DOI:10.20135/j.issn.1006-8147.2025.04.0343

论著

茴香烯缓解缺血-再灌注引起神经元线粒体功能损伤的研究

谷树珍,潘浩圃,张晓红
(郑州大学附属洛阳中心医院神经功能科,洛阳 471000)

摘要 **目的**:评估茴香烯缓解缺血-再灌注引起的神经元线粒体功能损伤及分子机制。**方法**:通过氧葡萄糖缺乏/再氧合(OGD/R)处理PC12细胞,构建OGD/R模型。将细胞分为对照组、OGD/R组、OGD/R和茴香烯处理组。采用MTT法和乳酸脱氢酶(LDH)活性测定法检测茴香烯对OGD/R诱导的PC12细胞生存率的影响。利用流式细胞术分析OGD/R模型中的细胞凋亡情况。通过JC-1染色、检测活性氧簇(ROS)水平和ATP水平评估线粒体功能。此外,采用免疫印迹法研究茴香烯对细胞外信号调节激酶(ERK)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路的影响。**结果**:与对照组相比,OGD/R组细胞活力显著降低,而OGD/R和茴香烯处理组细胞活力增加(F=10.11, P<0.01)。与对照组相比,OGD/R组LDH活性增加,与OGD/R组相比,OGD/R和茴香烯处理组LDH组活性降低(F=11.38, P<0.001)。与对照组相比,OGD/R组细胞凋亡率增加,与OGD/R组相比,OGD/R和茴香烯处理组细胞凋亡率降低(F=5.98, P<0.001)。与对照组相比,OGD/R组线粒体功能受损。与OGD/R组相比,OGD/R和茴香烯处理组线粒体功能改善。与对照组相比,OGD/R组ROS过度生成,ATP水平下降(F=11.82, P<0.001),与OGD/R组相比,而OGD/R和茴香烯处理组ROS水平增加,ATP升高(F=17.55, P<0.01)。与对照组相比,OGD/R组p-ERK1/2和p-p38MAPK升高,与OGD/R组相比,OGD/R和茴香烯处理组p-ERK1/2和p-p38MAPK降低(p-ERK1/2:F=9.48,P<0.001;p-p38MAPK:F=7.49,P<0.001)。**结论**:茴香烯通过抑制ERK/MAPK通路缓解缺血-再灌注引起的神经元线粒体功能损伤。

关键词 脑缺血-再灌注;茴香烯;氧葡萄糖缺乏/再氧合;线粒体功能;细胞外信号调节激酶/丝裂原活化蛋白激酶通路
中图分类号 R745.1 **文献标志码** A **文章编号** 1006-8147(2025)04-0343-06

Fenchone relieves mitochondrial functions damage induced by ischemia and reperfusion in neuronal via inactivation of the ERK/MAPK pathway

GU Shuzhen, PAN Haopu, ZHANG Xiaohong
(Department of Neurological Function, Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Luoyang 471000, China)

Abstract **Objective**: To evaluate the effects of Fenchone relieves mitochondrial functions damage induced by ischemia and reperfusion in neuronal and investigate the mechanism. **Methods**: Oxygen glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R) was used to induce an OGD/R model in PC12 cells. PC12 cells were divided into control, OGD/R and OGD/R+Fenchone groups. MTT assay and lactate dehydrogenase (LDH) activity assay were performed to detect the effect of fenchone on the survival rate of OGD/R-induced PC12 cells. Flow cytometry was used to analyze cell apoptosis in the OGD/R model. JC-1 staining, reactive oxygen species (ROS) levels, and ATP levels were measured to assess mitochondrial function. Additionally, immunoblotting was used to investigate the effects of fenchone on the extracellular regulated kinase (ERK)/mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway. **Results**: Compared with the control group, cell viability in the OGD/R group increased,compared with the OGD/R group, the cell viability in the OGD/R +Fenchone group decreased (F=10.11, P<0.001).Compared with the control group, the LDH activityin the OGD/R group increased,compared with the OGD/R group, the LDH activity in the OGD/R and +Fenchone group decreased (F=11.38, P<0.001). Compared with the control group, the apoptosis rate in the OGD/R group increased, compared with the OGD/R group, the apoptosis rates in the OGD/R +Fenchone t group decreased(F=5.98, P<0.001). Compared with the control group, the mitochondrial function in the OGD/R group was impaired,compared with the OGD/R group, the mitochondrial function of the OGD/R +Fenchone group improved. Compared with the control group, ROS was overproduced and ATP levels decreased in the OGD/R group (F=11.82, P<0.001). Compared with the OGD/R group, ROS levels increased and ATP increased in the OGD/R+Fenchone group (F=17.55, P<0.01). Compared with the control group, p-ERK1/2 and p-p38MAPK in the OGD/R group increased, compared with the OGD/R group, p-ERK1/2 and p-p38MAPK in the OGD/R+Fenchone group decreased(p-ERK1/2: F=9.48, P<0.001; p-p38MAPK:F=7.49,P<0.001). **Conclusion**: Fenchone relieves mitochondrial functions damage induced by ischemia and reperfusion in neuronal via inactivation of the ERK/MAPK pathway.

Key words cerebral ischemia-reperfusion; Fenchone; oxygen glucose deprivation/reoxygenation; mitochondrial function; ERK/MAPK pathway

作者简介 谷树珍(1983-),女,主治医师,硕士,研究方向:神经内科疾病的诊疗;E-mail:gsz128@163.com。

大脑血液供应中断,尤其是葡萄糖和氧气的供应不足,可引发多种病理状况[1]。恢复血液循环后,部分大脑可恢复血供[2]。然而,在恢复过程中,脑组织往往会遭受进一步的损伤,这一现象被称为脑缺血-再灌注损伤[3]。血液供应的不足可导致神经元的损伤或死亡,进而破坏血脑屏障并加剧脑组织的损害[2]。氧葡萄糖缺乏(OGD)与随后的再氧合(R)所引起的神经细胞损伤,已被广泛应用于脑缺血-再灌注机制的研究中,并作为典型的细胞模型[4]。线粒体拥有一套质量控制系统,能够通过多种机制维持其功能,并根据外部压力作出选择性反应[5]。研究表明,活性氧簇(ROS)过量积累能够破坏线粒体的功能,激活一系列信号转导途径,导致神经元钙稳态的紊乱,最终引发神经元凋亡[2]。因此,减少 ROS 积聚并恢复线粒体的正常功能,对于避免神经元细胞的凋亡具有重要意义。

茴香烯是从茴香中提取的单萜类化合物,因其具有多种药理活性而受到广泛关注[6]。研究表明,茴香烯具有抗氧化、抗炎、镇痛等作用,尤其在神经保护方面展现潜力[6-7]。在神经退行性疾病和脑血管疾病中,茴香烯展现了减轻氧化应激和炎症、缓解神经元损伤的潜力[8-9]。在阿尔茨海默病(AD)的动物模型中,已证明茴香烯可以保护脑组织,减少氧化损伤并抑制炎症[10-11]。此外,茴香烯还能够调节炎症因子的表达,从而抑制神经元的凋亡,发挥神经保护作用[11]。相关研究表明,茴香烯的这些效应可能与其抗氧化、抗炎作用密切相关,这使其在神经系统疾病的治疗中具有一定的应用前景。

在本研究中,对 PC12 细胞进行 OGD/R 处理,建立脑缺血-再灌注的细胞模型,观察茴香烯在缺血-再灌注中的作用并分析其机制。

1 材料与方法

1.1 *材料和仪器* PC12 细胞购自美国 ATCC 公司;多功能酶标仪购自美国 Tecan 公司;茴香烯购自美国 Sigma 公司;DMEM 培养基、无葡萄糖 DMEM、Hank's 平衡盐溶液(HBSS)购自美国 Gibco 公司;3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物(MTT)试剂、乳酸脱氢酶(LDH)细胞毒性检测试剂盒购自中国北京碧云天公司;JC-1 染色试剂购自中国上海叶森生物公司;ROS 检测试剂盒(ab139476)购自英国 Abcam 公司;ATP 检测试剂盒购自中国北京碧云天公司;细胞凋亡检测试剂盒(含 Annexin V/PI)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;磷酸化细胞外信号调节激酶(p-ERK)1/2、细胞外信号调节激酶(ERK)1/2、磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38MAPK)、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)及 β-actin 抗体购自英国 Abcam 公司;HRP 标记二抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司;RIPA 裂解液购自美国 Thermo Fisher 公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自中国北京碧云天公司;流式细胞仪购自美国 BD Biosciences 公司; 共聚焦激光扫描显微镜购自德国蔡司公司;低氧培养箱(三气培养箱)购自美国 Thermo Scientific 公司;电泳仪、转膜装置购自美国 Bio-Rad 公司;化学发光成像系统购自美国 GE Healthcare 公司; 离心机购自德国 Eppendorf 公司;96 孔板、6 孔板、细胞培养皿购自美国 Corning 公司;PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;SDS-PAGE 凝胶预制胶购自中国上海雅酶生物公司。

1.2 *方法*

1.2.1 OGD/R 模型构建 在 PC12 细胞中建立OGD/R 模型。首先,使用 HBSS 洗涤 PC12 细胞,然后将细胞培养在无葡萄糖的 DMEM 中, 置于气体组成为 94% N2、5% CO_2、1% O_2 的低氧环境中,37℃下处理以实现氧气和葡萄糖的缺乏。在再灌注过程中,去除无葡萄糖的培养基,添加完全 DMEM,并在常氧条件下(75% N_2、5% CO_2、20% O_2)培养 24 h。对照组细胞未进行 OGD/R 处理。细胞分为对照组、OGD/R 处理组、OGD/R 联合茴香烯处理组。茴香烯(溶解于 DMSO 中)在 OGD 开始时加入,浓度分别为 0、10、20、40 和 80 μmol/L,并在整个缺氧期间维持该浓度。

1.2.2 细胞活性检测 细胞以 3×10^3 个细胞/孔的密度接种到 96 孔板中。处理后,向每个孔加入 MTT 溶液以检测细胞活性。洗涤 PBS 后,加入 MTT 并继续培养 4 h。然后使用酶标仪在 490 nm 处测定吸光度值。处理组的吸光度值与对照组的吸光度值进行归一化。

1.2.3 LDH 检测 LDH 活性检测采用 LDH 细胞毒性检测试剂盒进行, 实验时收集 OGD/R 处理后的细胞培养上清液,经 1 000×*g* 离心 5 min 后取上清,按照试剂盒说明书与反应液等体积混合,避光孵育 30 min, 最后使用酶标仪在 490 nm 波长处测定吸光度值,通过标准曲线计算 LDH 活性,以评估细胞损伤程度。

1.2.4 细胞凋亡检测 细胞凋亡检测采用 Annexin V-FITC/PI 双染法,实验时收集各组细胞,经胰酶消化后 PBS 洗涤两次,重悬于 1×结合缓冲液(含 10 mmol/L HEPES/NaOH,140 mmol/L NaCl,2.5 mmol/L $CaCl_2$,pH 7.4), 分别加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL

PI 染液（20 μg/mL），室温避光孵育 15 min 后立即上机检测，使用流式细胞仪分析 10 000 个细胞，通过 FlowJo 10.0 软件统计凋亡率（Annexin V+/PI-为早期凋亡细胞，Annexin V+/PI+为晚期凋亡细胞），每组实验重复 3 次以确保数据可靠性。

1.2.5　线粒体膜电位（MMP）评估　MMP 检测采用 JC-1 荧光探针法，实验时将各组细胞接种于共聚焦培养皿中，待细胞贴壁后加入终浓度为 5 μg/mL 的 JC-1 染液，37℃避光孵育 30 min，PBS 洗涤 3 次去除游离染料，立即使用共聚焦激光扫描显微镜观察并采集图像，其中绿色荧光（激发/发射波长：485/530 nm）代表 JC-1 单体，反映线粒体膜电位下降，红色荧光（激发/发射波长：540/590 nm）代表 JC-1 聚集体，反映正常线粒体膜电位，采用 Image J 1.52a 软件分析红绿荧光比值，每组随机选取 5 个视野进行定量分析，实验独立重复 3 次。

1.2.6　ROS 水平测定　使用 ROS 检测试剂盒测定 ROS 水平。将细胞处理与 ROS 检测混合液，加入实验药物或 ROS 诱导剂（吡咯氰菌素）在适当的浓度下孵育 30 min 后，移除混合液，细胞用洗涤缓冲液清洗两次。使用滤光片（Ex/Em = 490/525 nm）进行氧化应激的检测。

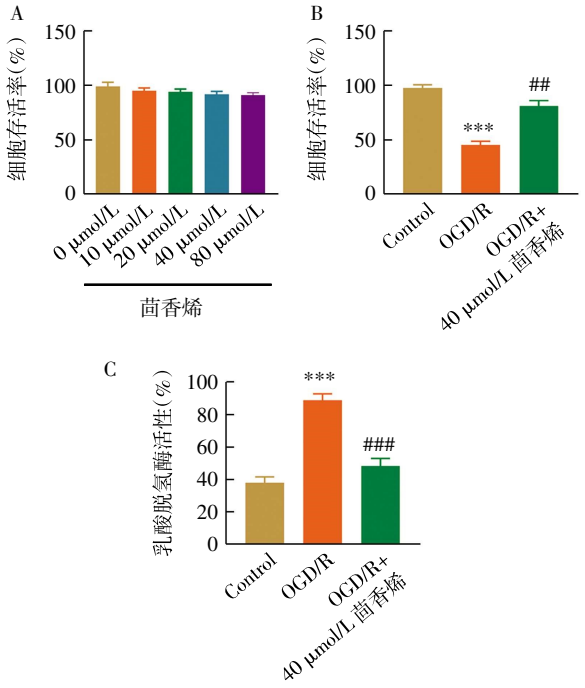
1.2.7　ATP 水平测定　ATP 水平使用基于荧光素酶的 ATP 检测试剂盒进行检测，按生产商的协议进行操作。细胞裂解后，离心去除细胞 debris（12 000×*g*，5 min）。收集上清液并加入 ATP 检测溶液。使用自动微孔板发光仪测量发光强度，通过已知浓度的 ATP 标准曲线计算 ATP 水平。

1.2.8　免疫印迹分析　细胞用 RIPA 裂解液收集。离心后，使用 BCA蛋白浓度测定试剂盒（测定蛋白浓度。然后，将蛋白分离并通过 10% SDS-PAGE 凝胶电泳，转移至聚偏二氟乙烯（PVDF）膜上。膜在含 5% BSA 的 Tris 缓冲液中封闭 1 h 后，分别用 p-ERK1/2（1∶1 000）、ERK1/2（1∶1 000）、p-p38（1∶1 000）、p38（1∶1 000）、以及兔抗 β-actin（1∶10 000）抗体孵育过夜。用 HRP标记的二抗（1∶1 000）孵育 2 h，使用 TBST 洗涤 15 min。信号通过 ECL 检测试剂盒显影。

1.3　统计学处理　使用 GraphPad Prism5.0 版软件进行统计分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用单因素方差分析（*ANOVA*）检验评价组间差异。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　茴香烯减轻 OGD/R 诱导的 PC12 细胞活性损伤　CCK-8 实验表明，与对照组相比，不同浓度茴香烯对 PC12 细胞没有显著的损伤（$P>0.05$，图 1A），以下实验采用 40 μmol/L 茴香烯处理。与对照组相比，OGD/R 组细胞活力显著降低，而 40 μmol/L 茴香烯 OGD/R 和茴香烯处理组细胞活力增加（$F=10.11$，$P<0.01$，图 1B）。与对照组相比，OGD/R 组 LDH 活性增加，与 OGD/R 组相比，OGD/R 和茴香烯处理组 LDH 组活性降低（$F=11.38$，$P<0.001$，图 1C）。



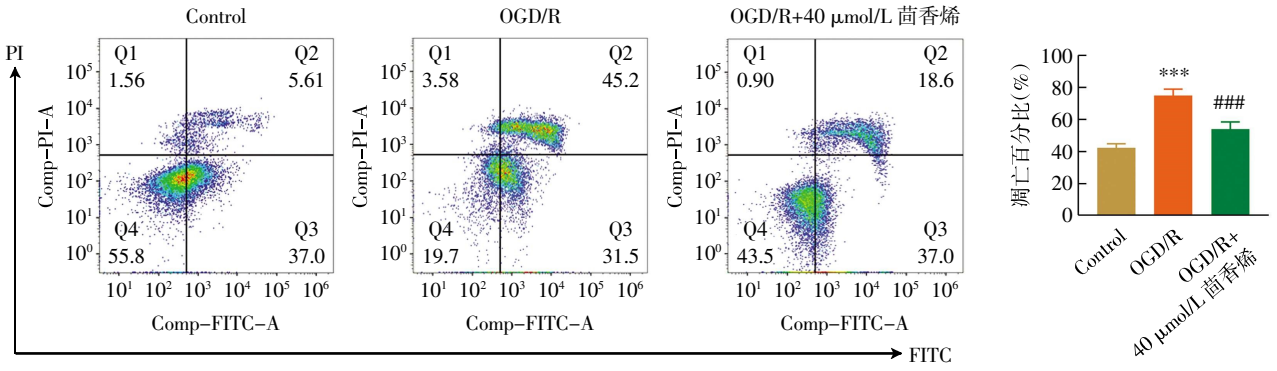
注：A：通过 CCK-8 法检测茴香烯对 PC12 细胞在 OGD/R 处理下的影响；B：OGD/R 处理及茴香烯处理对细胞存活率的影响；C：通过 LDH 实验检测 PC12 细胞在 OGD/R 处理下的 LDH 释放水平；与对照组相比，***$P<0.001$；与 OGD/R 组相比，##$P<0.01$，###$P<0.001$；CCK-8：细胞计数试剂盒-8；OGD/R：氧葡萄糖缺乏/再氧合；LDH：乳酸脱氢酶

图 1　茴香烯提高 OGD/R 诱导的 PC12 细胞活力

Fig.1　Fenchone promotes OGD/ R-induced cell viability in PC12 cells

2.2　茴香烯抑制 OGD/R 诱导的细胞凋亡　与对照组相比，OGD/R 组细胞凋亡率，与 OGD/R 组相比，OGD/R 和茴香烯处理组细胞凋亡降低（$F=5.98$，$P<0.001$，图 2）。

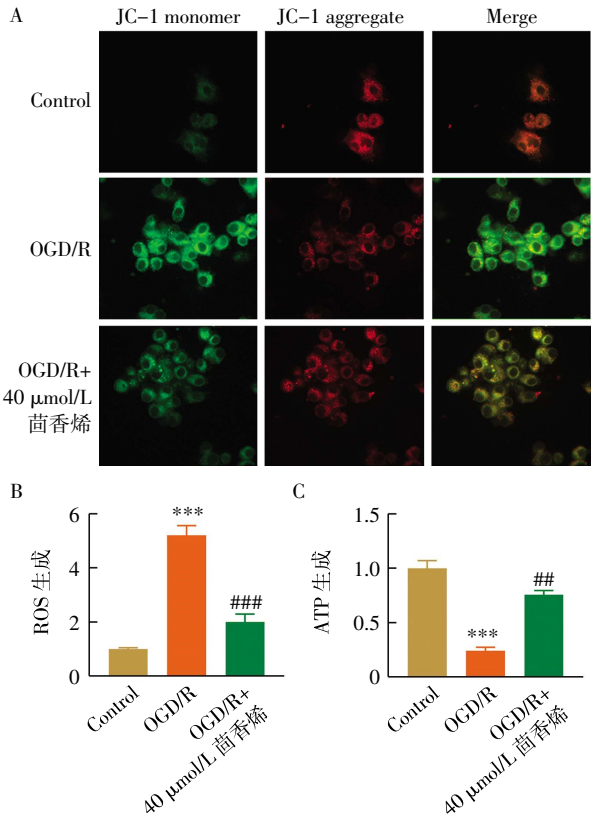
2.3　茴香烯恢复 OGD/R 诱导的细胞线粒体功能　与对照组相比，OGD/R 组线粒体功能受损。与 OGD/R 组相比，OGD/R 和茴香烯处理组线粒体功能改善（图 3A）。如图 3B、3C 所示，与对照组相比，OGD/R组 ROS 过度生成，ATP 水平下降，与 OGD/R 组相比，OGD/R 和茴香烯处理组 ROS 水平增加，ATP 升高（$F=11.82$，$P<0.001$；$F=17.55$，$P<0.01$）。



注：与对照组相比，***P<0.001；与 OGD/R 组相比，###P<0.001；OGD/R：氧葡萄糖缺乏/再氧合

图 2 茴香烯抑制 OGD/R 诱导的细胞凋亡

Fig.2 Fenchone suppresses OGD/ R–induced apoptosis in PC12 cells

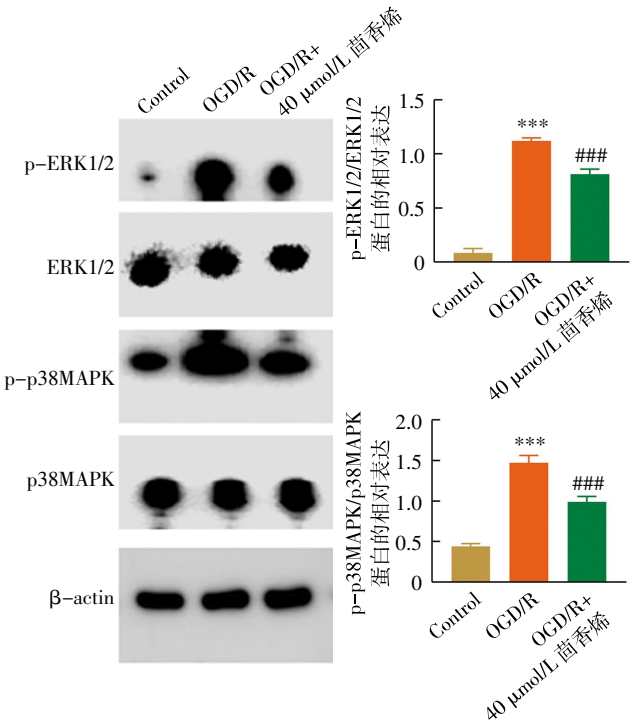


注：A：JC-1 染色显示各组的线粒体膜电位；B：各组 ROS 生成量；C：各组 ATP 生成量；与对照组相比，* P<0.01，*** P<0.001；与 OGD/R 组相比；#P<0.05，##P<0.01，###P<0.001；OGD/R：氧葡萄糖缺乏/再氧合；ROS：活性氧簇；ATP：三磷酸腺苷；JC-1：5，5′，6，6′-四氯-1，1′，3，3′-四乙基苯并咪唑羰花青碘化物

图 3 茴香烯恢复 OGD/R 诱导的 PC12 细胞线粒体功能

Fig.3 Fenchone restores OGD/ R–induced mitochondrial function in PC12 cells

2.4 茴香烯通过抑制 ERK/MAPK 信号通路发挥线粒体保护作用 与对照组相比，OGD/R 组 p-ERK1/2 和 p-p38 升高，与 OGD/R 组相比，OGD/R 和茴香烯处理组 p-ERK1/2 和 p-p38MAPK 降低，（p-ERK1/2：F=9.48，P<0.001；p-p38MAPK：F=7.49，P<0.001，图 4）。



注：OGD/R：氧葡萄糖缺乏/再氧合；ERK1/2：细胞外信号调节激酶 1/2；MAPK：丝裂原活化蛋白激酶；与对照组相比，*** P<0.001；与 OGD/R 组相比，###P<0.001

图 4 茴香烯通过抑制 ERK/MAPK 信号通路发挥线粒体保护作用

Fig.4 Fenchone plays a role in mitochondrial protection by inhibiting ERK/MAPK signaling pathway

3 讨论

脑缺血会导致脑组织及其功能的损伤，这种损伤的程度取决于缺血的持续时间及血流恢复的情况。短期的非完全缺血通常引起可逆性损伤，而长时间或严重的缺血则可能引发脑梗死的发生。脑组织在缺血时常见的病理变化包括脑水肿和脑细胞坏死。脑缺血-再灌注损伤会导致脑功能严重受损，且缺血-再灌注损伤时间越长，兴奋性神经递质含量越低，脑组织的超微结构改变越明显，如线粒体

肿胀、钙盐沉积及线粒体脊突断裂。近年来，脑缺血-再灌注损伤的发生率逐渐增加，且该疾病具有较高的致死率。因此，揭示脑缺血-再灌注损伤的分子机制并寻找有效的治疗药物显得尤为重要。值得注意的是，本研究发现茴香烯可能成为治疗脑缺血-再灌注损伤的潜力药物。

在本研究中，通过 OGD/R 处理 PC12 细胞，构建了体外 OGD/R 模型。该模型已广泛用于研究脑缺血-再灌注损伤等相关疾病的病理过程。研究表明 Annexin-1 可以通过 CK2 信号通路介导小胶质细胞的激活以及迁移[12]；OGD 处理通过调控内质网应激（UPR）诱导 PC12 细胞自噬[13-14]。此外，生长激素抑制了缺氧条件下下丘脑神经元细胞的凋亡[15]。通过 OGD/R 模型，进一步验证了茴香烯在脑缺血-再灌注损伤中的保护作用。

一系列体外实验表明，茴香烯在缺血-再灌注损伤引起的线粒体功能损伤中起重要作用。线粒体功能的损伤被认为是缺血-再灌注损伤的关键因素之一[16-17]。茴香烯具有多种生物学功能，包括抗氧化、抗炎、抗菌、抗肿瘤等作用[10-11,18]。研究表明，茴香烯通过抑制自由基的生成，减少氧化应激，从而保护细胞免受损伤[19-20]。此外，茴香烯还能通过调节免疫反应，减轻炎症，并在某些情况下对抗细菌和真菌感染。它还被发现具有一定的抗肿瘤活性，通过影响肿瘤细胞的增殖、迁移和凋亡过程，抑制肿瘤生长[6]。因此，茴香烯在药物开发和保健品领域具有潜在的应用前景[6]。在本研究中，进一步检测了茴香烯对OGD/R 模型中神经炎症的影响。在 OGD/R 模型中，也观察到茴香烯对 ROS 水平的调控，进一步确认了其在维持线粒体功能中的作用。此外，茴香烯还通过抑制细胞凋亡在大鼠心脏中发挥保护作用。然而，结果表明，茴香烯对脑缺血-再灌注损伤的保护作用可能通过不同的机制进行，具体的机制仍需进一步探讨。

茴香烯在神经保护方面具有潜力[8,21]。例如，研究表明茴香烯具有抗氧化和抗炎作用，能够减轻神经炎症并保护神经细胞使其免受氧化损伤[8]。此外，茴香烯还能通过调节小胶质细胞的活性，减缓神经退行性疾病中的炎症，从而起到一定的神经保护作用[6]。本研究发现，茴香烯通过靶向 ERK/MAPK 信号通路恢复了 OGD/R 诱导的 PC12 细胞的线粒体功能。

但本研究仍然存在一些局限性，亟需在未来的研究中进一步探讨。首先，本研究主要基于体外细胞模型，虽然 OGD/R 模型在脑缺血-再灌注损伤的研究中得到广泛应用，但在体内环境中的作用和临床疗效仍需进一步验证。因此，未来可以通过动物实验模型来评估茴香烯在脑缺血-再灌注损伤中的治疗效果，尤其是对神经功能恢复、脑组织修复和长期生存率的影响。其次，茴香烯通过 ERK/MAPK 信号通路发挥其生物学效应，但这一通路可能与其他多个信号途径相互作用，涉及的分子机制尚未完全揭示。未来研究应进一步探索茴香烯在其他相关信号通路中的作用，特别是它对细胞凋亡、氧化应激和线粒体功能等方面的综合影响，以更全面地理解其神经保护作用。

另外，茴香烯作为一种天然化合物，其药代动力学性质、毒性以及安全性等方面的研究仍显不足。今后研究需要对茴香烯的药理学特征、剂量依赖性效应、安全性和潜在不良反应等问题进行详细评估，以便为其在临床中的应用提供科学依据。

综上所述，本研究发现，茴香烯能够增加 OGD/R 诱导的 PC12 细胞的存活率，并抑制细胞凋亡。同时，茴香烯恢复了 OGD/R 诱导的 PC12 细胞的线粒体功能，并抑制 ERK/MAPK 信号通路。茴香烯作为一种潜力药物，可能成为治疗脑缺血-再灌注损伤的有效药物。

参考文献：

[1] XU X, GAO W, LI L, et al. Annexin A1 protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by modulating microglia/macrophage polarization via FPR2/ALX-dependent AMPK-mTOR pathway[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 119.

[2] CHEN Y, WU J, ZHU J, et al. Artesunate provides neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury via the TLR-4/NF-kappaB pathway in rats[J]. Biol Pharm Bull, 2021, 44(3): 350-356.

[3] REN K, PEI J, GUO Y, et al. Regulated necrosis pathways: a potential target for ischemic stroke[J]. Burns Trauma, 2023, 11: tkad016.

[4] FAKHARNIA F, KHODAGHOLI F, DARGAHIL L, et al. Prevention of cyclophilin D-mediated mPTP opening using Cyclosporine-A alleviates the elevation of necroptosis, autophagy and apoptosis-related markers following global cerebral ischemia-reperfusion[J]. J Mol Neurosci, 2017, 61(1): 52-60.

[5] LIANG J, WANG Q, LI JQ, et al. Long non-coding RNA MEG3 promotes cerebral ischemia-reperfusion injury through increasing pyroptosis by targeting miR-485/AIM2 axis[J]. Exp Neurol, 2020, 325: 113139.

[6] BASHIR A, MUSHTAQ MN, YOUNIS W, et al. Fenchone, a monoterpene: toxicity and diuretic profiling in rats[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1119360.

[7] OSSEIRAN N, NEEMAN E M, DRAN P, et al. Insights into the non-covalent interactions of hydrogen sulfide with fenchol and fenchone from a gas-phase rotational study[J]. Phys Chem Chem Phys,

2022, 24(39): 24007-24011.

[8] BURMISTROV V, MORISSEAU C, PITUSHKIN D, et al. Ureas derived from camphor and fenchone reveal enantiomeric preference of human soluble epoxide hydrolase[J]. Results Chem, 2022, 4: 100653.

[9] VIKTOROVA V V, OBYDENNOV D L, KOVALEVA K S, et al. The reaction of fenchone and camphor hydrazones with 5-Acyl-4-Pyrones as a method for the synthesis of new polycarbonyl conjugates: tautomeric equilibrium and antiviral activity[J]. Chem Biodivers, 2024: e202401461.

[10] BUREVSCHI E, CHRAYTEH M, MURUGACHANDRAN S I, et al. Water arrangements upon interaction with a rigid solute: multiconfigurational fenchone-H_2O(4-7) hydrates[J]. J Am Chem Soc, 2024, 146(15): 10925-10933.

[11] EL OMARI N, BALAHBIB A, BAKRIM S, et al. Fenchone and camphor: main natural compounds from Lavandula stoechas L., expediting multiple in vitro biological activities[J]. Heliyon, 2023, 9(11): e21222.

[12] LIU S, GO Y, YU X, et al. Annexin-1 mediates microglial activation and migration via the CK2 pathway during oxygen-glucose deprivation/reperfusion[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(10): 1770.

[13] LV L, QIAN J, SANG J, et al. Protective effects of PIK3CG knockdown against OGD/R-induced neuronal damage via inhibition of autophagy through the AMPK/mTOR pathway[J]. Neuroscience, 2024, 565: 91-98.

[14] YUAN Z L, MO Y Z, LI D L, et al. Inhibition of ERK downregulates autophagy via mitigating mitochondrial fragmentation to protect SH-SY5Y cells from OGD/R injury[J]. Cell Commun Signal, 2023, 21(1): 204.

[15] TIAN Y, WANG L, QIU Z, et al. Autophagy triggers endoplasmic reticulum stress and C/EBP homologous protein-mediated apoptosis in OGD/R-treated neurons in a caspase-12-independent manner [J]. J Neurophysiol, 2021, 126(5): 1740-1750.

[16] ALAM M M, KISHINO A, SUNG E, et al. Contribution of NRF2 to sulfur metabolism and mitochondrial activity[J]. Redox Biol, 2023, 60: 102624.

[17] DA DALT L, CABODEVILLA A G, GOLDBERG I J, et al. Cardiac lipid metabolism, mitochondrial function, and heart failure [J]. Cardiovasc Res, 2023, 119(10): 1905-1914.

[18] ARARUNA MEC, JUNIOR EBA, SERAFIM CAL, et al. (-)-Fenchone prevents Cysteamine-induced duodenal ulcers and accelerates healing promoting Re-epithelialization of gastric ulcers in rats via antioxidant and immunomodulatory mechanisms[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(5): 14248247.

[19] BlLANCHET V, DESCAMPS D, PRTIT S, et al. Ultrafast relaxation investigated by photoelectron circular dichroism: an isomeric comparison of camphor and fenchone[J]. Phys Chem Chem Phys, 2021, 23(45): 25612-25628.

[20] POWIS I, SINGH D P. The Rydberg 3p multiplet structure of the fenchone C band absorption[J]. Phys Chem Chem Phys, 2023, 25 (25): 16712-16717.

[21] SINGH D P, THOMPSON JOF, REID K L, et al. Influence of vibrational excitation and nuclear dynamics in multiphoton photoelectron circular dichroism of fenchone[J]. J Phys Chem Lett, 2021, 12 (46): 11438-11443.

(2024-12-27 收稿)

(上接第 314 页)

[5] SHENG W, LIU Y, CHAKRABORTY D, et al. Simultaneous inhibition of LSD1 and TGFβ enables eradication of poorly immunogenic tumors with anti-PD-1 treatment[J]. Cancer Discov, 2021, 11(8): 1970-1981.

[6] PICKAR-OLIVER A, GERSBACH C A. The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(8): 490-507.

[7] HUANG J, ZHOU Y, LI J, et al. CRISPR/Cas systems: delivery and application in gene therapy[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2022, 10:942325.

[8] MOHANRAJU P, MAKAROVA K S, ZETSCHE B, et al. Diverse evolutionary roots and mechanistic variations of the CRISPR-Cas systems[J]. Science, 2016, 353(6299):556.

[9] CUI Y, XU J, CHENG M, et al. Review of CRISPR/Cas9 sgRNA design tools[J]. Interdiscip Sci, 2018, 10(2): 455-465.

[10] MAKAROVA K S, HAFT D H, BARRANGOU R, et al. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems[J]. Nat Rev Microbiol, 2011, 9(6): 467-477.

[11] WRIGHT A V, NUNEZ J K, DOUDNA J A. Biology and applications of CRISPR systems: harnessing nature′s toolbox for genome engineering[J]. Cell, 2016, 164(1-2): 29-44.

[12] DELTCHEVA E, CHYLINSKI K, SHARMA C M, et al. CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III[J]. Nature, 2011, 471(7340): 602-607.

[13] SáNCHEZ-RIVERA F J, JACKS T. Applications of the CRISPR-Cas9 system in cancer biology [J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(7): 387-393.

[14] CHUNG S H, SIN T N, DANG B, et al. CRISPR-based VEGF suppression using paired guide RNAs for treatment of choroidal neovascularization[J]. Mol Ther Nucl Acids, 2022, 28: 613-622.

[15] WANG S W, GAO C, ZHENG Y M, et al. Current applications and future perspective of CRISPR/Cas9 gene editing in cancer [J]. Mol Cancer, 2022, 21(1):57.

[16] CLAPS G, FAOUZI S, QUIDVILLE V, et al. The multiple roles of LDH in cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2022, 19(12): 749-762.

[17] MACCHI C, MOREGOLA A, GRECO M F, et al. Monocarboxylate transporter 1 deficiency impacts $CD8^+$ T lymphocytes proliferation and recruitment to adipose tissue during obesity[J]. iScience, 2022, 25(6):104435.

[18] BRAND A, SINGER K, KOEHL G E, et al. LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells[J]. Cell Metab, 2016, 24(5): 657-671.

[19] SCOTT KRISTEN E N, CLEVELAND JOHN L. Lactate wreaks havoc on tumor-infiltrating T and NK cells[J]. Cell Metab, 2016, 24(5): 649-650.

[20] BRONTE V. Tumor cells hijack macrophages via lactic acid[J]. Immunol Cell Biol, 2014, 92(8): 647-649.

(2024-12-19 收稿)