

文章编号:1001-6880(2018)6-1054-07

黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织保护作用研究

景临林,武柠子,杨颖,何蕾,贾正平,马慧萍*

兰州总医院药剂科 全军高原环境损伤防治重点实验室,兰州 730050

摘要:研究黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织的保护作用及机制。用50只小鼠进行常压耐缺氧实验,测定黄芩素-7-甲醚的有效剂量。然后将88只小鼠随机分为正常对照组、缺氧模型组、芦丁组和黄芩素-7-甲醚组,连续灌胃给药5天,最后一个给药60 min后,置于模拟海拔8000 m氧舱内停留12 h,检测脑组织中含水量、过氧化氢(H_2O_2)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)、抗氧化酶以及Nrf2和HO-1蛋白的表达情况。结果发现:低压低氧能够诱导小鼠脑含水量、脑组织中 H_2O_2 、NO和MDA含量以及LDH活性显著增加,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性显著减低,Nrf2和HO-1蛋白表达增强。经黄芩素-7-甲醚预处理后能够显著降低高原缺氧小鼠脑组织中 H_2O_2 、MDA和NO含量以及LDH活性,提高抗氧化酶的活性,同时进一步增加Nrf2和HO-1蛋白的表达。以上结果表明:黄芩素-7-甲醚能够缓解高原缺氧导致脑组织氧化应激损伤,作用机制可能与清除自由基,激活Nrf2/ARE/HO-1信号途径,提高抗氧化酶活性有关。

关键词:黄芩素-7-甲醚;高原缺氧;脑组织;抗氧化酶;Nrf2/ARE/HO-1途径

中图分类号:R965.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.6.022

Protective Effects of Negletein against Hypobaric Hypoxia-induced Brain Damage in Mice

JING Lin-lin, WU Ning-zhi, YANG Ying, HE Lei, JIA Zheng-ping, MA Hui-ping*

Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital; Key Lab of PLA for Prevention and Treatment of Injuries Induced by High Altitude, Lanzhou 730050, China

Abstract: To evaluate the protective effect and mechanism of negletein against hypobaric hypoxia-induced brain damage in mice. First, 50 mice were used in normobaric hypoxia test to determine the optimal dosage of negletein. Then 88 BALB/C mice were randomly divided into normal control group, hypoxia model group, rutin group and negletein group. The drugs were administered intragastrically to the mice for 5 consecutive days. After 60 min of the last administration, mice were exposed to hypobaric hypoxia (8000 m) for 12 h. The water content, H_2O_2 , NO MDA level, LDH, antioxidant enzymes activity and the expression levels of Nrf2 and HO-1 in brain were monitored. The results indicated that the content of water, H_2O_2 , NO, and MDA as well as LDH activity in hypoxia model group significantly increased while antioxidant enzymes activity markedly decreased compared with these of normal control group. Hypobaric hypoxia exposure significantly upregulated the expression levels of Nrf2 and HO-1. Prior administration of negletein decreased the brain water content, H_2O_2 , NO, MDA levels and LDH activity while increased antioxidant enzymes activity. Negletein also further unregulated Nrf2 and HO-1 expression. These results suggested that negletein can ameliorate hypobaric hypoxia induced oxidative stress injury in mice brain, which can be explained in part by its free radical scavenging activity, improvement of antioxidant enzyme activity by activating the Nrf2/ARE/HO-1 pathway.

Key words: negletein; hypobaric hypoxia; brain tissue; antioxidant enzyme; Nrf2/ARE/HO-1 pathway

随着“一带一路”国家发展战略的稳步推进,极大地带动了西北高原地区的经济和旅游产业的发展,

收稿时间:2017-07-19 接受日期:2017-10-09

基金项目:国家自然科学基金(81202458);全军医药科研“十二五”面上项目(CLZ12JA04);甘肃省自然科学基金(1308RJYA06);中国博士后科学基金(2012M521926)

*通信作者 Tel:86-931-8994671;E-mail:huipingmacyk@163.com

赴高原工作、旅游的人数不断增多,与此同时,急性高原病、高原脑水肿、高原肺水肿等疾病的发病率也日俱增加^[1]。高原地区特殊的低压低氧环境会对心、脑、肺等多个脏器造成损伤,其中,脑组织由于耗氧量大,不饱和脂肪酸金属离子含量高,抗氧化酶含

量较低,是最易遭受高原缺氧损伤器官之一^[2]。研究指出:低压低氧诱发活性氧(ROS)的大量蓄积是造成脑组织损伤重要因素之一^[3],而抗氧化剂能够通过清除ROS,缓解低压低氧造成的神经损伤,改善认知功能^[4,5]。黄酮类化合物是植物体内重要的次级代谢产物,具有优异的抗氧化活性^[6]。黄芩素-7-甲醚(5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮,图1)是天然黄酮黄芩素的七位羟基甲基化产物,具有与黄芩素相似的生物活性,但其代谢稳定性和水溶性等药代动力学参数和物理化学性质均较黄芩素有所提高^[7,8]。研究表明:黄芩素-7-甲醚具有抗炎^[7]和神经保护^[8]的作用。课题组前期研究发现:黄芩素-7-甲醚能够延长常压密闭小鼠的存活时间,具有较好的抗缺氧活性^[9],本实验拟进一步采用常压密闭缺氧模型和低压低氧模型,通过考察相关生化指标和蛋白的变化,阐明黄芩素-7-甲醚对模拟高原缺氧小鼠脑组织的保护作用。

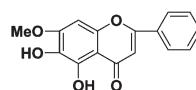


图1 黄芩素-7-甲醚的结构

Fig. 1 Chemical structure of neoglycitein

1 材料与仪器

1.1 动物

清洁级健康 BABL/C 小鼠,138 只,雄性,体质量 18~22 g,由兰州总医院动物实验科提供,许可证号 SYXK(军)2014-0029。

1.2 药物与试剂

黄芩素-7-甲醚按照文献报道的方法制备^[10],芦丁购自陕西慈缘生物技术有限公司有限公司,BCA 法蛋白定量试剂盒、H₂O₂ 测试盒,NO 测试盒、丙二醛(MDA)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、过氧化氢酶(CAT)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测试盒购自南京建成生物工程研究所。Nrf-2 和 HO-1 兔单克隆抗体购自 Abcam 公司;β-actin 小鼠单克隆抗体、山羊抗小鼠 IgG/辣根酶标记抗体和辣根标记山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司;ECL 超敏发光液购自 Sigma 公司。

1.3 仪器

Spectramax i3 多功能酶标仪(Molecular Devices 公司);FLYDWC50-IIIC 低压低氧动物实验舱(贵州

风雷航空军械有限公司);DK-8A 型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司);冷冻高速离心机(Beckman Coulter 公司);Tanon-4200SF 数码凝胶图像分析系统(上海天能科技有限公司)。

2 实验方法

2.1 常压密闭缺氧实验

将 50 只清洁剂级雄性 BABL/C 小鼠随机分成 5 组,缺氧模型组、芦丁组(500 mg/kg)、黄芩素-7-甲醚低、中、高剂量组(125, 250, 500 mg/kg),每组 10 只,连续灌胃给药 5 天,缺氧模型组给予等体积的生理盐水,最后一次给药 60 min 后,将小鼠分别放入 250 mL 含 5 g 钠石灰的广口瓶内,密封瓶口后开始计时,记录小鼠存活时间,确定黄芩素-7-甲醚最佳给药剂量。

2.2 低压低氧实验

将 88 只清洁级健康 BABL/C 雄性小鼠随机分为正常对照组、缺氧模型组、芦丁组(500 mg/kg)、黄芩素-7-甲醚组(500 mg/kg),每组 22 只,给药方式同 2.1。除正常对照组外,将其余三组小鼠置于低压低氧动物实验舱中,以 10 m/s 的速度升至海拔 8000 m,并维持 12 h,随后快速减压将小鼠取出实验舱后,立刻脱臼处死,取脑组织,并按照测定要求对其进行处理。

2.3 脑含水量测定

采用干湿比重法对脑含水量进行测定,具体方法为:每组分别取 6 只小鼠的脑组织标本,用滤纸吸干表面液体后称湿重,然后放入 110 ℃ 电烤箱中烘烤至恒重(即干重)。计算脑含水量(%) = (湿重-干重)/湿重 × 100%。

2.4 脑组织 HE 染色

每组分别取 5 只小鼠的脑组织标本,4% 多聚甲醛中固定,常规病理脱水、包埋、切片后进行 HE 染色,光镜下拍照后观察脑组织形态学变化。

2.5 脑组织匀浆的制备

每组分别取 6 只小鼠的脑组织标本,称重后加入 9 倍 4 ℃ 生理盐水,使用组织匀浆器在冰水浴中匀浆,3500 rpm 低温(4 ℃)离心 10 min 后取上清,用于 H₂O₂、NO 和 MDA 含量以及 LDH、SOD、CAT 和 GSH-Px 活性的测定。

2.6 H₂O₂ 和 NO 含量测定

H₂O₂ 和 NO 含量按照试剂盒测试说明书进行,H₂O₂ 和 NO 含量以 mmol/g protein 和 nmol/g protein 表示。

2.7 MDA 含量和 LDH 活性测定

MDA 含量和 LDH 活力按照试剂盒测试说明书进行, MDA 含量和 LDH 活力分别以 mmol/g protein 和 U/g protein 表示。

2.8 抗氧化酶活性测定

SOD、CAT 和 GSH-Px 活力按照试剂盒说明书进行, 抗氧化酶活力以 U/g protein 表示。

2.9 蛋白表达水平的检测

每组分别取 5 只小鼠的脑组织标本, 称重后加入 9 倍 4 ℃ 生理盐水, 使用组织匀浆器在冰水浴中匀浆, 4 ℃ 12000 rpm 离心 15 min, 取上清, 采用 BCA 法进行计算蛋白浓度。蛋白样品中加入 4 × 上样缓冲液, 100 ℃ 沸水煮 15 min, 制备好的蛋白样品 -20 ℃ 备用。进行 Western blot 时, 取 30 μg 样品上样, 采用 5% SDS-PAGE 浓缩胶, 10% SDS-PAGE 分离胶进行分离, 湿法将蛋白转至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后, 加入一抗, 包括 Nrf2 (1: 500)、HO-1 (1: 500) 和 β-actin (1: 1000), 4 ℃ 过夜, 用 TBST 缓冲液漂洗 3 次, 每次 10 min。加入二抗,

β-actin 蛋白使用山羊抗小鼠 IgG/辣根酶标记抗体 (1: 2000 稀释), 其余均用辣根标记山羊抗兔 IgG (1: 5000 稀释), 室温孵育 2 h, 化学发光法显色, Tanon-4200SF 全自动数码凝胶图像分析系统曝光, 灰度值用 Image-Pro Plus6.0 软件扫描测定。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

3 实验结果

3.1 黄芩素-7-甲醚对常压密闭缺氧小鼠存活时间的影响

与缺氧模型组相比, 黄芩素-7-甲醚低剂量组虽然能够延长小鼠的成活时间, 但是无显著性差异, 中、高剂量组均能显著延长缺氧小鼠的生存时间 ($P < 0.01$), 其中高剂量组的活性显著优于芦丁组 ($P < 0.01$), 延长率达到了 64.3%。结果见表 1。因此, 在后续实验中采用高剂量进行相关指标测定。

表 1 黄芩素-7-甲醚对常压密闭缺氧小鼠存活时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of negletein on the survive time of mice under normobaric hypoxia condition ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	n	剂量 (mg/kg)	存活时间 (min)	延长率 (%)
缺氧模型组 Model group	10	-	31.45 ± 3.12	-
芦丁组 Rutin group	10	500	39.12 ± 3.96 ^{##}	24.39
黄芩素-7-甲醚组 Negletein group	10	125	35.80 ± 4.46	13.83
	10	250	38.80 ± 3.42 ^{##}	23.37
	10	500	44.30 ± 5.67 ^{##}	40.86

注: 与缺氧模型组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与芦丁组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。延长率 = (药物组存活时间 - 缺氧模型组存活时间) / 缺氧模型组存活时间。

Note: compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; compared with rutin group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; Prolongation rate = (survival time of treatment group - survival time of model group) / survival time of model group.

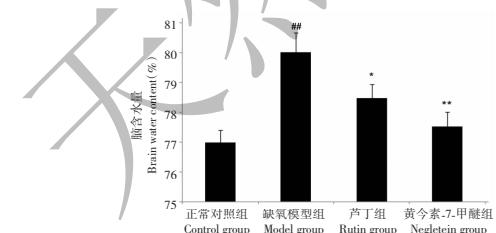


图 2 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑含水量的影响

Fig. 2 Effects of negletein on the content of brain water in mice under hypobaric hypoxia condition

注: 与正常对照组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与缺氧模型组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

Note: compared with control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; compared with model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

3.2 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织含水量的影响

与正常对照组比较, 缺氧模型组小鼠脑组织含水量显著增多 ($P < 0.01$), 芦丁和黄芩素-7-甲醚能显著降低高原缺氧小鼠脑组织含水量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 结果见图 2。

3.3 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织形态学影响

正常对照组小鼠大脑皮层神经元结构完整, 细胞呈圆形或椭圆形, 细胞核均匀分布于细胞质中央, 细胞排列均匀, 海马 CA1 区神经元排列整齐。缺氧

模型组小鼠大脑皮层神经元颜色较深,核固缩现象显著,分布不均匀,海马 CA1 区神经元排列紊乱,部分神经元核固缩。与缺氧模型组比较,芦丁和黄芩

素-7-甲醚组小鼠大脑皮层和海马 CA1 区神经元结构异常变化减少,核固缩现象有所减轻(图 3)。

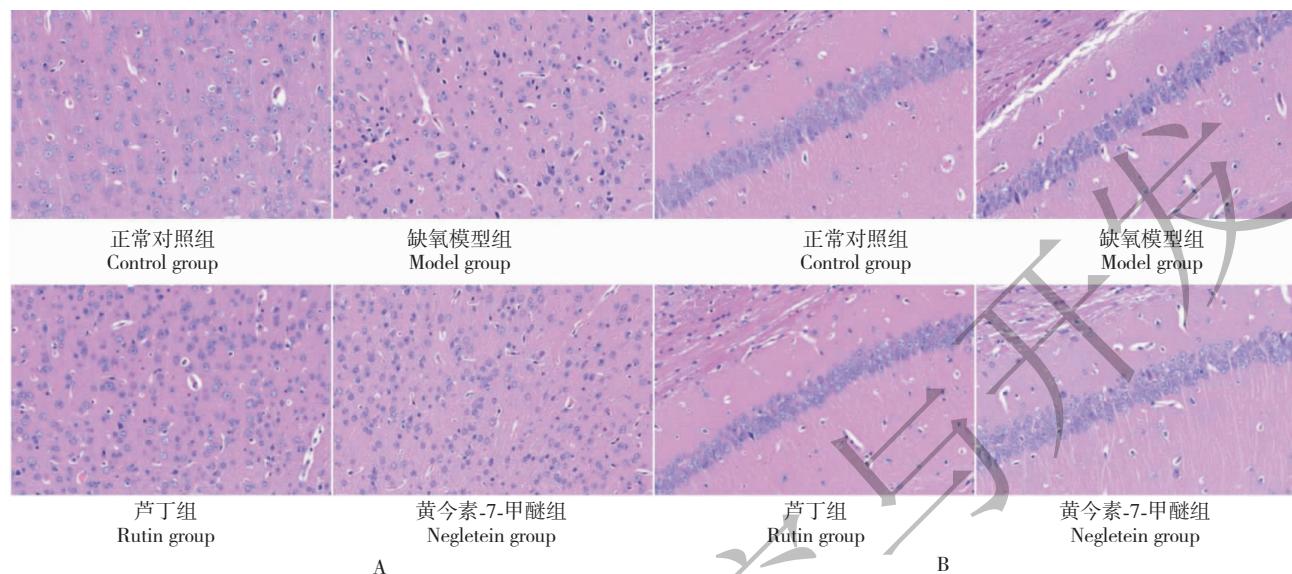


图 3 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织形态学的影响(200×)

Fig. 3 Effects of negletein on the brain histomorphology of mice under hypobaric hypoxia condition (200×)

注:(A) 大脑皮层;(B) 海马 CA1 区。

Note: (A) cerebral cortex; (B) hippocampal CA1 region.

3.4 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中 H_2O_2 和 NO 含量的影响

缺氧模型组小鼠脑组织中 H_2O_2 和 NO 含量较

正常对照组显著升高($P < 0.01$),芦丁和黄芩素-7-甲醚都可以显著降低脑组织中 H_2O_2 和 NO 的含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),结果见图 4。

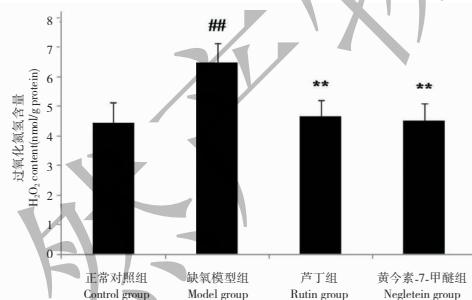


图 4 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中 H_2O_2 和 NO 的含量的影响

Fig. 4 Effects of negletein on the content of H_2O_2 and NO in mice brain under hypobaric hypoxia condition

注:与正常对照组相比, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;与缺氧模型组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: compared with control group, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$; compared with model group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$.

3.5 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中 MDA 含量和 LDH 活力的影响

正常对照组相比,缺氧模型组小鼠脑组织中 MDA 含量和 LDH 活力显著升高($P < 0.01$),芦丁和黄芩素-7-甲醚均可以显著降低脑组织中 MDA 含量和 LDH 活力($P < 0.01$),结果见图 5。

3.6 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中抗氧化酶活性的影响

与正常对照组相比,高原缺氧导致小鼠脑组织中 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性显著降低($P < 0.01$);与缺氧模型组相比,芦丁和黄芩素-7-甲醚均能显著升高抗氧化酶的活性。结果见表 2。

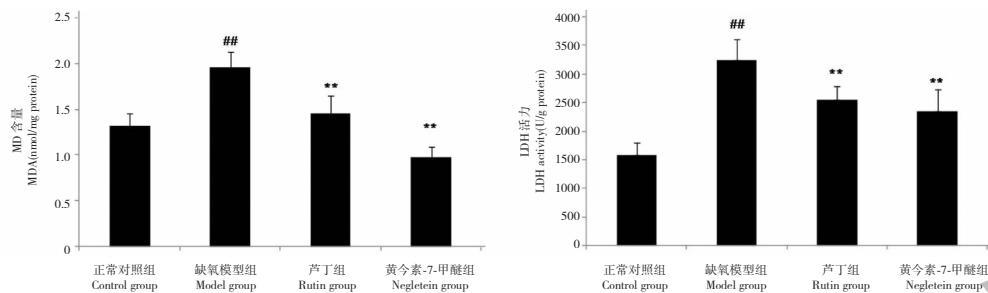


图 5 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中 MDA 含量和 LDH 活力的影响

Fig. 5 Effects of negletein on MDA content and LDH activity in mice brain under hypobaric hypoxia condition

注:与正常对照组相比, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;与缺氧模型组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: compared with control group, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$; compared with model group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$.

表 2 黄芩素-7-甲醚对低压低氧小鼠脑组织中 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of negletein on SOD, CAT and GSH-Px activity in mice brain under hypobaric hypoxia condition($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	SOD (U/mg protein)	CAT (U/mg protein)	GSH-Px (U/mg protein)
正常对照组 Control group	-	77.12 ± 5.32	3.02 ± 0.13	6.78 ± 0.43
缺氧模型组 Model group	-	38.32 ± 2.88 $^{##}$	1.54 ± 0.26 $^{##}$	2.43 ± 0.16 $^{##}$
芦丁组 Rutin group	500	56.51 ± 4.56 $^{*}*$	2.43 ± 0.37 $^{*}*$	3.87 ± 0.39 $^{*}*$
黄芩素-7-甲醚组 Negletein group	500	64.06 ± 5.93 $^{*}*$	2.75 ± 0.43 $^{*}*$	4.34 ± 0.34 $^{*}*$

注:与正常对照组相比, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;与缺氧模型组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: compared with control group, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$; compared with model group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$.

3.7 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中 Nrf2

和 HO-1 蛋白表达的影响

与正常对照组比较,缺氧模型组小鼠脑组织中

Nrf2 和 HO-1 蛋白表达显著升高($P < 0.01$);芦丁

和黄芩素-7-甲醚可进一步升高脑组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),结果见图 6。

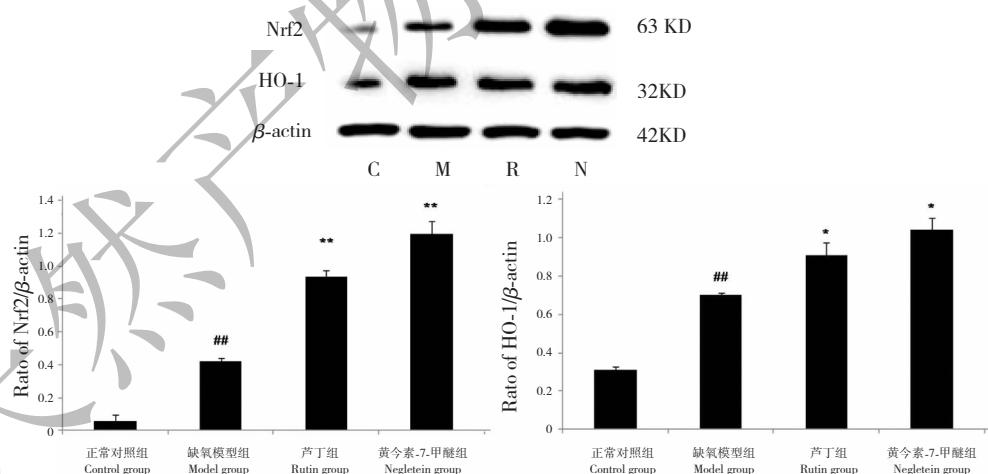


图 6 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠脑组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

Fig. 6 Effects of negletein on the expression of Nrf2 and HO-1 in mice brain under hypobaric hypoxia condition

注:与正常对照组相比, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;与缺氧模型组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: compared with control group, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$; compared with model group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$.

4 讨论与结论

大脑是机体对高原缺氧诱导的氧化应激损伤最

为敏感的器官之一,研究表明:低压低氧诱导的脑组织损伤严重影响认知功能、空间记忆能力和作业能力^[11]。脑水肿是高原缺氧致脑组织损伤的重要病

理改变之一, 脑含水量的变化可以反映脑组织水肿的程度。本实验采用低压低氧法建立小鼠高原缺氧致脑损伤模型, 结果显示缺氧模型组小鼠脑含水量明显高于正常对照组。进一步通过观察小鼠脑组织病理学变化情况发现, 低压低氧导致小鼠脑组织神经元数量明显减少, 细胞核固缩, 细胞间隙增大, 而给予黄芩素-7-甲醚能够降低高原缺氧小鼠脑含水量, 维持脑的形态结构, 对脑组织具有明显的保护作用。

低压低氧致脑组织损伤作用机制复杂, 其中自由基的蓄积被认为是造成损伤的最重要原因之一, 过量的自由基不仅能够攻击生物膜的不饱和脂肪酸引起脂质过氧化损伤, 还能通过攻击脂质、蛋白质和核酸等生物大分子, 影响细胞的结构和功能, 最终诱发组织损伤^[12]。H₂O₂ 是一种活性较低的 ROS, 但是其可以通过与 Fe²⁺ 进行 Fenton 反应生成活性更强的 ·OH。NO 是机体内重要的神经递质, 在低浓度是均具有重要的生理功能, 但过量的 NO 能够与 ·OH 作用生成强细胞毒性物质过氧亚硝酸根离子 (ONOO⁻), 对组织造成更加严重的损伤^[13]。MDA 作为脂质过氧化产物之一, 其含量直接反映脂质过氧化水平。实验结果表明: 低压低氧导致小鼠脑组织中 H₂O₂、NO 以及 MDA 含量显著升高, 黄芩素-7-甲醚可以显著降低 H₂O₂、NO 和 MDA 的含量, 减少自由基的蓄积和脂质过氧化, 缓解高原缺氧导致的氧化应激损伤。低压低氧会导致小鼠脑组织中 LDH 活性显著升高, LDH 是参与糖无氧酵解和糖异生的重要酶, 其活性显著升高是无氧酵解水平增强的重要标志之一, 黄芩素-7-甲醚能够逆转这种变化, 降低无氧酵解水平。

正常情况下, 机体内存在完善的抗氧化体系来对抗氧化应激损伤, 但在低压低氧条件下, 大量生成自由基能够抑制 SOD、CAT 和 GSH-Px 等抗氧化酶活性, 导致氧化还原状态进一步失衡, 加重组织损伤^[14]。本研究结果与文献报道一致, 缺氧模型组小鼠脑组织中三种抗氧化酶的活性较正常对照组明显降低。黄芩素-7-甲醚能够提高低压低氧条件下小鼠脑组织中抗氧化酶的活性, 维持机体内自由基代谢稳态。实验结果表明: 黄芩素-7-甲醚对抗氧化酶活性具有一定调节作用。

有研究表明: CAT、SOD、GSH-Px 等抗氧化酶表达水平主要受到 Nrf2 的调控。Nrf2 是调节抗氧化应激反应的重要转录因子, 正常情况下, Nrf2 与

keap1 结合, 活性受到抑制, 但是在氧化应激等情况下, Nrf2 与 keap1 解离后, 经核转位进入细胞核与抗氧化反应元件 (antioxidant response elements, ARE) 结合, 通过调控 Nrf2-ARE 信号通路下游抗氧化蛋白和 II 相解毒酶, 维持机体细胞内氧化还原状态平衡和降低氧化应激造成的损伤^[15]。Sharma 等曾指出 NAP(一种小分子多肽)能够通过激活 Nrf2-ARE 途径显著提高大鼠脑组织中抗氧化酶活性^[16]。那么, 黄芩素-7-甲醚对抗氧化酶活性调节作用是否与 Nrf2-ARE 信号通路有关呢? 本研究对核因子 2 (NF-E2) 相关因子 (Nrf2) 及其下游蛋白血红素加氧酶 (HO-1) 的表达情况进行了考察。结果发现: 低压低氧虽然能够代偿性的诱导小鼠脑组织中 Nrf2 和 HO-1 的表达显著升高, 但是却无法逆转过量 ROS 诱发抗氧化酶活性降低的趋势, 而黄芩素-7-甲醚预处理可以进一步促进 Nrf2 和 HO-1 的表达, 同时显著增加抗氧化酶的活力, 上述实验表明: 黄芩素-7-甲醚对高原缺氧小鼠中脑组织中抗氧化酶活性的提高可能与激活 Nrf2/ARE/HO-1 途径有关。

综上所述, 黄芩素-7-甲醚能够改善高原缺氧致小鼠脑组织损伤, 其作用机制与其清除过量自由基, 抑制脂质过氧化、改善机体能量代谢, 激活 Nrf2/ARE/HO-1 途径提高抗氧化酶活性, 缓解机体氧化应激有关。

参考文献

- Hartman-Ksycińska A, Kluz-Zawadzka J, Lewandowski B. High altitude illness [J]. *Przegl Epidemiol*, 2016, 70: 490-499.
- West JB. High-altitude medicine. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186: 1229-1237.
- Bakonyi T, Radak Z. High altitude and free radicals [J]. *J Sports Sci Med*, 2004, 3: 64-69.
- Muthuraju S, Maiti P, Solanki P, et al. Acetylcholinesterase inhibitors enhance cognitive functions in rats following hypobaric hypoxia [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 203: 1-14.
- Shukitt-Hale B, Stillman MJ, Welch DI, et al. Hypobaric hypoxia impairs spatial memory in an elevation-dependent fashion [J]. *Behav Neural Biol*, 1994, 62: 244-252.
- Sledzinski Z, Wozniak M, Antosiewicz J, et al. Protective effect of 4-hydroxy-TEMPO, a low molecular weight superoxide dismutase mimic, on free radical toxicity in experimental pancreatitis [J]. *Int J Pancreatol*, 1995, 18: 153-160.
- Singh B, Sidiq T, Joshi P, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory flavones from *Actinocarya tibetica* Benth [J].

- Nat Prod Res*, 2013, 27: 2227-2230.
- 8 Banerjee P, Sahoo A, Anand S, et al. Multiple mechanisms of iron-induced amyloid beta-peptide accumulation in SHSY5Y cells: protective action of negletein [J]. *Neuromol Med*, 2014, 16: 787-798.
 - 9 Jing LL(景临林), He L(何蕾), Fan PC(樊鹏程), et al. Chemical constituents with anti-hypoxia activity from *Saussurea involucrata* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2015, 38 (1): 89-92.
 - 10 Gao H, Nishioka T, Kawabata J, et al. Structure-activity relationships for alpha-glucosidase inhibition of baicalein, 5,6,7-trihydroxyflavone: the effect of A-ring substitution [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68: 369-375.
 - 11 Barhwal K, Hota SK, Jain V, et al. Acetyl-l-carnitine (ALCAR) prevents hypobaric hypoxia-induced spatial memory impairment through extracellular related kinase-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 phosphorylation [J].
 - 12 Dosek A, HOno H, Acs Z, et al. High altitude and oxidative stress [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2007, 158: 128-131.
 - 13 Chen B, Lu Y, Chen Y, et al. The role of Nrf2 in oxidative stress-induced endothelial injuries [J]. *J Endocrinol*, 2015, 225 (3): 83-99.
 - 14 Maiti P, Singh SB, Sharma AK, et al. Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain [J]. *Neurochem Int*, 2006, 49: 709-716.
 - 15 Jaiswal AK. Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression [J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 36: 1199-1207.
 - 16 Sharma NK, Sethy NK, Meena RN, et al. Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP)-derived peptide (NAP) ameliorates hypobaric hypoxia induced oxidative stress in rat brain [J]. *Peptides*, 2011, 32: 1217-1224.

(上接第 1008 页)

- 18 Tan L(谭亮), Dong Q(董琦), Cao JY(曹静亚), et al. Extraction and identification of anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murr. [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 1797-1802.
- 19 Li FY(李凤英), Cui RJ(崔蕊静), Li CH(李春华). Microwave-assisted extraction of procyanidin by from grape seed [J]. *Food Ferment Ind* (食品与发酵工业), 2005, 31: 39-42.
- 20 Yan YM(闫亚美), Ran LW(冉林武), Cao YL(曹有龙), et al. Determine the total anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murr. by Different methods [J]. *Food Ind* (食品工业), 2012, 33: 145-147.
- 21 Zhao ZD(赵子丹), Niu Y(牛艳), Ge Q(葛谦), et al. Reviewer of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. [J]. *Food Ind* (食品工业), 2016, 37: 230-234.
- 22 Liu F(刘飞), Mu JJ(穆晶晶), Zhang B(张博), et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and their stability features [OL]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017. <http://kns.cnki.net/KCMS/detail/51.1335.Q.20171121.1315.034>.