7-羟乙基白杨素对低压缺氧致PC12细胞损伤的改善作用及机制Δ

张冬梅*，高迎春，张　洁，景临林，马慧萍#（联勤保障部队第九四〇医院药剂科/全军高原医学实验室，兰州 730050）

中图分类号　R966　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）04-0402-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.04.04

摘　要　目的　探讨7-羟乙基白杨素（7-HEC）对低压缺氧致PC12细胞损伤的改善作用及可能机制。**方法**　以大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞系PC12为对象，以低压缺氧（5%CO_2、94%N_2、1%O_2、54 004 Pa）条件培养，考察不同浓度7-HEC（100、10、1、0.1、0.01 μmol/L）对低压缺氧细胞存活率的影响；检测7-HEC（1 μmol/L）对低压缺氧细胞中乳酸脱氢酶（LDH）、丙二醛（MDA）含量和超氧化物歧化酶（SOD）活性，凋亡率，周期，以及细胞中活化的胱天蛋白酶3（cleaved caspase-3）、B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）表达的影响。**结果**　与对照组比较，低压缺氧组细胞的存活率显著降低（$P<0.01$）；10、1、0.1 μmol/L的7-HEC可逆转低压缺氧导致的细胞存活率降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。与对照组比较，低压缺氧组细胞上清液中LDH含量、细胞中MDA含量、凋亡率、G_1期细胞比例和细胞中cleaved caspase-3蛋白的表达水平均显著升高；细胞中SOD活性，S期、G_2期细胞比例和细胞中Bcl-2/Bax比值均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞中LDH、MDA含量，凋亡率，G_1期细胞比例和cleaved caspase-3蛋白的表达水平均显著降低；SOD活性、G_2期细胞比例、Bcl-2/Bax比值均显著升高（$P<0.01$）。**结论**　7-HEC可明显提高低压缺氧细胞的存活率，降低上清液中LDH含量，改善细胞周期阻滞，降低细胞凋亡率；其对低压缺氧细胞损伤的改善作用可能与抑制caspase-3/Bax/Bcl-2通路的激活有关。

关键词　7-羟乙基白杨素；PC12细胞；低压缺氧；细胞凋亡；caspase-3/Bax/Bcl-2通路

Investigation on improvement effects and mechanism of 7-hydroxyethyl chrysin on PC12 cell injury induced by hypobaric hypoxia

ZHANG Dongmei, GAO Yingchun, ZHANG Jie, JING Linlin, MA Huiping (Dept. of Pharmacy, the 940th Hospital of Joint Logistics Support Force of PLA/Lab of PLA for High Altitude Medicine, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the improvement effects and possible mechanism of 7-hydroxyethyl chrysin (7-HEC) on PC12 cell injury induced by hypobaric hypoxia. **METHODS** The rat adrenal pheochromocytoma cell line PC12 was cultured under low-pressure hypoxia (5%CO_2, 94%N_2, 1%O_2, 54 004 Pa) to investigate the different concentrations of 7-HEC (100, 10, 1, 0.1, 0.01 μmol/L) on the survival rate of hypoxic cells; the effects of 7-HEC (1 μmol/L) on the contents of lactate dehydrogenase (LDH) and malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) activity, apoptotic rate, cell cycle, and the expressions of cleaved caspase-3, Bcl-2 and Bax were detected. **RESULTS** Compared with control group, the survival rate of cells in hypobaric hypoxia group was decreased significantly ($P<0.01$); 10, 1, 0.1 μmol/L 7-HEC could reverse the decrease of cell survival rate caused by hypobaric hypoxia ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with control group, LDH content in supernatant, MDA content in cells, apoptotic rate, the proportion of cells at G_1 stage and the protein expression of cleaved caspase-3 were increased significantly in hypobaric hypoxia group, while SOD activity in cells, the proportion of cells at S stage and G_2 stage and Bcl-2/Bax ratio were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with hypobaric hypoxia group, the contents of LDH and MDA, apoptotic rate, the proportion of cells at G_1 stage and the expression of cleaved caspase-3 in 7-HEC group were decreased significantly, while SOD activity, the proportion of cells at G_2 stage and Bcl-2/Bax ratio were increased significantly ($P<0.01$). **CONCLUSIONS** 7-HEC can significantly increase the survival rate of hypobaric hypoxia cells, reduce the LDH content in supernatant, improve cell cycle arrest, and reduce the rate of apoptosis. Its improvement effects on hypobaric hypoxia cell injury may be related to the inhibition of caspase-3/Bax/Bcl-2 pathway activation.

KEYWORDS　7-hydroxyethyl chrysin; PC12 cells; hypobaric hypoxia; cell apoptosis; caspase-3/Bax/Bcl-2 pathway

Δ**基金项目**　国家自然科学基金资助项目（No.81872796）；甘肃省科技计划资助项目（No.22JR11RA014）；第九四〇医院院内科研项目（No.2021yxky046，No.2022yxky004）

＊**第一作者**　主管药师，硕士。研究方向：高原缺氧损伤分子机制。E-mail：835935150@qq.com

\# **通信作者**　主任药师，教授，硕士生导师。研究方向：高原缺氧损伤机制及新药研发。E-mail：1026573411@qq.com

我国高原面积广阔，具有重要的政治、军事和经济地位。气压低、氧含量低是高原环境最主要的特征。大脑对低氧刺激尤为敏感，动物研究和临床试验表明，急性低压缺氧可导致大脑皮质神经细胞、海马神经细胞损伤[1]。当脑神经细胞缺氧时，氧气及营养物质消耗所导致的线粒体损伤、神经细胞丢失、氧化应激或细胞坏死、凋亡、自噬是缺氧性损伤的关键环节[2—4]，但目前关于高原低压缺氧致神经细胞损伤的机制及药物研究较少，其预防和治疗一直面临着较大压力。可见，探索低压缺氧致神经细胞损伤的发生机制并寻找抗低压缺氧损伤药物具有重要意义。

近年来有研究表明，黄酮类化合物具有改善缺氧损伤神经的药理作用，如抗氧化、抗炎、抗凋亡作用等[5—7]。白杨素（化学名5，7-二羟基黄酮）又名白杨黄素，是来源广、毒性低的黄酮类化合物，具有抗焦虑、抗抑郁和保护神经等多种生物活性，但其生物利用度较低[3]。为了改善白杨素的上述缺点，本课题组通过结构修饰合成了7-羟乙基白杨素[化学名5-羟基-7-羟乙氧基黄酮，英文名7-hydroxyethyl chrysin，以下简称“7-HEC”][8]；药理研究表明，7-HEC能改善低压缺氧诱导的脑组织损伤、认知功能障碍，并能逆转缺氧模型大鼠海马神经细胞损伤[9]，但具体机制尚不清楚。PC12细胞是研究神经生理和神经药理的常用细胞之一，本课题组为了更好地模拟高原环境，在单纯缺氧模型的基础上进行改良，建立了PC12细胞低压缺氧损伤模型，并证实了低压缺氧可诱导该细胞凋亡[10]。研究指出，抗凋亡蛋白B细胞淋巴瘤2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）与促凋亡蛋白Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）的表达比值决定了细胞凋亡的进程，活化的胱天蛋白酶3（cleaved caspase-3）则是执行细胞凋亡的关键因子，可见，caspase-3/Bax/Bcl-2通路是调控细胞凋亡的重要信号通路[11]。基于此，本研究拟探讨7-HEC对低压缺氧致PC12细胞损伤的保护作用，同时以caspase-3/Bax/Bcl-2通路为线索，探讨该化合物改善低压缺氧致PC12细胞损伤的分子机制，以期为7-HEC在高原低压缺氧损伤防治领域中的应用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括自制压力控制型细胞缺氧培养箱（实用新型专利ZL201821672535[12]）、EST-10-02型氧浓度测定仪（深圳市兴源恒通科技有限公司）、CKX41型倒置相差显微镜（日本Olympus公司）、INC 153H9T6型三气培养箱（德国Memmert公司）、SpectraMaxi3型全自动荧光酶标仪（美国Molecular Devices公司）、ACEA NovoCyte型流式细胞仪（美国ACEA Biosciences公司）、ChemiDocMP Imaging System型凝胶成像分析系统（美国Bio-Rad公司）等。

1.2 主要药品与试剂

7-HEC原料药（纯度98%）由本实验室自制；DMEM高糖培养基购自美国HyClone公司；胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、0.25%胰酶消化液均购自美国Gibco公司；青霉素-链霉素双抗购自兰杰柯生物科技有限公司；乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）试剂盒（批号20180728）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）试剂盒（批号20190412）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）试剂盒（批号20180728）均购自南京建成生物工程研究所；CCK-8细胞活力检测试剂盒（批号PM508）购自日本Dojindo公司；Annexin Ⅴ-FITC细胞凋亡检测试剂盒（批号10625-2）购自上海碧云天生物技术公司；DNA含量检测试剂盒（细胞周期）（批号20210105）购自北京索莱宝科技有限公司；兔抗鼠Bax单克隆抗体（批号ab32503）、兔抗鼠Bcl-2多克隆抗体（批号ab196495）、兔cleaved caspase-3多克隆抗体（批号ab184787）均购自美国Abcam公司；鼠β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体（批号TA-09）、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号ZB-2307）均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 细胞

大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞系PC12购自中国科学院上海细胞库。

2 方法

2.1 细胞培养

将PC12细胞接种于含10%FBS、1%青霉素-链霉素双抗的DMEM高糖培养基（以下简称“完全培养基”）中，于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养。待细胞融合至80%～90%时，用0.25%胰酶消化并按1∶3比例传代，取对数生长期的细胞进行后续实验。

2.2 分组与处理

根据不同培养条件，将PC12细胞分为对照组、低压缺氧组和7-HEC组。对照组细胞用含10%FBS的DMEM高糖培养基培养24 h；低压缺氧组细胞根据前期确定的低压缺氧模型条件[10]，于5%CO_2、94%N_2、1%O_2、54 004 Pa（与5 000 m海拔处大气压相当）条件下培养24 h；7-HEC组细胞先用含7-HEC的完全培养基培养30 min后，再按低压缺氧组方法培养24 h。

2.3 细胞存活率检测

采用CCK-8法检测。取生长良好且处于对数生长期的PC12细胞，用0.25%胰酶消化后，按每孔1×10^4个接种于96孔板中。将细胞分为对照组、低压缺氧组、不同浓度7-HEC组（7-HEC终浓度为100、10、1、0.1、0.01

μmol/L，根据预实验结果设置），每组设置6个复孔；同时设置不含细胞、不含药物的空白组。于37 ℃、5%CO_2条件下培养24 h后，弃去上清液，对照组和低压缺氧组细胞加入完全培养基100 μL，7-HEC组细胞分别加入含7-HEC 100、10、1、0.1、0.01 μmol/L的完全培养基100 μL，按“2.2”项下方法处理。培养24 h后，每孔加入CCK-8试剂10 μL，于37 ℃下孵育1 h，使用酶标仪于450 nm波长处检测各孔的光密度（OD）值并按下式计算细胞存活率：细胞存活率＝（实验组OD值－空白组OD值）/（对照组OD值－空白组OD值）×100%。

2.4 细胞中LDH、MDA含量和SOD活性检测

取生长良好且处于对数生长期的PC12细胞，用0.25%胰酶消化后，按每孔2×10^6个接种于6孔板中。将细胞分为对照组、低压缺氧组、7-HEC组（1 μmol/L，根据“2.3”项下结果设置），每组设置6个复孔。按“2.3”项下方法培养24 h，收集细胞和上清液，使用酶标仪以LDH试剂盒（L-P法）检测上清液中LDH含量，以MDA试剂盒（TBA法）检测细胞中MDA含量，以SOD试剂盒（WST-8法）检测细胞中SOD活性，严格按照试剂盒说明书操作。

2.5 细胞凋亡和细胞周期检测

2.5.1 细胞凋亡 采用Annexin Ⅴ-FITC/PI双染流式细胞术检测。取生长良好且处于对数生长期的PC12细胞，按“2.4”项下方法分组（每组设置3个复孔）、处理、培养。随后，弃去上清液，细胞用4 ℃预冷的磷酸盐缓冲液清洗2次，用不含乙二胺四乙酸的胰酶消化1 min，于室温下以1 500 r/min离心5 min；用4 ℃预冷的磷酸盐缓冲液清洗2次，以1 500 r/min离心5 min，弃去上清液；细胞用1×bingding buffer 400 μL重悬，制成密度为1×10^6个/mL的悬液；取上述悬液，加入Annexin Ⅴ-FITC试剂适量（每100 μL悬液加入Annexin Ⅴ-FITC试剂5 μL），轻轻混匀，室温避光孵育15 min；加入PI试剂10 μL和1×binding buffer 400 μL，轻轻混匀，使用流式细胞仪检测细胞凋亡率（%）。

2.5.2 细胞周期 采用流式细胞术检测。取生长良好且处于对数生长期的PC12细胞，按“2.4”项下方法分组（每组设置3个复孔）、处理、培养。随后，收集各组细胞，用磷酸盐缓冲液清洗2次后，于－20 ℃ 75%乙醇中固定过夜；以1 500 r/min离心5 min，收集细胞，用磷酸盐缓冲液清洗2次后，用RNaseA试剂重悬并于37 ℃下孵育30 min；加入PI试剂400 μL，于4 ℃下避光孵育30 min，使用流式细胞仪检测各周期的分布情况。

2.6 细胞中凋亡相关蛋白表达检测

采用Western blot方法检测。取生长良好且处于对数生长期的PC12细胞，按“2.4”项下方法分组（每组设置3个复孔）、处理、培养。随后，收集各组细胞，用磷酸盐缓冲液洗涤2次，加入RIPA细胞裂解液100 μL，于冰浴中放置30 min，于4 ℃下以1 500 r/min离心15 min；取上清液，以BCA法进行定量后，加上样缓冲液煮沸变性10 min，取变性蛋白样品50 μg进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移至聚偏二氟乙烯膜上，用含50 g/L脱脂奶粉的TBST缓冲液室温封闭1 h，加入cleaved caspase-3、Bcl-2、Bax、β-actin一抗（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；用TBST缓冲液洗膜3次，加入二抗（稀释比例为1∶5 000），室温孵育1 h；用TBST缓冲液洗膜3次，以凝胶成像系统成像，以目标蛋白与内参蛋白（β-actin）灰度值的比值表示目标蛋白的表达水平，并记录Bax与Bcl-2表达水平的比值（Bax/Bcl-2比值），实验重复3次。

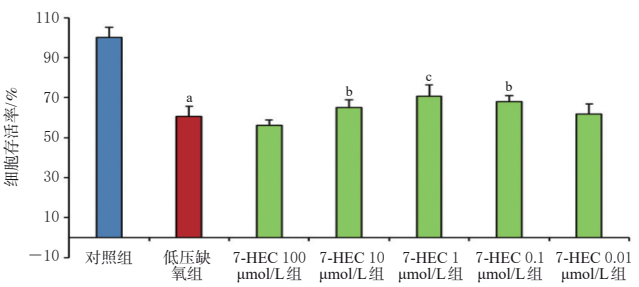
2.7 统计学方法

使用GraphPad Prism 9.0软件对数据进行统计分析。每组实验至少重复3次。数据均以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 不同浓度7-HEC对低压缺氧细胞存活率的影响

与对照组比较，低压缺氧组细胞的存活率显著降低（$P<0.01$）；与低压缺氧组比较，7-HEC 10、1、0.1 μmol/L组细胞的存活率均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），提示在上述浓度下，7-HEC可逆转细胞存活率的降低，故选择作用较明显的1 μmol/L进行后续实验。结果见图1。



a：与对照组比较，$P<0.01$；b：与低压缺氧组比较，$P<0.05$，c：与低压缺氧组比较，$P<0.01$

图1 不同浓度7-HEC对低压缺氧细胞存活率的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

3.2 7-HEC对低压缺氧细胞中LDH、MDA含量和SOD活性的影响

与对照组比较，低压缺氧组细胞上清液中LDH含量和细胞中MDA含量均显著升高，细胞中SOD活性显著降低（$P<0.01$）。与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞上清液中LDH含量和细胞中MDA含量均显著降低（$P<0.01$），细胞中SOD活性显著升高（$P<0.01$）。结果见表1。

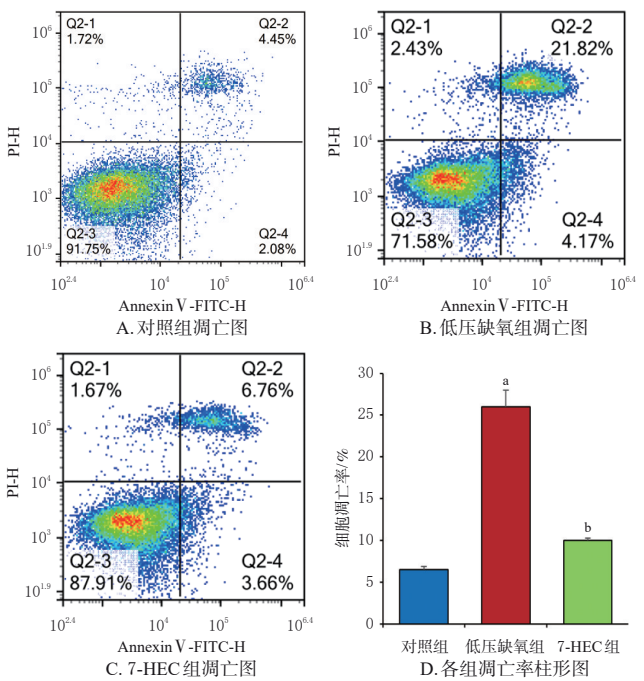
表1　7-HEC对低压缺氧细胞中LDH、MDA含量和SOD活性的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	LDH/（U/mL）	MDA/（nmol/mg prot）	SOD（U/mg prot）
对照组	23.45±4.11	0.035±0.002	0.132±0.005
低压缺氧组	38.85±2.99[a]	0.081±0.007[a]	0.113±0.002[a]
7-HEC组	25.19±2.25[b]	0.040±0.004[b]	0.134±0.003[b]

a：与对照组比较，$P<0.01$；b：与低压缺氧组比较，$P<0.01$

3.3　7-HEC对低压缺氧细胞凋亡和细胞周期的影响

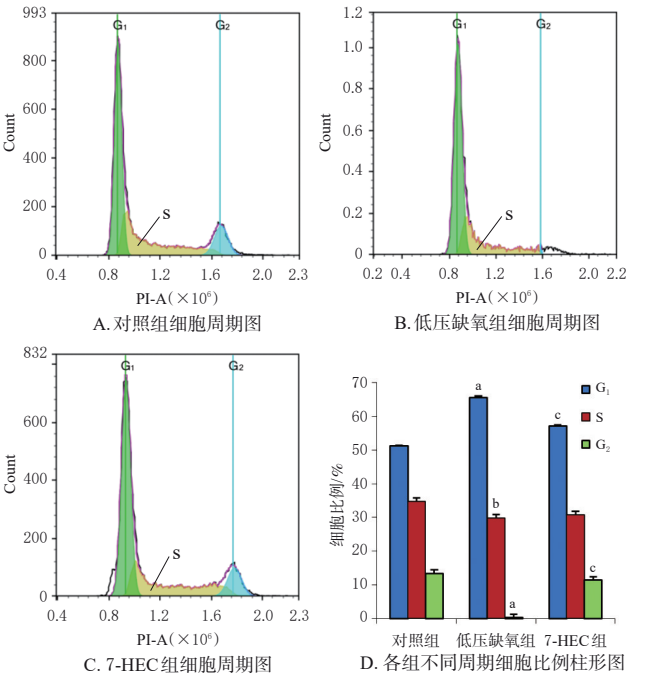
3.3.1　细胞凋亡　与对照组比较，低压缺氧组细胞的凋亡率显著升高（$P<0.01$）；与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞的凋亡率显著降低（$P<0.01$）。结果见图2。



a：与对照组比较，$P<0.01$；b：与低压缺氧组比较，$P<0.01$

图2　7-HEC对低压低氧细胞凋亡的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

3.3.2　细胞周期　与对照组比较，低压缺氧组G_1期细胞比例显著升高，S期、G_2期细胞比例均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与低压缺氧组比较，7-HEC组G_1期细胞比例显著降低，G_2期细胞比例显著升高（$P<0.01$）。结果见图3。

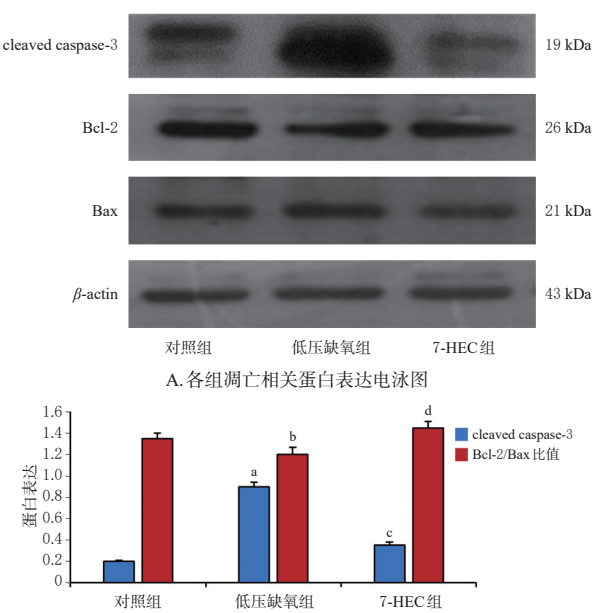


a：与对照组比较，$P<0.01$；b：与对照组比较，$P<0.05$；c：与低压缺氧组比较，$P<0.01$

图3　7-HEC对低压缺氧细胞周期的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

3.4　7-HEC对低压缺氧细胞中凋亡相关蛋白表达的影响

与对照组比较，低压缺氧组细胞中cleaved caspase-3蛋白的表达水平显著升高，Bcl-2/Bax比值显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞中cleaved caspase-3蛋白的表达水平显著降低，Bcl-2/Bax比值显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图4。



a：与对照组比较，$P<0.01$；b：与对照组比较，$P<0.05$；c：与低压缺氧组比较，$P<0.05$；d：与低压缺氧组比较，$P<0.01$

图4　7-HEC对低压低氧细胞中凋亡相关蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

4　讨论

本研究通过考察7-HEC对低压缺氧PC12细胞增殖、抗氧化能力、细胞凋亡和细胞周期的影响，评价了该化合物对低压缺氧致神经细胞损伤的保护作用。细胞存活率检测结果显示，细胞在低压缺氧（1%O_2、54 004 Pa）条件下培养24 h后，其存活率明显下降；经0.01、0.1、1、10、100 μmol/L的7-HEC提前干预后，7-HEC 0.1、1、10 μmol/L组低压缺氧细胞的存活率明显提升，提示上述浓度的7-HEC可逆转细胞存活率的降低；其中，1 μmol/L的活性最佳，故以该浓度作为后续研究的药物浓度。

LDH是存在于正常细胞胞质中的酶，当细胞膜受损后，LDH即被释放到细胞外，故可通过检测细胞上清液中LDH的含量来判断细胞膜的受损程度[13]。本研究结果显示，与对照组比较，低压缺氧组细胞上清液中LDH含量显著升高；与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞上清液中LDH含量显著降低。这说明7-HEC对低压性缺氧引起的细胞膜损伤具有改善作用。

有研究指出，MDA是脂质过氧化的标志产物，其含量高低可反映氧化应激的严重程度，以及组织受氧自由基破坏的损伤程度；SOD是清除生物体内氧自由基的重要物质，兼具修复细胞的功能，当细胞内氧自由基水平升高时，SOD的生物合成及活性将有所增强，可用以间接反映机体氧自由基的生成量及清除氧自由基的能力[14]。本研究结果显示，低压缺氧组细胞中MDA含量较对照组显著升高，SOD活性较对照组显著降低，提示低压缺氧细胞的脂质过氧化反应增加，抗氧化能力减弱。与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞中MDA含量显著降低，SOD活性显著升高，提示该化合物可逆转细胞脂质过氧化反应增加、抗氧化能力减弱的现象，可通过调控细胞氧化/抗氧化失衡而发挥对低压缺氧致细胞损伤的改善作用。

本研究应用Annexin Ⅴ-FITC/PI双染流式细胞术检测了低压缺氧细胞的凋亡情况，结果显示，与对照组比较，低压缺氧组细胞的凋亡率显著升高；与低压缺氧组比较，7-HEC组细胞的凋亡率显著降低。这表明低压缺氧可诱导细胞凋亡，而7-HEC具有抑制细胞凋亡的作用。本研究应用流式细胞仪检测了7-HEC对细胞周期的影响，结果显示，低压缺氧组G_1期细胞比例较对照组显著升高，S期、G_2期细胞比例较对照组均显著降低，提示在低压缺氧条件下，细胞周期阻滞于G_1期；经7-HEC处理后，上述作用得到逆转，G_1期的细胞比例明显降低，G_2期的细胞比例明显上升，S期的细胞比例亦有上升趋势，提示7-HEC可使进入DNA复制期的低压缺氧细胞比例增加，可改善低压缺氧引起的细胞周期阻滞。此结果与CCK-8实验结果相符。有研究指出，处于G_1期的细胞可对各种影响增殖与凋亡的信号进行整合和传递，进而决定细胞是否进行分裂、凋亡或延迟分裂，即进入G_0期[15－16]。结合上述实验结果显示，7-HEC可能通过改善低压缺氧致PC12细胞周期阻滞而提高细胞存活率、减少细胞凋亡和促进细胞增殖，但具体机制有待后续研究进一步验证。

细胞凋亡是一种主动的程序性死亡方式，受抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白的严格调控。通常情况下，抗凋亡蛋白Bcl-2和促凋亡蛋白Bax以相对稳定的比例存在于细胞内，二者的表达失衡是造成细胞凋亡的关键因素：当Bax表达增多时，Bcl-2/Bax同源二聚体增多，在缺氧刺激下，细胞线粒体膜受损，作为凋亡执行蛋白酶的caspase-3被释放至胞质，当细胞发生凋亡时，caspase-3被活化成cleaved caspase-3，从而启动和诱导凋亡；相反当Bcl-2高表达时，Bcl-2/Bax同源二聚体解离增多，细胞凋亡受到抑制[17]。本研究结果显示，与对照组相比，低压缺氧组细胞中cleaved caspase-3蛋白的表达水平显著升高，Bcl-2/Bax比值显著下降；与低压缺氧组相比，7-HEC组细胞中cleaved caspase-3蛋白的表达水平显著降低，Bcl-2/Bax比值显著升高。这提示7-HEC可减少低压缺氧诱导的细胞凋亡，其作用机制可能与抑制caspase-3/Bax/Bcl-2凋亡信号通路的激活有关。

综上所述，7-HEC可明显提高低压缺氧细胞的存活率，降低上清液中LDH含量，改善细胞周期阻滞，降低细胞凋亡率，从而显著减轻低压缺氧诱导的细胞损伤，其作用机制可能与抑制caspase-3/Bax/Bcl-2凋亡信号通路的激活有关。本课题组将进一步从细胞分子水平分析7-HEC保护作用的具体机制，为该化合物应用于高原低压缺氧损伤的防护提供基础实验数据和研究线索。

参考文献

[1] VILLCA N, ASTURIZAGA A, HEATH-FREUDENTHAL A. High-altitude illnesses and air travel: pediatric considerations[J]. Pediatr Clin North Am, 2021, 68(1): 305-319.

[2] KUMARI P, WADHWA M, CHAUHAN G, et al. Hypobaric hypoxia induced fear and extinction memory impairment and effect of *Ginkgo biloba* in its amelioration: behavioral, neurochemical and molecular correlates[J]. Behav Brain Res, 2020, 387: 112595.

[3] SHARMA P, TULSAWANI R. *Ganoderma lucidum* aqueous extract prevents hypobaric hypoxia induced memory deficit by modulating neurotransmission, neuroplasticity and maintaining redox homeostasis[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 8944.

[4] AKYUVA Y, NAZIROĞLU M. Resveratrol attenuates hypoxia-induced neuronal cell death, inflammation and mitochondrial oxidative stress by modulation of TRPM2 channel[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6449.

[5] PRAJIT R, SRITAWAN N, SUWANNAKOT K, et al. Chrysin protects against memory and hippocampal neurogenesis depletion in D-galactose-induced aging in rats[J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1100.

[6] SONG J H, MOON K Y, LEE S C, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor by chrysin in a rat model of choroidal neovascularization[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8): 2842.

[7] MANI R, NATESAN V. Chrysin: sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action [J]. Phytochemistry, 2018, 145: 187-196.

[8] 马慧萍，景临林，樊鹏程，等.7-羟乙基白杨素的合成方法及其在制备抗缺氧药物中的应用：CN104926769A[P]. 2015-09-23.

（下转第412页）