CA1 区神经元凋亡的影响及相关机制研究*

刘福德¹ 于 嘉^{2△} 王建懿¹ 陈 晨¹ 方 伟²

(1 西安交通大学第一附属医院神经内科 陕西 西安 710000; 2 空军军医大学第二附属医院神经外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探讨与研究丁苯酞对颈动脉狭窄大鼠认知功能及海马 CA1 区神经元凋亡的影响及相关机制。**方法:**将颈动脉狭窄大鼠大鼠(n=42)随机分为三组-模型组、低剂量丁苯酞(20 mg/kg)组和高剂量丁苯酞(40 mg/kg)组,每组 14 只。低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组每天给予 20 mg/kg、40 mg/kg 丁苯酞灌胃治疗,对照组给予等剂量的生理盐水灌胃,持续 21 d。**结果:**低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 7 d、第 14 d、第 21 d 的 BBT 评分低于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组低于低剂量丁苯酞组($P<0.05$)。低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 21 d、第 28 d 的海马 CA1 区神经元凋亡指数低于模型组,高剂量丁苯酞组低于低剂量丁苯酞组($P<0.05$)。低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 21 d、第 28 d 的脑组织超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性高于模型组($P<0.05$),丙二醛(Malondialdehyde, MDA)活性低于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组与低剂量丁苯酞组对比差异都有统计学意义($P<0.05$)。低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 21 d、第 28 d 的海马 CA1 区 BCL2-Associated X (Bax)、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, bcl-2)蛋白相对表达水平高于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组高于低剂量丁苯酞组($P<0.05$)。**结论:**丁苯酞在颈动脉狭窄大鼠的应用能提高海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 蛋白的表达,抑制神经元的凋亡,改善氧化应激状态,从而提高大鼠的认知功能。

关键词:剂量;丁苯酞;颈动脉狭窄;海马 CA1 区;神经元凋亡;氧化应激;认知功能

中图分类号:R-33;R743 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)13-2411-05

Effects of Butylphthalide on Cognitive Function and Neuronal Apoptosis in Hippocampal CA1 Area of Rats with Carotid Artery Stenosis and Related Mechanisms*

LIU Fu-de¹, YU Jia^{2△}, WANG Jian-yi¹, CHEN Chen¹, FANG Wei²

(1 Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710000, China;

2 Department of Neurosurgery, Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To explore and study the effect of butylphthalide on cognitive function and neuronal apoptosis in hippocampal CA1 area of rats with carotid artery stenosis and related mechanisms. **Methods:** Rats with carotid artery stenosis (n=42) were randomly divided into three groups-model group, low-dose butylphthalide (20 mg/kg) group and high-dose butylphthalide (40 mg/kg) group, each with 14 rats in each group. The low-dose butylphthalide group and the high-dose butylphthalide group were given 20 mg/kg and 40 mg/kg butylphthalide by gavage every day, and the control group were given the same dose of normal saline by gavage for 21 days. **Results:** The BBT scores of the low-dose butylphthalide group and the high-dose butylphthalide group were lower than those of the model group on the 7th, 14th, 21st days ($P<0.05$), and the high-dose butylphthalide group were lower than the low-dose butylphthalide group ($P<0.05$). The apoptosis index of hippocampal CA1 neurons in the low-dose butylphthalide group and the high-dose butylphthalide group were lower than that of the model group on the 21st and 28th day, and the high-dose butylphthalide group were lower than that of the low-dose butylphthalide group ($P<0.05$). The activity of superoxide dismutase (SOD) in the brain tissue of the low-dose butylphthalide group and the high-dose butylphthalide group were higher than that of the model group on the 21st and 28th day ($P<0.05$). Malondialdehyde (Malondialdehyde, The MDA activity) were lower than that of the model group ($P<0.05$), and the difference compared between the high-dose butylphthalide group and the low-dose butylphthalide group were statistically significant ($P<0.05$). Treatment of BCL2-Associated X (Bax) and B-cell lymphoma-2 (bcl-2) proteins in the hippocampal CA1 area on the 21st and 28th day of the low-dose butylphthalide group and the high-dose butylphthalide group. The relative expression level were higher than the model group ($P<0.05$), and the high-dose butylphthalide group were higher than the low-dose butylphthalide group ($P<0.05$). **Conclusion:** The application of butylphthalide in rats with carotid artery stenosis can increase the expression of Bax and Bcl-2 protein in hippocampal CA1 area, inhibit neuronal apoptosis, improve oxidative stress, and improve the cognitive function of rats.

* 基金项目:陕西省重点研发计划项目(2021SF-059)

作者简介:刘福德(1986-),男,硕士,主治医师,研究方向:脑血管病的介入诊断和治疗,电话:18161823657, E-mail: doctor860814@163.com

△ 通讯作者:于嘉(1977-),男,博士,副主任医师,研究方向:脑血管病相关研究,电话:13759957904, E-mail: yujiaaaa77@163.com

(收稿日期:2021-11-05 接受日期:2021-11-30)

Key words: Dose; Butylphthalide; Carotid artery stenosis; Hippocampal CA1 area; Neuronal apoptosis; Oxidative stress; Cognitive function

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)13-2411-05

前言

脑梗死是临床上一种常见急症,具有很高的致残率与死亡率^[1]。颈动脉狭窄为导致脑梗死的主要病因,手术与介入治疗为颈动脉狭窄的主要治疗方法,但是都有一定的创伤性^[2,3]。随着药物技术的发展,当前很多药物开始应用于颈动脉狭窄的治疗,也发挥了重要的作用。丁苯酞可改善患者脑缺血,恢复神经功能,调节患者的血脂水平^[4]。并且丁苯酞可促使脑梗死面积缩小,保护脑细胞线粒体功能,促进脑缺血区域微循环重建,促进脑神经功能恢复^[5,6],但是具体的作用机制还不明确。在颅内脑组织中,海马 CA1 区是学习、记忆等高级神经活动的重要部位,认知功能障碍患者的海马 CA1 区可受到伤害^[7]。氧化应激(Oxidative stress, OS)为介导脑梗死发生的重要机制之一,特别是脑梗死可导致机体出现氧化与抗氧化失衡,从而诱发机体出现细胞与组织氧化损伤^[8,9]。海马 CA1 区神经元凋亡是介导神经元细胞死亡的重要通路,也可参与脑梗死的发生。Bcl-2 基因是一个原癌基因,但是可能具有神经元凋亡等作用,有利于保持机体突触再生与神经元存活^[10,11]。本研究探讨了丁苯酞对颈动脉狭窄大鼠认知功能及海马 CA1 区神经元凋亡的影响,并阐述了相关机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

8 周龄清洁级雄性 SD 大鼠 48 只,雌雄不限,体重 250~300 克。所有大鼠于本院实验动物中心的清洁动物实验室饲养,操作过程符合动物伦理要求,每笼 4 只大鼠,实验室温度 20~28 ℃,通风良好,无菌状态,相对湿度 50~60 %,大鼠自由进食饮水,12 h;12 h 照明。

丁苯酞购自石家庄药业集团恩必普药业有限公司(国药准字 H20050298,批号 3144333),各类型抗体购自 Santa 公司,蛋白定量检测试剂盒购自上海爱必信生物科技有限公司,细胞凋亡检测试剂盒购自英国 Abcam 公司等。

1.2 颈动脉狭窄大鼠模型的建立

将大鼠麻醉后,沿颈部正中切开,分离右颈总动脉后结扎颈总动脉,抽出针头,见血流恢复后间断缝合皮肤与肌肉,在建

模过程中积极采用抗生素预防感染。颈动脉狭窄大鼠模型建立成功标准:造模 6 周后舒张末血流速度 60-100 cm/s、右颈总动脉峰值血流速度 155-170 cm/s。

1.3 大鼠分组与治疗

将造模成功的大鼠 (n=42, 3 只大鼠在造模过程中死亡)随机分为三组 - 模型组、低剂量丁苯酞(20 mg/kg)组和高剂量丁苯酞(40 mg/kg)组,每组 14 只。低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组每天给予 20 mg/kg、40 mg/kg 丁苯酞灌胃治疗,对照组给予等剂量的生理盐水灌胃,持续 21 d。

1.4 观察指标

(1)所有大鼠在治疗第 7 d、第 14 d、第 21 d 进行平衡木实验,可反映大鼠的认知功能状况,把小鼠置于 1.5 厘米的平板上,1 分:小鼠站稳无摇晃持续 2 分钟;2 分:小鼠站稳有摇晃但可以保持在平板上 2 分钟;3 分:小鼠在站立中会滑至一侧但 2 分钟内未掉下;4 分:小鼠在站立中会滑至一侧且在 2 分钟内掉下;5 分:数秒内掉下甚或无法站立。(2)在治疗第 21 d 与第 28 d 各组各处死 7 只大鼠,取脑组织固定于 4%甲醛,分离海马 CA1 区神经元进行 Tunel 染色,染色阳性细胞(凋亡细胞)为神经元胞体萎缩伴随有深褐染,计算与记录细胞凋亡指数(Apoptotic index, AI),AI= 凋亡细胞数 / 总细胞数。(3)取处死小鼠的脑组织,制成匀浆液,离心后取上清液。采用黄嘌呤氧化酶法测定组织 SOD 活性,采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 活性。(4)取大海马 CA1 区的样本,提取总蛋白,采用 Western blot 法检测 Bax 蛋白和 Bcl-2 蛋白的相对表达水平。

1.5 统计方法

本次统计软件为 SPSS24.00, 计量数据以均数± 标准差表示,组间两两比较采用 LSD-t 检验,多组比较采用方差分析,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 认知功能评分对比

低剂量组与高剂量组治疗第 7 d、第 14 d、第 21 d 的 BBT 评分低于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组低于低剂量丁苯酞组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 不同时间点的认知功能评分对比(分)

Table 1 Comparison of cognitive function scores at different time points(points)

Groups	n	7 d	14 d	21 d
Model group	14	4.11± 0.33	4.12± 0.28	4.11± 0.31
Low-dose bubuphthalin group	14	3.23± 0.29*	2.87± 0.52*	1.78± 0.33*
High-dose bubuphthalin group	14	2.38± 0.11*#	1.67± 0.23*#	1.09± 0.11*#
F		8.822	11.944	14.783
P		0.002	0.000	0.000

Note: Compared with the model group, * $P<0.05$; compared with the low-dose butylphthalide group, # $P<0.05$.

2.2 海马 CA1 区神经元凋亡指数对比

低剂量组与高剂量组治疗第 21 d、第 28 d 的海马 CA1 区

神经元凋亡指数低于模型组,高剂量丁苯酞组低于低剂量丁苯酞组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同时间点的海马 CA1 区神经元凋亡指数对比(%)

Table 2 Comparison of apoptosis index in hippocampal CA1 neurons at different time points(%)

Groups	n	21 d	28 d
Model set	14	34.24± 1.48	34.29± 2.22
Low-dose bubuphthalein group	14	17.93± 2.22*	15.20± 1.56*
High-dose bubuphthalein group	14	10.45± 1.47**	7.82± 0.48**
F		12.884	21.753
P		0.000	0.000

Note: Compared with the model group, * $P<0.05$; compared with the low-dose butylphthalide group, ** $P<0.05$.

2.3 脑组织 SOD 与 MDA 活性对比

低剂量组与高剂量组治疗第 21 d、第 28 d 的脑组织 SOD

剂量丁苯酞组与低剂量丁苯酞组对比差异都有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

活性高于模型组($P<0.05$),MDA 活性低于模型组($P<0.05$),高

表 3 不同时间点的脑组织 SOD 与 MDA 活性对比

Table 3 Comparison of brain tissue SOD and MDA activity at different time points

Groups	n	SOD(U/mgprot)		MDA(nmol/mgprot)	
		21 d	28 d	21 d	28 d
Model set	7	7.18± 0.22	7.20± 0.30	1.98± 0.09	2.00± 0.14
Low-dose bubuphthalein group	7	11.93± 2.20*	13.98± 1.62*	1.54± 0.21*	1.24± 0.17*
High-dose bubuphthalein group	7	15.98± 1.98**	18.36± 2.22**	1.09± 0.14**	0.87± 0.16**
F		9.832	13.944	8.814	9.222
P		0.000	0.000	0.002	0.001

Note: Compared with the model group, * $P<0.05$; compared with the low-dose butylphthalide group, ** $P<0.05$.

2.4 海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 蛋白相对表达水平对比

低剂量组与高剂量组治疗第 21 d、第 28 d 的海马 CA1 区

Bax、Bcl-2 蛋白相对表达水平高于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组高于低剂量丁苯酞组($P<0.05$)。见表 4。

表 4 三组治疗后不同时间点的海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 蛋白相对表达水平对比

Table 4 Comparison of the relative expression levels of Bax, Bcl-2 protein in the hippocampal CA1 regions at different time points after treatment in the three groups

Groups	n	Bax		Bcl-2	
		21 d	28 d	21 d	28 d
Model set	7	0.87± 0.13	0.88± 0.03	1.37± 0.27	1.35± 0.18
Low-dose bubuphthalein group	7	2.01± 0.42*	3.10± 0.25*	3.82± 0.08*	4.49± 0.14*
High-dose bubuphthalein group	7	5.62± 1.03**	6.31± 0.45**	8.24± 1.22**	9.13± 0.44**
F		28.194	32.492	36.922	45.227
P		0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with the model group, * $P<0.05$; compared with the low-dose butylphthalide group, ** $P<0.05$.

3 讨论

在脑梗死患者中,颈动脉中重度狭窄在临床上较为常见,特别是该患者的大脑代偿能力较差,病情较重,需要进行早期治疗^[12]。介入为颈动脉狭窄脑梗死患者主要治疗方法,但

是存在脑缺血再灌注损伤,同时很多患者介入后可复发,从而影响患者的康复,甚或加重患者的损伤^[13,14]。本研究显示低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 7 d、第 14 d、第 21 d 的 BBT 评分低于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组低于低剂量丁苯酞组($P<0.05$),表明丁苯酞在颈动脉狭窄大鼠的应用能改善

认知功能。从机制上分析,丁苯酞具有抑制炎症因子释放、改善机体微循环、保护机体线粒体功能等多种作用,利于促进脑神经功能恢复,还可保护脑神经元^[15]。还有相关研^[16,17]究显示丁苯酞可改善血管性痴呆大鼠认知水平,提高学习记忆功能能力,也可缓解海马神经元损伤,与本研究结果一致。

颈动脉狭窄是因为颈动脉狭窄而导致损伤脑组织、脑循环出现障碍的临床疾病,临床表现主要为认知功能障碍,严重威胁着患者的身心健康^[18]。快速恢复血供是颈动脉狭窄患者临床治疗的基础,但是很多患者在治疗过程中可出现缺血再灌注损伤,从而影响患者的预后^[19]。研究显示缺血再灌注模型组大鼠多伴随脑组织细胞凋亡,神经元细胞凋亡显著增加^[20]。本研究显示低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 21 d、第 28 d 的海马 CA1 区神经元凋亡指数低于模型组,高剂量丁苯酞组低于低剂量丁苯酞组($P<0.05$),表明丁苯酞在颈动脉狭窄大鼠的应用能降低海马 CA1 区神经元凋亡指数,结合 Tu E^[21]和 Wang W^[22]等研究分析其机制可能在于:丁苯酞可改善大鼠的血液流变学作用,促进脑组织血流灌注恢复,可促进缺血区微循环重建,改善大鼠的血液流变学作用,并能降低海马 CA1 区神经元凋亡指数。另外,Wang Y^[23]和郭生龙^[24]等研究表明:丁苯酞可以抑制缺血再灌注大鼠神经元的凋亡,使得机体内胞浆内尼氏体比较丰富,从而发挥神经保护作用,与本研究结果一致。

在正常生理状态下,机体的氧化应激状态处于平衡状态,颈动脉狭窄可导致机体的活性氧堆积,导致氧化应激状态失衡。SOD 为机体内的重要自由基天然清除剂,SOD 活性下降可加重颈动脉狭窄损伤,MDA 是一种重要的生物大分子交联剂,可抑制 SOD 活性^[25,26]。本研究显示低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 21 d、第 28 d 的脑组织 SOD 活性高于模型组($P<0.05$),MDA 活性低于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组与低剂量丁苯酞组对比差异都有统计学意义($P<0.05$),结合 Ye ZY 等^[28]研究分析:丁苯酞在颈动脉狭窄大鼠的应用能改善氧化应激状态,可减轻颈动脉狭窄对海马神经元的损伤,从而阻止颈动脉狭窄的病情进展。另外,Yang CS^[27]等表明丁苯酞可减轻缺血缺氧对大鼠的损伤,增加乙酰胆碱的释放,从而发挥神经元的保护作用,与本研究结果一致。

在细胞凋亡机制中,Bcl-2 属于重要的调节因子,主要发挥细胞凋亡的作用。丁苯酞可能通过提高 Bcl-2 表达水平,降低神经元对凋亡刺激的敏感性,减少海马神经元的凋亡指数^[29]。而抑制 Bax 信号通路,可以增加脑梗死大鼠的神经细胞凋亡^[30,31]。本研究显示低剂量丁苯酞组与高剂量丁苯酞组治疗第 21 d、第 28 d 的海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 蛋白相对表达水平高于模型组($P<0.05$),高剂量丁苯酞组高于低剂量丁苯酞组($P<0.05$),表明丁苯酞在颈动脉狭窄大鼠的应用能提高海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 蛋白的表达。

综上所述,丁苯酞在颈动脉狭窄大鼠的应用能提高海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 蛋白的表达,抑制神经元的凋亡,改善氧化应激状态,从而提高大鼠的认知功能。本研究为丁苯酞在颈动脉狭窄的作用机制探讨提供了理论基础。

参考文献(References)

[1] Corrigendum: 3-N-Butylphthalide mitigates high glucose-in duced

- injury to Schwann cells: association with nitrosation and apoptosis[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(12): 2295
- [2] Bai M, Pan C L, Jiang G X, et al. Effects of butylphthalide on oxidative stress and inflammatory response in rats with myocardial infarction through Akt/Nrf2 signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(21): 9642-9650
- [3] Bu X, Xia W, Wang X, et al. Butylphthalide inhibits nerve cell apoptosis in cerebral infarction rats via the JNK/p38 MAPK signaling pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 21(6): 565
- [4] Chen J, Liu N, Wang X, et al. Dl-3-n-butylphthalide inhibits phenytoin-induced neuronal apoptosis in rat hippocampus and cerebellum[J]. *J Integr Neurosci*, 2019, 18(3): 277-283
- [5] Chen J, Wang J, Zhang J, et al. Effect of butylphthalide intervention on experimental autoimmune myositis in guinea pigs [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(1): 152-158
- [6] Chen Q, Tan L, Wang Y, et al. Dl-3-n-Butylphthalide Exerts Dopaminergic Neuroprotection Through Inhibition of Neuroinflammation[J]. *BMC Neurosci*, 2019, 11(13): 44
- [7] Chen X Q, Qiu K, Liu H, et al. Application and prospects of butylphthalide for the treatment of neurologic diseases[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2019, 132(12): 1467-1477
- [8] Dong Y, Yin J, Chen T, et al. Dl-3-n-butylphthalide pretreatment attenuates renal ischemia/reperfusion injury[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 557(12): 166-173
- [9] Gong Y, Liu W, Huang X, et al. Antifungal Activity and Potential Mechanism of N-Butylphthalide Alone and in Combination with Fluconazole Against *Candida albicans* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10 (9): 1461
- [10] Han L J, Liu X, Liu R, et al. Dl-3-n-butylphthalide inhibits neuroinflammation by stimulating foxp3 and Ki-67 in an ischemic stroke model[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2021, 13(3): 3763-3778
- [11] Jia L N, Zhang Y J, Ma R, et al. Does butylphthalide affect on hemodynamics in patients with watershed stroke?: A protocol of systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(20): e20151
- [12] Li F, Ma Q, Zhao H, et al. L-3-n-Butylphthalide reduces ischemic stroke injury and increases M2 microglial polarization [J]. *Metab Brain Dis*, 2018, 33(6): 1995-2003
- [13] Li M, Meng N, Guo X, et al. Dl-3-n-Butylphthalide Promotes Remyelination and Suppresses Inflammation by Regulating AMPK/SIRT1 and STAT3/NF- κ B Signaling in Chronic Cerebral Hypoperfusion[J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12(11): 137
- [14] 韩玉惠, 江华, 洪春永. 脑梗死介入联合丁苯酞序贯治疗脑梗死合并颈内动脉中重度狭窄的临床研究 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 040(009): 1818-1820
- [15] Li W, Wei D, Xie X, et al. Dl-3-n-Butylphthalide regulates the Ang-1/Ang-2/Tie-2 signaling axis to promote neovascularization in chronic cerebral hypoperfusion [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 113 (12): 108757
- [16] Liao W, Zhong Y, Cheng W, et al. 3-N-butylphthalide inhibits neuronal apoptosis in rats with cerebral infarction via targeting P38/MAPK [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23 (3 Suppl): 144-152

- [17] Luo R, Wangqin R, Zhu L, et al. Neuroprotective mechanisms of 3-n-butylphthalide in neurodegenerative diseases [J]. *J Int Med Res*, 2019, 11(6): 235-240
- [18] Qi Y Y, Feng X F, Qiu L, et al. 3-n-butylphthalide inhibits the apoptosis of nerve cells in rats with cerebral small vessel disease via the PI3K/Akt pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(10): 4474-4480
- [19] Qin C, Zhou P, Wang L, et al. DL-3-N-butylphthalide attenuates ischemic reperfusion injury by improving the function of cerebral artery and circulation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(10): 2011-2021
- [20] 李凤晓,史雪莹,初向华,等.钙感受受体在大鼠脑缺血再灌注损伤时细胞凋亡中的作用 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(6): 1043-1046
- [21] Tu E. DL-3-n-Butylphthalide promotes neovascularization and neurological recovery in a rat model of intracerebral hemorrhage[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 21(1): 24
- [22] Wang W, Wang T, Bai S, et al. DL-3-n-butylphthalide attenuates mouse behavioral deficits to chronic social defeat stress by regulating energy metabolism via AKT/CREB signaling pathway [J]. *Transl Psychiatry*, 2020, 10(1): 49
- [23] Wang Y, Hao G, Jiang Y, et al. Influence of dl-3-N-butylphthalide on infarction size in rats with acute myocardial infarction [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(7): 1707-1711
- [24] 郭生龙,陈瑞利,雷琦,等.丁苯酞对小鼠脑缺血再灌注损伤细胞坏死性凋亡的影响 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28(2): 122-126
- [25] Wo X, Han J, Wang J, et al. Sequential butylphthalide therapy combined with dual antiplatelet therapy in the treatment of acute cerebral infarction[J]. *Pak J Med Sci*, 2020, 36(4): 615-620
- [26] Xu D D, Li W T, Jiang D, et al. 3-N-Butylphthalide mitigates high glucose-induced injury to Schwann cells: association with nitrosation and apoptosis[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(3): 513-518
- [27] Yang CS, Guo A, Li Y, et al. DL-3-n-butylphthalide Reduces Neurovascular Inflammation and Ischemic Brain Injury in Mice[J]. *Aging Dis*, 2019, 10(5): 964-976
- [28] Ye Z Y, Xing H Y, Wang B, et al. DL-3-n-butylphthalide protects the blood-brain barrier against ischemia/hypoxia injury via upregulation of tight junction proteins [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 132 (11): 1344-1353
- [29] Zeng Z, Gong X, Hu Z. L-3-n-butylphthalide attenuates inflammation response and brain edema in rat intracerebral hemorrhage model[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12): 11768-11780
- [30] Zhang C, Cui L, He W, et al. DL-3-n-butylphthalide promotes neurite outgrowth of primary cortical neurons by Sonic Hedgehog signaling via upregulating Gap43[J]. *Exp Cell Res*, 2021, 398(2): 112420
- [31] Zhang H, Chen D, Wei H, et al. dl-3n-butylphthalide reduces oxygen-glucose deprivation-induced endothelial cell damage by increasing PGC-1 α [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(10): 4481-4490