

白芍总苷对 MPTP 致帕金森病小鼠的作用机制

薛慧铭¹, 冯真¹, 金畅¹, 王晶², 郑梅竹^{2*}

1. 长春师范大学生命科学院, 吉林 长春 130032

2. 长春师范大学 中心实验室, 吉林 长春 130032

摘要:目的 探讨白芍总苷对 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 致帕金森病小鼠的保护机制。方法 采用 60%乙醇热回流法提取白芍总苷, 高效液相色谱法测定白芍总苷化学成分。60 只小鼠随机分为对照组、模型组、美多芭 (100 mg/kg) 组和白芍总苷 (total glucosides of paeony, TGP) 低、中、高剂量 (0.75、1.50、3.00 g/kg) 组, 各给药组 ig 给药 (20 mL/kg), 对照组、模型组 ig 等体积双蒸水 (double-distilled water, ddH₂O), 1 次/d, 连续 15 d, 自第 8 天起, 对照组 ip 生理盐水, 其他各组小鼠每天 ip MPTP (30 mg/kg)。第 15 天 ip MPTP 1 h 后, 检测小鼠的自主活动、滚轴能力及悬挂能力; 免疫组织化学法检测各组小鼠黑质多巴胺能神经元的损伤情况, 同时检测脑组织中单胺氧化酶-B (monoamine oxidase-B, MAO-B) 活性水平、神经递质多巴胺 (dopamine, DA) 及其代谢产物 3,4-二羟基苯乙酸 (3,4-Dihydroxyphenylacetic acid, DOPAC)、高香草酸 (homovanillic acid, HVA); 蛋白免疫印迹法检测多巴胺转运体 (dopamine transporter, DAT)、酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH)、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、磷酸化环磷腺苷反应元件结合蛋白 (phosphorylated cAMP-response element-binding protein, p-CREB)、环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB)、B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X Protein, Bax)、裂解型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cleaved cysteine-aspartate protease-3, cleaved Caspase-3) 蛋白表达水平。结果 MPTP 诱导的帕金森病小鼠模型自发站立次数显著减少、悬挂能力和滚轴能力显著降低, 显著降低黑质致密部 TH 阳性神经元数量; 经高剂量白芍总苷处理后能显著增加小鼠的自发站立次数, 提高滚轴能力 ($P < 0.05$); 显著增加 TH 阳性神经元数量 ($P < 0.01$), 提高小鼠脑内的 DA、HVA 含量和 DAT、TH、BDNF 蛋白表达水平及 p-CREB/CREB、Bcl-2/Bax 的值 ($P < 0.01$), 抑制小鼠脑内 MAO-B、DOPAC、cleaved Caspase-3 的表达 ($P < 0.01$)。结论 白芍总苷高剂量组对 MPTP 诱导的小鼠损伤帕金森模型具有显著的保护作用, 其作用机制可能与白芍总苷能够抑制 MAO-B 活性, 提高 DA 及 DAT、TH 蛋白表达和激活 CREB/BDNF 及 Bcl-2/Bax 通路有关。

关键词: 白芍总苷; 芍药苷; 帕金森病; 氧化应激; 作用机制; 单胺氧化酶-B; 多巴胺转运体; 酪氨酸羟化酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)04-1266-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.04.015

Mechanism of total glucosides in *Paeoniae Radix Alba* on MPTP induced Parkinson's disease in mice

XUE Huiming¹, FENG Zhen¹, JIN Chang¹, WANG Jing², ZHENG Meizhu²

1. College of Life Science, Changchun Normal University, Changchun 130032, China

2. Central Laboratory, Changchun Normal University, Changchun 130032, China

Abstract: Objective To explore the protective mechanism of total glucosides in *Paeoniae Radix Alba* (TGP) against MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) in mice with Parkinson's disease. **Methods** The TGP was extracted by 60% ethanol reflux method, and the chemical constituents of TGP were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). Sixty mice were randomly divided into control group, model group, madopar (100 mg/kg) group, and low-, medium-, and high-dose (0.75, 1.50, 3.00 g/kg) TGP groups. Each treatment group received intragastric (ig) administration (20 mL/kg), while the control and model groups received an equivalent volume of double-distilled water (ddH₂O) via ig administration, once daily for 15 consecutive days.

收稿日期: 2024-10-08

基金项目: 吉林省自然科学基金资助项目 (20210101031JC); 吉林省自然科学基金资助项目 (20240402045GH)

作者简介: 薛慧铭, 硕士研究生, 从事天然产物及神经退行性疾病研究。E-mail: 13844637912@163.com

*通信作者: 郑梅竹, 教授, 硕士生导师, 从事天然产物及神经退行性疾病研究。E-mail: zhengmz605@mail.cncn.edu.cn

From the 8th day onward, the control group was intraperitoneally (ip) injected with normal saline, while the other groups received MPTP (30 mg/kg·d⁻¹) via ip injection. On the 15th day, one hour after the final MPTP injection, spontaneous activity, rotarod performance, and hanging ability were assessed. Immunohistochemistry was used to evaluate dopaminergic neuron damage in the substantia nigra. In addition, monoamine oxidase-B (MAO-B) activity, dopamine (DA), and its metabolites, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) and homovanillic acid (HVA), were measured in brain tissue. Western blotting was employed to determine the protein expression levels of dopamine transporter (DAT), tyrosine hydroxylase (TH), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), phosphorylated cAMP-response element-binding protein (p-CREB), CREB, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax), and Cleaved cystein-aspartate protease-3 (Cleaved Caspase-3). **Results** MPTP-induced Parkinson's disease model mice exhibited a significant reduction in the number of spontaneous standing events, as well as a marked decline in hanging ability and rotarod performance. Furthermore, a significant decrease in the number of TH-positive neurons in the substantia nigra pars compacta was observed. High-dose TGP treatment significantly increased the number of spontaneous standing events and improved rotarod performance ($P < 0.05$). Additionally, TGP administration markedly increased the number of TH-positive neurons ($P < 0.01$) and elevated DA and HVA levels in the brain. TGP treatment also upregulated the expression levels of DAT, TH, and BDNF proteins and increased p-CREB/CREB and Bcl-2/Bax ratios ($P < 0.01$). Conversely, it significantly inhibited the expression of MAO-B, DOPAC, and cleaved caspase-3 in the brain ($P < 0.01$). **Conclusion** High-dose TGP exerts significant neuroprotective effects in MPTP-induced Parkinson's disease model mice. The underlying mechanism may be associated with the inhibition of MAO-B activity, the elevation of DA levels, the upregulation of DAT and TH protein expression, and the activation of the CREB/BDNF and Bcl-2/Bax signaling pathways.

Key words: total glucosides in *Paoniae Radix Alba*; paeoniflorin; Parkinson's disease; oxidative stress; mechanism of action; monoamine oxidase-B; dopamine transporter; tyrosine hydroxylase

帕金森病是一种进行性变性疾病，也是第二大神经系统退行性疾病^[1-2]。目前，临床上几种批准使用的抗帕金森病药物（如左旋多巴）在治疗帕金森病中具有一定的局限性和严重的不良反应^[3-4]。因此，开发高效、低毒、不良反应少的新型抗帕金森病天然药物具有重要的理论意义和广阔的应用前景。

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根，广泛分布于我国北部，有养血、止痛、止汗等作用^[3-4]。研究发现，白芍总苷作为传统中药白芍的主要活性成分，显示了抗氧化、抗炎、神经保护和心血管保护的多种生物活性，其在帕金森病等神经退行性疾病的治疗中能够通过调控炎症因子、改善神经元凋亡及抗氧化作用来保护神经系统^[5-6]。此外，白芍总苷可通过减轻心肌缺血损伤、延缓动脉粥样硬化、改善心肌重构等多种机制来实现心血管保护效应^[7-10]。白芍总苷在抗氧化和抗炎方面的作用已被部分验证，但其具体的作用通路和靶点尚未系统阐明，尤其是在帕金森病治疗中，白芍总苷对神经系统不同受体和离子通道的作用机制还需进一步研究。研究显示，白芍总苷可以激活腺苷 A1 受体和磷脂酰肌醇 3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B, AKT）通路，从而减少神经炎症和多巴胺神经元的凋亡^[11-12]。此外，它还可以通过调控 α -突触核蛋白（alpha-synuclein, α -Syn）/蛋

白激酶 C- δ 亚型（protein kinase C- δ , PKC- δ ）和 c-Jun 氨基端激酶（c-Jun N-terminal kinase, JNK）/肿瘤蛋白 p53（tumor protein p53, p53）信号通路，减轻神经毒性和改善认知功能^[13-14]。白芍总苷在帕金森病和其他神经退行性疾病中展示出多种神经保护作用机制，主要通过调控关键的信号通路实现，然而，白芍总苷对帕金森病小鼠脑组织损伤的保护作用及机制的研究仍较少。本研究基于经典帕金森动物模型，在提取、分离白芍总苷的基础上对其帕金森活性进行初步评价，并对其抗帕金森的作用机制进行研究，基于 CREB、BDNF 神经营养通路和 Bcl-2、Bax 线粒体凋亡通路探讨了白芍总苷的作用机制。

1 材料

1.1 动物

雄性 ICR 小鼠，体质量 22~25 g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，许可证号 SCXK(京)2009-0004。动物饲养于 12 h 昼夜循环下，湿度为 50%~55%，水和食物充足的环境。本研究动物实验经长春师范大学动物伦理委员批准（批准号 2024003）。

1.2 药品与试剂

白芍(批号 20152301)购自北京同仁堂长春店，经长春师范大学刘春明教授鉴定为毛茛科植物芍药 *P. lactiflora* Pall. 的干燥根。

美多芭(批号 SH1484, 国药准字 H10930198) 购自上海罗氏制药有限公司; 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP, 批号 20131215) 购自上海德默医药科技有限公司; 多巴胺 (批号 BCBG8676V, 质量分数 >98%)、3,4-二羟基苯乙酸 (批号 1451791V, 质量分数 >99%)、组织单胺氧化酶 B (monoamine oxidase B, MAO-B) 活性比色法定量检测试剂盒 (批号 GMS500658) 购自上海杰美基因医药科技有限公司; 多巴胺转运体 (dopamine transporter, DAT) 抗体 (批号 ab184451) 和酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 抗体 (批号 ab137869)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 ab181602)、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 抗体 (批号 ab108319)、环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 抗体 (批号 ab32515)、磷酸化环磷腺苷反应元件结合蛋白 (phosphorylated cAMP-response element-binding protein, p-CREB, 批号 ab32096)、B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 抗体 (批号 ab196495)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 抗体 (批号 ab32503)、裂解型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cleaved cystein-aspartate protease-3, cleaved Caspase-3, 批号 ab32042) 购自美国 Abcam 公司; HRP 标记的山羊抗兔二抗 (批号 IH-0011) 购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; IP 细胞裂解液 (批号 P0013) 购自上海碧云天生物技术公司; 甲醇 (色谱纯, 批号 984503) 购自美国赛默飞世尔科技公司; D101 型大孔吸附树脂 (10 cm×80 cm, 批号 AC12919) 购自上海艾美克生化科技有限公司。

1.3 仪器

ZZ-6 型小鼠自主活动仪 (成都泰盟软件有限公司); YLS-4C 型转棒式疲劳仪 (上海艾研生物科技有限公司); Finnigan LCQ 型电喷雾离子阱质谱仪 (美国赛默飞公司); SunFireTM C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国沃特世公司)、DCY 24S 型氮气吹干仪 (青岛科技仪器有限公司)。

2 方法

2.1 白芍总苷的制备

称取 100 g 白芍药材并将其粉碎, 加入 1 000 mL

的 60%乙醇 (料液比 1:10) 超声提取 1.5 h, 滤过, 重复 3 次, 收集滤液, 减压浓缩至浸膏; 取 D101 型大孔吸附树脂湿法上柱, 采用 1 000 mL 超纯水冲洗杂质, 除去废液; 采用 1 000 mL 60%乙醇洗脱, 收集洗脱液, 减压浓缩。称 20 mg 提取物于量瓶, 甲醇定容至 10 mL, 经滤膜 0.45 μm 滤过, 备用。

2.2 白芍总苷的化学成分分析

2.2.1 色谱条件 采用 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以 0.1%乙酸水 (A)-甲醇 (B) 为流动相, 选择二元线性梯度洗脱, 梯度洗脱程序: 0~2 min, 13% B; 2~120 min, 13%~100% B, 体积流量 0.8 mL/min, 进样体积 10 μL, 检测波长 270 nm, 柱温 30 °C。

2.2.2 质谱条件 二极管阵列探测器 (DAD) 通过三通阀与质谱仪相连, 采用负离子模式, 扫描范围设置为 *m/z* 50~1 000, 喷雾电压设置为 4.5 kV, 鞘气体积流量 20 L/min。

2.3 动物分组、造模与给药

将 60 只小鼠随机分为对照组、模型组、美多芭 (100 mg/kg) 组和白芍总苷低、中、高剂量 (0.75、1.50、3.00 g/kg) 组, 每组 10 只。各给药组 ig 相应药物 (20 mL/kg), 1 次/d, 连续 15 d, 对照组、模型组 ig 等体积双蒸水 (double-distilled water, ddH₂O)。自第 8 天起, 对照组 ip 生理盐水, 其余各组小鼠 ip MPTP [30 mg/(kg·d)]。第 15 天注射 MPTP 10 min 后, 若小鼠应出现前肢抬举伴震颤、后肢僵硬、竖尾、竖毛及跳踯等动作, 持续约 30 min, 说明建模成功^[15-17]; 注射 MPTP 1 h 后, 进行小鼠自发活动试验和滚轴试验行为学指标检测。各组小鼠于行为学检测结束后, 采血, 剖取脑组织。

2.3.1 自发活动试验 将小鼠置于自主活动箱中, 适应 5 min 后, 记录仪自动记录 5 min 内的小鼠自发站立次数。

2.3.2 滚轴试验 小鼠从转棒开始旋转到离开转棒的时间, 即为小鼠滚轴时间, 转棒转速为 16 r/min, 检测间隔为 2 min, 记录小鼠滚轴时间, 重复 3 次取平均值看, 测试前连续训练 3 d, 2 次/d。

2.3.3 悬挂实验 将受试小鼠两前爪悬挂于 1 根水平金属线上 (直径 1 mm, 距地面 30 cm) 停留 10 s, 2 次/d。于小鼠末次 ip MPTP 1.5 h 后进行测试, 测试时间为 10 s。小鼠悬挂能力评分标准^[18-20]: 在前 10 s 内, 小鼠用两后爪抓住金属线记 3 分; 用一后爪抓住金属线记 2 分; 两后爪均抓不住金属线记 1

分。最后计算得分情况并记录小鼠从金属线上掉下的时间,超过60 s以60 s计。

2.3.4 免疫组化 行为学实验结束后,断头取中脑,置于4%多聚甲醛,4℃固定3~4 h后,于30%蔗糖溶液过夜。次日将中脑组织块经0.01 mol/L PBS洗涤,行冠状连续冰冻切片,收集于PBS液中。采用链霉亲和素-过氧化物酶法进行免疫组织化学染色。

2.4 MAO-B的活性测定

使用MAO-B含量检测试剂盒,按照试剂盒说明书测定黑质中MAO-B的活性。

2.5 神经递质多巴胺及其代谢物含量测定

在冰台上去除小脑及血肿周边组织,迅速取出脑组织,分离出纹状体,称定质量,放入冻存管,立即于液氮或-70℃冰箱冻存。检测前,将纹状体置于玻璃匀浆器内,取1 g纹状体加入4 mL冰冷的甲醇溶液,于冰浴下快速匀浆,精密吸取1 mL匀浆液,4℃、14 000 r/min离心20 min,取上清,用氮吹仪浓缩样品,残留物用水溶解,漩涡振荡5 min,加入氯仿-异丙醇(10:3)混合液300 μL,漩涡振荡2 min,4 000 r/min离心5 min,取上清,进样。

2.5.1 色谱条件 采用ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱,柱温为室温。测定DA流动相为0.1%甲酸水(A)-乙睛(B) (92:8),等度洗脱20 min,进样量15 μL;测定DOPAC、HVA流动相为0.1%甲酸水(A)-乙睛(B) (82:18),等度洗脱20 min,进样体积20 μL,体积流量均为0.3 mL/min。

2.5.2 质谱条件 APCI离子源,源电压4.0 kV;加热毛细管温度200℃;氮气体积流量50 mL/min;辅助气体积流量15 mL/min;正离子模式为选择性反应监测(MRM)模式,监测反应 m/z 154.00~137.00;锥孔电压为16 V,碰撞能量为9 V。负离子模式为选择性反应监测(SRM)模式,监测反应 m/z 166.90~122.80 (DOPAC), 180.70~136.60 (HVA);锥孔电压分别为12、18 V;碰撞能量分别为12、10 V。毛细管电离电压为3.0 kV,萃取电压为3 V,离子源温度为135℃,去溶剂气温度为480℃。

2.6 Western blotting 检测 TH、DAT、CREB、p-CREB、BDNF、Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达

取50 mg中脑组织,加入1 mL IP细胞裂解

液,利用组织研磨器充分裂解,4℃、13 000 r/min离心5 min,取上清。蛋白样品经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至PVDF膜,5%脱脂牛奶4℃封闭过夜,1×TBST洗涤5次后,分别加入一抗(1:1 000)孵育2 h,再次洗涤后,加入二抗(1:1 000)室温孵育1 h,洗涤后,ECL显影,以GAPDH为内参,采用Image-J软件分析蛋白条带数据。

2.7 统计学分析

采用SPSS 13.0软件,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 t 检验进行统计学分析。

3 结果

3.1 白芍总苷的化学成分分析

HPLC色谱图(图1-A)、LC-MS质谱图(图1-B)显示白芍总苷提取物中存在多个吸收峰,初步确认各化合物的保留时间。表1显示了各成分的质荷比(m/z)与理论值的比对结果,且二级碎片分析(MS/MS)进一步确认其分子结构,通过质谱裂解片段比对,确认各化合物的主要碎片离子与文献报道一致,负离子模式下鉴定出了11种化学成分,依次为牡丹酚原苷、牡丹酚苷、没食子酰基芍药苷、苯甲酸、芍药花苷、苯甲酰芍药苷、没食子酸甲酯、羟基芍药苷、白芍药苷、苯甲酰羟基芍药苷、芍药苷^[21-22]。

3.2 自发活动实验

如表2所示,与对照组比较,模型组小鼠的自发站起的次数显著降低($P<0.01$);与模型组比较,白芍总苷高剂量组小鼠自发站立次数显著升高($P<0.05$)。

3.3 滚轴实验

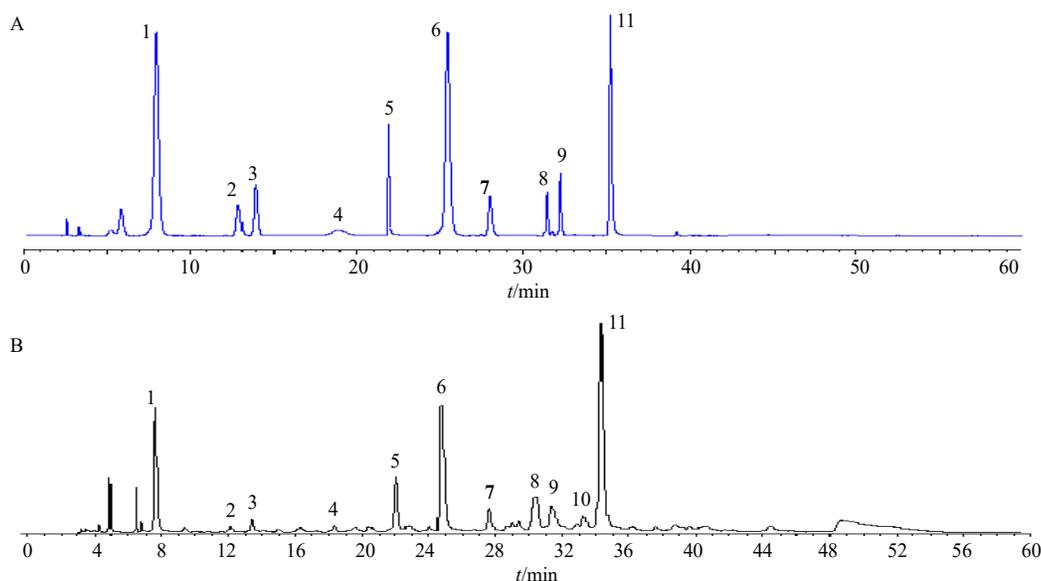
如表3所示,与对照组比较,模型组小鼠滚轴时间显著降低($P<0.01$);与模型组比较,白芍总苷各剂量组小鼠滚轴时间显著升高($P<0.01$)。

3.4 悬挂实验

如表4所示,与对照组比较,模型组小鼠悬挂时间显著缩短($P<0.01$);与模型组比较,白芍总苷高剂量组悬挂时间显著延长($P<0.05$)。

3.5 对帕金森病小鼠模型中脑黑质区 TH 阳性神经元的影响

如图2所示,与对照组比较,模型组小鼠的TH阳性神经元胞体和纤维稀疏,TH阳性神经元数量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠的TH阳性神经元数量显著增多($P<0.01$),细胞轮廓相对清晰,胞浆内棕色颗粒较为浓密。



1-牡丹酚原苷; 2-牡丹酚苷; 3-没食子酰基芍药苷; 4-苯甲酸; 5-芍药花苷; 6-苯甲酰芍药苷; 7-没食子酸甲酯; 8-羟基芍药苷; 9-白芍药苷; 10-苯甲酰羟基芍药苷; 11-芍药苷。

1-paeonol glycoside; 2-paeonol glucoside; 3-galloyl paeoniflorin; 4-benzoic acid; 5-paeonin; 6-benzoyl paeoniflorin; 7-methyl gallate; 8-hydroxypaeoniflorin; 9-white paeony glucoside; 10-benzoyl hydroxypaeoniflorin; 11-paeoniflorin.

图1 白芍总苷的 HPLC-DAD 图 (A) 及总离子流图 (B)

Fig. 1 HPLC chromatograms (A) and total ion current (B) of total glucosides of paeony

表1 白芍总苷的化学成分分析结果

Table 1 Results of chemical constituents analysis of total glucosides of paeony

序号	离子模式	化合物	分子式	t_R/min	理论值 (m/z)	实际值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片
1	负离子	牡丹酚原苷	$C_{20}H_{28}O_{12}$	7.98	460.429 0	460.429 1	0.22	369.102 1, 366.892 1, 355.213 6, 351.783 2
2	负离子	牡丹酚苷	$C_{15}H_{20}O_8$	12.80	328.315 4	328.316 2	2.44	329.124 5, 180.232 1, 169.127 8
3	负离子	没食子酰基芍药苷	$C_{30}H_{32}O_{15}$	14.20	632.566 1	632.567 4	2.06	509.102 1, 464.783 2, 313.120 1, 168.765 7
4	负离子	苯甲酸	$C_7H_6O_2$	12.20	122.121 4	122.123 5	1.72	91.012 5
5	负离子	芍药花苷	$C_{22}H_{23}O_{12}Cl$	22.10	514.862 3	514.852 4	0.19	479.123 5, 317.157 2, 289.176 2, 273.126 3
6	负离子	苯甲酰氧芍药苷	$C_{30}H_{32}O_{13}$	15.90	600.567 3	600.563 2	6.83	165.103 2, 136.874 3, 121.001 2
7	负离子	没食子酸甲酯	$C_8H_8O_5$	17.50	184.146 0	184.146 1	0.54	124.013 2, 110.795 4
8	负离子	羟基芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{12}$	13.40	496.461 0	496.462 3	2.62	465.213 0, 333.143 2, 164.876 2, 136.754 3
9	负离子	白芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	32.40	480.461 8	480.462 1	0.62	525.102 1, 356.896 3, 121.123 0
10	负离子	苯甲酰羟基芍药苷	$C_{30}H_{32}O_{12}$	20.50	584.574 3	584.576 9	4.45	431.132 8, 165.012 4, 120.873 2
11	负离子	芍药苷	$C_{23}H_{28}O_{11}$	35.40	480.163 1	480.163 2	0.21	381.134 5, 341.125 6, 219.134 7, 185.134 8

3.6 对小鼠中脑组织 MAO-B 含量的检测

如表 5 所示,与对照组比较,模型组 MAO-B 活性显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,白芍总苷各剂量组 MAO-B 活性显著降低 ($P < 0.05, 0.01$),结果表明,白芍总苷的神经保护作用是通过抑制 MAO-B 活性实现的。

3.7 小鼠纹状体内 DA 及其代谢产物含量的结果

如表 6 所示,与对照组比较,模型组中的 DA、DOPAC 和 HVA 的含量显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,白芍总苷高、中剂量组和美多芭组小鼠 DA 和 HVA 的含量显著增加 ($P < 0.05$)。

表2 对帕金森病小鼠自发站立次数的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect on number of spontaneous standing in Parkinson's disease mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	自发站立次数/次
对照	—	38.70 ± 19.30
模型	—	4.40 ± 1.76 ^{##}
美多芭	0.10	122.95 ± 46.37 ^{**}
白芍总苷	3.00	10.45 ± 6.98 [*]
	1.50	4.40 ± 4.56
	0.75	4.40 ± 2.08

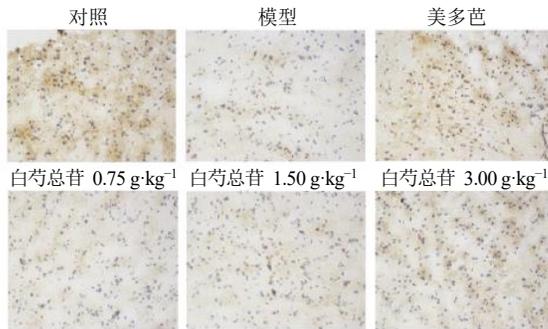
与对照组比较: [#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01; 下表同。

[#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01 vs control group; ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01 vs model group; same as below tables.

表3 对帕金森病小鼠滚轴时间的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect on roll time in Parkinson's disease mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	滚轴时间/s
对照	—	174.65 ± 1.11
模型	—	56.45 ± 27.82 ^{##}
美多芭	0.10	115.00 ± 39.86 ^{**}
白芍总苷	3.00	112.70 ± 38.74 ^{**}
	1.50	111.89 ± 44.82 ^{**}
	0.75	96.94 ± 34.03 ^{**}



与对照组比较: ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01; 与模型组比较: [#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01; 下图同。
^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01 vs control group; [#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01 vs model group; same as below figures.

图2 黑质纹状体 TH 免疫组化染色 (×400) (A) 及阳性神经元结果 (B) ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Substantia nigrostriatum TH immunohistochemical staining (×400) (A) and positive neuron results (B) ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表5 对帕金森病小鼠 MAO-B 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect on MAO-B activity in Parkinson's disease mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MAO-B/(U·mg ⁻¹)
对照	—	37.80 ± 2.60
模型	—	60.08 ± 2.86 ^{##}
美多芭	0.10	62.76 ± 2.09 ^{**}
白芍总苷	3.00	38.86 ± 1.68 ^{**}
	1.50	42.38 ± 2.02 ^{**}
	0.75	48.05 ± 2.40 [*]

表4 对帕金森病小鼠悬挂时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

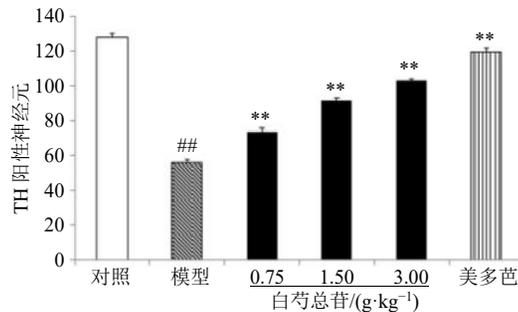
Table 4 Effect on suspension time in Parkinson's disease mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	悬挂时间/s
对照	—	93.10 ± 51.43
模型	—	39.05 ± 16.82 ^{##}
美多芭	0.10	49.55 ± 7.66
白芍总苷	3.00	60.06 ± 32.36 [*]
	1.50	51.83 ± 38.16
	0.75	42.45 ± 12.35

3.8 对 TH 和 DAT 的表达和 CREB/BDNF/Bcl-2 通路的影响

3.8.1 白芍总苷对小鼠中脑组织 TH 和 DAT 表达的影响 如图3所示,与对照组比较,模型组 TH 和 DAT 表达均显著降低 (*P*<0.05、0.01);与模型组比较,各给药组均能显著升高 DAT 及 TH 的表达水平 (*P*<0.05、0.01)。

3.8.2 白芍总苷对小鼠中脑组织 p-CREB、CREB、BDNF 表达的影响 如图4、5所示,与对照组比较,模型组 p-CREB/CREB 的值和 BDNF 的表达水平显著降低 (*P*<0.01);与模型组比较,白芍总苷中、高剂量组以及美多巴组 p-CREB/CREB 的



和 BDNF 的表达水平均显著升高 (*P*<0.01)。

3.8.3 对 PD 小鼠脑组织中 Bcl-2/Bax 及 cleaved Caspase-3 表达的影响 如图6所示,与对照组比较,模型组 Bcl-2/Bax 的值显著降低 (*P*<0.01),cleaved Caspase-3 的表达水平显著升高 (*P*<0.01);与模型组比较,白芍总苷中、高剂量组以及美多巴组 Bcl-2/Bax 的值显著升高 (*P*<0.05、0.01),cleaved Caspase-3 表达显著降低 (*P*<0.05、0.01)。

表 6 对帕金森病小鼠单胺递质及其代谢产物含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effects on contents of monoamine transmitter and its metabolites in Parkinson's disease mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	DA/(μg·g ⁻¹)	DOPAC/(μg·g ⁻¹)	HVA/(μg·g ⁻¹)
对照	—	11.53 ± 0.72	5.08 ± 0.43	4.28 ± 0.30
模型	—	4.49 ± 0.86 ^{##}	3.11 ± 0.38 ^{##}	2.34 ± 0.28 ^{##}
美多芭	0.10	9.74 ± 0.85 ^{**}	3.18 ± 0.32	4.22 ± 0.43 ^{**}
白芍总苷	3.00	9.25 ± 0.78 ^{**}	4.44 ± 0.38	4.18 ± 0.32 ^{**}
	1.50	7.51 ± 0.76 ^{**}	3.91 ± 0.15	3.28 ± 0.25 [*]
	0.75	6.81 ± 0.75 [*]	3.70 ± 0.37	2.79 ± 0.20

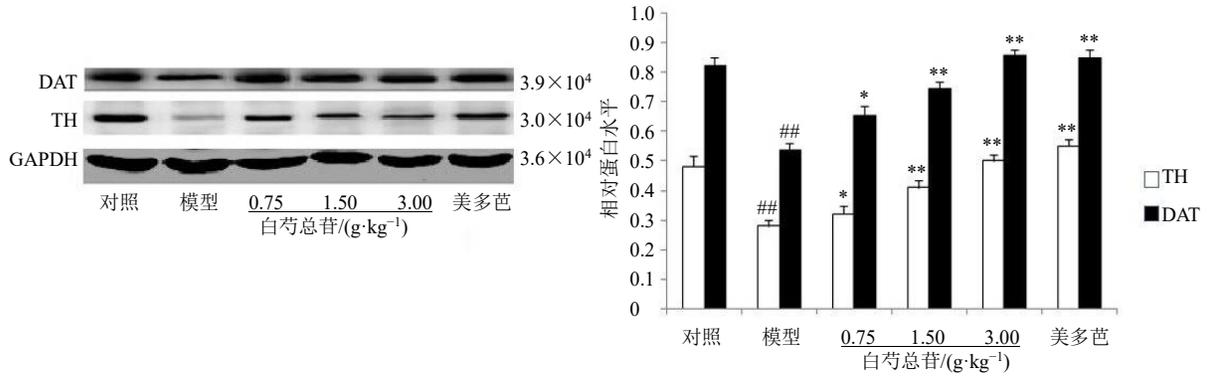


图 3 对帕金森病小鼠脑组织中 DAT 和 TH 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effects on DAT and TH protein expression in Parkinson's disease mice brain tissue ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

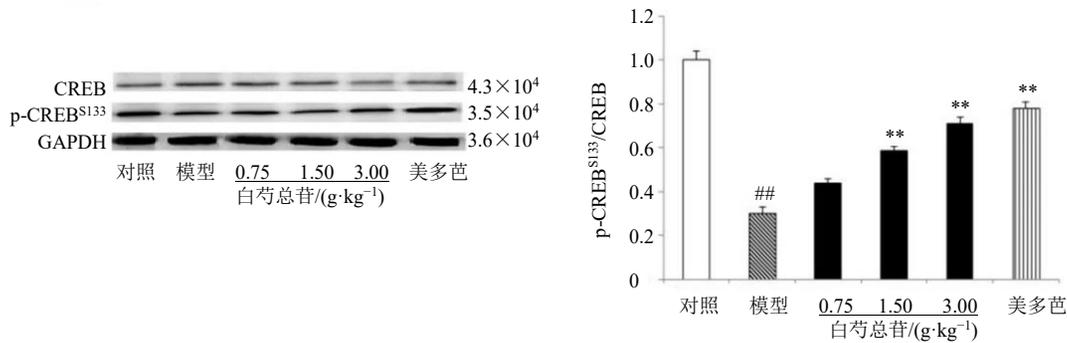


图 4 对帕金森病小鼠脑组织中 CREB 和 p-CREBS133 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effects on CREB and p-CREBS133 protein expression in Parkinson's disease mice brain tissue ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

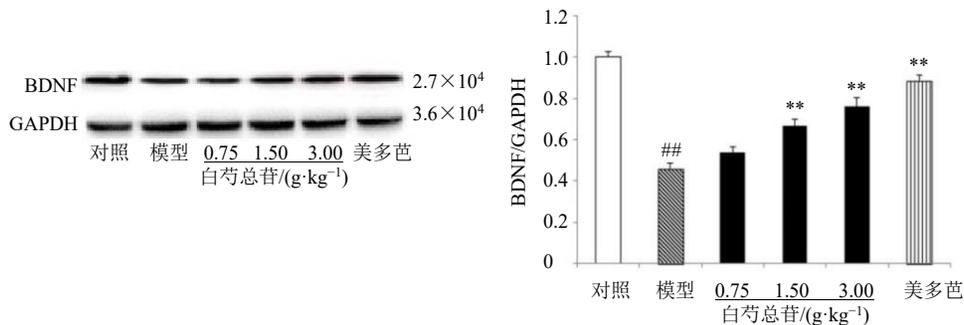


图 5 对帕金森病小鼠脑组织中 BDNF 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Effects on BDNF protein expression in Parkinson's disease mice brain tissue ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

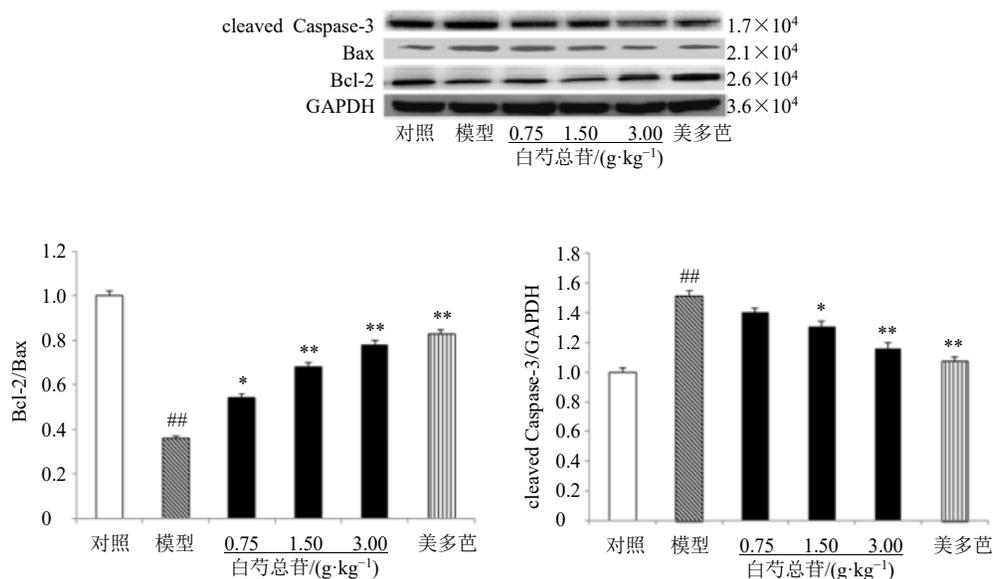


图 6 对帕金森病小鼠脑组织中 Bcl-2/Bax 及 cleaved Caspase-3 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 Effects on Bcl-2/Bax and cleaved Caspase-3 protein expression in Parkinson's disease mice brain tissue ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

MPTP 是一种哌替啶类似物，进入中枢神经系统后被神经胶质细胞中的 B 型单胺氧化酶转化为 1-甲基-4-苯基吡啶离子 (1-methyl-4-phenylpyridinium ion, MPP⁺)，选择性进入去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 和多巴胺 (dopamine, DA) 神经元^[23]，导致线粒体凋亡、氧化应激和炎症等反应，最终引起黑质致密部和纹状体中的 DA 黑纹状体细胞死亡。基于此，MPTP 常被用作帕金森病模型诱导剂，本研究通过 ip MPTP 成功构建了表现出帕金森病症状的小鼠模型^[24-27]。帕金森病临床表现通常体现在运动减少、静止性肌肉震颤、肌张力增高和姿势平衡障碍方面。自发活动试验、滚轴试验和悬挂实验是用于评价帕金森病模型小鼠运动功能最常用的方法，能客观的评估小鼠的运动协调和平衡能力。白芍提取物能显著缩短爬杆时间差值并提高附着能力分值，提示白芍提取物能够提高肢体运动协调能力，对帕金森病动物模型具有显著的保护作用。

帕金森病的发病机制尚不完全明确。MAO-B 是位于线粒体外膜的黄素蛋白酶，在调节多巴胺代谢中起重要作用，且其水平随年龄增加而升高，帕金森病患者的 MAO-B 水平显著高于正常人^[24-27]。病理状态下，过度活跃的 MAO-B 在分解多巴胺时产生自由基和过氧化氢，诱导神经细胞凋亡。研究

表明，MPTP 可损伤黑质区域并显著降低纹状体多巴胺含量^[28-29]。通过铁催化的芬顿 (Fenton) 反应，代谢过程中产生的过氧化氢进一步生成羟基自由基，加剧细胞损伤^[30]。MAO-B 抑制剂 (如 deprenyl 和 rasagiline) 通过减少自由基生成和诱导生存基因表达，对神经元具有保护作用^[31]。MAO-B 抑制剂促进 α -突触核蛋白的分泌并减少其在细胞内的聚集，从而延缓多巴胺能神经元的丧失，这表明 TGP 可能通过调节 α -突触核蛋白的动态来保护神经元^[32]。Liu 等^[33]综述详细讨论了 MAO 的结构、功能及其在神经退行性疾病中的作用。MAO-B 通过氧化多巴胺等单胺类神经递质，产生过氧化氢，导致氧化应激，进而损伤神经元。抑制 MAO-B 的活性可以减少氧化应激，保护多巴胺能神经元，延缓帕金森病的进程。Chaurasiya 等^[34]综述汇总了多种天然产物作为 MAO 抑制剂的研究进展。其中，某些天然产物通过抑制 MAO-B 活性，减少多巴胺降解，降低氧化应激，展现出神经保护作用。这些发现为开发新的帕金森病治疗药物提供了潜在的方向。本研究发现，白芍总苷显著改善了帕金森病模型小鼠的运动能力，具体表现为提高自发活动频率和滚轴停留时间。同时白芍总苷可能通过抑制 MAO-B 活性、减少自由基生成，从而保护多巴胺能神经元^[35]。

DAT 是位于多巴胺能神经元突触前细胞体和轴突中的关键转运蛋白，负责调节胞内外多巴胺的

浓度,从而维持多巴胺稳态。在病理状态下, DAT 的数量和功能受损是帕金森病早期的重要特征,常用于帕金森病的早期诊断。TH 是多巴胺合成的限速酶,其水平在帕金森病患者黑质中随着多巴胺能神经元的丧失逐渐下降。研究表明,阻断多巴胺递质的转运可以有效抑制多巴胺神经传递^[35]。2000年《Neurology》报道^[36],当多巴胺能神经元数量减少50%时, DAT 的含量即开始下降,此时也会出现典型的帕金森病临床症状。研究显示,过激活过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha, PGC-1 α)/核因子-E2相关因子-2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)信号通路能够增强线粒体功能,减少氧化应激,从而对多巴胺能神经元产生保护作用,这为 TGP 的神经保护作用提供了实验支持^[37]。此外,某些 MAO-B 抑制剂在帕金森病模型中被发现能够增加神经营养因子,例如,胶质细胞系来源的神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)和 BDNF 的表达,从而进一步影响 DAT 和 TH 的水平,为 TGP 的多巴胺保护效果提供了潜在的分子机制^[38]。本研究结果表明,白芍总苷通过显著提高帕金森病模型中 DAT 和 TH 的表达水平,有助于维持多巴胺稳态。这种作用在传统药物及部分中药成分中尚未被广泛报道,展现了其独特性。此外,与传统 MAO-B 抑制剂相比,白芍总苷通过多层次调控机制,包括抑制氧化应激、保护线粒体功能和缓解神经炎症,展现了更全面的神经保护作用,进一步验证了其多巴胺能神经元的保护效果。

BDNF 是中枢神经系统中的关键神经营养因子,通过与原肌球蛋白受体激酶 B(Tropomyosin receptor kinase B, TrkB)受体结合,激活 PI3K/Akt 和 MAPK/ERK 信号通路,促进神经元存活,然而,在帕金森病等病理状态下, BDNF 的表达减少会导致神经元损伤^[39]。CREB 是一种转录因子,参与神经元存活和突触可塑性,其磷酸化状态能够激活相关基因表达,但在病理状态下, CREB 功能受损会影响记忆和学习^[40-41]。Bcl-2 是一种抗凋亡蛋白,通过抑制 Bax 等促凋亡蛋白维持线粒体的完整性;而 Bax 在病理状态下被过度激活会加速神经元凋亡。Caspase-3 作为凋亡的执行蛋白,其过度激活是神经退行性疾病中神经元损伤的重要机制^[42]。研究表明, BDNF 能够通过激活下游信号通路增强 Bcl-2

表达,同时抑制 Bax 和 Caspase-3 的活性,从而保护线粒体免受凋亡信号的损害^[43-44]。本研究进一步研究了白芍总苷在 MPTP 诱导的小鼠模型中的神经保护机制。结果显示,白芍总苷通过多条信号通路的协同作用实现神经保护,包括激活 CREB/BDNF 和 Bcl-2/Bax 通路。推测其通过上调 Bcl-2 表达,抑制 Bax 活性及其诱导的线粒体外膜通透性变化,减少细胞色素 c 释放,从而抑制 Caspase-9 和 Caspase-3 的级联激活^[43-46]。此外, BDNF 通过下游 PI3K/Akt 信号激活 CREB,进一步促进 Bcl-2 基因转录。

综上,白芍总苷能够同时提高 DAT 和 TH 蛋白表达、p-CREB/CREB 比值以及 BDNF 水平,显著调节 CREB/BDNF 与 Bcl-2/Bax 信号通路之间的相互作用。在高剂量干预下,其效果接近于美多芭,且安全性更高,避免了传统 MAO-B 抑制剂可能引发的不良反应。白芍总苷通过协同激活 CREB/BDNF 和 Bcl-2/Bax 通路,展现了其在神经保护中的潜力,尤其是在预防帕金森病相关神经元退化和凋亡方面。本研究为白芍总苷的抗帕金森病机制提供了理论支持,也为开发基于白芍的天然抗帕金森病药物奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张森,赵晓悦,梁宇,等.帕金森病致病因素及发病机制研究进展[J].药学学报,2020,55(10):2264-2272.
- [2] 和璐璐,樊慧杰,李艳荣,等.线粒体功能障碍与帕金森病[J].中国实用神经疾病杂志,2023,26(10):1305-1310.
- [3] 金彝.中医治疗帕金森病的现状与展望[J].中西医结合心血管病电子杂志,2016,4(36):162.
- [4] Zheng M Z, Liu C M, Fan Y J, et al. Neuroprotection by Paeoniflorin in the MPTP mouse model of Parkinson's disease[J]. *Neuropharmacology*, 2017, 116: 412-420.
- [5] 刘瑶,李雨,王豆,等.中药白芍治疗帕金森病药理机制研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2023,25(7):197-201.
- [6] 赵彩燕.帕病1号方治疗早期帕金森病的临床研究及作用机制探讨[D].广州:广州中医药大学,2013.
- [7] 王文鑫.中药白芍在帕金森领域的应用及临床研究进展[J].医学食疗与健康,2021,19(15):226-227.
- [8] 闫观茹.白芍总苷胶囊对帕金森患者治疗疗效[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(28):155-156.
- [9] 吕仕超,王云姣,张婉勤,等.白芍总苷的心血管保护效应及其作用机制的研究进展[J].现代药物与临床,2022,37(1):207-210.

- [10] 游佳华, 娄艳芳, 张桂睿, 等. 中药白芍在帕金森领域的应用及临床研究进展 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2016, 3(16): 3331.
- [11] Liu H Q, Zhang W Y, Luo X T, *et al.* Paeoniflorin attenuates neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease by activation of adenosine A1 receptor [J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 148(3): 314-325.
- [12] Nakano N, Matsuda S, Ichimura M, *et al.* PI3K/AKT signaling mediated by G protein-coupled receptors is involved in neurodegenerative Parkinson's disease (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(2): 253-260.
- [13] Guo K D, Zhang Y B, Li L B, *et al.* Neuroprotective effect of paeoniflorin in the mouse model of Parkinson's disease through α -synuclein/protein kinase C δ subtype signaling pathway [J]. *Neuroreport*, 2021, 32(17): 1379-1387.
- [14] He Z Q, Huan P F, Wang L, *et al.* Paeoniflorin ameliorates cognitive impairment in Parkinson's disease via JNK/p53 signaling [J]. *Metab Brain Dis*, 2022, 37(4): 1057-1070.
- [15] 张军, 李倩君, 孙红梅, 等. 银杏平颤方及其拆方对PD小鼠行为学形态学的影响 [J]. 中华中医药, 2008 (11): 2348-2351.
- [16] 李雪莉, 孙圣刚. 葛根素对帕金森病保护作用的实验研究 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2002, 1: 7-9.
- [17] 郑梅竹, 范亚军, 张语迟, 等. 钩藤提取物对MPTP致帕金森病小鼠的保护作用及机制的研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1035-1037.
- [18] 夏阿龙, 杨文明, 朱四欢, 等. 基于黑质炎症小体NLRP3信号通路探讨芍地帕宁方调控帕金森病小鼠疼痛的机制 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(21): 5275-5280.
- [19] 吕一霖, 关晶心, 时子乔, 等. 银杏叶提取物对帕金森小鼠海马神经元树突棘的保护作用 [J]. 中国卫生标准管理, 2024, 15(18): 151-155.
- [20] 贾苗, 吕一霖, 关晶心, 等. 帕金森病模型小鼠皮质神经元树突棘变化观察 [J]. 中国当代医药, 2024, 31(22): 13-17.
- [21] 任浚其, 刘春明, 王乐奇, 等. 白芍化学成分的高效液相色谱-电喷雾质谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(10): 1727-1731.
- [22] 任浚其. 白芍和山竹果有效成分的活性筛选及分离提取研究 [D]. 长春: 长春师范大学, 2015.
- [23] 张思敏, 包畅, 李健楠, 等. 中脑腹侧被盖区多巴胺能神经元调控觉醒机制研究进展 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2022, 43(7): 766-770.
- [24] Sundström E, Fredriksson A, Archer T. Chronic neurochemical and behavioral changes in MPTP-lesioned C57BL/6 mice: A model for Parkinson's disease [J]. *Brain Res*, 1990, 528(2): 181-188.
- [25] Ogawa N, Hirose Y, Ohara S, *et al.* A simple quantitative bradykinesia test in MPTP-treated mice [J]. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1985, 50(3): 435-441.
- [26] Zhu D X, Zhang S Y, Wang X Y, *et al.* Secretory clusterin inhibits dopamine neuron apoptosis in MPTP mice by preserving autophagy activity [J]. *Neuroscience*, 2024, 540: 38-47.
- [27] 黄天衍, 苑仁祎坤, 何佳, 等. 白头翁皂苷组合物对帕金森病和阿尔茨海默病模型小鼠的改善作用 [J]. 药物评价研究, 2024, 47 (7): 1433-1443.
- [28] Naoi M, Maruyama W, Inaba-Hasegawa K. Type A and B monoamine oxidase in age-related neurodegenerative disorders: Their distinct roles in neuronal death and survival [J]. *Curr Top Med Chem*, 2012, 12(20): 2177-2188.
- [29] Naoi M, Maruyama W. Functional mechanism of neuroprotection by inhibitors of type B monoamine oxidase in Parkinson's disease [J]. *Expert Rev Neurother*, 2009, 9(8): 1233-1250.
- [30] Tümer N, Bowman C J, LaRochelle J S, *et al.* Induction of tyrosine hydroxylase by forskolin: Modulation with age [J]. *Eur J Pharmacol*, 1997, 324(1): 57-62.
- [31] Gao X, Zhang B Y, Zheng Y T, *et al.* Neuroprotective effect of chlorogenic acid on Parkinson's disease like symptoms through boosting the autophagy in zebrafish [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 956: 175950.
- [32] Wang Z Y, Cui J S, Li D N, *et al.* Morin exhibits a neuroprotective effect in MPTP-induced Parkinson's disease model via TFEB/AMPK-mediated mitophagy [J]. *Phytomedicine*, 2023, 116: 154866.
- [33] Liu L L, Han Y, Zhang Z J, *et al.* Loss of DJ-1 function contributes to Parkinson's disease pathogenesis in mice via RACK1-mediated PKC activation and MAO-B upregulation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(10): 1948-1961.
- [34] Chaurasiya N D, Leon F, Muhammad I, *et al.* Natural products inhibitors of monoamine oxidases-potential new drug leads for neuroprotection, neurological disorders, and neuroblastoma [J]. *Molecules*, 2022, 27(13): 4297.
- [35] Li Y, Wang X P, Meng Y F, *et al.* Dopamine reuptake and inhibitory mechanisms in human dopamine transporter [J]. *Nature*, 2024, 632(8025): 686-694.
- [36] Kang S S, Ahn E H, Zhang Z T, *et al.* α -Synuclein stimulation of monoamine oxidase-B and legumain protease mediates the pathology of Parkinson's disease [J]. *EMBO J*, 2018, 37(12): e98878.
- [37] Salatino-Oliveira A, Rohde L A, Hutz M H. The dopamine transporter role in psychiatric phenotypes [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2018, 177(2): 211-231.

- [38] Ma C C, An P P, Yan Y L, *et al.* GDNF improves the cognitive ability of PD mice by promoting glycosylation and membrane distribution of DAT [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 17845.
- [39] Park J S, Choe K, Lee H J, *et al.* Neuroprotective effects of osmotin in Parkinson's disease-associated pathology via the AdipoR1/MAPK/AMPK/mTOR signaling pathways [J]. *J Biomed Sci*, 2023, 30(1): 66.
- [40] Schumacher J M, Ellias S A, Palmer E P, *et al.* Transplantation of embryonic porcine mesencephalic tissue in patients with PD [J]. *Neurology*, 2000, 54(5): 1042-1050.
- [41] Shen T, You Y Y, Joseph C, *et al.* BDNF polymorphism: A review of its diagnostic and clinical relevance in neurodegenerative disorders [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(3): 523-536.
- [42] Santoni G, Astori S, Leleu M, *et al.* Chromatin plasticity predetermines neuronal eligibility for memory trace formation [J]. *Science*, 2024, 385(6707): eadg9982.
- [43] Wang H, Peng R Y. Basic roles of key molecules connected with NMDAR signaling pathway on regulating learning and memory and synaptic plasticity [J]. *Mil Med Res*, 2016, 3(1): 26.
- [44] Schroer J, Warm D, De Rosa F, *et al.* Activity-dependent regulation of the BAX/BCL-2 pathway protects cortical neurons from apoptotic death during early development [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(6): 175.
- [45] Zuo D Y, Lin L, Liu Y M, *et al.* Baicalin attenuates ketamine-induced neurotoxicity in the developing rats: Involvement of PI3K/Akt and CREB/BDNF/bcl-2 pathways [J]. *Neurotox Res*, 2016, 30(2): 159-172.
- [46] Helli B, Navabi S P, Hosseini S A, *et al.* The protective effects of syringic acid on bisphenol A-induced neurotoxicity possibly through AMPK/PGC-1 α /Fndc5 and CREB/BDNF signaling pathways [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(10): 7767-7784.

[责任编辑 罗 曦]