

缬草对慢性应激导致的抑郁大鼠大脑海马 5-羟色胺水平、细胞增殖及神经元数量的影响

唐久余, 曾园山, 陈巧格, 秦雅静, 陈穗君, 钟志强

中山大学中山医学院组织胚胎学教研室神经科学教研室, 广东 广州 510080

目的:探讨缬草对慢性应激导致的抑郁大鼠大脑海马 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平、细胞增殖及神经元数量的影响。

方法:70 只大鼠被分成正常对照组、未用药模型组、阴性对照模型组、阳性对照模型组和低、中、高剂量缬草治疗组, 每组 10 只。除正常对照组外, 给予其余 6 组大鼠 4 周慢性应激建立抑郁症模型。除未用药模型组大鼠正常饲养外, 其余 6 组大鼠在模型建立后分别灌服 5% 羧甲基纤维素钠、氟西汀以及低、中、高剂量缬草, 灌药周期均为 3 周。灌药结束后, 体内注射 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(bromodeoxyuridine, BrdU)标记海马增殖细胞, 应用高效液相色谱法检测海马组织 5-羟色胺水平, 采用形态计量学方法计数海马神经元数量。

结果:与正常对照组比较, 低、中剂量缬草治疗组的海马 5-HT 含量增加, 并恢复至正常水平。灌服低剂量缬草 3 周后, 抑郁大鼠海马 BrdU 阳性细胞数目和神经元数量恢复性增加至正常对照组大鼠的水平。

结论:小剂量缬草能够促进抑郁大鼠大脑海马 5-HT 水平及细胞增殖数量恢复至正常状况, 同时具有保护海马受损神经元的作用。

关键词:缬草; 抑郁症; 应激; 海马; 5-羟色胺; 大鼠

中图分类号: R285.5; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1672-1977(2008)03-0283-06

Tang JY, Zeng YS, Chen QG, Qin YJ, Chen SJ, Zhong ZQ. *J Chin Integr Med / Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2008; 6 (3): 283-288.
 Received July 2, 2007; published online March 15, 2008.
 Free full text (PDF) is available at www.jcimjournal.com.
 Indexed/abstracted in and full text link-out at PubMed.
 Forward linking and reference linking via CrossRef.
 DOI: 10.3736/jcim20080313

Open Access

Effects of *Valerian* on the level of 5-hydroxytryptamine, cell proliferation and neurons in cerebral hippocampus of rats with depression induced by chronic mild stress

Jiu-yu TANG, Yuan-shan ZENG, Qiao-ge CHEN, Ya-jing QIN, Sui-jun CHEN, Zhi-qiang ZHONG

Division of Neuroscience, Department of Histology and Embryology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong Province 510080, China

Objective: To explore the effects of *Valerian* on the level of 5-hydroxytryptamine (5-HT), cell proliferation and neuron number in cerebral hippocampus of rats with depression induced by chronic mild stress.

Methods: Seventy rats were divided into 7 groups: normal control, untreated, negative control, positive control, and low-, medium- and high-dose *Valerian*-treated groups. There were 10 rats in each group. Except for the normal control group, depression was induced in rats by chronic mild stress. The depressive rats in the other six groups were intragastrically administered with sodium carboxymethylcellulose, fluoxetine, and low, medium and high-dose *Valerian*, respectively for 3 weeks. After the treatment, the proliferating cells in the hippocampus were labeled by injecting bromodeoxyuridine (BrdU) in 7 groups. The content of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the hippocampus was detected by high-performance liquid chromatography (HPLC), and the number of hippocampal neurons was counted by morphometry.

Results: Compared with the normal control group, the levels of 5-HT in the hippocampus in the low- and medium-dose *Valerian*-treated groups were increased and recovered to normal level. After the administration of low-dose *Valerian* for 3 weeks, the number of BrdU positive cells and neurons in the hippocampus of the depressive rats were recovered to the normal status.

Conclusion: Minidose *Valerian* may promote the level of 5-HT and cell proliferation in the hippocampus of the depressive rats, and may play a role in saving injured neurons of the hippocampus.

Keywords: *Valerian officinalis*; depressive disorder; stress; hippocampus; 5-hydroxytryptamine; rats

抑郁症(depression)是一组以显著而持久的心境障碍为主要特征的综合征,为人群中最为常见的精神障碍之一。据世界卫生组织估计,到 2020 年,抑郁症将成为仅次于缺血性心脏病的第二大疾病^[1]。到目前为止,对抑郁症的发病机制尚未明确。解释抑郁症发生的单胺类神经递质及其受体学说、海马齿状回神经发生障碍学说和海马神经元损伤学说等,只是从某一方面说明抑郁症是怎样发生的,并不能全面阐述抑郁症的发病机制。近年的研究表明,长期慢性应激可引起海马结构和生物化学的变化:一方面海马神经元发生死亡和神经发生出现障碍,另一方面海马 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平降低,这些都可以导致海马功能下降,最终引起抑郁的发生。据认为,缬草(*Valerian*)具有镇静、催眠和抗抑郁等作用。Oshima 等^[2]报道,缬草提取物能够使抑郁小鼠的行为恢复正常状态,提示缬草具有抗抑郁活性成分。我们的研究也发现,缬草能够改善慢性应激导致的抑郁大鼠行为,证实了缬草的抗抑郁作用。本研究旨在探讨缬草对慢性应激导致的抑郁大鼠大脑海马 5-HT 水平、细胞增殖和神经元数量的影响,为临床应用缬草防治抑郁症提供理论依据及实验资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 动物 SD 成年雄性大鼠 70 只,体质量 180~200 g,由广东省实验动物中心提供,清洁级,合格证号为粤监证字 2006A015。

1.1.2 药物 氟西汀购自美国礼来公司,缬草(细粉末状,为 CO₂ 超临界萃取物,不溶于水)由香港 Holistal International LTD 提供,氟西汀溶液和缬草悬浮液用 0.5% 羧甲基纤维素钠配制而成。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及模型建立 首先将 80 只大鼠正常饲养 1 周(本实验称为 0 周),在这段时间内,大鼠群养(每笼 3~5 只),且可以自由摄食和饮用自来水,同时给予 1% 糖水进行训练。动物房温度控制在(22±2)℃,且保持 12/12 h 昼夜节律。在 0 周结束时,对所有大鼠禁食禁水 20 h,然后测定其在 1 h

内对 1% 糖水的摄取量,从中筛选出糖水摄取量相近的大鼠 70 只,并将其分成以下 7 组:正常对照组、未用药抑郁症模型组(模型组)、阴性对照抑郁症模型组(阴性对照组)、阳性对照抑郁症模型组(阳性对照组)以及低、中、高剂量缬草治疗抑郁症模型组(低、中、高剂量缬草治疗组)。本实验采用慢性应激抑郁模型^[3]。制作模型的具体方法是:除正常对照组外,其余 6 组大鼠均给予不可预测的慢性应激 4 周,包括强迫游泳(8 min)、禁水(20 h)、同笼饲养(16 h)、昼夜颠倒(12 h)、打湿垫料(20 h)、45 度倾斜笼子(16 h)和放置异物(7 h)等,每天随机安排上述 1 种以上的刺激方式。

1.2.2 给药方法 模型建立后,除模型组外,其余 6 组大鼠分别灌服不同的药物。正常对照组和阴性对照组大鼠灌服 0.5% 羧甲基纤维素钠;参考文献^[4],阳性对照组大鼠灌服氟西汀溶液 2.2 mg/kg;通过我们前期的预试验,低剂量缬草治疗组大鼠灌服低剂量缬草溶液 100 mg/kg;中剂量缬草治疗组大鼠灌服中剂量缬草溶液 200 mg/kg;高剂量缬草治疗组大鼠灌服高剂量缬草溶液 400 mg/kg。以上药物的容量均是 4 ml/d,分早、晚两次灌服,每次 2 ml,灌药周期为 3 周。模型组不灌服任何药物,正常饲养。

1.2.3 组织材料制备 在实验周期结束后将所有大鼠分成两批:第一批 35 只,每组 5 只。用 1% 戊巴比妥钠(35 mg/kg)腹腔注射麻醉,断头后置于冰盘上分离海马组织,称质量后运用高效液相色谱法(high-performance liquid chromatography, HPLC)检测海马 5-HT 水平。第二批 35 只,每组 5 只。腹腔注射 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(bromodeoxyuridine, BrdU)75 mg/kg,共注射 4 次,2 h 注射一次,总注射剂量为 300 mg/kg。24 h 后用上述戊巴比妥钠麻醉后开胸经左心室-主动脉插管,先快速灌注生理盐水,随后灌注含 4% 多聚甲醛的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)。将经后固定的大脑行冠状连续冷冻切片,切片始于海马嘴,每 300 μm 连续取 2 张,切片厚度分别为 15 μm 和 40 μm。每个大脑取 12 张切片,分 6 套收集。分别用于免疫组织化学染色检测海马 BrdU 阳性细胞数目以及用于中性红染

色检测海马神经元数目。

1.2.4 HPLC 检测海马 5-HT 水平 样品处理:每只大鼠海马标本加 0.5 ml 高氯酸提取液(0.1 mol/L 高氯酸,内含 0.1% 半胱氨酸及内标 64 ng/ml)在冰浴中研磨成匀浆,18 000 r/min,4 ℃ 离心 20 min,上清液放置于另一离心管,取 20 μl 进行分析。色谱条件:WATERS 公司 1525 高压泵,HP1049A 电化学检测器,检测电压 0.7 mV,BDS C₁₈ 色谱柱(大连依利特公司)。缓冲液:3 mmol/L 庚烷磺酸钠,1 003 mmol/L 醋酸钠,853 mmol/L 柠檬酸,0.2 mol/L 甲基乙二胺四乙酸,pH 4.0。N-2000 色谱数据工作站(浙江智能信息工程研究所)。定性分析:以样品峰的保留时间与标准峰保留时间对照定性。定量方法:以 3,4-二羟基苯胺为内标物,用 5-HT 标准品的峰面积与内标物峰面积的比值制作标准曲线,以样品峰面积与内标峰面积的比值代入标准曲线计算样品含量。

1.2.5 BrdU 标记及其免疫组织化学染色 将 BrdU 溶于含 7 mol/L NaOH 的生理盐水中,用前新鲜配制。按 75 mg/kg 腹腔内注射,分 4 次注射,每次间隔 2 h。最后 1 次注射 24 h 后灌注、取材、切片(片厚 40 μm)。BrdU 免疫组化染色步骤:用 0.01 mol/L PBS 洗大脑切片 5 min × 3 次,3% H₂O₂ 室温处理 30 min,0.01 mol/L PBS 洗 5 min × 3 次,50% 甲酰胺和 2 × 标准柠檬酸钠盐(standard saline citrate, SSC),65 ℃ 温箱处理 2 h,2 × SSC 洗 5 min × 3 次,2 mol/L HCl 37 ℃ 温箱处理 30 min,0.1 mol/L 硼酸缓冲液(pH 8.0)洗 5 min × 3 次,0.01 mol/L PBS 5 min × 3 次,1:50 正常山羊血清封闭 30 min,小鼠抗 BrdU 单抗(Sigma, 1:400)4 ℃ 过夜,0.01 mol/L PBS 洗 5 min × 3 次,1:200 生物素标记的羊抗小鼠 IgG(博士德公司)室温反应 30 min,0.01 mol/L PBS 洗 5 min × 3 次,1:100 链霉亲和素和素生物素复合物(streptavidinbiotin complex, SABC)室温 30 min,DAB 显色,苏木素淡染。经过染色的大脑切片行常规脱水、透明和封片。

1.2.6 中性红染色步骤 将大脑切片(片厚 15 μm)浸泡于 1% 的中性红染液 20 min 后,去离子水漂洗,常规脱水、透明和封片。

1.2.7 形态计量学分析

1.2.7.1 BrdU 阳性细胞计数 每例动物分别计数 6 张脑片上海马齿状回颗粒下层(subgranular zone, SGZ)BrdU 阳性细胞数。按 Kuhn 等^[5]的方

法,将 SGZ 定义为颗粒细胞层内缘 2 个颗粒细胞宽度的区域。以 6 张切片上双侧海马 SGZ BrdU 阳性细胞总数反映该动物 SGZ 细胞增殖状态。

1.2.7.2 海马神经元胞体计数 低倍镜下在每张大脑切片上选择一侧海马 5 个方格视野作为抽样计数区域:CA1-1 区、CA1-2 区、CA-3 区、DG-1 区和 DG-2 区。然后在 400 倍下计数每张切片上 5 个方格视野具有细胞核的神经元胞体数目,最后计算出每只大鼠海马所抽取的 6 张切片上的神经元总数目。

1.3 统计学方法 本实验中所有实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析进行统计学处理,借助 SPSS 12.0 统计软件进行分析。

2 结果

2.1 海马 5-HT 水平 阴性对照模型组和未用药模型组大鼠海马 5-HT 水平低于正常对照组($P < 0.05$)。氟西汀能够使抑郁大鼠海马 5-HT 水平明显提高,并超越正常对照组大鼠的水平($P < 0.05$)。低、中剂量缬草能使抑郁症大鼠海马 5-HT 水平提高至正常对照组大鼠的水平。高剂量的缬草不能使抑郁大鼠海马的 5-HT 恢复至正常对照组大鼠的水平($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 BrdU 标记阳性细胞数目 正常对照组大鼠大脑海马出现 BrdU 阳性细胞,这些细胞主要位于海马齿状回的颗粒细胞层和 SGZ。阴性对照组和模型组大鼠海马的 BrdU 阳性细胞数量明显低于正常对照组大鼠的水平($P < 0.05$)。但是,阳性对照组和缬草低剂量治疗组大鼠海马 BrdU 阳性细胞数量恢复到正常对照组大鼠的水平。缬草中、高剂量治疗组大鼠海马的 BrdU 阳性细胞数量却没有恢复到正常对照组大鼠的水平($P < 0.05$)。见表 1 和图 1。

2.3 海马神经元计数 正常对照组大鼠大脑海马的神经元胞体主要分布在海马回(CA1 区、CA2 区、CA3 区、CA4 区)和齿状回,其胞体大且染色深,胞核染色浅。阴性对照组和模型组大鼠海马存活神经元数目明显低于正常对照组大鼠($P < 0.05$)。然而,阳性对照组和低剂量缬草治疗组大鼠海马存活神经元数目恢复至正常水平。中、高剂量缬草治疗组大鼠海马存活神经元数目没有恢复到正常对照组大鼠的水平($P < 0.05$)。见表 1 和图 2。

表 1 7 组大鼠海马 5-HT 含量、BrdU 阳性细胞数目和神经元胞体数目

Table 1 5-HT level, and number of BrdU positive cells and perikaryon in hippocampus in seven groups

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	5-HT (ng/g)	Number of BrdU positive cells	Perikaryon number
Normal control	10	0.27±0.03	33.0±9.9	1230±60
Untreated	10	0.18±0.03*	18.0±3.4*	1108±34*
Negative control	10	0.21±0.03*	19.2±3.4*	1129±38*
Positive control	10	0.40±0.06*△▲	35.0±6.3△▲	1194±48△▲
Low-dose <i>Valerian</i> -treated	10	0.31±0.04△▲□	32.6±5.4△▲	1232±47△▲
Medium-dose <i>Valerian</i> -treated	10	0.31±0.04△▲□	18.4±3.7*□■	1138±31*□■
High-dose <i>Valerian</i> -treated	10	0.22±0.03*□■	18.2±2.7*□■	1105±36*□■

* $P < 0.05$, vs normal control group; △ $P < 0.05$, vs untreated group; ▲ $P < 0.05$, vs negative control group; □ $P < 0.05$, vs positive control group; ■ $P < 0.05$, vs low-dose *Valerian*-treated group.

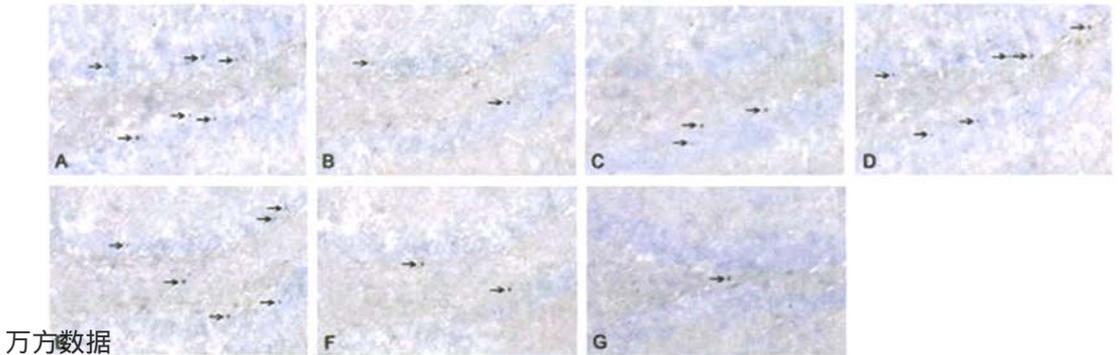


图 1 7 组大鼠海马齿状回 BrdU 阳性细胞细胞核(箭)(免疫组织化学染色, ×100)

Figure 1 BrdU positive nuclei (arrows) of hippocampal dentate gyrus in 7 groups (Immunohistochemical staining, ×100)

A: normal control group; B: negative control group; C: untreated group; D: positive control group; E: low-dose *Valerian*-treated group; F: medium-dose *Valerian*-treated group; G: high-dose *Valerian*-treated group.

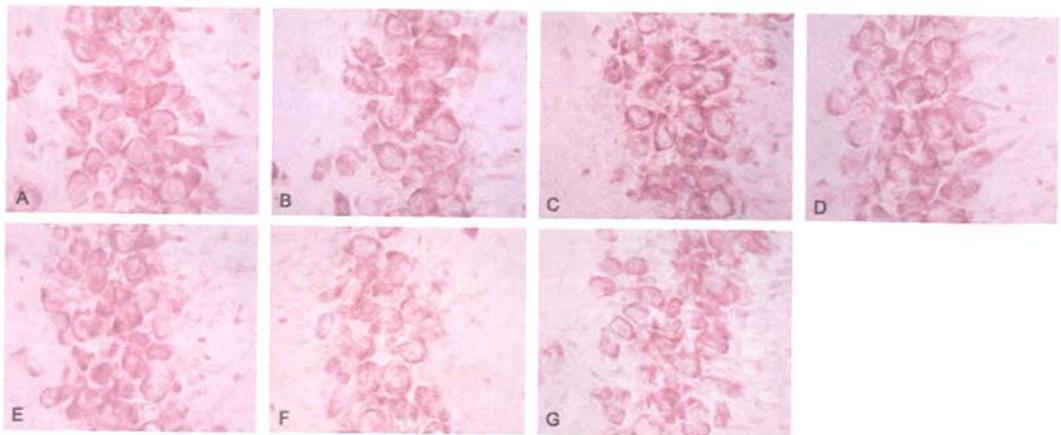


图 2 7 组大鼠海马 CA3 区神经元(中性红染色, ×400)

Figure 2 Neurons of CA3 area of hippocampus in 7 groups (Neutral red staining, ×400)

A: normal control group; B: negative control group; C: untreated group; D: positive control group; E: low-dose *Valerian*-treated group; F: medium-dose *Valerian*-treated group; G: high-dose *Valerian*-treated group.

3 讨论

抑郁症的发病是一个极其复杂的过程,海马在抑郁症的发病中起着至关重要的作用。一般认为,抑郁症的发生与大脑海马神经发生障碍密切相关^[6]。成年哺乳动物海马神经发生障碍或增加分别是导致抑郁症发生或缓解的重要因素^[7,8]。海马神经发生是指位于齿状回的神经干细胞在某些因素的作用下分裂增殖,其中一部分增殖后的细胞逐渐分化为神经元,而另一部分细胞则分化为神经胶质细胞,去置换那些因凋亡而缺失的神经元和神经胶质细胞。BrdU 是脱氧尿嘧啶的类似物,在有丝分裂的 S 期整合入 DNA 内。因此,BrdU 可以标记处于增殖状态的细胞。海马齿状回出现的 BrdU 阳性细胞,一般被认为是增殖的神经干细胞^[9]。

本研究显示,抑郁症大鼠海马齿状回的 BrdU 阳性细胞较正常大鼠少。这提示,慢性应激能够使大鼠海马神经发生障碍,从而引起抑郁症。应用小剂量缬草,可使抑郁大鼠海马齿状回 BrdU 阳性细胞达到正常大鼠数量,表明一定剂量的缬草具有促进大鼠海马齿状回神经干细胞增殖的作用。本研究还发现,服用一定剂量的缬草可以促使抑郁大鼠海马 5-HT 恢复至正常大鼠水平,但其机制还不清楚。我们推测,可能与缬草含有丰富的色氨酸有关^[10],因为色氨酸是合成 5-HT 的原料。但本研究没有应用含色氨酸丰富的食品或药物作为实验对照,这还需要进一步研究来证实上述推测。Brezun 等^[11]的研究发现,当合成和分泌 5-HT 的神经元受到损伤或 5-HT 水平降低时,其海马神经发生也随之下降。应用能够促进 5-HT 释放的药物芬氟拉明(fenfluramine),可以增加海马的神经发生^[12]。因此我们认为,服用缬草可使抑郁大鼠海马 5-HT 水平恢复性增高,从而促进海马神经发生。

慢性应激在引起海马神经发生障碍的同时,也能造成海马神经元的损伤。Garcia^[13]和 Sapolsky^[14]的研究表明,抑郁动物的大脑海马颗粒神经元细胞数目减少,CA3 区锥体神经元萎缩且数目减少。Lucassen 等^[15]发现,重度抑郁症患者在大脑齿状回、CA1 区及 CA3 区有神经元凋亡。本研究显示,抑郁大鼠海马神经元比正常大鼠明显减少,这与上述的研究结果一致。这表明,长期慢性应激可以导致大鼠海马结构的变化。应用缬草可促使抑郁大鼠海马神经元恢复性增加,并且达到正常大鼠水平,提示缬草可以保护抑郁大鼠海马受损伤神经元,减少死亡。近年的研究表明,宽叶缬草等缬草类植物有清除氧自由基,保护脑细胞等作用^[16]。王

云甫等^[17,18]研究发现,宽叶缬草可以减轻局灶性脑缺血后海马组织的病理性损害,减少神经元的死亡,具有脑保护作用。他们认为缬草保护受损神经元的机制是通过抑制局灶性脑缺血所诱导的 C-Fos 和 C-Jun 的表达,从而减少缺血后海马神经元死亡。但是,缬草对抑郁大鼠海马受损伤神经元的保护作用是否与其清除氧自由基或抑制 C-Fos 和 C-Jun 的表达有关,还有待于研究证实。

通过以上分析,我们认为,一定剂量的缬草一方面通过提高抑郁大鼠大脑海马 5-HT 水平,促进海马神经发生;另一方面通过保护抑郁大鼠海马受损伤神经元,阻止它们死亡,从而稳定海马结构,达到缓解及治疗抑郁症的目的。缬草究竟是通过哪些具体机制缓解和治疗抑郁症,缬草中抗抑郁的活性成分有哪些,目前尚不很清楚,需要进一步探讨。

REFERENCES

- Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997; 349(9064): 1498-1504.
- Oshima Y, Matsuoka S, Ohizumi Y. Antidepressant principles of *Valerian fauriei* roots. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1995; 43(1): 169-170.
- Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 1992; 16(4): 525-534.
- Wang ZJ, Lu BX, Ji Z. Effect of fluoxetine pretreatment on the expression of BDNF and bcl-2 in rat hippocampus with cerebral ischemia-reperfusion injury. *Zhongguo Wei Qin Xi Shen Jing Wai Ke Za Zhi*, 2005; 10(9): 414-416. Chinese with abstract in English. 王占军, 陆兵勋, 姬仲. 氟西汀预处理对大鼠脑缺血再灌注海马区 BDNF 和 bcl-2 表达的影响. *中国微侵袭神经外科杂志*. 2005; 10(9): 414-416.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*. 1996; 16(6): 2027-2033.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, et al. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*. 2000; 20(24): 9104-9110.
- Benninghoff J, Schmitt A, Mössner R, et al. When cells become depressed; focus on neural stem cells in novel treatment strategies against depression. *J Neural Transm*. 2002; 109(5-6): 947-962.
- Zhang LM, Li YF, Gong ZH. Neurogenesis: a novel strategy for the treatment of depression. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan*. 2005; 36(2): 109-112. Chinese with ab-

- stract in English.
张黎明, 李云峰, 宫泽辉. 神经元再生: 抑郁症治疗的新策略. 生理科学进展. 2005; 36(2): 109-112.
- 9 Craig RK, Hall L, Edbrooke MR, *et al.* Partial nucleotide sequence of human calcitonin precursor mRNA identifies flanking cryptic peptides. *Nature*. 1982; 295(5847): 345-347.
- 10 Deng QY, Wang WD, Li KZ. Studies on chemical constituents in *Valerian* roots. *Fen Xi Ce Shi Xue Bao*. 1995; 14(2):16-22. Chinese with abstract in English.
邓芹英, 黄维德, 李考铮. 缬草根化学成分的研究. 分析测试学报. 1995; 14(2): 16-22.
- 11 Brezun JM, Daszuta A. Serotonin may stimulate granule cell proliferation in the adult hippocampus, as observed in rats grafted with foetal raphe neurons. *Eur J Neurosci*. 2000; 12(1): 391-396.
- 12 Gould E, Tanapat P, Rydel T, *et al.* Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. *Biol Psychiatry*. 2000; 48(8): 715-720.
- 13 Garcia R. Stress, metaplasticity, and antidepressants. *Curr Mol Med*. 2002; 2(7): 629-638.
- 14 Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2000; 57(10): 925-935.
- 15 Lucassen PJ, Müller MB, Holsboer F, *et al.* Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *Am J Pathol*. 2001; 158(2): 453-468.
- 16 Qie JK, Qu HH, Luan XH. Chemical components of *Valeriana* and its pharmacological study. *Zhongguo Yao Xue Za Zhi*. 2002; 37(10): 729-733. Chinese.
郗建坤, 屈会化, 栾新慧. 缬草属植物化学成分及药理研究概况. 中国药理学杂志. 2002; 37(10): 729-733.
- 17 Wang YF, Yan J, Sun SG, *et al.* Effect of *Valerian officinalis* var *latifolia* miq on the expression of *c-fos* and *c-jun* in rats with focal cerebral ischemia. *Guangxi Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2004; 21(1): 10-12. Chinese with abstract in English.
王云甫, 严洁, 孙圣刚, 等. 宽叶缬草对大鼠局灶性脑缺血后 C-Fos、C-Jun 表达的影响. 广西医科大学学报. 2004; 21(1): 10-12.
- 18 Wang YF, Yan J, Luo GJ, *et al.* Effects of *Valerian officinalis* var *latifolia* miq in the treatment of cerebral infarction in rats. *Zhongguo Kang Fu*. 2004; 19(3): 137-138. Chinese with abstract in English.
王云甫, 严洁, 罗国君, 等. 宽叶缬草治疗局灶性脑缺血的实验研究. 中国康复. 2004; 19(3): 137-138.