

大豆异黄酮对缺血性脑卒中的保护作用及机制

张月¹, 金畅¹, 李冰¹, 程志锋¹, 王晶², 郑梅竹^{2*}

1. 长春师范大学生命科学学院, 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** 研究大豆异黄酮对缺血性脑卒中的保护作用及潜在作用机制。**方法** 从大豆 *Glycine max* 中分离大豆异黄酮并进行成分分析。构建氧糖剥夺/再灌注 (oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R) 诱导的 PC12 细胞模型, 考察大豆异黄酮对细胞存活率、迁移能力、凋亡及细胞内 Ca^{2+} 、活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 水平和 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 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) 通路相关蛋白表达的影响。采用双侧颈总动脉结扎法建立大鼠全脑缺血再灌注损伤模型, 考察大豆异黄酮对神经功能评分、脑组织含水量、脑梗死体积占比、脑组织病理变化及脑组织超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、LDH 活性、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平和 Keap1/Nrf2 通路相关蛋白表达的影响。**结果** 体外实验结果显示, 与模型组比较, 大豆异黄酮显著提高细胞存活率和迁移率 ($P < 0.05$ 、 0.01), 降低细胞凋亡率和细胞内 Ca^{2+} 、ROS、LDH、Caspase-3 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 上调 Nrf2、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、醌氧化还原酶 1 [NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1] 的蛋白表达 ($P < 0.01$), 下调 Keap1 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.01)。体内实验结果显示, 与模型组比较, 大豆异黄酮显著改善大鼠神经功能缺损、减轻脑水肿及梗死体积 ($P < 0.01$), 修复脑组织病理损伤, 降低脑组织内 MDA 水平和 LDH 活性 ($P < 0.01$), 提高脑组织内 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性 ($P < 0.01$), 上调脑组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白表达 ($P < 0.01$), 下调脑组织 Keap1 蛋白表达 ($P < 0.01$)。**结论** 大豆异黄酮对缺血性脑卒中有显著的神经保护作用, 其机制可能与通过激活 Keap1/Nrf2 通路, 增强机体抗氧化能力、抑制氧化应激损伤、减少神经细胞凋亡及减轻脑组织损伤有关。

关键词: 缺血性脑卒中; 大豆异黄酮; Keap1/Nrf2 通路; 氧化应激; 凋亡; 大豆苷; 黄豆黄苷; 染料木苷; 乙酰黄豆苷; 乙酰基苷; 丙二酰染料木苷; 乙酰染料木苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)15-5942-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.014

Protective effect and mechanism of soybean isoflavones on ischemic stroke

ZHANG Yue¹, JIN Chang¹, LI Bing¹, CHENG Zhifeng¹, WANG Jing², ZHENG Meizhu²

1. School of Life Sciences, Changchun Normal University, Changchun 130032, China

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

Abstract: Objective To study the protective effect and potential mechanism of soybean isoflavones (SI) on ischemic stroke. **Methods** SI were isolated from soybeans and components were analyzed. An oxygen glucose deprivation/reperfusion (OGD/R)-induced PC12 cells model was constructed to investigate the effect of SI on cell survival, migration ability, apoptosis, intracellular Ca^{2+} , reactive oxygen species (ROS), lactate dehydrogenase (LDH), cysteine aspartate protease-3 (Caspase-3) levels, and expressions of Kelch-like ECH associated protein 1 (Keap1)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) pathway related proteins. A rat model of global cerebral ischemia-reperfusion injury was established using bilateral common carotid artery ligation. The effect of SI on neurological function score, brain tissue water content, proportion of cerebral infarction volume, pathological changes, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), LDH activities, malondialdehyde (MDA) level, and expressions of Keap1/Nrf2

收稿日期: 2026-02-28

基金项目: 吉林省自然科学基金资助项目 (20260102166JC); 长春师范大学研究生创新项目 (YJSCX2025119)

作者简介: 张月, 硕士研究生, 从事天然产物及神经退行性疾病的研究。E-mail: 15942907284@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的研究。E-mail: zhengmz605@ccsfu.edu.cn

pathway related proteins in brain tissue were investigated. **Results** *In vitro* experiments showed that compared with model group, SI significantly increased cell survival rate and migration rate ($P < 0.05, 0.01$), decreased cell apoptosis rate and intracellular Ca^{2+} , ROS, LDH, Caspase-3 levels ($P < 0.05, 0.01$), upregulated Nrf2, heme oxygenase-1 (HO-1), NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1) protein expressions ($P < 0.01$), and downregulated Keap1 protein expression ($P < 0.05, 0.01$). *In vivo* experiments, compared with model group, SI significantly improved neurological deficits, reduced brain edema and infarct volume in rats ($P < 0.01$), repaired brain tissue pathological damage, reduced MDA level and LDH activity in brain tissue ($P < 0.01$), increased SOD, CAT and GSH-Px activities in brain tissue ($P < 0.01$), upregulated Nrf2, HO-1 and NQO1 protein expressions in brain tissue ($P < 0.01$), and downregulated Keap1 protein expression in brain tissue ($P < 0.01$). **Conclusion** SI have a significant neuroprotective effect on ischemic stroke, which may be related to the activation of Keap1/Nrf2 pathway, enhancing the antioxidant capacity of body, inhibiting oxidative stress damage, reducing neuronal apoptosis and alleviating brain tissue damage.

Key words: ischemic stroke; soybean isoflavones; Keap1/Nrf2 pathway; oxidative stress; apoptosis; daidzin; glycitin; genistin; acetyl daidzin; acetyl glycoside; malonyl genistin; acetyl genisti

缺血性脑卒中是全球范围内导致神经系统疾病相关死亡的主要原因之一，在我国居民死因构成中高居首位^[1-2]。近年研究证实，缺血性脑卒中的病理损伤主要归因于谷氨酸兴奋性毒性、钙离子蓄积、氧化应激、细胞凋亡及炎症等机制^[3-6]。Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 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) 信号通路是维持机体氧化还原平衡的关键通路^[7]。药物治疗是缺血性脑卒中的主要干预手段之一，其核心作用在于促进脑部血液循环与保护神经细胞。然而，长期应用合成类药物易引发多种不良反应。例如，华法林作为抗凝药物在临床应用中有严格的适应证，尿激酶、阿替普酶等溶栓药物则具有严格的治疗时间窗限制。尽管此类药物可改善脑部供血，但尿激酶与华法林在使用过程中可能显著增加卒中后出血风险；阿替普酶亦存在诱发或加重脑组织水肿的潜在风险，一定程度上限制了其临床安全应用^[8]。因此，开发兼具经济性、安全性及高效性的治疗药物已成为当前研究的迫切需求。

大量研究证实，植物来源的药物及其生物活性成分在缺血性脑卒中治疗方面展现出显著潜力^[9]。大豆异黄酮是豆科植物中典型的异黄酮类活性成分，因其结构与雌二醇相似，具备雌激素样活性，在食品与健康领域应用广泛。大豆异黄酮相对分子质量适中、脂溶性适宜，能够以原型成分穿透血脑屏障进入脑组织^[10-12]，这为其在脑内发挥神经保护作用提供了结构基础，也为本研究开展体外细胞实验提供了重要前提。研究表明，大豆异黄酮具有多种生理功能，包括调节血糖血脂、缓解氧化应激、

发挥神经保护作用^[13-15]等，但其确切的神经保护机制目前尚未阐明。本研究首先分离大豆异黄酮，采用高效液相色谱-二极管阵列检测器-质谱联用技术 (HPLC-DAD-MS) 对大豆异黄酮进行成分鉴定；通过构建氧糖剥夺/再灌注 (oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R) 诱导的 PC12 细胞模型，以及采用双侧颈总动脉结扎法建立大鼠全脑缺血再灌注损伤模型，系统评估大豆异黄酮在体外与体内对缺血性脑卒中的保护作用及其机制，为阐明大豆异黄酮抗脑卒中的药效基础与分子机制提供实验依据，为其在功能食品及保健品领域的开发提供科学依据。

1 材料

1.1 细胞与动物

PC12 细胞 (批号 GNM15) 购自中国科学院生物化学与细胞生物研究所。

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 40 只，8 周龄，体质量 260~300 g，购自长春生物制品研究所生产管理中心，合格证号 SCXD (吉) 2001-0003。动物饲养于 12 h 明暗交替，相对湿度 50%~55% 的环境中，自由摄食饮水。动物实验经长春师范大学动物伦理委员会批准 (批准号 2025003)。

1.2 药品与试剂

大豆 (批号 20250301) 购自同仁堂长春店，经长春师范大学刘春明教授鉴定为豆科植物大豆 *Glycine max* (L.) Merr. 的种子；甲醇 (色谱级，批号 984503)、依达拉奉 (批号 M70800，质量分数 ≥99%) 购自美国赛默飞世尔科技公司；超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (批号 A001-3-1)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 试剂盒 (批号 A005-1-1)、丙二醛

(malondialdehyde, MDA) 试剂盒(批号 A003-1-1) 购自南京建成生物工程研究所; 过氧化氢酶(catalase, CAT) 试剂盒(批号 A007-1-1)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH) 试剂盒(批号 C0018S)、活性氧(reactive oxygen species, ROS) 试剂盒(批号 A47250430)、钙离子荧光探针(Fluo-3 AM, 批号 S1056)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 检测试剂盒(批号 031819190514)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号 P0010)、IP 细胞裂解液(批号 P0013)、凋亡检测试剂盒(批号 A461260121) 购自上海碧云天生物技术公司; EBSS 缓冲液(批号 CC0048) 购自北京雷根生物技术有限公司; Keap1 抗体(批号 ab227828)、HO-1 抗体(批号 ab52947)、醌氧化还原酶 1[NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1] 抗体(批号 ab80588)、 β -actin 抗体(批号 ab115777) 购自英国 Abcam 公司; Nrf2 抗体(批号 12721T) 购自美国 CST 公司; HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 4006027178) 购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 仪器

EXL808 型多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); MIR-162 型 CO₂ 培养箱(日本 SANYO 公司); FACS Calibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司); LTQ 离子阱质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CKX53 型倒置生物显微镜、IX73 型倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司); PowerPac Basic 电泳仪电源、Mini-PROTEAN Tetra 小型垂直电泳槽(美国 Bio-Rad 公司); BSA224S 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司)。

2 方法

2.1 大豆异黄酮的提取与成分分析

2.1.1 大豆异黄酮的提取 参考石文茜等^[16]的方法, 称取 10 g 大豆, 加入 100 mL 65%乙醇进行回流提取, 2 h/次, 重复提取 2 次, 合并 2 次滤液, 浓缩, 以甲醇定容至 10 mL, 经 0.45 μ m 滤膜滤过后, 采用 HPLC-DAD-MS 进行成分分析。

2.1.2 色谱条件 采用 C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0~10 min, 90%~82%B; 10~13 min, 82%~80%B; 13~30 min, 80%~60%B; 30~40 min, 60%~50%B; 体积流量 1.0 mL/min;

进样量 10 μ L, 检测波长 254 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C^[17]。

2.1.3 质谱条件 质谱二极管阵列探测器(DAD) 通过三通阀与质谱仪相连, 采用电喷雾电离源(ESI), 正离子模式下扫描, 扫描范围 m/z 50~1 000; 离子源喷雾电压 4.5 kV; 鞘气为氮气, 体积流量 20 L/min; 离子阱压力 31 kPa; 金属毛细管温度 250 $^{\circ}$ C; 电压 20 V。ESI-MSⁿ 的分辨率为 1.0, 碰撞诱导解离碰撞能量为 20%~30%^[18]。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养 PC12 细胞用含 10%胎牛血清、1%双抗的培养基, 于 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 的培养箱中培养, 待细胞贴壁生长约 80%时, 进行传代培养^[19]。

2.2.2 大豆异黄酮对 PC12 细胞活力的影响 PC12 细胞以 9×10^4 个/mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中孵育 24 h。分别加入不同质量浓度(140、280、560、1 120、2 240 μ g/mL)的大豆异黄酮干预 24 h, 对照组加入不含药物的培养基, 另设置未接种细胞的空白孔。每孔避光加入 10 μ L MTT 溶液(5 g/L), 孵育 4 h, 弃去上清, 每孔加入 100 μ L 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO), 采用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度(A)值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.2.3 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞活力的影响 取对数生长期的 PC12 细胞以 9×10^4 个/mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中孵育 24 h。设置对照组、模型组、依达拉奉(10 μ g/mL)组和大豆异黄酮(140、280、560 μ g/mL)组。对照组加入培养基常规培养; 模型组加入 100 μ L 含 10 mmol/L Na₂S₂O₄ 的无葡萄糖 EBSS 缓冲液处理细胞 2 h, 然后更换为正常培养基常规培养 24 h, 建立 OGD/R 损伤模型^[20]; 各给药组加入 100 μ L 含 10 mmol/L Na₂S₂O₄ 的无葡萄糖 EBSS 缓冲液处理细胞 2 h, 然后更换为含不同质量浓度药物的正常培养基常规培养 24 h。每孔避光加入 10 μ L MTT 溶液(5 g/L), 孵育 4 h, 弃去上清, 每孔加入 100 μ L 二甲基亚砜, 采用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度(A)值, 计算细胞存活率。

2.2.4 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞内 Ca²⁺含量的影响 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后, 加入含 2.5 μ mol/L Fluo-3AM 荧光探针的培养基, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中孵育 1 h。洗涤细胞, 采用荧光显微镜检测细胞内 Ca²⁺水平,

激发波长和发射波长分别设置为 488、530 nm。

2.2.5 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞内 ROS 水平的影响 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后,加入含 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 探针的无血清培养基,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中孵育 20 min。洗涤细胞,去除残留的无血清培养基,采用荧光酶标仪检测细胞内 ROS 水平。

2.2.6 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞内 LDH 释放量的影响 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后,按照试剂盒说明书检测 LDH 的释放量。

2.2.7 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞内 Caspase-3 水平的影响 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后,按照试剂盒说明书检测 Caspase-3 的释放量。

2.2.8 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞凋亡的影响 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后,按照凋亡测定试剂盒说明书,通过流式细胞仪检测细胞的凋亡情况,采用 FlowJo 10.6.2 软件分析凋亡细胞比例。

2.2.9 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞迁移能力的影响 预先在 6 孔板底面用记号笔绘制间隔为 0.5 cm 的 3 条平行线以划定观察区域。以 5×10^5 个/mL 的密度接种细胞,细胞形成单层后利用移液器尖端制造直线划痕,用 PBS 清洗后于 0、24 h 在显微镜下拍摄图像,并通过测量划痕宽度的变化进行定量分析,计算细胞迁移率。

细胞迁移率=(0h 划痕宽度-24h 划痕宽度)/0h 划痕宽度

2.2.10 Western blotting 检测 Nrf2、Keap1、HO-1 和 NQO1 蛋白表达 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后,收集细胞,加入裂解液,于冰上裂解 20 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、13 000 $\times g$ 离心 5 min 后,收集上清液,采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,加入 5% 脱脂牛奶于室温孵育 1 h,分别加入 NQO1 (1:400)、Nrf2 (1:1 000)、Keap1 (1:1 000)、HO-1 (1:1 000)、 β -actin (1:1 000) 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;洗涤后,加入二抗 (1:1 000),室温孵育 1 h,加入 ECL 化学发光试剂显影,通过 Image J 软件分析条带灰度值。

2.3 体内实验

2.3.1 动物分组、造模与给药 40 只雄性 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、大豆异黄酮 (100 mg/kg) 组和依达拉奉 (10 mg/kg) 组,每组 10 只。

采用双侧颈总动脉结扎法建立大鼠全脑缺血再灌注损伤模型。大鼠 ip 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉后固定,行颈部正中切口约 3 cm,分离并夹闭双侧颈总动脉 1 h,松开动脉夹恢复血流后缝合伤口;假手术组仅分离暴露颈总动脉,不实施血管夹闭操作。术中持续监测并维持大鼠直肠温度于 (37.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。再灌注 2 h 时采用改良神经功能缺损评分法筛选造模大鼠,评分 ≥ 2 判定为模型构建成功,剔除造模失败个体后开始给药。各给药组 ip 相应药物 (10 mL/kg),假手术组和模型组 ip 等体积的生理盐水,1 次/d,连续给药 5 d。

2.3.2 神经功能评分测定 参照改良神经功能缺损评分法,于再灌注 24 h 和末次给药后评估大鼠自发活动、对称性运动、翻正反射、前肢伸展、攀爬能力及行为表现,分值越高提示神经功能缺损越严重^[21]。

2.3.3 脑组织含水量测定 末次给药后安乐死大鼠,立即取脑组织,摘除嗅球、小脑和脑干,称定质量,即湿质量。将脑组织置于 110 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中干燥 48 h,称定质量,即干质量。计算脑组织含水量。

脑组织含水量=(湿质量-干质量)/湿质量

2.3.4 TTC 染色法测量脑梗死面积 取脑组织,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水中,摘除嗅球、小脑和脑干,于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 10 min,平均冠状切片 (4 刀共 5 片),迅速放入 2% TTC 染色液中染色。37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 20 min,缺血部分不着色,不缺血部分呈玫瑰红。采用数码相机拍照,用 BI-2000 型医学图像分析系统统计梗死区面积,计算脑梗死体积占比。

脑梗死体积占比=梗死区面积/全脑切片总面积

2.3.5 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察脑组织病理形态 取脑组织 (摘除嗅球、小脑和脑干),经 4% 多聚甲醛固定后,进行石蜡包埋,连续切片 (厚度 5 μm),经常规 HE 染色处理后,通过光学显微镜观察脑组织病理变化。

2.3.6 脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT、LDH 活性及 MDA 水平的检测 取脑组织 (摘除嗅球、小脑和脑干),于冰上精细切碎后,加入预冷的生理盐水进行组织匀浆,将匀浆液在 3 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,按照试剂盒说明书测定 SOD、GSH-Px、CAT、LDH 活性及 MDA 水平。

2.3.7 Western blotting 检测 Nrf2、Keap1、HO-1 和

NQO1 蛋白表达 取脑组织（摘除嗅球、小脑和脑干），于冰上精细切碎后，加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解缓冲液，提取总蛋白，通过 BCA 法进行蛋白定量。按“2.2.10”项下方法检测 Nrf2、Keap1、HO-1 和 NQO1 蛋白表达。

2.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9 软件进行统计分析，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，通过 t 检验评估各组间差异的显著性。

3 结果

3.1 大豆异黄酮的成分分析

如图 1 和表 1 所示，从大豆异黄酮中共鉴定出 7 种异黄酮类化合物，包括大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、乙酰黄豆苷、6''-O-乙酰黄豆苷、丙二酰染料木苷和乙酰染料木苷。

3.2 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导 PC12 细胞的影响

3.2.1 大豆异黄酮对 PC12 细胞存活率的影响 如图 2 所示，140~1 120 $\mu\text{g/mL}$ 大豆异黄酮干预 PC12

细胞 24 h，对细胞存活率无明显影响；2 240 $\mu\text{g/mL}$ 大豆异黄酮显著降低细胞存活率（ $P<0.05$ ）。因此选择 140、280、560 $\mu\text{g/mL}$ 大豆异黄酮进行后续实验。

3.2.2 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞形态的影响 如图 3 所示，对照组细胞状态良好，数量较多，结构完整；模型组细胞则出现明显损伤，

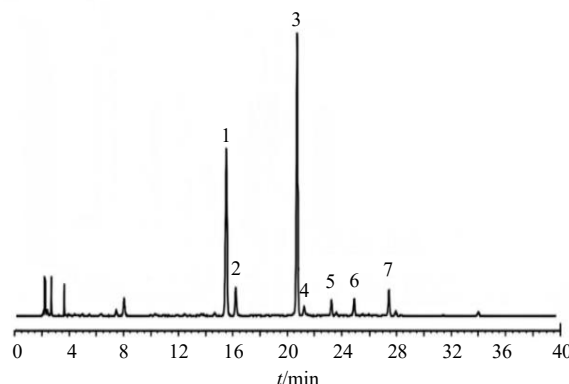


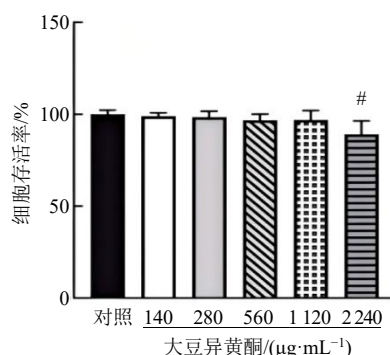
图 1 大豆异黄酮的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of soybean isoflavones

表 1 大豆异黄酮的成分分析

Table 1 Components analysis of soybean isoflavones

峰号	t_R/min	离子模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	化合物
1	15.4	$[\text{M}+\text{H}]^+$	417.118 6	417.116 7	-4.56	255.548 7, 137.269 5	大豆苷
2	16.2	$[\text{M}+\text{H}]^+$	447.129 1	447.127 7	-3.13	285.173 2, 270.346 2	黄豆黄苷
3	20.7	$[\text{M}+\text{H}]^+$	433.113 5	433.110 7	-6.46	271.369 4, 153.445 1	染料木苷
4	21.4	$[\text{M}+\text{H}]^+$	459.129 1	459.126 9	-4.79	255.101 1	乙酰黄豆苷
5	23.3	$[\text{M}+\text{H}]^+$	489.139 7	489.138 9	-1.64	285.161 3	6''-O-乙酰黄豆苷
6	25.2	$[\text{M}+\text{H}]^+$	519.113 9	519.117 8	7.51	271.146 3, 215.224 1, 197.179 3, 153.056 9	丙二酰染料木苷
7	27.5	$[\text{M}+\text{H}]^+$	475.124 0	475.121 7	-4.84	271.623 7	乙酰染料木苷



与对照组比较：# $P<0.05$ 。

$P<0.05$ vs control group.

图 2 不同质量浓度大豆异黄酮对 PC12 细胞存活率的影响
($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 Effect of different concentrations of soybean isoflavones on survival rate of PC12 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表现为细胞数量减少、胞体皱缩及突触连接减少；与模型组比较，各给药组活细胞数量增加，细胞形态趋于正常，损伤程度减轻。

3.2.3 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞存活率及细胞内 Ca^{2+} 、ROS、LDH、Caspase-3 水平的影响 如图 4 所示，与对照组比较，模型组细胞存活率显著降低（ $P<0.01$ ），细胞内 Ca^{2+} 、ROS、LDH、Caspase-3 水平显著升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，各给药组细胞存活率显著升高（ $P<0.05、0.01$ ），细胞内 Ca^{2+} 、ROS、Caspase-3 水平显著降低（ $P<0.05、0.01$ ），依达拉奉组和大豆异黄酮（280、560 $\mu\text{g/mL}$ ）组细胞内 LDH 水平显著降低（ $P<0.01$ ），且呈剂量相关性，表明大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞应激和凋亡具有保护作用。

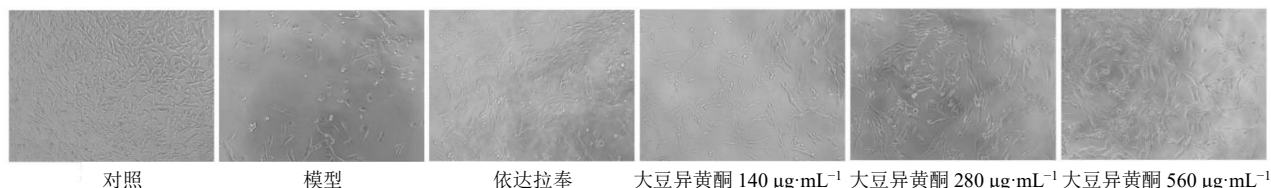
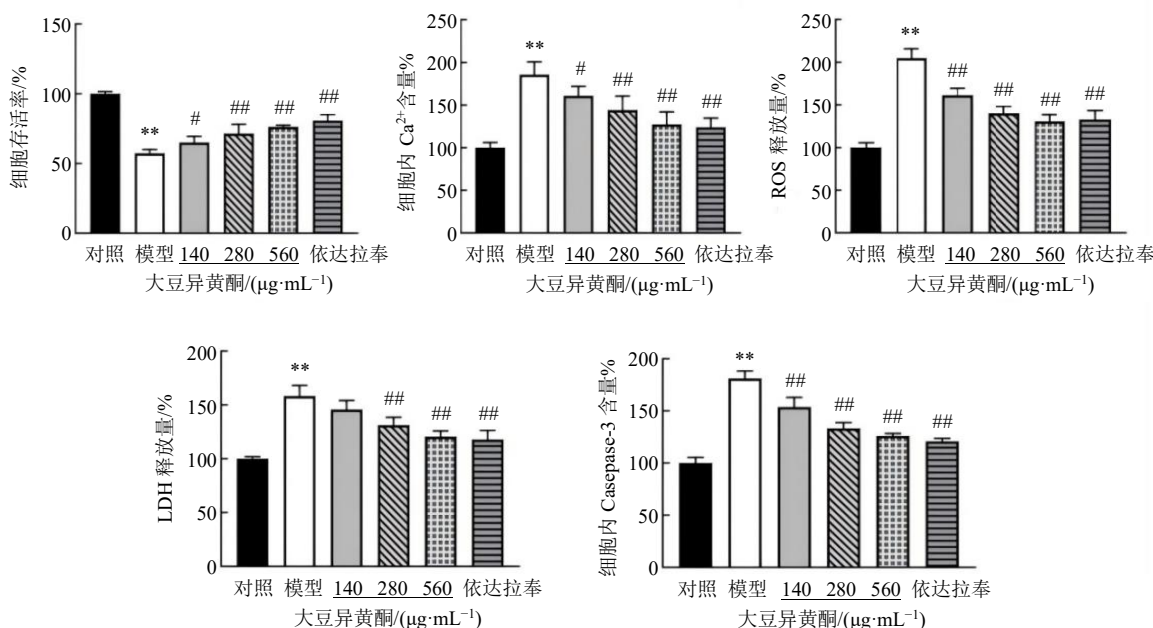


图3 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞形态的影响 (×200)

Fig. 3 Effect of soybean isoflavones on morphology of PC12 cells induced by OGD/R (×200)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 图 5~7 同。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as Figs. 5—7.

图4 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞存活率及细胞内 Ca²⁺、ROS、LDH、Caspase-3 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of soybean isoflavones on survival rate and intracellular Ca²⁺, ROS, LDH, Caspase-3 levels of PC12 cells induced by OGD/R ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.2.4 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞凋亡的影响 如图 5 所示,与对照组比较,模型组细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.01$),且呈剂量相关性。

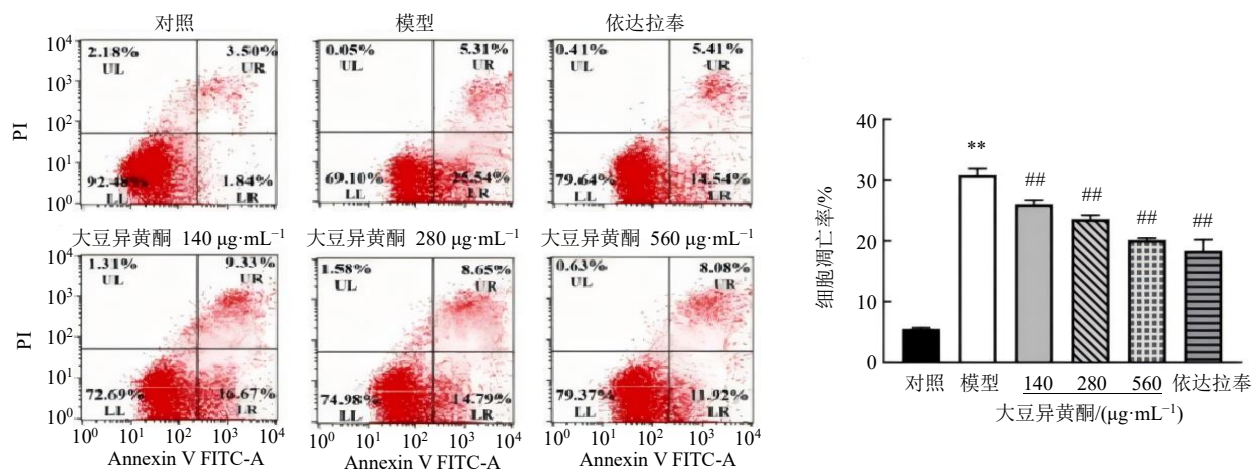
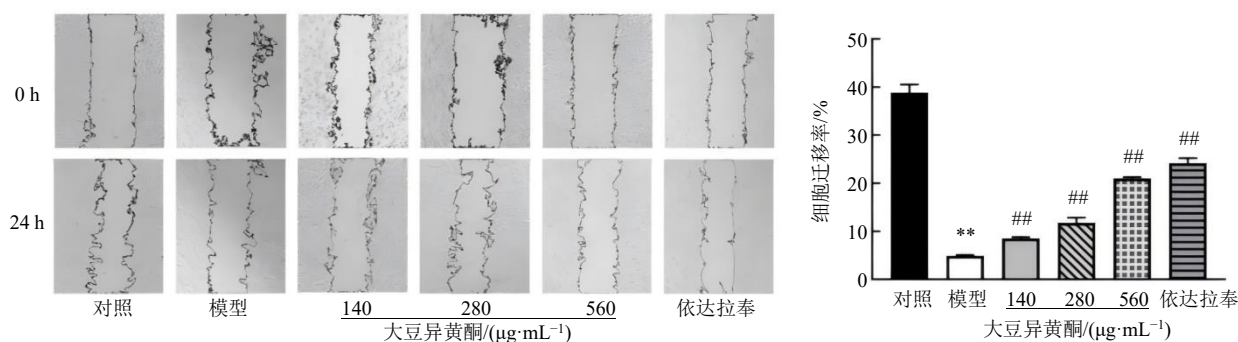
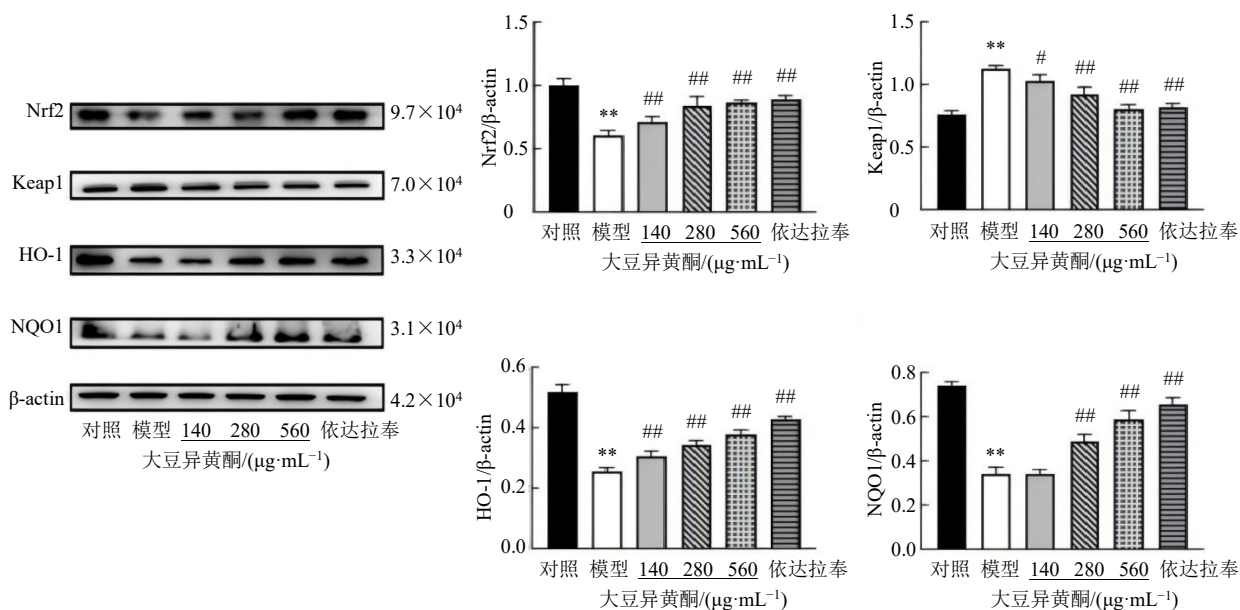
3.2.5 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞迁移的影响 如图 6 所示,与对照组比较,模型组细胞迁移率显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组细胞迁移率显著升高 ($P < 0.01$),且呈剂量相关性,表明大豆异黄酮可有效促进细胞迁移,加速划痕修复。

3.2.6 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞 Nrf2、Keap1、HO-1 和 NQO1 蛋白表达的影响 如图 7 所示,与对照组比较,模型组 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$),Keap1 蛋

白表达水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$),Keap1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01),依达拉奉组和大豆异黄酮 (280、560 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组 NQO1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$),且呈剂量相关性。表明大豆异黄酮的神经保护作用可能与其调控 Keap1/Nrf2 通路,进而激活下游抗氧化蛋白 HO-1 和 NQO1 的表达有关。

3.3 大豆异黄酮对全脑缺血再灌注损伤模型大鼠的影响

3.3.1 大豆异黄酮对全脑缺血再灌注损伤模型大鼠神经功能评分、脑组织含水量和脑梗死体积占比的影响 如图 8 和表 2 所示,与假手术组比较,模型组大鼠神经功能评分、脑组织含水量及脑梗死体积占比显著升高 ($P < 0.01$),提示大鼠脑组织损伤

图5 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 5 Effect of soybean isoflavones on apoptosis of PC12 cells induced by OGD/R ($\bar{x} \pm s, n = 6$)图6 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞迁移能力的影响 ($\times 100; \bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 6 Effect of soybean isoflavones on migratory capacity of PC12 cells induced by OGD/R ($\times 100; \bar{x} \pm s, n = 6$)图7 大豆异黄酮对 OGD/R 诱导的 PC12 细胞 Nrf2、Keap1、HO-1 和 NQO1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Fig. 7 Effect of soybean isoflavones on expressions of Nrf2, Keap1, HO-1 and NQO1 protein in PC12 cells induced by OGD/R ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

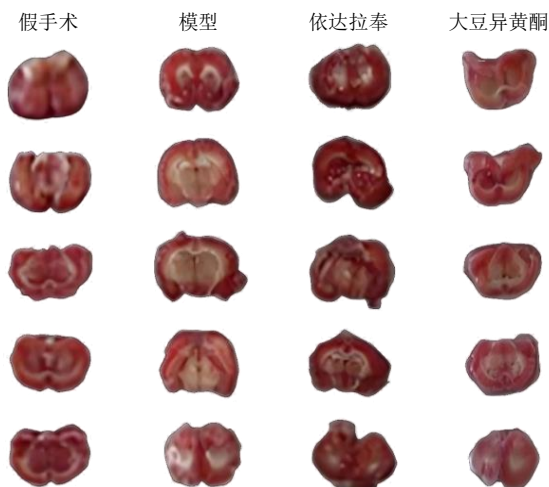


图 8 各组大鼠脑组织 TTC 染色结果

Fig. 8 TTC staining results of brain tissue of rats in each group

表 2 各组大鼠神经功能评分、脑组织含水量及脑梗死体积占比 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Neurological function score, brain water content and proportion of cerebral infarction volume of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	神经功能评分	脑组织含水量/%	脑梗死体积占比/%
假手术	—	0.0±0.0	78.5±3.6	0.0±0.0
模型	—	8.3±1.1**	85.4±2.6**	27.6±1.6**
依达拉奉	10	5.4±2.1 ^{##}	77.5±2.4 ^{##}	23.9±1.4 ^{##}
大豆异黄酮	100	6.8±1.7 ^{##}	76.5±3.2 ^{##}	22.5±2.1 [#]

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$, 表 3 同。

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as table 3.

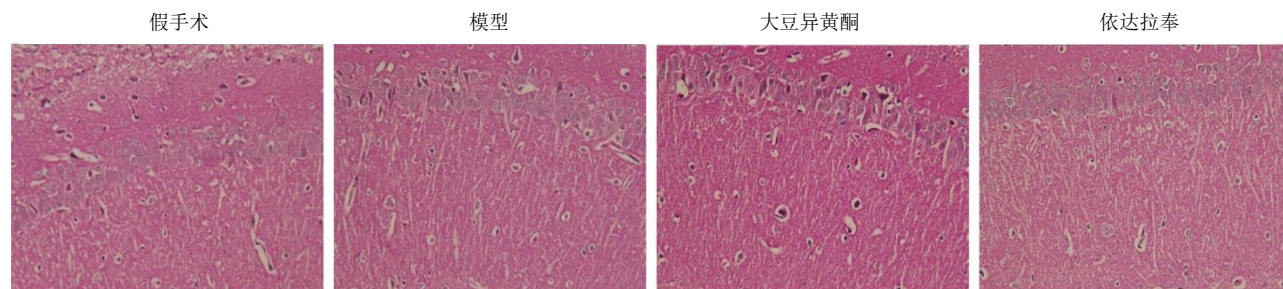


图 9 大豆异黄酮对全脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑组织病理变化的影响 (HE, ×400)

Fig. 9 Effect of soybean isoflavones on pathological changes in brain tissue of rats with global cerebral ischemia-reperfusion injury model (HE, × 400)

表 3 大豆异黄酮对全脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑组织 SOD、GSH-Px、CAT、LDH 活性及 MDA 水平的影响

($\bar{x} \pm s, n = 10$)

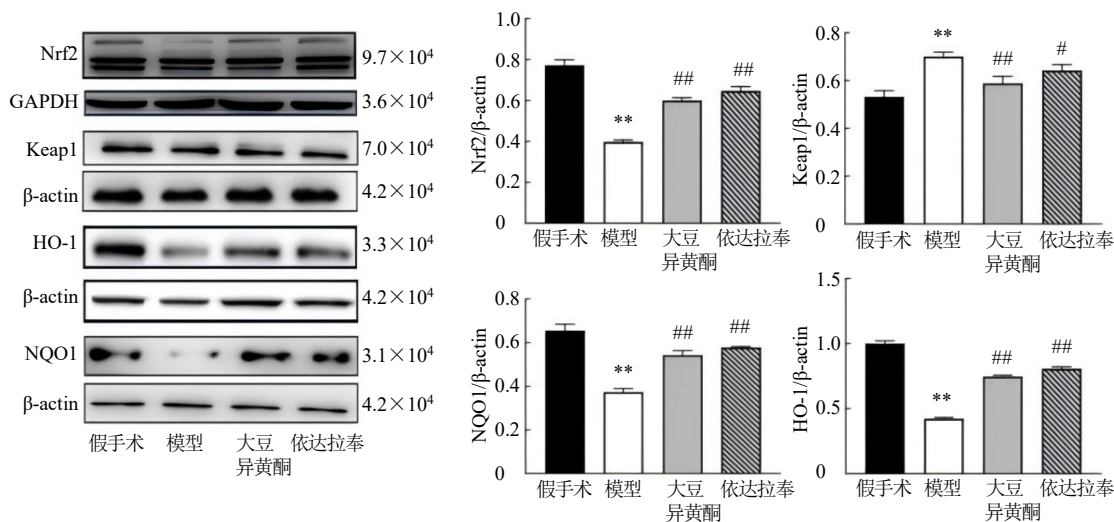
Table 3 Effect of soybean isoflavones on activities of SOD, GSH-Px, CAT, LDH and level of MDA in brain tissue of rats with global cerebral ischemia-reperfusion injury model ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)
假手术	—	18.5±1.6	26.7±2.6	5.6±1.2	3.8±0.6	180.8±15.3
模型	—	9.4±1.6**	9.8±1.6**	2.3±1.1**	6.1±1.1**	319.3±25.1**
依达拉奉	10	12.5±1.4 ^{##}	13.9±1.4 ^{##}	3.3±1.3 ^{##}	4.4±1.2 ^{##}	216.4±22.2 ^{##}
大豆异黄酮	100	10.5±1.2 ^{##}	12.5±2.1 ^{##}	2.9±1.4 ^{##}	4.2±1.6 ^{##}	193.3±11.7 ^{##}

组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT 活性显著降低 ($P<0.01$), MDA 水平和 LDH 活性显著升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT 活性显著升高 ($P<0.01$), MDA 水平和 LDH 活性显著降低 ($P<0.01$)。

3.3.4 大豆异黄酮对全脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑组织 Nrf2、Keap1、HO-1 和 NQO1 蛋白表达的

影响 如图 10 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$), Keap1 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠脑组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$), Keap1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), 与细胞实验结果一致。



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

图 10 大豆异黄酮对全脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑组织 Nrf2、Keap1、HO-1 和 NQO1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 10 Effect of soybean isoflavones on protein expressions of Nrf2, Keap1, HO-1 and NQO1 in brain tissue of rats with global cerebral ischemia-reperfusion injury model ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

缺血性脑卒中作为威胁人类生命健康的主要疾病之一, 其全球发病率逐年攀升, 已成为一个重大公共问题^[22]。静脉溶栓是缺血性脑卒中急性期的重要治疗手段, 虽疗效确切, 但治疗时间窗严格受限且有明确的临床应用规范。依据《中国急性缺血性卒中诊治指南 2023》治疗策略解析, 发病 4.5 h 内的患者, 应按照适应证、禁忌证和相对禁忌证严格筛选, 尽快给予阿替普酶或替奈普酶静脉溶栓治疗 (I 级推荐, A 级证据); 发病 6 h 内, 可根据适应证和禁忌证标准严格选择患者给予尿激酶静脉溶栓; 发病低于 3 h 的患者符合筛选标准时亦可正常开展溶栓治疗^[23]。需明确的是, 超过上述时间窗口严禁用药, 超出时间窗溶栓不仅疗效下降, 还会明显增加脑出血风险, 可能诱发缺血再灌注损伤、加重脑组织损害, 临床应用存在明显局限^[24]。研究表明, 缺血性脑卒中发生时, 脑部血流中断会导致脑组织缺血缺氧, 而溶栓治疗或自发恢复血流后,

再灌注过程会使大量氧气突然涌入缺血区域, 进而产生过量氧自由基^[25], 该过程同时抑制抗氧化酶活性, 引发氧化应激, 进一步加剧脑损伤。尽管溶栓药物是急性缺血性脑卒中治疗的重要手段, 但受限于其化学药物本身的特性, 长期服用易对机体代谢产生不利影响, 临床应用存在一定局限。相比之下, 天然生物活性成分表现出更温和的作用特点和较低的不良反应, 因而在长期干预方面更具潜力。

大豆异黄酮在抗氧化、缓解脑缺血后炎症反应、调节胆固醇及预防心血管疾病等方面具有重要作用^[26]。本研究从大豆中提取异黄酮, 并利用 HPLC-DAD-MS 对大豆异黄酮进行成分分析。结果表明, 大豆异黄酮主要成分为大豆苷、黄豆苷、染料木苷、乙酰黄豆苷、6"-O-乙酰黄豆苷、丙二酰染料木苷和乙酰染料木苷。本研究采用双侧颈总动脉结扎法建立大鼠全脑缺血再灌注损伤模型, 该模型与临床缺血性脑卒中的病理生理过程具有高度相关性, 其核心特征为全脑弥漫性低灌注, 而非

局灶性梗死灶形成,与大脑中动脉闭塞等局灶性脑缺血模型存在本质差异^[27]。在双侧颈总动脉结扎模型中,双侧颈总动脉夹闭 1 h 后再灌注,主要导致海马 CA1 区、皮层等对缺血敏感脑区的神经元选择性损伤,而非形成明确的局灶性缺血病灶,这与模型的血流动力学特征密切相关:大鼠颅底 Willis 环代偿能力较强,单纯双侧颈总动脉结扎仅能造成全脑血流量的中度下降,难以诱发局灶性梗死,其病理改变以神经元凋亡、氧化应激损伤、血脑屏障破坏为核心,更契合临床慢性脑缺血、缺血性脑卒中后全脑功能损伤的病理状态^[28-29]。

人体存在一套复杂的自由基防御系统,其中 SOD、CAT 和 GSH-Px 等抗氧化酶发挥着核心作用。SOD 是一种存在于多种组织、细胞和细胞器中的金属蛋白酶,在清除过量自由基、维持细胞过氧化平衡方面起着至关重要的作用。因此,其活性通常被用作机体抗氧化能力的重要指标^[30]。生理状态下,GSH-Px 和 CAT 可有效催化过氧化氢的分解,消除有害的超氧化物代谢物,从而减轻氧化损伤。因此,机体的抗氧化能力可以通过 SOD、GSH-Px、CAT 的活性和 ROS 的水平进行综合评估。在缺血/再灌注损伤的过程中,ROS 的激增会导致脂质过氧化物增加,引发脂质过氧化反应,其终产物 MDA 含量随之上升。同时,Ca²⁺泵的活性下降导致细胞 Ca²⁺浓度和积累升高,从而干扰 Ca²⁺信号转导^[31]。胞内 Ca²⁺超载会进一步触发游离脂肪酸的产生,导致自由基激增,引发自由基级联反应,破坏能量代谢与内环境稳定。该过程激活 Caspase-3,促进神经元凋亡,加剧脑组织细胞损伤,增加心肌梗死的风险。此外,氧化应激会引起 LDH 释放增加,导致进一步的细胞和组织损伤。因此,MDA、Ca²⁺、Caspase-3 和 LDH 水平可作为反映氧化损伤程度的关键指标。本研究结果显示,模型组细胞中 Ca²⁺、ROS、LDH 和 Caspase-3 水平较对照组显著升高,而给予大豆异黄酮处理后则显著降低了这些指标;模型组大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px、CAT、LDH 活性及 MDA 水平较假手术组显著升高,而给予大豆异黄酮处理后,可显著降低 MDA 水平和 LDH 释放量,同时提高 SOD、GSH-Px 及 CAT 的活性,与 Ludhiadch 等^[32]的结果一致,表明大豆异黄酮可通过抑制氧化应激反应,从而减轻缺血导致的脑组织损伤。

Nrf2 是缺血性卒中调控氧化应激的关键防御因子^[33]。研究表明,Nrf2 不仅能间接调控多种转录

因子的表达,还可通过抑制炎症反应、缓解氧化应激、减少细胞凋亡和坏死以及促进细胞生长与分化等方式发挥神经保护作用^[34]。此外,多项基于中药成分的研究进一步证实,Nrf2 信号通路在神经保护中发挥关键作用^[35]。在生理状态下,Nrf2 与 Keap1 在细胞质中形成非活性复合物^[36]。当受到氧化应激等刺激时,Nrf2 与 Keap1 解离并从细胞质迁移至细胞核内,与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合,进而激活下游 HO-1 和 NQO1 等抗氧化酶的表达,发挥其抗氧化活性。本研究结果显示,在 OGD/R 诱导的 PC12 细胞和全脑缺血再灌注损伤模型大鼠中,大豆异黄酮均能显著上调 Nrf2、HO-1 及 NQO1 的蛋白表达,同时下调 Keap1 蛋白表达,表明大豆异黄酮的神经保护机制可能与激活 Nrf2/ARE 信号通路密切相关。该通路的激活有助于调节脑缺血再灌注引起的氧化应激抗氧化反应,从而促进抗氧化防御、细胞生长、分化及血管生成,从而发挥神经保护作用。

综上,大豆异黄酮对脑缺血再灌注损伤具有明确的神经保护作用,其机制主要涉及增强内源性抗氧化酶活性、抑制氧化应激反应,并通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路、下调 Keap1 表达,从而发挥多层次的细胞保护效应。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Li L, Sun L L, Qiu Y, *et al.* Protective effect of stachydrine against cerebral ischemia-reperfusion injury by reducing inflammation and apoptosis through p65 and JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 64.
- [2] Hu B, Feng J, Wang Y H, *et al.* Transnational inequities in cardiovascular diseases from 1990 to 2019: Exploration based on the global burden of disease study 2019 [J]. *Front Public Health*, 2024, 12: 1322574.
- [3] Maida C D, Norrito R L, Daidone M, *et al.* Neuroinflammatory mechanisms in ischemic stroke: Focus on cardioembolic stroke, background, and therapeutic approaches [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6454.
- [4] Fu K, Chen L Q, Hu S, *et al.* Grape seed proanthocyanidins attenuate apoptosis in ischemic stroke [J]. *Acta Neurol Belg*, 2021, 121(2): 357-364.
- [5] Salaudeen M A, Bello N, Danraka R N, *et al.* Understanding the pathophysiology of ischemic stroke: The basis of current therapies and opportunity for new ones [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(3): 305.
- [6] Wang Q S, Yang F, Duo K, *et al.* The role of necroptosis in cerebral ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(7):

- 3882-3898.
- [7] Tang H X, He K J, Zhao K, *et al.* Protective effects of hinokitiol on neuronal ferroptosis by activating the Keap1/Nrf2/HO-1 pathway in traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2024, 41(5/6): 734-750.
- [8] Abuelazm M, Seri A R, Awad A K, *et al.* The efficacy and safety of tenecteplase versus alteplase for acute ischemic stroke: An updated systematic review, pairwise, and network Meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2023, 55(2): 322-338.
- [9] Li P, Yao L Y, Jiang Y J, *et al.* Soybean isoflavones protect SH-SY5Y neurons from atrazine-induced toxicity by activating mitophagy through stimulation of the BEX2/BNIP3/NIX pathway [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 227: 112886.
- [10] Kim I S. Current perspectives on the beneficial effects of soybean isoflavones and their metabolites on plants [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2022, 31(5): 515-526.
- [11] Li N, Wu X T, Zhuang W, *et al.* Soy and isoflavone consumption and multiple health outcomes: Umbrella review of systematic reviews and Meta-analyses of observational studies and randomized trials in humans [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2020, 64(4): 1900751.
- [12] 邵晓洁, 管文婕, 洪占梅, 等. 大豆异黄酮通过 NF- κ B p65 信号通路抑制 A β ₁₋₄₂ 诱导的海马神经元炎症和凋亡 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(6): 874-879.
- [13] 曲丽君, 曲晓峰. 大豆异黄酮对大鼠血脂和抗氧化作用的研究 [J]. 中国医药导刊, 2013, 15(12): 2090-2091.
- [14] 全吉淑, 程静, 刘春彦, 等. 大豆异黄酮联合顺铂对 A549 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 营养学报, 2011, 33(5): 506-509.
- [15] 尹学哲, 许惠仙, 金爱花, 等. 大豆异黄酮抗家兔动脉粥样硬化作用 [J]. 食品科学, 2011, 32(19): 220-223.
- [16] 石文茜, 孔凡江, 刘宝辉, 等. 大豆异黄酮提取方法研究进展 [J]. 大豆科学, 2022, 41(5): 610-616.
- [17] 苗辰. 超高效液相色谱法测量大豆中大豆异黄酮含量 [J]. 食品安全导刊, 2025(15): 55-57.
- [18] 王迪, 杨汉梅, 李维, 等. 不同品种苦荞 UPLC-DAD-CAD 指纹图谱和有效成分含量比较 [J]. 中药与临床, 2024, 15(1): 9-14.
- [19] Chua P, Lim W K. Optimisation of a PC12 cell-based *in vitro* stroke model for screening neuroprotective agents [J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 8096.
- [20] 王瑶, 谢灿明, 向静, 等. 基于 circRNA_008343 针刺抗脑缺血再灌注损伤的机制研究 [J]. 上海针灸杂志, 2025, 44(12): 1475-1482.
- [21] Wahul A B, Joshi P C, Kumar A, *et al.* Transient global cerebral ischemia differentially affects cortex, striatum and hippocampus in bilateral common carotid arterial occlusion (BCCAO) mouse model [J]. *J Chem Neuroanat*, 2018, 92: 1-15.
- [22] Ma R H, Li X G, An X L, *et al.* Shuxuening Injection for acute ischemic stroke: Efficacy and safety-a randomized, double-blind, placebo controlled, multi-center clinical trial [J]. *Chin Herb Med*, 2026, 18(2): 461-469.
- [23] 赵玲娟, 刘岩, 文力. 《中国急性缺血性卒中诊治指南 2023》治疗策略解析 [J]. 临床药物治疗杂志, 2024, 22(11): 1-6.
- [24] 翟阳, 庞兴旺, 王瀚, 等. 基于网络药理学和动物实验探讨扶阳方治疗缺血性脑中风的作用机制 [J]. 海南医科大学学报, 2025, 31(24): 1889-1899.
- [25] 谭培艺, 田光, 欧阳慧子, 等. 基于网络药理学的中药复方醒脑治瘫胶囊治疗气虚血瘀型中风的作用机制研究与实验验证 [J]. 天津中医药, 2025, 42(1): 90-99.
- [26] 张江, 王大力, 尚书玲, 等. 不同剂量雌激素对大鼠脑缺血-再灌注后 ICAM-1, TNF- α 表达的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2009(5): 447-450.
- [27] 谭广恒, 徐菲, 陈婕, 等. 三种造模方法建立小鼠缺血性脑卒中模型比较研究 [J]. 热带医学杂志, 2025, 25(5): 585-590.
- [28] 谢明, 胡有生. 二氢杨梅素防治大鼠脑缺血/再灌注损伤的作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2026, 46(7): 1279-1283.
- [29] 陈颖, 刘秋, 吉春燕, 等. 基于抗氧化活性研究淫羊藿黄酮类化合物对脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 8046-8055.
- [30] 张彤, 安红梅, 张立敏. 地黄益智方保护 H₂O₂ 诱导的 PC12 细胞损伤的作用机制 [J]. 中医药学报, 2025, 53(1): 20-28.
- [31] 李丽, 汪梦哲, 刘赛赛, 等. 大豆异黄酮通过抑制 Wnt/Ca²⁺ 信号通路减轻大鼠脑缺血再灌注引起的钙超载 [J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(6): 1048-1058.
- [32] Ludhiadch A, Sharma R, Muriki A, *et al.* Role of calcium homeostasis in ischemic stroke: A review [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2022, 21(1): 52-61.
- [33] Jo-Watanabe A, Inaba T, Osada T, *et al.* Bicarbonate signalling via G protein-coupled receptor regulates ischaemia-reperfusion injury [J]. *Nat Commun*, 2024, 15: 1530.
- [34] Wang J, Zhang W T, Lv C, *et al.* A novel biscoumarin compound ameliorates cerebral ischemia reperfusion-induced mitochondrial oxidative injury via Nrf2/Keap1/ARE signaling [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 167: 107918.
- [35] Yin H, Wu M Y, Jia Y. Knockdown of IL-32 protects PC12 cells against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injury via activation of Nrf2/NF- κ B pathway [J]. *Metab Brain Dis*, 2020, 35(2): 363-371.
- [36] 许文达, 陈雅茹, 宋迎琳, 等. 大豆异黄酮对幼年小鼠肝肾组织结构及抗氧化的影响 [J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2025, 61(1): 28-34.

[责任编辑 李亚楠]