

地椒通过抗氧化作用减轻脑缺血再灌注损伤的药效评价

杨雨晴¹, 范书生¹, 刘晓云¹, 杨咏琪¹, 应乐天¹, 秦娟¹, 姚鉴玲¹, 曹妤¹, 夏青^{2*}, 折改梅^{1*}

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029

2. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103

摘要: 目的 探讨地椒 *Thymus quinquecostatus* 对大鼠脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)和斑马鱼氧化应激损伤的改善作用。方法 用 80%乙醇从地椒中提取低极性组分(low-polar extract, LPE), 通过建立大鼠 CIRI 模型, 评估 LPE 对神经功能损伤、脑梗死体积和组织病理学改变的影响。利用斑马鱼模型和体外抗氧化实验评价 LPE 的抗氧化活性。采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术分析 LPE 的入血和入脑成分。结果 LPE 显著改善了 CIRI 大鼠的神经功能($P < 0.01$), 减少脑梗死率($P < 0.05$, 0.01), 并具有显著的抗氧化活性。LPE 入血成分主要包括酚酸类和黄酮类, 其中, 除芹菜素、金丝桃苷和 7-甲氧基木犀草素外, 其余成分均能透过血脑屏障进入脑组织。结论 地椒能通过抗氧化作用减轻 CIRI, 具有开发为脑部疾病治疗药物的潜力。

关键词: 地椒; 脑缺血再灌注损伤; 抗氧化; 入血成分; 入脑成分; 黄酮; 酚酸; 丹参素; 咖啡酸; 灯盏乙素; 迷迭香酸
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)23-8623-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.014

Evaluation of efficacy of *Thymus quinquecostatus* in alleviating cerebral ischemia-reperfusion injury through antioxidant effect

YANG Yuqing¹, FAN Shusheng¹, LIU Xiaoyun¹, YANG Yongqi¹, YING Letian¹, QIN Juan¹, YAO Jianling¹, CAO Yu¹, XIA Qing², SHE Gaimei¹

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China

Abstract: Objective To investigate the ameliorative effects of *Thymus quinquecostatus* (TQ) on cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) in rats and oxidative stress injury in zebrafish. **Methods** The low-polar extract (LPE) was obtained from TQ using 80% ethanol. A rat CIRI model was established to evaluate the effects of LPE on neurological deficits, cerebral infarct rate and histopathological changes. The zebrafish models and *in vitro* antioxidant assays were employed to assess the antioxidant activity of LPE. Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was used to analyze the blood-and brain-distributed components of LPE. **Results** LPE significantly improved neurological function ($P < 0.01$), reduced cerebral infarct rate in CIRI rats ($P < 0.05$, 0.01), and exhibited notable antioxidant activity. The blood-distributed components of LPE primarily included phenolic acids and flavonoids. Among these, all components except apigenin, hyperoside and 7-methoxyluteolin were able to cross the blood-brain barrier into brain tissue. **Conclusions** TQ could alleviate CIRI through antioxidant effect, and has the potential to be developed as a drug for the treatment of brain diseases.

Key words: *Thymus quinquecostatus* Cêlak.; cerebral ischemia-reperfusion injury; antioxidant; blood-distributed components; brain-distributed components; flavonoids; phenolic acids; salvianic acid A; caffeic acid; scutellarin; rosmarinic acid

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是全球成人死亡的主要原因, 其发病率高且逐渐年轻化^[1-2],

IS 常发生在脑组织动脉循环急性栓塞之后, 供血恢复, 引起缺血性脑组织的二次损伤, 这一过程称为

收稿日期: 2025-06-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81760769); 宁夏回族自治区重点研发计划(2018BEG03016)

作者简介: 杨雨晴(2002—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学。E-mail: yangyuqing0313@126.com

*通信作者: 折改梅(1976—), 博士生导师, 研究员, 从事中(民族)药药效成分和新药创制研究。E-mail: shegaimei@126.com

夏青(1988—), 副研究员, 从事中药品质评价与分子机制研究。E-mail: sdxq1021@163.com

缺血再灌注损伤^[3-4]。脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI) 可导致神经细胞进一步损伤和脑功能障碍, 是直接引起脑梗死并降低脑缺血患者预后的主要原因。CIRI 的病理过程复杂, 其中氧自由基介导的脂质过氧化反应、炎症反应、神经细胞凋亡等因素起着重要作用^[5]。尽管近年来在卒中治疗方面取得了显著进展, 但 CIRI 仍然是影响患者预后的重要因素。目前, 临床治疗 CIRI 的药物仍存在局限性, 因此, 从天然药物中发掘具有抗氧化和神经保护作用的活性成分为当前研究的热点之一。

地椒 *Thymus quinquecostatus* Cêlak. 为唇形科百里香属植物, 具有悠久的药用历史, 有抗氧化、抗炎和神经保护等多种药理活性^[6-7]。现代研究表明, 地椒富含黄酮类、酚酸类和挥发油等成分^[8], 具有较强的自由基清除能力和抗炎作用, 但其在 CIRI 中的保护作用及机制尚未系统研究。课题组前期采用大孔树脂从地椒中提取高极性组分, 并富集其中的多酚类物质, 获得多酚富集组分 (polyphenol-rich fraction, PRF)^[9], 并鉴定出 PRF 中存在黄酮类及酚酸类化合物。其中, 已鉴定出的丹参酸 A、咖啡酸、迷迭香酸、黄芩苷、芹菜素-7-O-葡萄糖苷都是抗氧化应激的有效物质, 可共同调节血浆中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 和脑组织中 SOD, 改善 CIRI^[10]。研究表明, PRF 通过直接清除活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 并激活 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)/核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 信号通路的双重抗氧化机制对 CIRI 表现出保护作用^[9]。然而, PRF 的提取工艺主要针对极性较高的多酚类物质, 可能导致地椒中其他中等极性或小极性活性成分的丢失。课题组前期采用 80% 乙醇从地椒中提取低极性组分 (low-polar extract, LPE), 发现 LPE 不仅包含与 PRF 相似的黄酮类及酚酸类化合物, 还含有 PRF 中未检测出的小极性黄酮类、萜类化合物^[11-12]。这些附加成分可能通过多靶点、多通路协同作用, 产生更全面的神经保护效应, 如某些萜类化合物已被文献报道具有显著的抗炎和神经保护活性^[13-14]。因此, 为更全面挖掘地椒提取物的药效物质基础及作用机制, 选

择 LPE 开展系统评价, 旨在为其综合开发和脑卒中防治应用提供更充分的科学依据。

基于以上发现, 推测 LPE 同样是通过抗氧化作用发挥抗 CIRI 的药效。因此, 本研究通过短暂性大鼠大脑中动脉闭塞 (transient middle cerebral artery occlusion, tMCAO) 模型模拟 CIRI, 评估 LPE 对神经功能缺损评分、脑梗死体积及脑组织病理学变化的影响, 用药效实验验证其抗氧化特性; 同时, 结合体外化学抗氧化实验 [如 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二铵盐 (diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS) 自由基清除及铁离子还原能力测定] 和斑马鱼氧化应激损伤模型, 对 LPE 的药效进行综合评价。此外, 利用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对 LPE 中的入血及入脑成分进行鉴定, 并与 PRF 中的入血及入脑成分对比是否相同, 筛选潜在的药效物质基础, 为后续抗 CIRI 机制研究提供方向。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 220~240 g, 购自北京维通利华动物中心, 实验动物许可证号 SCXK (京) 2016-0006。动物于北京中医药大学实验动物中心适应性饲养 1 周, 温度 (22±1) °C, 相对湿度 (65±5) %, 12 h 交替光照/黑暗, 规律给予食物和水。动物实验经北京中医药大学批准 (批准号 BUCM-4-221070604-3186)。

AB 型和 Tg (krt4:NTR-hKikGR) cy17 型转基因斑马鱼由山东省科学院提供, 饲养条件参照经济合作与发展组织 (Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 斑马鱼管理手册^[15]。实验在齐鲁科技大学生物研究所动物伦理委员会的规范伦理指导下进行。养鱼水由 5.00 mmol/L NaCl、0.17 mmol/L KCl、0.40 mmol/L CaCl₂ 和 0.16 mmol/L MgSO₄ 组成。胚胎急性毒性实验在 OECD 指导下进行。

1.2 药材

地椒全草于 2021 年 8 月采自陕西榆林, 经新疆农业大学食品科学与药学院马生军教授鉴定为唇形科百里香属植物地椒 *T. quinquecostatus* Cêlak. 的干燥全草, 样品 (样品号 DJ-21-28-8) 保存于北京中医药大学中药学院。

1.3 药品与试剂

LPE 为实验室自制; 2,3,5-三苯基氯化四氮唑

(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC) 购自北京拜尔迪生物技术有限公司; 大鼠 MCAO 线栓(280~350 g) 购自广州佳灵生物技术有限公司; 三氯化铁(批号 20150308, 质量分数 $\geq 99.0\%$) 购自天津市福晨化学试剂厂; 乙醇(批号 20171102, 质量分数 $\geq 99.7\%$)、过硫酸钾(批号 20170105, 质量分数 $\geq 99\%$)、冰醋酸(批号 20180228, 质量分数 $\geq 99.5\%$)、氢氧化钠(批号 20180126)、盐酸(批号 20170621, 质量分数 $\geq 36\%$)、无水醋酸钠(批号 20170716, 质量分数 $\geq 99\%$) 均购自北京化工厂; 十二烷基磺酸钠(批号 20120405, 总醇量 $\geq 59\%$) 购自天津市福晨化学试剂厂; 硝酸铝(批号 20120830, 质量分数 $\geq 99.0\%$) 购自国药集团化学试剂有限公司; 对照品咖啡酸(批号 110885-201703, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自中国食品药品检定研究院; 迷迭香酸(批号 PRF20051803, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自四川成都普瑞法植物化学有限公司; 对照品芹菜素(批号 AF9100604, 质量分数 $\geq 98\%$)、异槲皮苷(批号 AF9102022, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自成都埃法生物技术有限公司; 木犀草素(批号 S08GB160295, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自上海源叶生物科技有限公司; DPPH(批号 GTBXB-QP, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自梯希爱化成工业发展有限公司; ABTS(批号 C10165079, 质量分数 $\geq 98\%$)、2,4,6-三吡啶基三嗪(2,4,6-tripyridin-2-yl-1,3,5-triazine, TPTZ, 批号 M56418068) 均购自上海麦克林化科技有限公司; 丙二醛(malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒(批号 A003-1-2)、SOD 检测试剂盒(批号 A001-1-2)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px) 检测试剂盒(批号 A005-1-2) 均购自南京建成生物工程研究所; 尼莫地平(批号 Y17A6C2469) 购自上海源叶生物科技有限公司; Nissl 染色试剂盒; 水溶性维生素 E 对照品(批号 062-9405, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自中国食品药品检定研究院; 乙酰半胱氨酸(*N*-acetylcysteine, NAC)、甲硝唑(批号 J10GS53398) 购自阿拉丁试剂(上海)有限公司; 2,2-偶氮二(2-甲基丙基咪)二盐酸盐[2,2'-azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride, AAPH] 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.4 仪器

906 型-80 °C 超低温冰箱、Sorvall ST 8R 型低温离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CP224C 型电子天平(奥豪斯仪器有限公司); KQ-

250DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SPECTROstarNano 型高通量紫外分光光度计(伯齐科技有限公司); SZX-16 型解剖显微镜(日本 Olympus 公司); 斑马鱼养殖系统(北京爱生科技有限公司); LRH-250Z 型恒温培养箱(广州瑞明仪器有限公司); Spectra MR 型酶标仪(美国 Dynex 公司)。

2 方法

2.1 LPE 的制备

取地椒全草, 加入 20 倍量的 80%乙醇提取 60 min, 提取 2 次。滤过, 4 000×g 离心 20 min, 取上清液, 于 40 °C 下真空去除有机溶剂。将剩余的溶液在 60 °C 下蒸发, 得到 LPE, 于 4 °C 储存。

采用课题组前期建立的方法^[16], 采用 HPLC 对 LPE 中的主要成分丹参素、咖啡酸、灯盏乙素、迷迭香酸进行含量测定。结果显示, LPE 中丹参素、咖啡酸、灯盏乙素、迷迭香酸的质量分数分别为 (9.692 ± 0.367) 、 (4.688 ± 0.091) 、 (57.330 ± 0.756) 、 (49.380 ± 0.539) mg/g。

2.2 动物分组及给药

将 60 只雄性 SD 大鼠按体质量编号, 采用计算机生成的随机数字表进行完全随机化分组, 分别为假手术组、模型组、尼莫地平(20 mg/kg)^[9]组和 LPE 低、中、高剂量(70、140、210 mg/kg)^[9]组, 每组 10 只。将 LPE 与 60 °C 水混合, 超声处理 20 min。随后在混合物中加入 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na) 搅拌, 分别配制成 7、14、21 mg/mL 的 LPE 混悬液。采用相同方法制备 2 mg/mL 的尼莫地平混悬液。各给药组均于 tMCAO 手术前 7 d 开始 ig 给药, 1 次/d, 最后 1 次给药于 tMCAO 手术前 2 h 给药。假手术组和模型组 ig 等体积的 0.5% CMC-Na 溶液。tMCAO 手术后 22 h 进行神经功能评分, 异氟烷麻醉后, 取出脑组织于-80 °C 冰箱冷冻保存。

2.3 tMCAO 模型的建立

采用 Longa 法^[17]建立 tMCAO 模型, 造成大鼠 CIRI。本实验针对大鼠右脑进行损伤, 在最后 1 次给药后, 雄性 SD 大鼠称定质量, 采用异氟烷麻醉后, 仰卧位固定于带有恒温控制的加热垫上, 剃除颈部毛暴露颈部皮肤, 用 75%乙醇消毒后, 在颈正中切口, 沿气管分离剥离括约肌和周围组织, 小心分离迷走神经, 暴露颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉, 于颈总和颈外动脉下穿线备用, 结扎颈外动脉与颈总动脉, 以动脉夹夹闭颈内动脉远心端后, 于

颈外动脉与颈内动脉分叉处作一切口，从切口处插入头端光滑栓线，有阻力感时停止进线并记录缺血时间，插入深度 18 mm 左右，实现大脑中动脉阻塞导致脑缺血。结扎切口处，固定线栓，逐层缝合肌肉和皮肤，剪掉皮外的尼龙线，在手术区喷洒含有青霉素的生理盐水。假手术组只暴露和分离右侧颈总动脉。2 h 后轻柔地抽拔线栓，遇阻力则停止，减去线栓多余部分，在大鼠清醒前，将其以侧卧位放置于恒温电热毯上，保持其体温。大鼠清醒后，常规分笼饲养。

2.4 神经功能评分

大鼠进行 tMCAO 22 h 再灌注后，采用 Longa 评分法（表 1）对大鼠进行神经功能评分。为了避免额外的干扰，大鼠在 tMCAO 手术后 22 h 进行 3 次评分，每次不超过 5 min。模型的纳入标准为神经功能评分 1~3 分，剔除标准为神经功能评分 4 分。

表 1 神经功能评分标准

Table 1 Neurological function scoring criteria

症状	评分
无症状	0
提尾时，损伤对侧前肢不能伸直	1
行走时，向损伤侧转圈	2
行走时，向损伤侧倾倒	3
不能自发行走，意识不清	4

2.5 脑梗死率评价

大鼠进行 tMCAO 手术 22 h 后，用异氟烷进行麻醉，断头处死大鼠后立即取出脑部，用冷的 0.9% 氯化钠注射液冲洗，放入 -20 ℃ 冰箱速冻 30 min 后取出，迅速切成 6 片，每片间隔 2 mm，将切片置于预热至 37 ℃ 的 2% TTC 溶液中，于 37 ℃ 恒温避光孵育 15 min，期间每 5 分钟翻动 1 次，使大脑切片均匀接触到 TTC 溶液，孵育结束后，将大脑切片置于 4% 多聚甲酸溶液中固定并拍照，利用 Image J 软件对图像进行分析。

2.6 脑组织尼氏染色

再灌注后 22 h 处死大鼠，迅速取出大脑并用 4% 多聚甲醛固定。随后，将脑组织干燥并包埋在石蜡中，制备 5 μm 冠状切片用于尼氏染色。使用 Image Pro-Plus 软件（版本 6.0）计算海马 CA1 区和皮层中每个视野的存活神经元数量。

2.7 脑组织 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量测定

大鼠 tMCAO 22 h 后，用异氟烷进行麻醉，断头处死大鼠后立即取出脑部，于冰上分离大鼠缺血

侧脑组织并立即称定质量，按 1:9 的比例加入冷的生理盐水，制成 10% 的脑组织匀浆，将匀浆于 4 ℃、3 500 r/min 离心 10 min，吸取上清液，按试剂盒说明书测定 SOD、GSH-Px 活力和 MDA 含量。

2.8 LPE 入血和入脑成分分析

采用 UPLC-Q-TOF-MS 分析 LPE 给药后大鼠血浆和脑组织中的成分。

2.8.1 色谱条件 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.7 μm）；流动相为 0.1% 甲酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱：0~1 min，95% A；1~3 min，95%~92% A；3~6 min，92%~90% A；6~10 min，90%~82% A；10~14 min，82%~80% A；14~20 min，80%~65% A；20~25 min，65%~40% A；25~28 min，40%~20% A；28~31 min，20% A；31~32 min，20%~95% A；32~35 min，95% A。柱温 35 ℃；体积流量 0.3 mL/min；进样量 5 μL。

2.8.2 质谱条件 采用电喷雾离子源（electric spray ion，ESI），负离子模式检测，喷雾电压为 3.0 kV，鞘气体积流量为 40 arb，辅助气体流量为 15 arb，毛细管温度为 320 ℃，离子源温度为 350 ℃。鞘气和辅助气均为高纯氮气，碰撞气为高纯氦气；全扫描（Full MS）分辨率为 70 000，质量扫描 m/z 100~1 500；二级单离子扫描（dd-MS²/dd-SIM）分辨率为 17 500，碰撞能量为多级模式 30、40、50 V。数据分析采用 Xcalibur 软件（version 2.2）。

2.9 LPE 体外抗氧化活性测定

精密称取 LPE 0.1 g，加入 50% 乙醇，超声溶解，制成 2.5 mg/mL 的 LPE 母液，备用。精密称取水溶性维生素 E 对照品 0.1 g，加入无水乙醇，制成 3.0 mg/mL 的母液，备用。

按照文献方法^[18]测定 DPPH、ABTS 自由基清除能力和铁离子还原能力。水溶性维生素 E 清除 DPPH 自由基的标准曲线为 $Y = -48.849 X + 1.418$ （线性范围 260~1 820 μg/mL， $R^2 = 0.992$ ），Trolox 清除 ABTS 自由基的标准曲线为 $Y = -0.292 X + 0.614$ （线性范围 195~1 950 μg/mL， $R^2 = 0.996$ ），铁离子还原能力实验的标准曲线为 $Y = 0.385 X + 0.222$ （线性范围 195~2 340 μg/mL， $R^2 = 0.996$ ）。

2.10 LPE 在斑马鱼胚胎中的最小致死浓度（minimum lethal concentration，MLC）和中位致死浓度（median lethal concentration，LC₅₀）测定

将 0.1 g LPE 与 100 mL 新鲜养鱼水混合，超声

20 min, 得到 1 mg/mL 的工作溶液, 用于测定 LPE 的毒性和抗氧化活性。受精后 24 h (24 h post fertilization, 24 hpf) 健康 AB 株斑马鱼胚胎在预实验的基础上在一系列 LPE 溶液中分别孵育 24 h。同时设置仅用鱼水孵育的对照组。没有心跳作为斑马鱼死亡的标准。采用 SPSS 软件计算 MLC 和 LC_{50} 。为了初步了解 LPE 的毒性, 将 24 只 hpf 斑马鱼胚胎在 MLC 下孵育 48 h, 然后用养鱼水冲洗 3 次, 0.3% 三卡因麻醉, 最后使用解剖显微镜拍照。每个处理分别重复 3 次。

2.11 LPE 的急毒性研究

按“2.10”项下得出的 MLC 进行 LPE 的急毒性研究, 将培养至 48 h 的培养液更换为对应的新鲜溶液并继续培养至 72 h。将斑马鱼胚胎用新鲜的鱼水洗涤 3 遍, 置于显微镜下观察各组斑马鱼胚胎畸形形态, 畸形形态包括鱼鳔变小甚至消失、卵黄囊吸收迟滞、心包水肿形态异常等。

2.12 Tg (krt4: NTR-hKikGR) cy17 转基因斑马鱼胚胎中 LPE 抗氧化活性的测定

参照文献方法并加以改进^[9], 将健康的 Tg (krt4: NTR-hKikGR) cy17 转基因斑马鱼胚胎分别与 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 倍 MLC 的 LPE 孵育 (每个浓度 24 个胚胎)。同时设置对照组、模型组和阳性对照组 (5 μ mol/L NAC)^[9]。除对照组外, 其余各组均与 5 mmol/L 甲硝唑共同孵育 24 h。随后, 将斑马鱼胚胎清洗 3 次, 麻醉后使用解剖显微镜拍照, 使用 Image Pro-Plus 软件进行荧光斑点计数。

2.13 AB 斑马鱼胚胎中 LPE 抗氧化活性的测定

按“2.12”项下方法处理 AB 型斑马鱼胚胎, 除对照组外, 其余各组均与 12.5 mmol/L AAPH 共同孵育 24 h。将胚胎与 20 μ mol/L DCF-DA 避光孵育 30 min, 将胚胎清洗 3 次, 麻醉后使用解剖显微镜拍照, 通过 Image Pro-Plus 软件分析荧光强度。

2.14 统计学分析

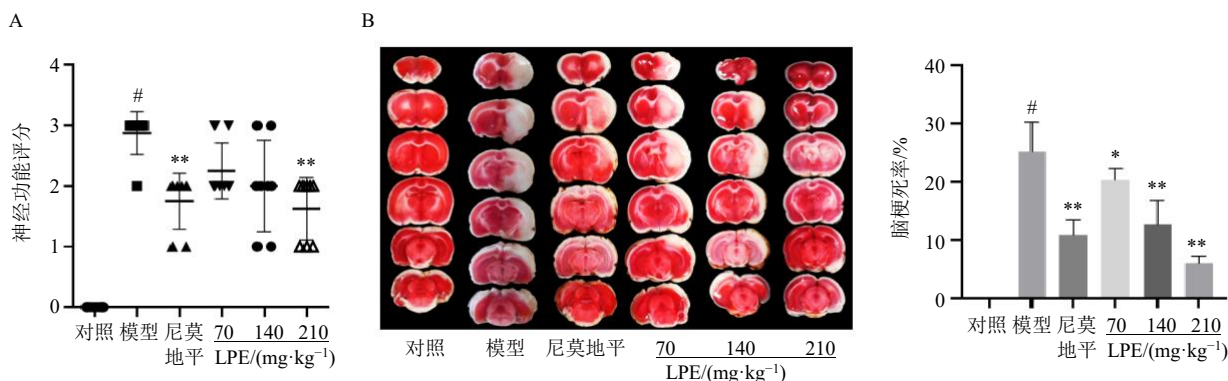
数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间差异分析采用单因素方差分析 (ANOVA), 两组间差异采用 t 检验。采用 SPSS (Version 25.0)、GraphPad Prism (Version 8.2.0) 和 Image J (Version 1.46r) 软件进行统计分析和图表制作。

3 结果

3.1 LPE 对 tMCAO 模型大鼠的药效评价结果

为了研究 LPE 对 CIRI 的保护作用, 对神经功能评分、脑梗死率、海马 CA1 和皮质的细胞形态以及脑组织 SOD、GSH-Px 活力和 MDA 含量进行测定。如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠神经功能评分和脑梗死率显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 尼莫地平组和 LPE 高剂量组大鼠神经功能评分显著降低 ($P < 0.01$), 各给药组大鼠脑梗死率均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈剂量相关性。

采用尼氏染色法观察脑梗死半球海马 CA1 区和皮质区存活神经元数量和细胞形态。如图 2 所示, 锥体细胞具有清晰的亚圆形边界和密集的颗粒, 代表尼氏体。与模型组比较, 各给药组均显著改善 tMCAO 后缺血脑组织皮质和海马 CA1 区神经元的损伤, 包括神经元体萎缩、尼氏体稀疏。



与对照组比较: # $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 图 2、3 同。

$P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as Figs. 2, 3.

图 1 LPE 对 tMCAO 模型大鼠神经功能评分 (A, $n = 8$) 和脑梗死率 (B, $n = 6$) 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Effect of LPE on neurological function score (A, $n = 8$) and cerebral infarction rate (B, $n = 6$) in tMCAO model rats ($\bar{x} \pm s$)

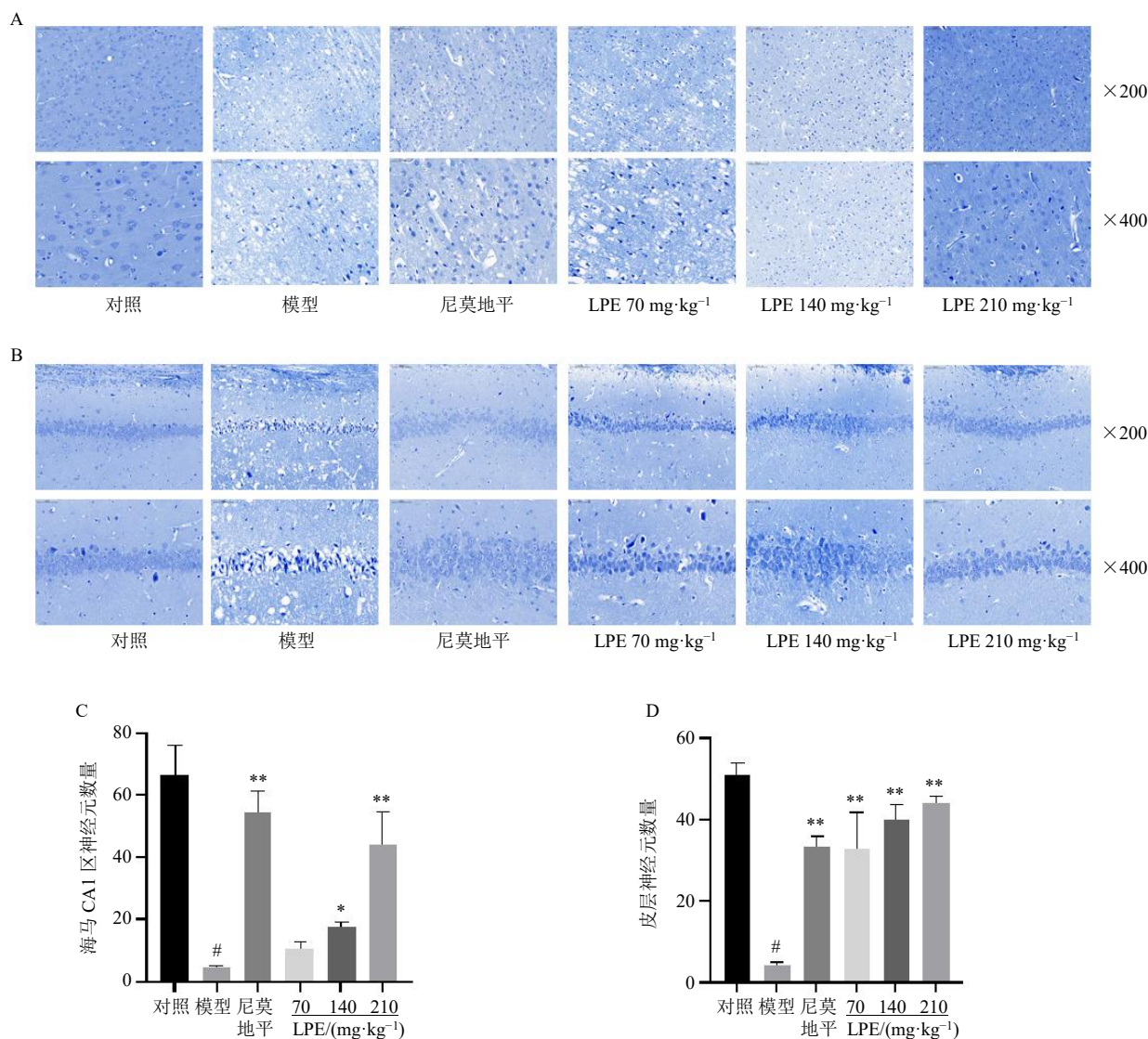


图 2 LPE 对 tMCAO 模型大鼠海马 CA1 区及皮层神经元细胞形态 (A、B) 和存活神经元数量 (C、D) 的影响
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of LPE on morphology (A, B) and number of surviving neurons (C, D) in hippocampal CA1 region and cortex of tMCAO model rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

MDA 作为氧化应激的产物^[20], 直接反映了机体的脂质氧化程度。SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶是体氧化系统的重要组成, 反映机体对 ROS 的清除能力^[21-22]。因此, 将 SOD、GSH-Px 和 MDA 作为评估机体 CIRI 损伤程度的指标。如图 3 所示, 与模型组比较, 各给药组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 活性显著升高 ($P < 0.01$), MDA 水平显著降低 ($P < 0.01$), 且呈剂量相关性, 表明 LPE 可以提高 SOD 和 GSH-Px 抗氧化酶的活性, 重新激活体内抗氧化酶系统, 减轻氧化应激造成的损伤。以上研究结果表明, LPE 通过改善神经功能缺损、降低脑梗死率、

改善神经元形态和调控氧化应激, 从而对 CIRI 具有明显的保护作用。

3.2 LPE 入血和入脑成分分析

如图 4 和表 2 所示, LPE 入血成分主要包括酚酸类 (对羟基苯甲酸、咖啡酸、迷迭香酸) 和黄酮类 (异槲皮苷、维采宁 II、木犀草苷、灯盏乙素、灯盏花甲素、木犀草素、芹菜素、百里香新、5,4'-二羟基-6,7,8-三甲氧基黄酮、金丝桃苷、7-甲氧基木犀草素)。其中, 除芹菜素、金丝桃苷和 7-甲氧基木犀草素外, 其余成分均能透过血脑屏障进入脑组织。

从结构特征来看, 入脑成分多为小分子酚酸

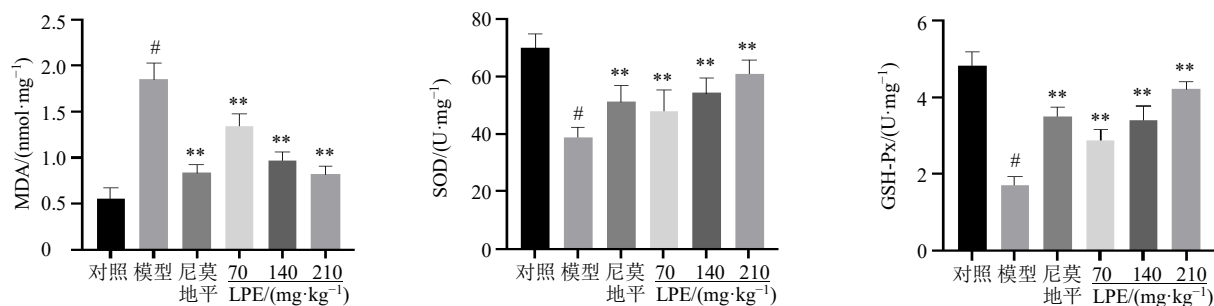


图 3 LPE 对 tMCAO 模型大鼠脑组织 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Effect of LPE on activities of SOD, GSH-Px and level of MDA in brain tissue of tMCAO model rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

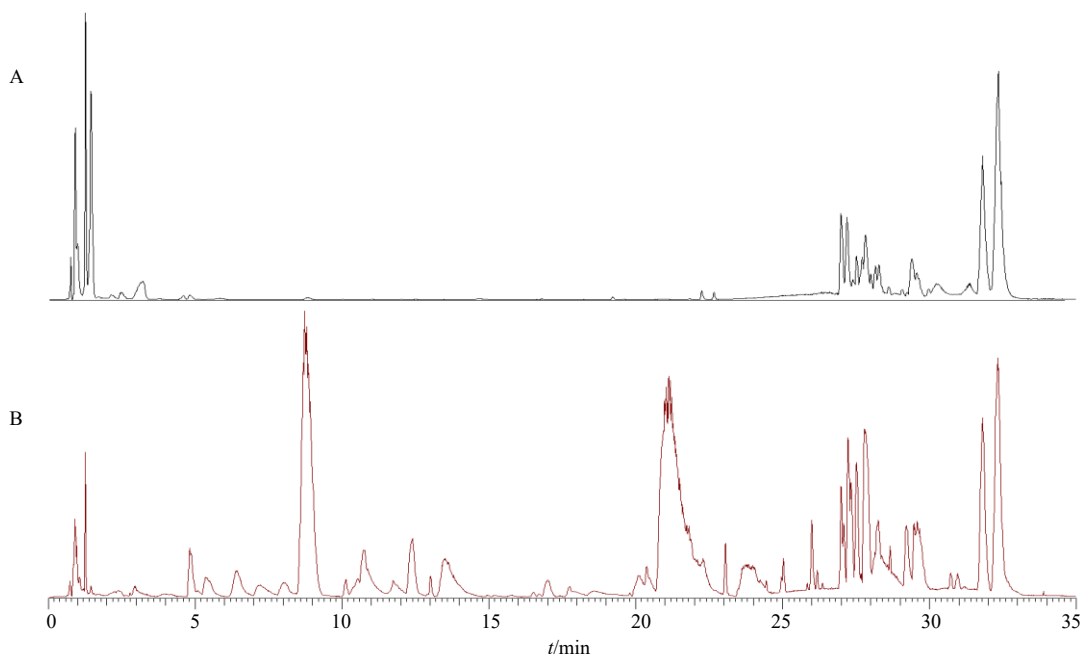


图 4 基于 UPLC-QE-Orbitrap-MS 分析的 LPE 入血 (A) 及入脑 (B) 成分总离子流图

Fig. 4 Total ion current diagrams of LPE into blood (A) and brain (B) components based on UPLC-QE-Orbitrap-MS analysis

(如对羟基苯甲酸、咖啡酸)和黄酮类(如异槲皮苷、木犀草苷),其较好的脂溶性和低相对分子质量可能有利于跨血脑屏障转运。而未能入脑的芹菜素(游离黄酮)和 7-甲氧基木犀草素(甲氧基修饰黄酮)可能因极性较低或与血浆蛋白结合率高而影响其脑部分布。此外,金丝桃苷(黄酮苷)虽具一定水溶性,但可能因代谢或外排机制限制其入脑。

3.3 LPE 的体外抗氧化活性

在体外抗氧化活性实验中, LPE 表现出良好的 DPPH、ABTS 自由基清除能力和铁还原能力。LPE 清除 DPPH 自由基的相对活性为 $(0.476 \pm 0.004)\%$, 清除 ABTS 自由基的相对活性为 $(0.390 \pm 0.012)\%$, 还原铁离子的相对活性为 $(0.408 \pm 0.004)\%$ 。

3.4 斑马鱼体内抗氧化药效评价

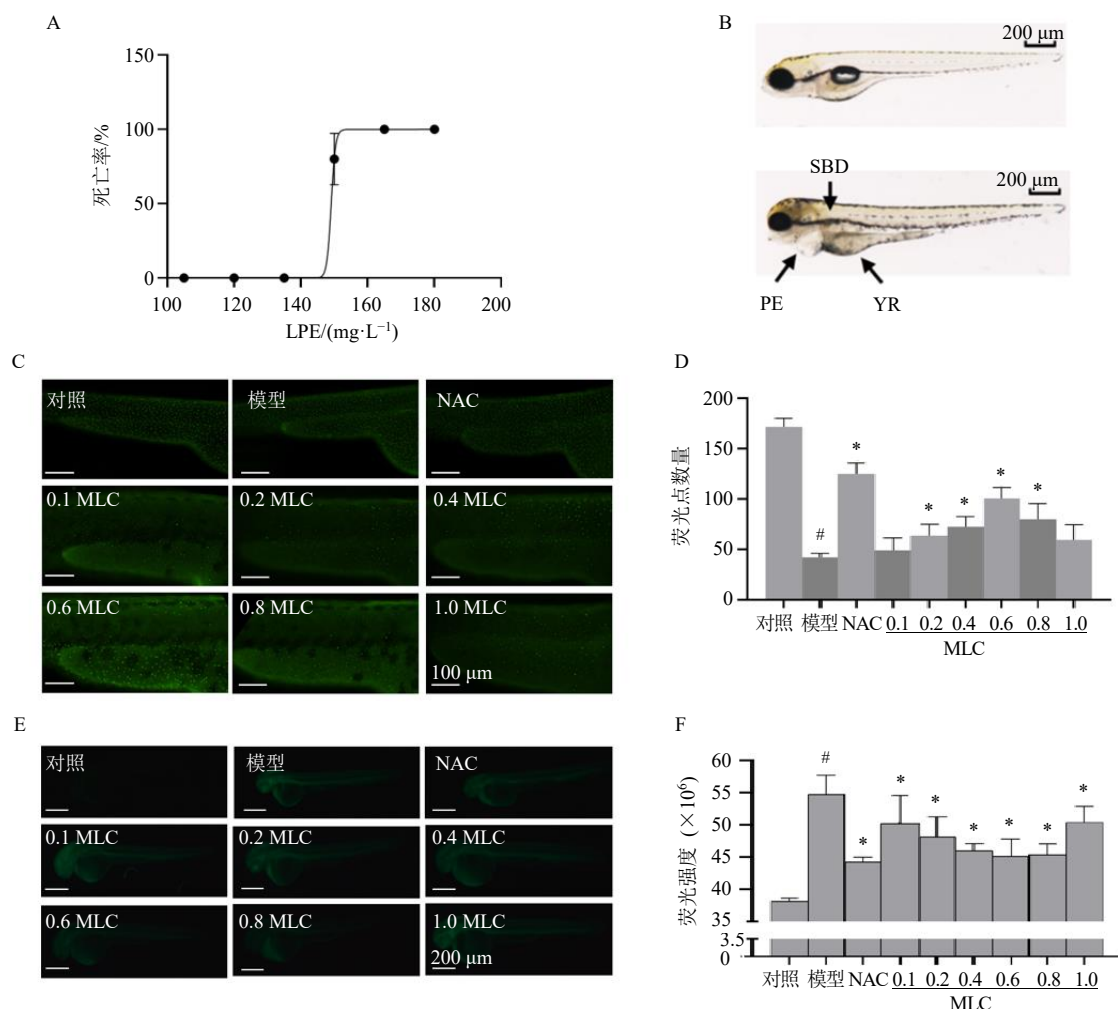
采用 AB 型斑马鱼对 LPE 的安全性进行评价。根据浓度-死亡率曲线(图 5-A), 测定 LPE 的 LC_{50} 值为 $144.941 \mu\text{g/mL}$, 利用 SPSS (Version 25.0) 计算得到 LPE 的最小致死量 MLC 值为 $118.251 \mu\text{g/mL}$ 。同时由化学物质对鱼类急性毒性危害分级标准(表 3)可知, LPE 属于低毒物质。在安全性剂量的基础上, 对 LPE 的斑马鱼毒性进行初步探索, 如图 5-B 所示, 当 LPE 给药剂量达到 MLC 时, 斑马鱼出现了卵黄吸收迟滞、心包水肿和鱼鳔消失等畸形, 说明当剂量过大时, LPE 对于斑马鱼卵黄、鱼鳔和心脏产生较严重急性毒性, 而产生毒性的作用机制, 有待进一步研究。

表 2 基于 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定的 LPE 的入血及入脑成分
Table 2 Blood-distributed and brain-distributed components of LPE identified by UPLC-Q-TOF-MS

编号	入血成分	入脑成分	分子式	<i>t</i> _R /min	理论值 (<i>m/z</i>)	实际值 (<i>m/z</i>)	误差 (×10 ⁻⁶)	二级碎片 (<i>m/z</i>)
1	对羟基苯甲酸	对羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	5.78	137.023 3	137.023 3	-0.021	136.861 7, 108.898 6, 92.918 8
					137.023 3	137.024 4	0.288	137.023 3, 109.028 3, 93.033 4
2	咖啡酸	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	8.54	179.033 8	179.033 8	-0.085	135.044 1
					179.033 8	179.033 8	-0.085	135.044 1, 121.607 7
3	异槲皮苷	异槲皮苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	9.86	463.087 1	463.088 8	3.752	408.246 8, 287.056 3, 259.061 2, 243.066 1, 165.019 5, 125.024 5
					463.087 1	463.088 3	2.629	445.119 9, 300.937 3, 283.018 5, 255.018 1, 179.837 0, 150.868 1, 301.072 3, 151.002 6
4	维采宁II	维采宁II	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	10.20	593.150 1	593.152 3	3.782	593.152 3, 473.108 9, 383.078 1, 353.067 3, 325.072 0
					593.150 1	593.150 9	1.422	575.136 1, 503.118 2, 473.109 0, 455.099 0, 383.077 2, 353.066 4, 325.071 9, 297.076 6
5	木犀草苷	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	15.83	447.092 1	447.093 6	3.293	300.000 5, 271.061 4, 227.070 7, 151.003 9
					447.092 1	447.093 0	1.996	429.122 2, 401.096 6, 284.990 7, 267.213 7, 241.001 4, 217.060 3, 150.826 9, 132.950 4
6	灯盏乙素	灯盏乙素	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	14.94	461.071 4	461.073 1	3.682	285.040 7, 267.029 7, 239.035 8, 113.024 7, 85.029 6
					461.071 4	461.072 1	1.492	285.040 2
7	灯盏花甲素	灯盏花甲素	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	16.14	445.076 5	445.078 1	3.645	269.045 7, 151.003 9
					445.076 5	445.077 7	2.611	399.076 0, 269.044 5, 241.053 6
8	迷迭香酸	迷迭香酸	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	16.79	359.076 1	359.125 4	3.498	315.135 7, 287.140 2, 271.144 7, 243.114 6, 197.045 5, 161.024 7, 135.045 4
					359.076 1	359.125 4	3.498	315.134 4, 299.673 4, 271.145 0, 243.113 6, 197.044 3, 179.033 9, 161.023 6
9	木犀草素	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	19.67	285.039 3	285.040 6	4.510	285.040 5, 199.040 3, 151.003 8, 133.028 7
					285.039 3	285.040 3	3.528	285.040 7, 199.038 1, 175.039 2, 151.002 5, 133.028 6
10	芹菜素	—	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	21.56	269.044 4	269.045 4	3.569	269.045 6, 251.167 3, 225.055 0, 201.055 8, 151.003 8, 117.034 8, 89.024 2
11	百里香新	百里香新	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	21.69	329.065 5	329.066 9	4.196	329.066 8, 314.043 5, 299.019 9, 271.024 7, 178.998 9, 151.045 5
					329.065 5	329.066 4	0.891	314.043 0, 299.019 4, 271.024 9, 151.002 2, 117.033 4
12	5,4'-二羟基-6,7,8-三甲氧基黄酮	5,4'-二羟基-6,7,8-三甲氧基黄酮	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	24.82	343.081 2	343.082 7	4.287	328.059 3, 313.035 7, 298.012 7, 241.050 9, 226.027 6
					343.081 2	343.082 1	2.596	343.192 1, 328.058 2, 313.035 2, 298.011 3, 270.017 0, 206.897 6
13	金丝桃苷	—	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	13.69	463.087 1	463.088 8	3.687	301.071 6, 287.056 3, 259.061 2
14	7-甲氧基木犀草素/— 5,6,7-三羟基-4'-甲氧基黄酮	—	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	21.85	299.055 0	299.056 1	3.897	284.032 7, 256.037 9, 149.097 4, 136.988 3

选择 MLC 为最大暴露剂量，并在后续抗氧化活性研究中设置了 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 倍 MLC 的浓度梯度。如图 5-C、D 所示，在甲硝唑诱导的 cy17 型转基因斑马鱼氧化应激损伤模型中，与对照组比较，模型组斑马鱼皮肤荧光点数显著降低 ($P<0.05$)，表明甲硝唑造成了 cy17 型转基因斑马鱼体内氧化应激损伤；与模型组比较，NAC 和 LPE (0.2、0.4、0.6、0.8 倍 MLC) 组斑马鱼皮肤荧光点数显著增加 ($P<0.05$)，表明 LPE 对斑马鱼的

氧化应激损伤有显著的改善作用。如图 5-E、F 所示，在 AAPH 诱导的 AB 型斑马鱼氧化应激损伤中，与对照组比较，模型组斑马鱼体内荧光强度显著升高 ($P<0.05$)，表明 AAPH 造成了 AB 型斑马鱼体内氧化应激损伤；与模型组比较，各给药组斑马鱼体内荧光强度显著降低 ($P<0.05$)，表明 LPE 对斑马鱼的氧化应激损伤有显著的改善作用。以上研究结果表明，LPE 可减轻甲硝唑和 AAPH 诱导的斑马鱼胚胎氧化损伤。



A-LPE 浓度-斑马鱼死亡率曲线; B-LPE 给药后斑马鱼胚胎形态学变化 (×100), SBD-鱼鳔变小甚至消失, YR-卵黄囊吸收迟滞, PE-心包水肿形态异常; C、D-LPE 改善甲硝唑诱导的 cy17 斑马鱼氧化应激损伤 (×200); E、F-LPE 改善 AAPH 诱导的 AB 型斑马鱼氧化应激损伤 (×100); 与对照组比较: #*P*<0.05; 与模型组比较: **P*<0.05。

A-LPE concentration-zebrafish mortality curve; B-after LPE administration, morphological changes of zebrafish embryos (× 100), SBD-swim bladder deficiency, YR-yolk retention, PE-pericardial edema; C, D-LPE improves metronidazole-induced oxidative stress damage in cy17 zebrafish (× 200); E, F-LPE improves AAPH-induced oxidative stress damage in AB type zebrafish (× 100); #*P*<0.05 vs control group; **P*<0.05 vs model group.

图 5 斑马鱼体内抗氧化药效评价 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 *In vivo* antioxidant efficacy evaluation in zebrafish ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 3 化学物质对鱼类急性毒性危害分级标准

Table 3 Hazard classification criteria for acute toxicity of chemical substances to fish

LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	急性毒性等级
≤1.0	极高毒
1~10	高毒
10~100	中毒
≥100	低毒

4 讨论

4.1 LPE 对 CIRI 的神经保护作用

本研究通过建立大鼠 tMCAO 模型, 系统评估了 LPE 对 CIRI 的保护作用及其机制。结果显示,

LPE 显著改善 tMCAO 模型大鼠神经功能缺损, 减少脑梗死体积, 并保护海马 CA1 区和皮质的神经元形态, 且呈剂量相关性, 为天然产物治疗脑缺血提供了重要依据。从神经功能保护角度来看, LPE 显著降低了神经功能评分, 这与 TTC 染色显示的脑梗死体积减少一致。尼氏染色结果显示 LPE 能有效保护海马 CA1 区神经元结构, 该区域对缺血高度敏感且与学习记忆功能密切相关^[23], 这一发现提示 LPE 可能对缺血后认知功能障碍具有潜在治疗价值。

4.2 LPE 的抗氧化作用机制及成分基础

在作用机制方面, 本研究揭示了 LPE 可能通过

调节氧化应激发挥神经保护作用。结果显示, LPE 显著提高了 tMCAO 模型大鼠脑组织 SOD 和 GSH-Px 活性, 同时降低 MDA 水平, 表明 LPE 能有效增强内源性抗氧化防御系统。SOD 作为清除超氧阴离子的关键酶, 其活性提高直接增强了 ROS 清除能力; 而 GSH-Px 活性的增强则有助于维持细胞氧化还原平衡。MDA 水平的下降则直接印证了 LPE 对脂质过氧化的抑制作用。然而, CIRI 涉及多通路机制。本研究证实 LPE 具有显著抗氧化作用, 而文献报道其成分(如木犀草素^[24]、迷迭香酸^[25]、萜类^[26])能有效抑制核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 炎症通路及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cysteine-aspartate protease-3, Caspase-3) 凋亡信号通路, 提示 LPE 可能通过多靶点(抗氧化、抗炎、抗凋亡)协同发挥神经保护效应。与 PRF 相比, LPE 作为粗提物保留了更为丰富的成分谱系, 各成分间的协同效应可能是其发挥独特药效优势的基础。

本研究对 LPE 的入血及入脑的成分进行了深入研究。UPLC-Q-TOF-MS 分析显示, 异槲皮苷、木犀草素和迷迭香酸等成分可进入血液循环, 其中异槲皮苷和木犀草素还能透过血脑屏障。黄酮类化合物的 $C_2=C_3$ 双键和 4-羰基结构可增强其电子离域能力, 从而提高自由基清除效率^[27]。此外, 3',4'-邻二羟基(儿茶酚结构)的存在使其能够螯合过渡金属离子(如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+}), 从而抑制铁催化的过氧化反应介导的氧化损伤^[28-29]。相比之下, 未能入脑的芹菜素和 7-甲氧基木犀草素可能因缺乏足够的羟基取代或甲氧基修饰导致极性降低, 从而增加血浆蛋白结合率。而金丝桃苷虽具有糖苷结构, 但其较大的相对分子质量和 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp) 外排作用可能限制其脑部递送^[30]。

LPE 在 DPPH、ABTS 自由基清除以及铁离子还原能力实验中均表现出显著的抗氧化能力。LPE 的自由基清除能力与其富含的多酚类成分(如槲皮素、迷迭香酸等)密切相关。这些成分通过提供氢原子或电子中和自由基, 从而阻断氧化链式反应。此外, LPE 的铁还原能力表明其可能通过还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} , 破坏了金属络合反应, 减少自由基的生成, 进一步减轻氧化应激损伤。

本研究采用 AB 型斑马鱼对 LPE 的安全性进行评价, 发现 LPE 的 LC_{50} 大于 100 mg/L, 为低毒物质。当给药剂量达到 MLC (118.251 mg/L) 时, LPE 产生较严重毒性, 表现为卵黄吸收迟滞、心包

水肿和鱼鳃消失等畸形, 这与过量异甘草素对 AB 型斑马鱼产生的毒性类似, 表明过量的黄酮类化合物可能是导致 LPE 产生毒性的原因之一, 而产生毒性的作用机制有待进一步研究^[31]。在 AAPH 诱导的 AB 型和甲硝唑诱导的 cy17 型转基因斑马鱼氧化应激损伤评价模型中, LPE 呈现较好的抗氧化活性。当给药剂量过大时(浓度大于 0.6 MLC), LPE 的抗氧化活性呈现出下降趋势, 这可能与过大剂量的黄酮类成分有关, 其作用机制可能涉及清除自由基和减轻氧化损伤。在甲硝唑诱导的 cy17 型斑马鱼模型中, LPE 处理显著增加了皮肤荧光点数, 提示其可能通过增强抗氧化防御系统发挥作用; 而在 AAPH 诱导的 AB 型斑马鱼模型中, LPE 则显著降低了 ROS 水平, 表明其具有直接的自由基清除能力。采用 NAC 作为阳性对照验证了模型系统的可靠性, 且 LPE 的抗氧化效应呈剂量相关性, 这为后续研究提供了合理的剂量参考。这些发现不仅证实了 LPE 的抗氧化潜力, 也为其在抗氧化剂开发中的应用提供了科学依据。

综上, 本研究通过大鼠 CIRI 模型和斑马鱼氧化应激损伤模型, 系统评价了 LPE 的药效作用。结果表明, LPE 能够显著改善 CIRI 大鼠的神经功能损伤, 减少脑梗死体积, 并具有显著的抗氧化活性。同时, 在斑马鱼模型中, LPE 展现出良好的抗氧化活性, 能够降低 ROS 水平, 提高抗氧化酶活性, 减轻氧化损伤。初步推测黄酮类和酚类化合物为 LPE 的药效成分, 其可能作用于抗氧化和细胞凋亡相关靶点, 并发现部分成分具有较好的血脑屏障穿透性。地椒具有开发为脑部疾病治疗药物的潜力, 未来的研究将进一步深入探讨其作用机制和优化药物制剂。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Campbell B C. Hyperacute ischemic stroke care-Current treatment and future directions [J]. *Int J Stroke*, 2024, 19(7): 718-726.
- [2] Sun J, Chen X Y, Wang Y R, *et al.* Neuroprotective effects of Longxue Tongluo Capsule on ischemic stroke rats revealed by LC-MS/MS-based metabolomics approach [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(3): 430-438.
- [3] Liu X Y, Xie C M, Wang Y, *et al.* Ferritinophagy and ferroptosis in cerebral ischemia reperfusion injury [J]. *Neurochem Res*, 2024, 49(8): 1965-1979.
- [4] Baranovicova E, Kalenska D, Kaplan P, *et al.* Blood and brain metabolites after cerebral ischemia [J]. *Int J Mol Sci*,

- 2023, 24(24): 17302.
- [5] 黄安岑, 周颖, 王韵烨, 等. 红花黄色素对大鼠脑缺血再灌注损伤及 PI3K/AKT 通路的影响 [J]. 成都医学院学报, 2025, 20(3): 387-390.
- [6] 许啸, 王小萍, 沈蒙, 等. 地椒中醌类和酚苷类新化合物 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1171-1174.
- [7] He T, Li X, Wang X P, *et al.* Chemical composition and anti-oxidant potential on essential oils of *Thymus quinquecostatus* Celak. from Loess Plateau in China, regulating Nrf2/Keap1 signaling pathway in zebrafish [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 11280.
- [8] 常小强, 马悦, 孙鹏, 等. 地椒中 1 个新的二氢黄酮化合物 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(1): 125-129.
- [9] Fan S S, Liu X Y, Wang Y, *et al.* *Thymus quinquecostatus* Celak. ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury via dual antioxidant actions: Activating Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathway and directly scavenging ROS [J]. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153673.
- [10] Liu X Y, Ren X Y, Li R W, *et al.* Integrated pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling and metabolomic research on polyphenol-rich fraction of *Thymus quinquecostatus* Celak. Alleviating cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 330: 118229.
- [11] Yan X, Wang Y, Ren X Y, *et al.* Gut dysbiosis correction contributes to the hepatoprotective effects of *Thymus quinquecostatus* Celak extract against alcohol through the gut-liver axis [J]. *Food Funct*, 2021, 12(20): 10281-10290.
- [12] Zhong X J, Song R L, Shan D J, *et al.* Discovery of hepatoprotective activity components from *Thymus quinquecostatus* Celak. by molecular networking, biological evaluation and molecular dynamics studies [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 140: 106790.
- [13] Peng X Y, Zhang X W, Sharma G, *et al.* Thymol as a potential neuroprotective agent: Mechanisms, efficacy, and future prospects [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(13): 6803-6814.
- [14] 侯宝龙, 李茂浩. 地椒草精油体外抗炎和抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(9): 1679-1688.
- [15] OECD guidelines for the testing of chemicals, section 2: Effects on biotic systems test No. 236: fish embryo acute toxicity (FET) test [S]. 2013: 1-24.
- [16] 范书生, 隋宏, 陈晓怡, 等. 百里香酚类部位 HPLC 和 UV-Vis 法含量测定方法研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2019, 42(10): 854-861.
- [17] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [18] 范书生, 王乐, 王秀环, 等. 桑叶抗氧化活性与芦丁量效关系分析 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 783-787.
- [19] Li A L, Shen T, Wang T, *et al.* Novel diterpenoid-type activators of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway and their regulation of redox homeostasis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 141: 21-33.
- [20] Yao J L, Li X X, Li M X, *et al.* A bibliometric analysis of lipid peroxidation in alcoholic liver disease from 2001 to 2024 [J]. *Food Med Homol*, 2024, 1(1): 9420009.
- [21] 刘佳人, 徐兴军, 康文锦, 等. 蒲公英黄酮对 ICR 小鼠体内抗氧化酶活性及相关基因表达的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2022, 41(1): 41-48.
- [22] Harmon J S, Bogdani M, Parazzoli S D, *et al.* Beta-Cell-specific overexpression of glutathione peroxidase preserves intranuclear MafA and reverses diabetes in db/db mice [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(11): 4855-4862.
- [23] 黄新磊, 苏芑, 王兴仪, 等. 微管细胞骨架在小鼠脑缺血/再灌注超急性期海马 CA1 区组织中的表达及意义 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2023, 44(1): 86-93.
- [24] Wei J P, Zhao B, Jiang Z J, *et al.* Luteolin mitigates renal ischemia-reperfusion injury via anti-inflammatory, anti-apoptotic, and Nrf2/HO-1-mediated antioxidant effects [J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 999: 177676.
- [25] Luo C X, Zou L, Sun H J, *et al.* A review of the anti-inflammatory effects of rosmarinic acid on inflammatory diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 153.
- [26] Kou R W, Xia B, Wang Z J, *et al.* Triterpenoids and meroterpenoids from the edible *Ganoderma resinaceum* and their potential anti-inflammatory, antioxidant and anti-apoptosis activities [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 121: 105689.
- [27] Zheng Y Z, Deng G, Guo R, *et al.* Theoretical insight into the antioxidative activity of isoflavonoid: The effect of the C₂=C₃ double bond [J]. *Phytochemistry*, 2019, 166: 112075.
- [28] Amić A N, Mastiljak Cagardová D, Milanović Ž. Theoretical study of antioxidant and prooxidant potency of protocatechuic aldehyde [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(1): 404.
- [29] Li X Y, Gao P, Tan J Y, *et al.* Assembly of metal-phenolic/catecholamine networks for synergistically anti-inflammatory, antimicrobial, and anticoagulant coatings [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(47): 40844-40853.
- [30] Pathan N, Shende P. Tailoring of P-glycoprotein for effective transportation of actives across blood-brain-barrier [J]. *J Control Release*, 2021, 335: 398-407.
- [31] Song Z Z, Zhang Y, Zhang H Z, *et al.* Isoliquiritigenin triggers developmental toxicity and oxidative stress-mediated apoptosis in zebrafish embryos/larvae via Nrf2-HO1/JNK-ERK/mitochondrion pathway [J]. *Chemosphere*, 2020, 246: 125727.

[责任编辑 李亚楠]