

芥苧黄酮通过抑制氧化应激和炎症改善高原缺氧诱导的小鼠脑组织损伤

刘睿¹,邵瑾²,赵彤²,何蕾²,马慧萍²,景临林^{2*}

¹联勤保障部队第九四〇医院干部病房;²联勤保障部队第九四〇医院药剂科 全军高原医学重点实验室,兰州 730050

摘要:为了阐明芥苧黄酮对高原缺氧致脑组织损伤的保护作用和可能机制,本研究利用建立的低压低氧诱导脑组织损伤模型,考察了芥苧黄酮对高原缺氧小鼠脑组织中氧化应激和炎症因子等相关生化指标和蛋白表达的影响。结果发现:经芥苧黄酮预处理能够显著降低低压低氧小鼠脑组织中 ROS、MDA 和 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量,提高 SOD、CAT 和 GSH-Px 等抗氧化酶的活性和 GSH 水平,降低 IL-1 β 和 TNF- α 蛋白表达,提高 SOD1 和 CAT 蛋白表达。综上所述,芥苧黄酮对高原缺氧诱导脑组织损伤的保护作用与清除自由基、抑制炎症因子的释放、降低脑组织氧化应激和炎症反应有关。

关键词:芥苧黄酮;低压低氧;脑损伤;氧化应激;炎症反应

中图分类号:R965.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)8-1413-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.8.018

Mosloflavone ameliorates high altitude-induced brain injury via inhibiting oxidative stress and inflammation

LIU Rui¹, SHAO Jin², ZHAO Tong², HE Lei², MA Hui-ping², JING Lin-lin^{2*}

¹Cadre Ward, The 940th Hospital of Joint Logistics Support force of PLA; ²Department of Pharmacy, The 940th Hospital of Joint Logistics Support force of PLA, The Lab of PLA for High Altitude Medicine, Lanzhou 730050, China

Abstract: To assess the protective effect and underlying mechanism of mosloflavone on brain damage induced by high altitude, a brain damage model induced by hypobaric hypoxia (HH) was established and used to evaluate the effect of mosloflavone on oxidative stress and inflammatory response related indexes and proteins in brain tissue of mice after high altitude exposure. The results indicated that prior administration of mosloflavone reduced the level of ROS and MDA, elevated the GSH content and activities of SOD, CAT and GSH-Px in brain tissue of mice following HH exposure. In addition, Mosloflavone could decrease the expression of IL-1 β and TNF- α and increase the expression of SOD1 and CAT in brain tissue. In summary, mosloflavone exerted its neuroprotective effect on brain injury induced by HH in mice likely through scavenging free radical and inhibiting the release of proinflammatory cytokines, which suppressing oxidative stress and inflammatory response in brain tissue.

Key words: mosloflavone; hypobaric hypoxia; brain injury; oxidative stress; inflammatory response

高原约占地球表面的五分之一,而世界上约有 1.4 亿人生活在海拔超过 2 500 m 的高原,其中,我国约有 800 万人生活在平均海拔 4 000 m 以上的青藏高原^[1]。大量研究表明:暴露于高海拔引起的低压低氧(hypobaric hypoxia, HH)环境下会对人体的

病理生理变化产生严重影响^[2]。其中,脑组织由于耗氧量大,是对缺氧最为敏感的器官之一^[3]。随着中国经济的快速发展和人民生活水平的不断提高,奔赴高原进行工作、旅游和探险的人越来越多,如何改善低压低氧诱导的脑组织损伤成为目前研究的热点问题。

芥苧黄酮(5-羟基-6,7-二甲氧基黄酮;mosloflavone)(图 1)是首次从苏州芥苧(*Mosla soochowensis* Matsuda)分离得到的一种黄酮化合物^[4]。研究表

收稿时间:2020-05-06

接受日期:2020-07-09

基金项目:国家自然科学基金(81872796);军队后勤科研计划(CWH17J010);甘肃省自然科学基金(18JR3RA 408);中国博士后科学基金(2012M521926)

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

明: 芥苳黄酮具有抗氧化、抗炎和抗病毒等活性^[5-7]。课题组前期研究发现: 芥苳黄酮对缺氧 PC12 细胞具有明显的保护作用^[8], 进一步通过动物实验证明其还能够改善高原缺氧诱导的小鼠脑组织损伤^[9], 但是具体的作用机制尚不明确。有证据表明: 急性低压缺氧能够诱导脑组织中活性氧 (ROS) 的增加^[10] 和炎性因子的释放^[11], 本研究将探究芥苳黄酮对低压低氧诱导小鼠脑组织氧化应激和炎症反应的影响, 阐明其可能的作用机制。

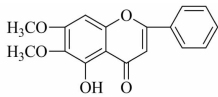


图 1 芥苳黄酮的结构

Fig. 1 Chemical structure of mosloflavone

1 材料与仪器

1.1 实验动物

雄性清洁级 BABL/c 小鼠 (4 周龄, 体重 20 ± 2 g), 由联勤保障部队第九四〇医院动物实验科提供, 许可证号: SYXK(军)2014-0029。

1.2 药物与试剂

芥苳黄酮按照文献方法制备, 纯度 $> 98\%$ ^[8]; 芦丁购自陕西慈缘生物技术有限公司, 纯度 $> 98\%$ 。丙二醛 (MDA, 批号: 20 150 812) 测试盒、BCA 法蛋白定量试剂盒 (批号: 20 150 921)、超氧化物歧化酶 (SOD, 批号: 20 150 724) 测试盒、过氧化氢酶 (CAT, 批号: 20 150 613) 测试盒和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px, 批号: 20 150 802) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 2', 7'-二氯二氢荧光素二乙酸盐 (DCFH-DA) 购自 sigma 公司; 白细胞介素 1β (IL- 1β)、白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 试剂盒购自 Abcam 公司。IL- 1β 、TNF- α 、SOD1、CAT 和 β -actin 等一抗购自 Abcam 公司; 羊抗小鼠 IgG-HRP 抗体和羊抗兔 IgG-HRP 抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司; SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、ECL Plus 超敏发光液和 PVDF 膜购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 主要仪器

FLYDWC50-IIIC 低压低氧动物实验舱 (贵州风雷航空军械有限公司); Criterion™ 电泳槽 (Bio-Rad 公司); Spectramax i3 多功能酶标仪 (Molecular Devices 公司); BPG-9 040 精密鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); Microfuge 22R 冷冻离心机

(Beckman Coulter 公司); 多样品组织研磨仪 TissueLyser-24 (上海净信实业发展有限公司)。

2 方法

2.1 常压密闭缺氧实验

清洁级健康 BABL/c 雄性小鼠 50 只, 随机分为缺氧模型组、芦丁组 (500 mg/kg) 和芥苳黄酮低 (125 mg/kg)、中 (250 mg/kg)、高 (500 mg/kg) 剂量组, 每组 10 只, 连续灌胃给药 5 天, 缺氧模型组给予等量生理盐水, 最后一次给药后半小时后, 将小鼠置于 250 mL 广口瓶中 (瓶中放置 5 g 钠石灰用于吸收 CO_2), 密闭瓶塞后开始计时, 以小鼠最后一次大喘气为死亡指征, 纪录小鼠存活时间, 计算存活率 = (给药组存活时间 - 模型组存活时间) / 模型组存活时间。

2.2 低压低氧诱导脑组织损伤模型

低压低氧诱导脑组织损伤模型的构建参照课题组先前报道的方法进行^[12]。清洁级健康 BABL/c 雄性小鼠 84 只, 随机分为正常对照组、缺氧模型组、芦丁组 (500 mg/kg)、芥苳黄酮组 (500 mg/kg), 每组 21 只, 连续灌胃给药 5 天。正常对照组小鼠不给药, 缺氧模型组给予等量生理盐水, 最后一次给药后, 除正常对照组外, 将其它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 8 000 m 并维持 12 h, 随后以 10 m/s 的速度将实验舱中气压升至外界大气压, 迅速处死小鼠, 摘除脑组织, 并按照测定要求对其进行处理。

2.3 脑组织含水量测定

每组分别取 12 只小鼠的脑组织标本, 平均将其分成两个半球。用精密电子天平称量左半球的重量以获得湿重。然后在 80 °C 下干燥 72 h, 以达到恒定的干重。大脑含水量 = (湿重 - 干重) / 湿重 $\times 100\%$ 。

2.4 脑组织中 ROS 水平测定

每组分别取 6 只小鼠的脑组织右半球标本, 用 RIPA 裂解液处理后, 14 000 rpm 低温 (4 °C) 离心 20 min 取上清。将 10 μM DCFH-DA 的加入上清液中, 37 °C 避光孵育 15 min, 测定激发波长 535 nm, 发射波长 538 nm 的吸光度值。ROS 水平以相对于对照组的百分比表示。

2.5 脑组织中氧化应激相关指标的测定

每组分别取 6 只小鼠的脑组织右半球标本, 称重后加入 9 倍量冰生理盐水, 使用组织研磨仪制备脑组织匀浆, 然后 3 500 rpm 低温 (4 °C) 离心 10 min 后取上清。MDA 和 GSH 含量以及 SOD、CAT 和

GSH-Px 活性的按照相关试剂盒说明书进行测定。MDA 含量和 GSH 含量分别以 nmol/mg protein 和 $\mu\text{mol/g protein}$ 表示, SOD、CAT 和 GSH-Px 活性以 U/mg protein 表示。

2.6 脑组织中炎症因子含量测定

每组分别取 6 只小鼠的脑组织标本, 用 RIPA 裂解液处理后, 3 500 rpm 低温 (4 $^{\circ}\text{C}$) 离心 5 min。上清液中 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 的浓度按照相关 ELISA 试剂盒说明进行测定。炎症因子含量以 pg/mL 表示。

2.7 脑组织蛋白表达水平的测定

每组分别取 3 只小鼠的脑组织标本, 称重后加入 9 倍量 RIPA 裂解液, 使用组织研磨仪制备脑组织匀浆, 然后 12 000 rpm 低温 (4 $^{\circ}\text{C}$) 离心 15 min, 取上清, 采用 BCA 法计算蛋白浓度。取等量蛋白样品上样, 采用 SDS-PAGE 进行分离, 然后将蛋白转至 PVDF 膜上, 使用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后, 分别加入 SOD1 (1: 5 000)、CAT (1: 1 000)、IL-1 β (1: 1

000)、TNF- α (1: 3 000) 和 β -actin (1: 1 000) 等一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜, 用 TBST 缓冲液漂洗 4 次, 每次 10 min。加入二抗, β -actin 蛋白使用羊抗小鼠 IgG-HRP (1: 2 000 稀释), 其余均用羊抗兔 IgG-HRP (1: 5 000 稀释), 室温孵育 2 h, ELC 发光, 暗室曝光, 灰度值用 Image-Pro Plus6.0 软件扫描测定。

2.8 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 ANOVA 进行统计学检验, 组间均值比较采用 t 检验, 当 $P < 0.05$, 差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芥苧黄酮对常压密闭小鼠脑存活时间的影响

与缺氧模型组相比, 芥苧黄酮低、中、高三个剂量组均能延长小鼠在常压密闭缺氧环境中的存活时间, 且呈剂量依赖性, 其中芥苧黄酮高剂量组的存活延长率达到 49%, 结果见表 1。因此, 后续实验中芥苧黄酮的给药剂量为 500 mg/kg。

表 1 芥苧黄酮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 mosloflavone on the survive time of mice under normobaric hypoxia condition ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	n	给药剂量 Dose (mg/kg)	存活时间 Survive time (min)	延长率 Prolong rate (%)
缺氧模型组 Model group	10	-	31.02 \pm 2.24	-
芦丁组 Rutin group	10	500	41.65 \pm 3.12 **	34.3
芥苧黄酮组 Mosloflavone group	10	125	36.02 \pm 2.48 *	6.4
	10	250	39.56 \pm 3.12 **	21.1
	10	500	46.26 \pm 4.24 **	49.1

注: 与缺氧模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group.

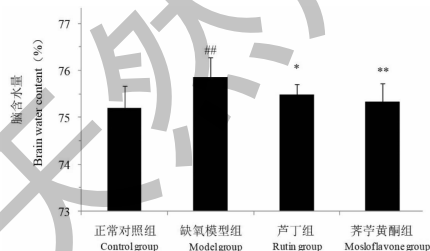


图 2 芥苧黄酮对低压低氧小鼠脑组织含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effects of mosloflavone on brain water content in mice after HH exposure ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

注: 与正常对照组相比, ## $P < 0.01$; 与缺氧模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Note: ## $P < 0.01$ vs control group; * $P <$

0.05, ** $P < 0.01$ vs model group.

3.2 芥苧黄酮对低压低氧小鼠脑组织含水量的影响

与正常对照组相比, 缺氧模型组小鼠脑组织含水量明显升高 ($P < 0.01$), 经芥苧黄酮和芦丁干预后, 脑组织含水量较缺氧模型组显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结果见图 2。

3.3 芥苧黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 ROS 和 MDA 含量的影响

缺氧模型组小鼠脑组织中 ROS 和 MDA 含量较正常对照组显著升高 ($P < 0.01$), 经芥苧黄酮和芦丁预处理可以显著降低 ROS 和 MDA 水平 ($P < 0.01$)。结果见图 3。

3.4 芥苧黄酮对低压低氧小鼠脑组织中抗氧化体系的影响

缺氧模型组小鼠脑组织中 GSH 含量和 SOD、

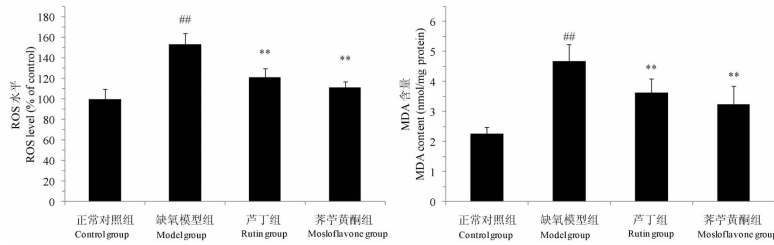


图3 莽苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 ROS 和 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effects of mosloflavone on the content of ROS and MDA in mice brain after HH exposure($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:与正常对照组相比, ^{##} $P < 0.01$; 与缺氧模型组相比, ^{**} $P < 0.01$ 。Note: ^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

CAT 和 GSH-Px 活性较正常对照组显著下降($P < 0.01$), 经莽苳黄酮和芦丁预处理可以显著提高

GSH 含量($P < 0.01$) 和 SOD、CAT 和 GSH-P 的活力 ($P < 0.01$)。结果见图 4。

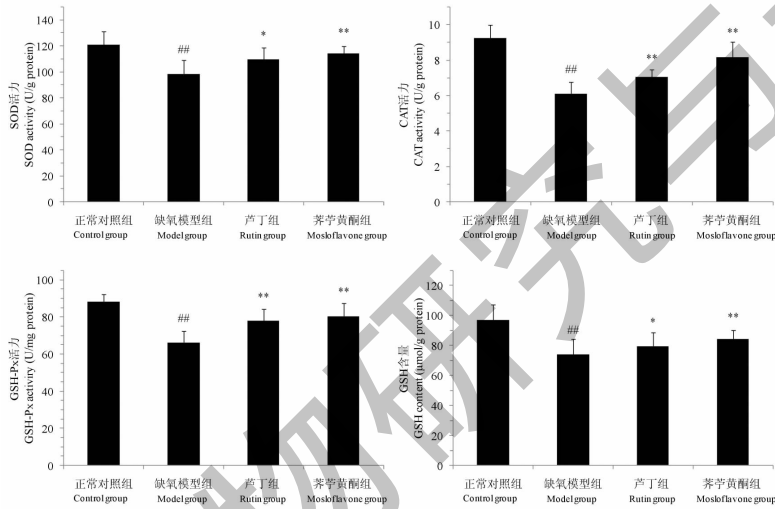


图4 莽苳黄酮对高原缺氧小鼠脑组织中 GSH、SOD、CAT 和 GSH-Px 的水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effects of mosloflavone on the level of GSH, SOD, CAT and GSH-Px in mice brain after HH ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:与正常对照组相比, ^{##} $P < 0.01$; 与缺氧模型组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。Note: ^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

3.5 莽苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织炎症因子含量的影响

IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的含量显著升高 ($P < 0.01$); 经莽苳黄酮和芦丁预处理能够逆转这种变化, 降低促炎性因子的水平。结果见表 2。

缺氧模型组与正常对照组相比, 小鼠脑组织中

表 2 莽苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of mosloflavone on IL-1 β , TNF- α and IL-6 level in mice brain after HH exposure($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	TNF- α (U/pg/mL)
正常对照组 Control group	-	124.51 \pm 7.14	77.57 \pm 8.11	97.82 \pm 6.06
缺氧模型组 Model group	-	175.08 \pm 16.88 ^{##}	95.16 \pm 7.94 ^{##}	130.02 \pm 11.48 ^{##}
芦丁组 Rutin group	500	147.82 \pm 6.20 [*]	85.42 \pm 4.60 [*]	106.66 \pm 9.27 ^{**}
莽苳黄酮组 Mosloflavone group	500	135.78 \pm 12.65 ^{**}	79.23 \pm 6.12 ^{**}	100.66 \pm 6.31 ^{**}

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

Note: ^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

3.6 芥苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 SOD1 和 CAT 蛋白表达的影响

与正常对照组相比, 缺氧模型组 SOD1 和 CAT 的蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), 经芦丁和芥苳黄酮预处理可以显著升高缺氧小鼠脑组织中 SOD1 和 CAT 的蛋白表达 ($P < 0.01$)。结果见图 5。

与正常对照组相比, 缺氧模型组 SOD1 和 CAT

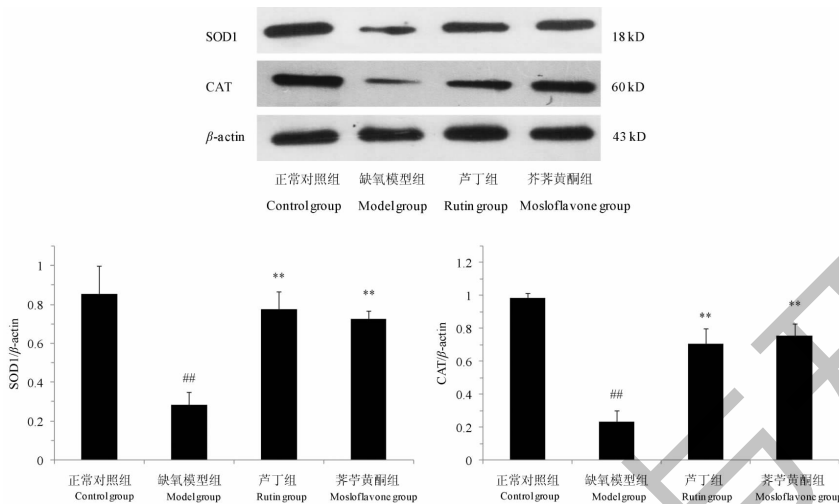


图 5 芥苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 SOD1 和 CAT 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effects of mosloflavone on the expression of SOD1 and CAT in mice brain after HH exposure ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注: 与正常对照组相比, ^{##} $P < 0.01$; 与缺氧模型组相比, ^{**} $P < 0.01$ 。Note: ^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

3.7 芥苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 IL-1 β 和 TNF- α 蛋白表达的影响

芦丁和芥苳黄酮预处理可显著降低脑组织中 IL-1 β 和 TNF- α 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见图 6。

与正常对照组比较, 缺氧模型组小鼠脑组织中 IL-1 β 和 TNF- α 蛋白的表达显著升高 ($P < 0.01$); 经

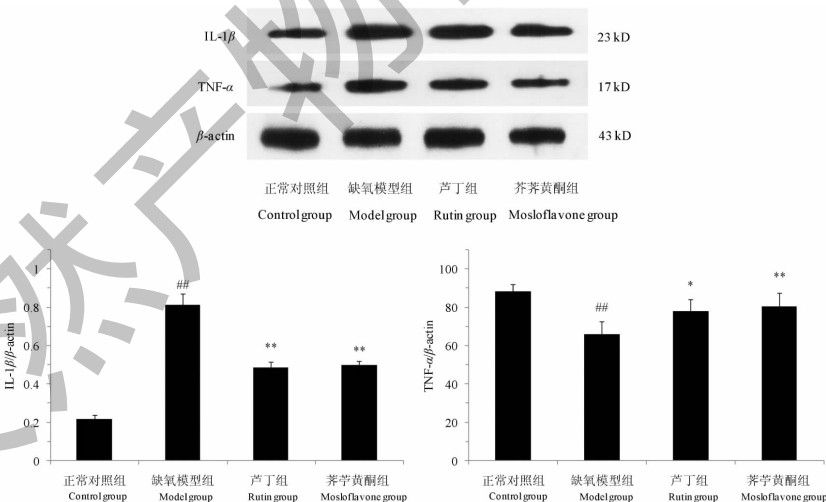


图 6 芥苳黄酮对低压低氧小鼠脑组织中 IL-1 β 和 TNF- α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effects of mosloflavone on the expression of IL-1 β and TNF- α in mice brain after HH exposure ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注: 与正常对照组相比, ^{##} $P < 0.01$; 与缺氧模型组相比, ^{**} $P < 0.01$ 。Note: ^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

4 讨论与结论

暴露于以低压低氧为特征的高原环境是一种极端的生理应激状态, 对机体多个脏器都会造成有害

影响。其中, 大脑由于耗氧量巨大, 是对高原缺氧最为敏感的器官之一。先前的研究指出, 低压低氧诱发的氧化应激是导致脑组织损伤的因素之一^[13]。

体内外实验表明,低压低氧能够诱导细胞和组织中 ROS 的蓄积^[10]。过量的 ROS 能够攻击脑组织中含有丰富的不饱和脂肪酸和生物大分子,诱发脂质过氧化,使 MDA 含量显著升高^[3]。这与我们的实验结果相一致:缺氧模型组小鼠脑组织中 ROS 和 MDA 含量较正常对照组显著升高,而给予芥苳黄酮预处理能够显著降低脑组织中 ROS 和 MDA 的水平。以上结果说明芥苳黄酮可以显著抑制低压低氧诱导的氧化应激和脂质过氧化。

正常生理条件下,ROS 不断生成并被体内的抗氧化酶和非酶抗氧化体系清除并维持在较低的水平。SOD、CAT 和 GSH-Px 是细胞内重要的抗氧化酶。SOD 将超氧阴离子转化为氧气和过氧化氢, CAT 将过氧化氢转化为水和氧气,而 GSH-px 将脂质过氧化物还原为它们相应的醇类,并将游离的过氧化氢还原成水^[14]。GSH 是细胞内关键的非酶抗氧化剂,能够通过直接清除自由基从而保护生物大分子免受自由基的攻击,同时 GSH-px 还利用 GSH 作为电子供体,将其转化为谷胱甘肽二硫化物(GSSG),后者又被谷胱甘肽还原酶(GSSG-red)再生为 GSH^[15]。低压低氧诱导 ROS 大量产生的同时,还会破坏抗氧化体系,进而加剧氧化应激损伤^[13]。在本研究中,急性低压低氧导致小鼠脑组织中 GSH 水平以及 SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性显著降低,而芥苳黄酮能够提高 GSH 的含量,维持抗氧化酶的活性。同时研究还发现,急性低压低氧能够导致小鼠脑组织中 SOD1 和 CAT 蛋白表达显著下降,经芥苳黄酮预处理能够显著提高两个抗氧化蛋白的水平,改善脑组织的氧化应激失衡。

氧化应激和炎症是相互依存,相互关联的过程。一方面,炎性细胞在炎症部位释放大量的 ROS,导致过度的氧化损伤。另一方面,许多 ROS 和氧化应激产物能够增强炎症反应^[16]。近年来研究发现,炎症反应在高原缺氧损伤中具有非常重要的作用。Hartmann 等^[17]研究发现:健康志愿者在高海拔(> 3 400 m)环境暴露三天,血液中 IL-1 和 IL-6 等炎症细胞因子水平显著升高。Song 等^[18]研究表明:人体内 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等促炎性因子水平与急性高山病(AMS)的症状呈正相关。这些促炎性因子能够诱导小胶质细胞活化,导致其它炎性介质的释放并导致炎症级联反应^[19]。炎性介质可以通过刺激花生四烯酸的代谢使自由基释放增加,加重氧化应激损伤,通过增加水通道蛋白及其下游靶基因的表

达,损伤脑微血管基膜、增加血管通透性、破坏血脑屏障进而造成血管原性脑水肿,加重脑组织损伤。我们的研究结果也显示:低压低氧小鼠脑组织中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等促炎性因子水平显著增加,Western bolt 实验进一步证明,低压低氧能够显著上调小鼠脑组织中 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白水平,给予芥苳黄酮预处理能够降低脑组织中促炎性因子含量,下调 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白水平。以上结果表明:芥苳黄酮对低压低氧诱导脑组织损伤的保护作用可能与其介导炎性因子的表达相关。

综上所述,芥苳黄酮对高原缺氧小鼠脑组织的保护作用机制与其清除过量自由基,缓解机体氧化应激,抑制炎症反应有关。

参考文献

- 1 Luan F, Li M, Han K, et al. Phenylethanoid glycosides of *Phlomis younghusbandii* Mukerjee ameliorate acute hypobaric hypoxia-induced brain impairment in rats[J]. Mol Immunol, 2019, 108:81-88.
- 2 Davis C, Hackett P. Advances in the prevention and treatment of high altitude illness[J]. Emerg Med Clin North Am, 2017, 35:241-260.
- 3 Maiti P, Singh SB, Sharma AK, et al. Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain[J]. Neurochem Int, 2006, 49:709-716.
- 4 Wu FW, Cheng BJ, Zhou BN, et al. Studies on *Mosla soochowensis* Matsuda. 1. Isolation and structure of mosloflavone[J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1981, 16:310-312.
- 5 Lombardo, Sabellico EC, Jek JH, et al. Protection of cells against oxidative stress by nanomolar levels of hydroxyflavones indicates a new type of intracellular antioxidant mechanism[J]. PLoS One, 2013, 8:e60796-e60796.
- 6 Singh B, Sidiqi T, Joshi P, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory flavones from *Actinocarya tibetica* Benth[J]. Nat Prod Res, 2013, 27:2227-2230.
- 7 Choi HJ, Song HH, Lee JS, et al. Inhibitory effects of norwogonin, oroxylin A, and mosloflavone on enterovirus 71[J]. Biomol Ther(Seoul), 2016, 24:552-558.
- 8 Jing LL, He L, Fan PC, et al. Chemical constituents of *Saussurea involucreata* with anti-hypoxia activity[J]. Chem Nat Compd +, 2016, 52:487-489.
- 9 Jing LL, Ma HP, Fan PC, et al. The application of mosloflavone on the preparation of hypoxia-drugs(芥苳黄酮在制备抗缺氧药物中的应用):CN104922103B[P]. 2019-03-19.
- 10 Bakonyi T, Radak Z. High altitude and free radicals[J]. J Sports Sci Med, 2004, 3:64-69.