孪药ST-11对氧糖剥夺/再灌注致PC12细胞损伤的保护作用及机制Δ

文金兰[1*]，陈莉娜[1]，张善惠[1]，鲁　俊[1]，吴淑霞[1]，张金娟[2]，董永喜[1]，董　莉[1#]（1.贵州医科大学药学院，贵阳 550025；2.贵州医科大学基础医学院，贵阳　550025）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）06-0660-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.06.04

摘　要　目的　研究川芎嗪-灯盏乙素苷元孪药ST-11对氧糖剥夺/再灌注（OGD/R）致大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤PC12细胞损伤的保护作用及机制。**方法**　将细胞分为空白组、模型组、尼莫地平组（阳性对照，5 μmol/L）、ST-11不同浓度组（5、10、20 μmol/L）。预先给药干预24 h后，除空白组外的其余各组细胞均以含10 mmol/L $Na_2S_2O_4$的无糖DMEM培养基缺糖缺氧培养4 h，待复糖复氧培养4 h后，检测各组细胞的存活率，细胞上清液中乳酸脱氢酶（LDH）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽（GSH）、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）的含量，细胞凋亡率，细胞活性氧（ROS）和线粒体膜电位（MMP）水平，以及B细胞淋巴瘤2相关X蛋白（Bax）、B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）及胱天蛋白酶3（caspase-3）蛋白的表达情况。**结果**　与空白组比较，模型组的细胞存活率，上清液中CAT、GSH和SOD含量，细胞MMP水平，细胞Bcl-2蛋白的相对表达量和Bcl-2/Bax比值均显著降低（$P<0.05$），而上清液中LDH、MDA含量，细胞ROS水平，细胞凋亡率，细胞Bax、caspase-3蛋白的相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，ST-11各浓度组上述指标（5 μmol/L ST-11组caspase-3蛋白除外）均显著逆转（$P<0.05$）。**结论**　ST-11对OGD/R致PC12细胞损伤具有一定的保护作用，且作用可能与减少细胞氧化应激、抑制细胞凋亡有关。

关键词　ST-11；川芎嗪；灯盏乙素苷元；孪药；氧糖剥夺/再灌注；氧化应激；细胞凋亡；PC12细胞

Protective effects of twin drug ST-11 against PC12 cell injury induced by oxygen-glucose deprivation/reperfusion and its mechanism

WEN Jinlan[1], CHEN Lina[1], ZHANG Shanhui[1], LU Jun[1], WU Shuxia[1], ZHANG Jinjuan[2], DONG Yongxi[1], DONG Li[1]（1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the protective effects of ligustrazine-scutellarein twin drug ST-11 on rat adrenal medullary pheochromocytoma PC12 cell injury induced by oxygen-glucose deprivation/reperfusion (OGD/R) and its mechanism. **METHODS** PC12 cells were divided into blank group, model group, nimodipine group (positive control, 5 μmol/L) and different concentration groups of ST-11 (5, 10, 20 μmol/L). After 24 hours of pre-administration intervention, all the other groups except the blank group were cultured in glucose-free DMEM culture medium containing 10 mmol/L $Na_2S_2O_4$ for 4 hours with glucose deficiency and hypoxia. After 4 hours of glucose and oxygen re-introduction, the survival rate of cells in each group, the contents of lactate dehydrogenase (LDH), catalase (CAT), glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in cell supernatant, apoptosis rate, the levels of reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential (MMP), the protein expressions of B-cell lymphoma 2 related X protein (Bax), B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) and caspase-3 were all detected in each group. **RESULTS** Compared with blank group, the cell survival rate, the contents of CAT, GSH and SOD in cell supernatant, MMP level, relative expression of Bcl-2 and Bcl-2/Bax ratio in model group decreased significantly ($P<0.05$), while the contents of LDH and MDA, ROS level, apoptosis rate, relative expressions of Bax and caspase-3 were significantly increased ($P<0.05$). Compared with model group, above indexes of ST-11 groups (except for the protein expression of caspase-3 in 5 μmol/L ST-11 group) were reversed significantly ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** ST-11 has a certain protective effect on OGD/R-injured PC12 cells, and its effects may be related to reduction of oxidative stress and inhibition of cell apoptosis.

KEYWORDS　ST-11; ligustrazine; scutellarein; twin drug; oxygen-glucose deprivation/reperfusion; oxidative stress; cell apoptosis; PC12 cells

Δ **基金项目** 国家自然科学基金资助项目（No.81960630）；国家级大学生创新创业训练计划项目（No.202010660029）；贵州省普通高等学校青年科技人才成长项目（No.黔教合KY字〔2021〕164）；贵州省卫生健康委员会科学技术基金项目（No.gzwkj2021-448）；贵州医科大学学术新苗培养及创新探索专项项目（No.黔科合平台人才〔2018〕5779-65）

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药药效及毒理机制。电话：0851-88416153。E-mail：1372389145@qq.com

通信作者 副教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药药效学、药理学和安全性评价。电话：0851-88416153。E-mail：108405755@qq.com

脑卒中是全球人口致残和死亡的主要原因之一，其中缺血性脑卒中占80%～85%，严重威胁人类健康[1]。目前，临床治疗缺血性脑卒中的有效、直接手段是溶栓，但当脑组织再次恢复血流供应时会引起脑缺血再灌注损伤（cerebral ischemia reperfusion injury，CIR）[2]，从而导致神经细胞发生不可逆凋亡。

川芎嗪是从伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 干燥根茎中提取的生物碱单体，具有镇痛、改善微循环、抗氧化、抗血小板聚集等作用[3]。现代药理学研究表明，川芎嗪对CIR所致神经损伤有一定的保护作用[4]，但该成分具有半衰期短、代谢快、生物利用度低等缺点，故其临床应用大大受限。

灯盏乙素主要以苷元形式被小肠吸收，药效学实验表明，灯盏乙素苷元有和灯盏乙素类似的药效，可升高谷胱甘肽（glutathione，GSH）和超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）含量，显著降低丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量，抑制活性氧（reactive oxygen species，ROS）产生，对CIR致神经损伤有较好的保护作用[5－6]。但灯盏乙素苷元同样也存在稳定性差、水溶性差、口服生物利用度低等不足。

基于川芎嗪和灯盏乙素苷元良好的氧自由基清除活性，以及二者对CIR致神经损伤的保护作用，本课题组将这两种成分以不同的天然氨基酸为链接子，拼接合成得到一系列川芎嗪-灯盏乙素苷元孪药。与川芎嗪、灯盏乙素苷元原药相比，孪药的理化性质良好，且具有较好的抗氧化、抗凝血活性，尤以ST-11（化学结构式见图1）较为突出[7－9]，但其具体的神经保护作用机制尚未完全清楚。氧糖剥夺/再灌注（oxygen-glucose deprivation/reperfusion，OGD/R）致PC12细胞损伤是模拟CIR致神经损伤的经典体外细胞模型[10]。本课题组拟通过建立OGD/R致PC12细胞损伤模型，进一步探讨ST-11对该神经细胞的保护作用及可能机制，为缺血性脑卒中防治药物的研发提供参考。

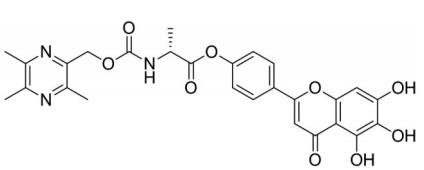


图1　ST-11的化学结构式

1　材料

1.1　主要仪器

本研究使用的主要仪器有150i型CO_2恒温培养箱、ChemiDocXRS+型凝胶成像系统（美国Thermo Fisher Scientific公司），SCSJ-Ⅱ-20L型纯水仪（济南爱来宝仪器设备有限公司），ReadMax1500型酶标仪（上海闪谱生物科技有限公司），FACSCalibur型流式细胞仪（美国BD公司）等。

1.2　主要药品与试剂

ST-11原料药（纯度97.5%）由本课题组自制；$Na_2S_2O_4$（批号20210101）购自重庆川东化工（集团）有限公司；尼莫地平对照品（阳性对照，批号25290，纯度＞98%）购自上海皓元生物医药科技有限公司；乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）、过氧化氢酶（catalase，CAT）、SOD、MDA、GSH、ROS试剂盒（批号分别为20210901、20210825、202170729、20210727、20210529、202010921）均购自南京建成生物工程研究所；Annexin Ⅴ-FITC/PI试剂盒（批号MA0220-Apr-25H）购自大连美仑生物科技有限公司；特级马血清和MTT、线粒体膜电位（mitochondrial membrane potential，MMP）、BCA试剂盒（批号分别为809N051、810K051、20211024、20210901）均购自北京索莱宝科技有限公司；兔源B细胞淋巴瘤2相关X蛋白（B-cell lymphoma 2 related X protein，Bax）、B细胞淋巴瘤2（B-cell lymphoma 2，Bcl-2）、胱天蛋白酶3（caspase-3）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）单克隆抗体（批号分别为00102164、00097984、00101520、00106413）均购自武汉三鹰生物技术有限公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号GR3384862-12）购自美国Santa Cruz公司；超敏ECL化学发光试剂盒（批号20220211）购自新赛美生物科技有限公司；胎牛血清和无糖DMEM、高糖DMEM培养基（批号分别为2232241、8122153、8122194）均购自美国Gibco公司。

1.3　细胞

大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤PC12（高分化）细胞购自中国科学研究院上海细胞所。

2　方法

2.1　分组、给药与造模

取处于对数生长期的PC12细胞，以5×10^4个/mL接种至96孔板中，每孔100 μL，放入37 ℃、5%CO_2培养箱中培养24 h后，将细胞分为空白组、模型组、尼莫地平组（阳性对照，5 μmol/L[11]）、ST-11不同浓度组（5、10、20 μmol/L，根据前期预实验结果设置）。预先给药干预24 h后，除空白组细胞加入高糖DMEM完全培养基（84%高糖DMEM培养基+10%胎牛血清+5%马血清+1%青-链霉素双抗）100 μL外，其余各组细胞均加入含10 mmol/L $Na_2S_2O_4$的无糖DMEM培养基100 μL[12]，缺氧缺糖培养4 h；吸弃上清液，各组细胞以高糖DMEM完全培养基复糖复氧继续培养4 h。

2.2 细胞存活率检测

采用MTT法进行检测。取处于对数生长期的PC12细胞，按“2.1”项下方法接种、分组、给药、造模。复糖复氧4 h后，每孔加入5 mg/mL的MTT试剂20 μL，孵育4 h，吸弃上清液，加入二甲基亚砜100 μL，混匀，使用酶标仪在490 nm波长处检测各孔的光密度（optical density，OD）值并计算细胞存活率：细胞存活率（%）＝实验组OD值/空白组OD值×100%。每组设6个复孔，实验重复3次。

2.3 细胞上清液中LDH、CAT、GSH、MDA、SOD含量检测

取处于对数生长期的PC12细胞，按“2.1”项下方法接种、分组、给药、造模。复糖复氧4 h后，收集细胞上清液，检测其中LDH、CAT、GSH、MDA、SOD含量。每组设6个复孔，实验重复3次。严格按照试剂盒说明书操作。

2.4 细胞凋亡率和ROS、MMP水平检测

采用流式细胞术进行检测。取处于对数生长期的PC12细胞，以5×10^4个/mL接种于6孔板中，每孔2 mL，按“2.1”项下方法分组、给药、造模。复糖复氧4 h后，细胞用磷酸盐缓冲液清洗3次，离心。收集细胞，使用流式细胞仪检测其凋亡率和ROS、MMP水平。每组设6个复孔，实验重复3次。严格按照试剂盒说明书操作。

2.5 细胞中Bax、Bcl-2、caspase-3蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。按“2.4”项下方法接种、分组、给药、造模。复糖复氧4 h后，收集细胞，用4 ℃预冷的磷酸盐缓冲液清洗2次后进行蛋白提取，采用BCA试剂盒测定蛋白浓度后于100 ℃加热5 min使蛋白变性。取变性蛋白20 μg，进行12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并以湿法转移至聚偏二氟乙烯膜上，用0.05 g/mL脱脂奶粉封闭2 h；洗膜后，分别加入Bax、Bcl-2、caspase-3、GAPDH一抗（稀释比例分别为1∶5 000、1∶1 000、1∶500、1∶10 000），4 ℃孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗（稀释比例为1∶15 000），继续孵育2 h；洗膜后，采用ECL发光试剂避光显色，并使用凝胶成像系统成像，通过Image J软件进行分析，以目的蛋白与内参蛋白（GAPDH）的灰度值比值作为目的蛋白的相对表达量，以Bcl-2/Bax比值表示细胞凋亡走向（Bcl-2/Bax比值升高，细胞凋亡受到抑制；Bcl-2/Bax比值下降，细胞凋亡得以增加[13]）。每组设3个复孔，实验重复3次。

2.6 统计学方法

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。结果以$\bar{x}\pm s$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α＝0.05。

3 结果

3.1 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞存活率的影响

与空白组比较，模型组细胞的存活率显著降低（P＜0.05）；与模型组比较，各药物组细胞的存活率均显著升高（P＜0.05）。结果见表1。

表1 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞存活率及细胞上清液中LDH、CAT、GSH、MDA、SOD含量的影响（$\bar{x}\pm s$，n＝6）

组别	剂量/（μmol/L）	细胞存活率/%	LDH/（U/L）	CAT/（μmol/L）	GSH/（μmol/L）	MDA/（nmol/mL）	SOD/（μmol/L）
空白组		100.00±0.54	653.46±42.28	7.733±0.273	29.16±2.92	0.757±0.047	36.93±3.81
模型组		53.96±0.27[a]	2 043.56±137.53[a]	2.270±0.312[a]	14.02±3.47[a]	3.514±0.187[a]	15.93±2.49[a]
尼莫地平组	5	71.18±0.48[b]	815.84±36.72[b]	5.476±0.162[b]	23.49±2.84[b]	1.730±0.124[b]	29.94±3.54[b]
ST-11组	5	61.83±0.18[b]	1 734.65±210.53[b]	3.105±0.505[b]	18.99±3.34[b]	2.622±0.169[b]	22.16±2.96[b]
	10	67.13±0.55[b]	863.36±64.59[b]	4.934±0.294[b]	21.44±2.02[b]	2.108±0.215[b]	27.27±2.31[b]
	20	84.88±0.25[b]	704.95±31.18[b]	5.872±0.425[b]	24.47±3.06[b]	1.324±0.285[b]	31.22±3.38[b]

a：与空白组比较，P＜0.05；b：与模型组比较，P＜0.05

3.2 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞上清液中LDH、CAT、GSH、MDA、SOD含量的影响

与空白组比较，模型组细胞上清液中LDH、MDA含量均显著升高（P＜0.05），CAT、GSH、SOD含量均显著降低（P＜0.05）；与模型组比较，各药物组细胞上清液中LDH、MDA含量均显著降低（P＜0.05），CAT、GSH、SOD含量均显著升高（P＜0.05），且有一定的浓度依赖性趋势。结果见表1。

3.3 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞凋亡率的影响

与空白组比较，模型组细胞的凋亡率显著增加（P＜0.05）；与模型组比较，各药物组细胞的凋亡率均显著降低（P＜0.05）。结果见表2、图2。

表2 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞凋亡率和ROS、MMP水平的影响（$\bar{x}\pm s$，n＝6）

组别	剂量/（μmol/L）	细胞凋亡率/%	ROS	MMP
空白组		1.49±0.16	3 448.25±194.23	6 012.34±207.07
模型组		34.46±0.41[a]	18 760.58±426.12[a]	3 492.27±301.46[a]
尼莫地平组	5	15.16±0.25[b]	8 883.37±243.47[b]	5 346.36±179.53[b]
ST-11组	5	25.15±0.32[b]	11 382.49±301.59[b]	4 013.89±157.27[b]
	10	19.72±0.27[b]	9 357.14±236.78[b]	4 737.57±243.58[b]
	20	10.28±0.19[b]	5 174.61±157.45[b]	5 711.49±198.24[b]

a：与空白组比较，P＜0.05；b：与模型组比较，P＜0.05

3.4 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞ROS、MMP水平的影响

与空白组比较，模型组细胞的ROS水平显著升高，MMP水平显著降低（P＜0.05）；与模型组比较，各药物组细胞的ROS水平均显著降低，MMP水平均显著升高（P<0.05）。结果见表2、图3、图4。

3.5 ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞中Bax、Bcl-2、caspase-3蛋白表达的影响

与空白组比较，模型组细胞中Bax、caspase-3蛋白的相对表达量均显著升高（P＜0.05），Bcl-2蛋白的相对表

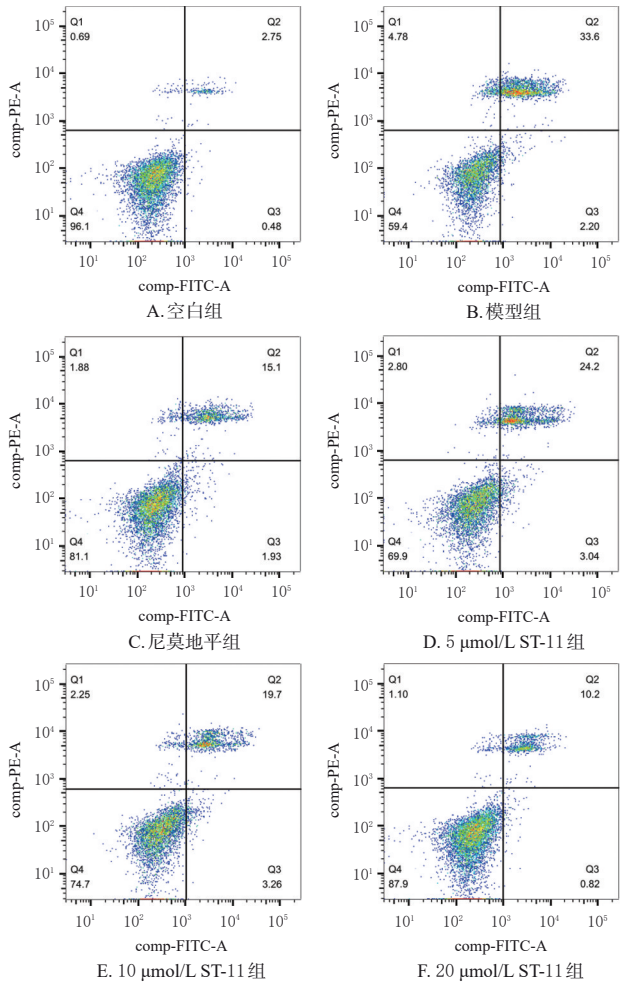


图2　ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞凋亡影响的流式图

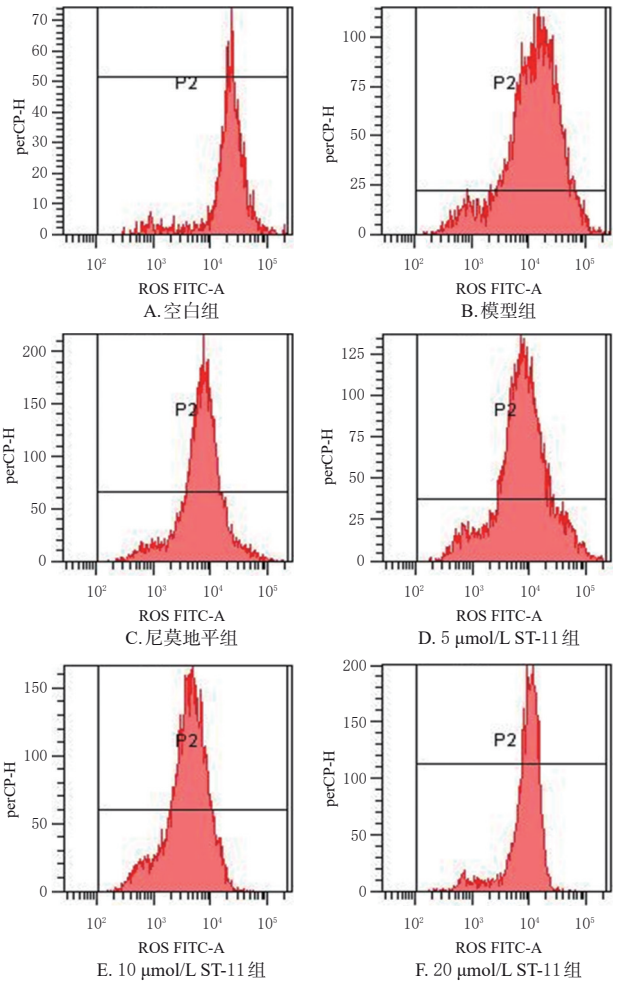


图3　ST-11对OGD/R损伤的PC12细胞ROS水平影响的流式图

达量和Bcl-2/Bax比值均显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，各药物组细胞中Bax、caspase-3（5 μmol/L ST-11组除外）蛋白的相对表达量均显著降低（$P<0.05$），Bcl-2蛋白的相对表达量和Bcl-2/Bax比值均显著升高（$P<0.05$）。结果见表3、图5。

4　讨论

CIR致神经细胞损伤和凋亡影响了行为和认知功能，严重影响患者的预后[14]。在再灌注期间，血氧部分或可全部恢复，氧气作为多种氧化反应的底物，可导致大量氧自由基生成，而后者在铁蛋白存在的条件下可进一步转变为羟自由基，攻击膜结构和DNA，最终破坏细胞的结构和功能，进一步加重神经细胞的缺血性损伤[15]。因此，恢复供血后如何提高神经细胞存活率、改善神经功能成为临床缺血性脑卒中的治疗重点。

活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能将MTT还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲臜并沉积在细胞中，而死细胞无此功能，故可以此间接反映活细胞的数量[16]。LDH是机体能量代谢的重要酶之一，存在于正常细胞质中，一旦细胞膜受损，即被释放到细胞外，故可通过检测细胞上清液的LDH含量来判断细胞受损程度[17]。本研究结果显示，与空白组比较，模型组细胞的存活率显著降低，上清液中LDH含量显著升高；与模型组比较，ST-11各浓度组细胞的存活率均显著升高，上清液中LDH含量均显著降低，说明ST-11可以提高OGD/R致损伤细胞的存活率。

有研究表明，ROS大量产生而造成的氧化应激在CIR的发生、发展中具有重要作用[17]。其中，ROS作用于细胞膜上的不饱和脂肪酸，可促使脂质过氧化反应发生，并形成脂质过氧化物MDA，MDA含量的高低间接反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度[18]。CAT、SOD、GSH是重要的自由基清除剂，其中SOD将超氧阴离子（O_2^-）转化为过氧化氢（H_2O_2）；CAT再将H_2O_2转化为水，从而将有毒的O_2^-和H_2O_2转化为无害的水分子；GSH可使氧化型物质发生还原反应，从而解除其毒性[19-21]。因此，本研究通过检测细胞上清液CAT、SOD、GSH、MDA含量及细胞ROS水平来反映氧化应激损伤

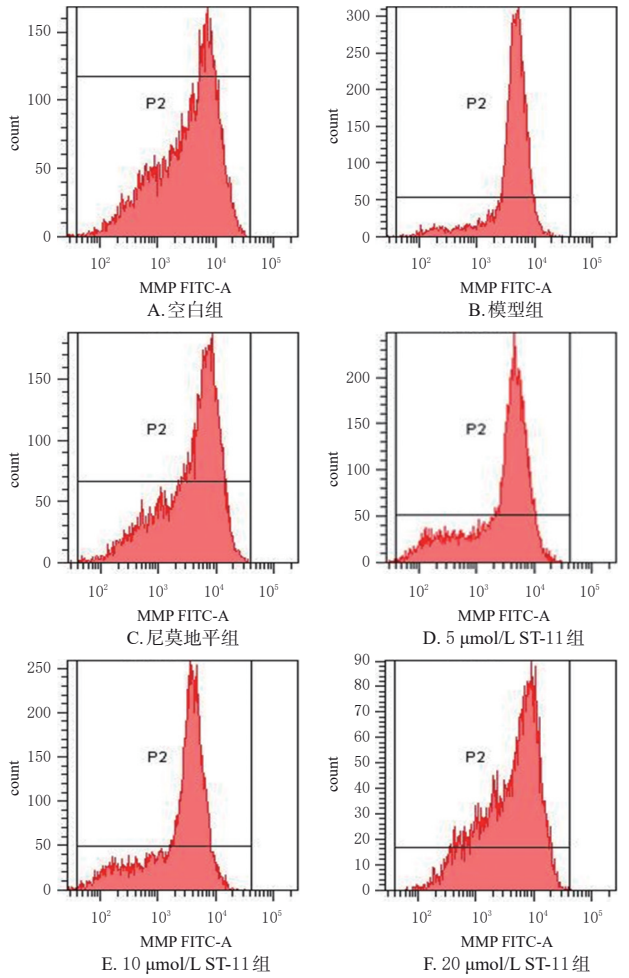


图4　ST-11 对 OGD/R 损伤的 PC12 细胞 MMP 水平影响的流式图

表3　ST-11 对 OGD/R 损伤的 PC12 细胞中 Bax、Bcl-2、caspase-3 蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	剂量/(μmol/L)	Bax	Bcl-2	Bcl-2/Bax	caspase-3
空白组		0.40±0.071	1.07±0.178	2.46±0.361	0.53±0.042
模型组		0.92±0.054[a]	0.44±0.031[a]	0.47±0.140[a]	1.35±0.063[a]
尼莫地平组	5	0.55±0.102[b]	0.92±0.079[b]	1.74±0.449[b]	1.03±0.006[b]
ST-11 组	5	0.70±0.069[b]	0.86±0.047[b]	1.26±0.341[b]	1.30±0.057
	10	0.60±0.089[b]	0.89±0.076[b]	1.49±0.320[b]	1.19±0.101[b]
	20	0.44±0.116[b]	0.95±0.109[b]	2.28±0.471[b]	0.84±0.070[b]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

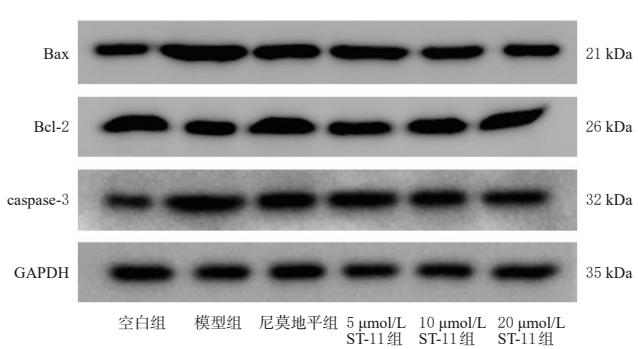


图5　ST-11 对 OGD/R 损伤的 PC12 细胞中 Bax、Bcl-2、caspase-3 蛋白表达影响的电泳图

的程度，观察 ST-11 对 OGD/R 致 PC12 细胞氧化应激损伤的保护作用。本研究结果表明，与空白组比较，模型组 CAT、SOD、GSH 含量均显著降低，ROS 水平和 MDA 含量均显著升高。与模型组比较，ST-11 可增加 OGD/R 损伤的 PC12 细胞的 CAT、SOD、GSH 含量，并可降低 ROS 水平和 MDA 含量，说明 ST-11 可减少 OGD/R 致 PC12 细胞的氧化应激损伤。

线粒体是生成腺苷三磷酸和进行能量转换的主要场所，同时也是参与细胞凋亡过程的重要细胞器。研究指出，在氧化呼吸中，线粒体将产生的能量以电化学势能的形式存储于线粒体内膜中，在内膜两侧质子和其他离子浓度不对称分布时会形成 MMP，故 MMP 的稳定对维持细胞的正常生理功能尤为重要[22]。近年研究发现，细胞发生凋亡时常伴有 MMP 的下降[23]。本研究结果表明，与空白组比较，模型组细胞的凋亡率显著升高，MMP 水平显著降低。与模型组比较，ST-11 能显著降低 OGD/R 损伤的 PC12 细胞的凋亡率并升高其 MMP 水平，说明 ST-11 能减少损伤细胞凋亡并维持其线粒体功能。

细胞凋亡被认为是 CIR 致神经细胞损伤的主要原因之一，通过减少细胞凋亡可减轻 CIR 损伤，对预防缺血性脑卒中具有重要意义[24]。凋亡蛋白家族在细胞凋亡过程中具有关键作用，尤其是 Bax、Bcl-2、caspase-3 蛋白[25]：上调 Bcl-2 蛋白的表达，提高 Bcl-2/Bax 比值，以及下调 Bax、caspase-3 蛋白的表达均有助于减少细胞凋亡[26]。本研究结果显示，与空白组比较，模型组细胞中 Bax、caspase-3 蛋白的相对表达量均显著升高，Bcl-2 蛋白的相对表达量和 Bcl-2/Bax 比值均显著降低；与模型组比较，ST-11 不同浓度组细胞中 Bax 蛋白的表达被显著抑制，Bcl-2 蛋白的表达和 Bcl-2/Bax 比值均显著升高，凋亡蛋白 caspase-3 的表达（5 μmol/L ST-11 组除外）均显著降低，表明 ST-11 能抑制 OGD/R 致损伤 PC12 细胞的凋亡。

综上所述，ST-11 对 OGD/R 致 PC12 细胞损伤具有一定的保护作用，且上述作用可能与该孪药减少细胞氧化应激、抑制细胞凋亡有关。

参考文献

[1] WEI L H, FAN Y, WEI L L, et al. Ablation of TMEM126B protects against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injuries of PC12 cells via maintaining mitochondrial anti-apoptotic functions[J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 696: 108634.

[2] MA H X, HOU F, CHEN A L, et al. Mu-Xiang-You-Fang protects PC12 cells against OGD/R-induced autophagy via the AMPK/mTOR signaling pathway[J]. J Ethnophar-

macol，2020，252：112583.
[3] 蒋希成，李晓莹，陈阳燕，等. 川芎治疗缺血性脑卒中的研究进展[J]. 中华中医药学刊，2022，40(5)：4-7.
[4] 祁存芳，刘勇，张建水，等. 川芎嗪对大鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护作用[J]. 现代中西医结合杂志，2008，17(25)：3908-3909，3964.
[5] XU L J，CHEN R C，MA X Y，et al. Scutellarin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury by suppressing NLRP3 inflammasome activation[J]. Phytomedicine，2020，68：153169.
[6] 颜娟，郑茂东. 灯盏花素神经保护作用及其机制研究进展[J]. 神经药理学报，2014，4(3)：31-38.
[7] WU S X，LIU M J，WEN J L，et al. Hybrid molecules of scutellarein and 3，5，6-trimethylpyrazine-2-formic acid linked with polar amino acid for ischemic stroke[J]. Med Chem Res，2022，31(6)：916-924.
[8] 刘明吉，吴淑霞，雷丹丹，等. 川芎嗪灯盏乙素苷元抗缺血性脑卒中孪药的合成及活性研究[J]. 中国新药杂志，2021，30(3)：267-273.
[9] DONG Y X，ZHANG X H，LIU M J，et al. Hybrid molecules of scutellarein and tertramethylpyrazine's active metabolites for ischemic stroke[J]. Bioorg Med Chem Lett，2019，29(19)：126608.
[10] CHUA P，LIM W K. Optimisation of a PC12 cell-based *in vitro* stroke model for screening neuroprotective agents[J]. Sci Rep，2021，11(1)：8096.
[11] MO Z T，FANG Y Q，HE Y P，et al. β-asarone protects PC12 cells against OGD/R-induced injury via attenuating beclin-1-dependent autophagy[J]. Acta Pharmacol Sin，2012，33(6)：737-742.
[12] 董永喜，董莉，付思红，等. 辛芍组方对氧糖剥夺损伤的神经PC12细胞凋亡的影响及其机制研究[J]. 中国药房，2016，27(28)：3907-3910.
[13] 李红宇，陈如平，吴建民，等. BCL-2/Bax的比值决定着细胞凋亡[J]. 中国医药实践杂志，2012(1)：40-41.
[14] WAN L，ZHANG Y，ASAKAWA T，et al. Neuroprotective effect of neuroserpin in oxygen-glucose deprivation- and reoxygenation-treated rat astrocytes *in vitro*[J]. PLoS One，2015，10(4)：e0123932.
[15] 王幼琳，李珊珊，王萌，等. 天麻素抑制H_2O_2诱导的PC12细胞铁死亡[J]. 中国临床药理学与治疗学，2021，26(5)：532-538.
[16] SHI M，WANG J Q，BI F F，et al. Diosmetin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury through Keap1-mediated Nrf2/ARE signaling pathway activation and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. Environ Toxicol，2022，37(6)：1529-1542.
[17] GAO Y，CAO X Y，ZHANG X J，et al. Brozopine inhibits 15-LOX-2 metabolism pathway after transient focal cerebral ischemia in rats and OGD/R-induced hypoxia injury in PC12 cells[J]. Front Pharmacol，2020，11：99.
[18] 颜娟，郑茂东，崔玉环，等. 大黄酚脂质体对脑缺血再灌注损伤小鼠体内抗氧化作用的影响[J]. 中国老年学杂志，2018，38(3)：703-704.
[19] OZTANIR M N，DOGAN M F，TURKMEN N B，et al. Secukinumab ameliorates oxidative damage induced by cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. Turk Neurosurg，2022，32(5)：732-739.
[20] LIU A J，ZHANG W Q，WANG S W，et al. HMGB-1/RAGE signaling inhibition by dioscin attenuates hippocampal neuron damage induced by oxygen-glucose deprivation/reperfusion[J]. Exp Ther Med，2020，20(6)：231.
[21] LIU Y，WANG H，YANG M，et al. *Cistanche deserticola* polysaccharides protects PC12 cells against OGD/RP-induced injury[J]. Biomedecine Pharmacother，2018，99：671-680.
[22] 王鹤璇，马静萍. 线粒体自噬机制及其在脑缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2021，19(14)：2361-2363.
[23] ZHENG Y M，DONG L，LIU N，et al. MiR-141-3p regulates apoptosis and mitochondrial membrane potential via targeting Sirtuin1 in a 1-methyl-4-phenylpyridinium *in vitro* model of Parkinson's disease[J]. Biomed Res Int，2020，2020：7239895.
[24] DENG Y H，HE H Y，YANG L Q，et al. Dynamic changes in neuronal autophagy and apoptosis in the ischemic penumbra following permanent ischemic stroke[J]. Neural Regeneration Research，2016，11(7)：1108-1114.
[25] 张彐宁，靳晓飞，周晓红，等. 毛蕊异黄酮抑制氧糖剥夺/复氧复糖PC12细胞凋亡研究[J]. 中国药理学通报，2019，35(12)：1693-1698.
[26] 王慧，兰小兵，郑萍，等. 獐牙菜苦苷对PC12细胞氧糖剥夺再灌注损伤的保护作用及机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志，2022，36(2)：90-97.

（收稿日期：2022-08-31　修回日期：2022-12-15）
（编辑：曾海蓉）