

# 基于网络药理学及体外实验探讨人参皂苷 Rb1 治疗脑缺血再灌注损伤的作用机制

黄鹏, 吴斌, 董若彤, 余学成, 高增祥, 曹艳, 艾中柱, 曹国胜\*  
(湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065)

**摘要:** **目的** 探讨人参皂苷 Rb1 治疗脑缺血再灌注损伤 (CIRI) 的作用靶点及潜在机制。**方法** 采用网络药理学预测人参皂苷 Rb1 的潜在靶基因并筛选出治疗 CIRI 的交集靶点, 构建“人参皂苷 Rb1-靶点-通路”网络并富集相关通路, 分子对接预测人参皂苷 Rb1 与核心靶点的结合能力。体外构建小鼠脑微血管内皮细胞 bEnd. 3 氧糖剥夺/复糖复氧 (OGD/R) 模型, 验证人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 的关键靶点途径。**结果** 共获得 78 个人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 的潜在靶点。人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 主要参与对异种刺激的反应、基因表达的正向调节等过程, 通过脂质与动脉粥样硬化、MAPK 信号通路等治疗 CIRI。分子对接显示, 人参皂苷 Rb1 与 MAPK1/3/8/14 及 MMP-2/9 均具有较高的结合能力。人参皂苷 Rb1 可提高 OGD/R 诱导的 bEnd. 3 细胞存活率 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 升高 ZO-1、Occludin 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 降低 MMP-2、MMP-9 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 抑制 MAPK 通路相关蛋白 p38、JNK、ERK 的磷酸化水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 人参皂苷 Rb1 改善 CIRI 的作用机制可能与抑制 MAPK 信号通路激活, 降低 MMP-2、MMP-9 蛋白表达, 从而减少对 ZO-1、Occludin 蛋白的降解有关。

**关键词:** 人参皂苷 Rb1; 脑缺血再灌注损伤; 网络药理学; 体外实验; 紧密连接蛋白; MAPK 信号通路

**中图分类号:** R285.5; R966

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2025)07-2434-07

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.050

卒中已成为全球导致死亡和残疾的首位原因<sup>[1]</sup>, 随着全球人口老龄化本病发病率正在快速上升, 对人类健康和生活质量造成巨大负担<sup>[2-4]</sup>。脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI) 约占脑卒中的 80% 以上, 其原因主要是由于大脑动脉闭塞引起流向大脑的血液减少, 导致大脑损伤<sup>[5]</sup>, 涉及病理机制很多, 包括血脑屏障通透性改变等<sup>[6-7]</sup>。目前, 采用重组组织型纤溶酶原激活剂 t-PA 静脉溶栓治疗急性缺血性中风是唯一被批准的方法, 但存在明显的局限性, 增加了脑出血的风险<sup>[8]</sup>。因此, 开发出更有效的治疗 CIRI 药物尤为迫切。

人参主要活性成分为人参皂苷类<sup>[9]</sup>。研究表明, 人参皂苷 Rb1 在体内外都具有较好的神经保护作用, 可作为治疗 CIRI 潜在候选药物<sup>[10-11]</sup>; 课题前期研究证实, 人参皂苷 Rb1 对小鼠脑缺血再灌注诱导血脑屏障损伤具有较好的改善作用<sup>[12]</sup>, 但其具体作用机制仍有待进一步深入研究。因此, 本研究拟在前期研究基础上, 综合利用网络药理学及分子对接等技术进一步分析预测人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 的潜在作用靶点, 并在体外实验中验证其对 CIRI 的保护机制, 以期揭示该成分防治 CIRI 作用提供更多依据, 也为

相关临床应用提供参考。

## 1 材料

1.1 细胞株 bEnd. 3 细胞株购自上海中乔新舟生物科技有限公司, 货品编码 ZQ0090。

1.2 试剂与药物 人参皂苷 Rb1 对照品 (批号 41753-43-9, 纯度 98%), 购自南京泽朗医药科技有限公司。DMEM 培养基、胎牛血清、无糖培养基 (批号 8120196、2232589、219256), 均购自美国 Gibco 公司; ZO-1、Occludin 抗体 (批号 ab216880、ab167161), 均购自英国 Abcam 公司; MMP-2 抗体 (批号 J0317), 购自圣克鲁斯生物技术 (上海) 有限公司; MMP-9 抗体 (批号 3305885), 购自密理博仪器 (上海) 有限公司; p38、p-p38、JNK、p-JNK、ERK、p-ERK 抗体 (批号 9212、4511、9252、4668、4695、9101), 均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.3 仪器 三气培养箱 (型号 YCP-50S), 购自长沙华曦电子科技有限公司; 高速冷冻离心机 (型号 1730R), 购自香港基因有限公司; 蛋白印迹电泳系统, 购自美国 Bio-Rad 公司; 二氧化碳培养箱 (型号 Model 310), 购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。

收稿日期: 2025-05-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81904028)

作者简介: 黄鹏 (2001—), 男, 硕士生, 从事中药药效物质基础及其作用机理研究。Tel: 18171623106, E-mail: 2331800664@stmail.hbuem.edu.cn

\*通信作者: 曹国胜 (1989—), 男, 博士, 副教授, 从事中药药效物质基础及其作用机理研究。Tel: (027) 68890231, E-mail: caoguosheng2006@163.com

## 2 方法

2.1 人参皂苷 Rb1 潜在作用靶点筛选 在 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库中检索“ginsenoside Rb1”整合人参皂苷 Rb1 相关作用靶点, 下载其 2D 结构的 SDF 格式, 导入 SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch>)、PharmMapper (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/index.htm>) 网站进行预测。分别将概率阈值  $\geq 0.2$  或 Norm Fit  $\geq 0.9$  的靶点进行整合, 即为人参皂苷 Rb1 的潜在作用靶点。

2.2 CIRI 相关疾病靶点筛选 利用 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org>) 5 个数据库, 输入关键词“cerebral ischemia reperfusion injury”检索相关疾病靶点, 对 CIRI 靶点取合集并绘制韦恩图。

2.3 “人参皂苷 Rb1-CIRI”交集靶点韦恩图分析和“人参皂苷 Rb1-靶点-CIRI”网络构建 将人参皂苷 Rb1 的作用靶点和 CIRI 相关靶点导入 Venny2.1 (<https://bioinfo.p.cn/b.escic.es/tools/venny/>) 并绘制韦恩图, 提取交集靶点, 导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 构建“人参皂苷 Rb1-靶点-CIRI”网络。

2.4 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络构建 使用 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 数据库对交集靶点进行分析, 种源选择“*Homo sapiens*”, 进行 PPI 互作分析, 将最低相互作用阈值设定为最高置信度 (0.9), 去除游离靶点, 下载 PPI 网络“TSV”格式文件, 导入 Cytoscape 3.7.1 软件中进行可视化分析以确定关键靶点, 根据 Degree 值从关键靶点中筛选得到核心靶点, 绘制 PPI 网络。

2.5 GO、KEGG 通路富集分析 将人参皂苷 Rb1 与 CIRI 的交集靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov>) 数据库进行富集分析, 种属选择“*Homo sapiens*”, 列表类型选择“gene list”, 提交分别进行 GO 分子功能、生物过程、细胞成分及 KEGG 通路分析, 并利用微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化分析。

2.6 “人参皂苷 Rb1-靶点-通路”网络构建 将 KEGG 通路分析得到的排名前 20 的通路 (作为人参皂苷 Rb1 的相关通路) 及其相关靶点进行整合, 导入 Cytoscape3.7.1 软件中, 构建“人参皂苷 Rb1-靶点-通路”网络。

2.7 分子对接 通过 PDB 网站 (<https://www.rcsb.org/>) 下载目标蛋白 PDB 格式, 使用 PyMOL 软件对目标蛋白去除配体和水分子。在 PubChem 数据库中检索人参皂苷 Rb1 的 SDF 格式, 使用 Open Babel 2.4.1 软件转换成 mol2 格式, 导入 AutoDock 软件并利用 Ligand 输出为 PDB 格式。将目标蛋白导入 AutoDock 软件, 进行与人参皂苷 Rb1 的分子对接模拟, Ligand Docking 插件进行分子对接。使用 PyMOL 软件对结果进行可视化分析, 分子对接结合能 5 kcal/mol 绝对值大于表明结合活性较强, 大于 7 kcal/mol 表

明结合活性很强。

2.8 bEnd. 3 细胞损伤模型建立 采用三气培养箱建立 bEnd. 3 细胞氧糖剥夺/复糖复氧 (OGD/R) 模型。取状态良好的细胞接种于新的细胞培养皿中, 并于正常条件下培养, 待细胞进入对数生长期后用无糖培养基置换完全培养基, 放入三气培养箱 (94%  $N_2$  + 5%  $CO_2$  + 1%  $O_2$ , 37  $^{\circ}C$ ) 中缺氧缺氧培养 6 h, 用完全培养基置换无糖培养基, 将培养皿放入常规  $CO_2$  培养箱中复糖复氧培养 18 h。

2.9 细胞活性检测 取对数生长期的 bEnd. 3 细胞, 调整密度至  $1 \times 10^5$ /mL, 接种于 96 孔培养板中, 分别以不同浓度人参皂苷 Rb1 (0.1、1、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 干预 24 h, 按“2.8”项下方法造模, 每孔加入 MTT 溶液培养 4 h, 弃上清, 加入 DMSO 溶解紫色结晶, 通过酶标仪检测 490 nm 波长处吸光度, 记录数据并进行分析。

2.10 Western blot 法检测目的蛋白表达 取对数生长期 bEnd. 3 细胞, 接种于细胞培养皿, 放入  $CO_2$  培养箱中培养 24 h, 分别以不同浓度 (0.1、1、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 人参皂苷 Rb1 干预, 按“2.8”项下方法造模, 向每个培养皿加入含 PMSF 和抑制磷酸酶的 RIPA 裂解缓冲液, 低温冰浴中放置 5 min, 从培养皿内刮下细胞, 冰浴融解 30 min, 4  $^{\circ}C$ 、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 蛋白定量后加入 1/5 量 Loading buffer, 于金属水浴中 100  $^{\circ}C$  加热煮沸 5 min, 经电泳、转膜后 5% 脱脂牛奶封闭, 加一抗 4  $^{\circ}C$  孵育过夜, TBST 清洗, 加二抗室温孵育 2 h, TBST 清洗 3 次, 显影成像。

2.11 统计学分析 通过 Graphpad 8.0 软件进行处理, 计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 2 组间比较采用 *t* 检验。  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

3.1 人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 靶点 如图 1A 所示, 通过 PubChem、Pharm Mapper、SwissTargetPrediction 数据库发现, 人参皂苷 Rb1 共有 192 个潜在作用靶点; 根据 Drugbank、NCBI、OMIM、DisGeNET、GeneCards 数据库, 得到 2 839 个疾病相关靶点。如图 1B 所示, 人参皂苷 Rb1 的药物靶点和 CIRI 的疾病靶点各自去重后取交集, 得到共同靶点 78 个。

3.2 PPI 网络 如图 2A 所示, 共得到 76 个节点 (靶点蛋白)、808 条边 (蛋白相互作用), 节点越大, 颜色越深, 即度值越大, 靶点相关性更高。以 Degree 值靠前的靶点为关键靶点, 如图 2B 所示, 包括 ALB、TNF、IL6、AKT1、CASP3、MMP9、STAT3、MAPK3、MAPK1、MMP2, 可能是人参皂苷 Rb1 改善 CIRI 的核心作用靶点。

3.3 GO 富集分析与 KEGG 通路分析 通过 DAVID 数据库对 78 个交集靶点进行 GO 富集分析, 共得到 563 个条目, 其中生物过程 (BP) 431 个, 细胞组分 (CC) 64 个, 分子功能 (MF) 68 个。根据 *P* 值筛选出前 10 条目进行可视化处理, 如图 3 所示, BP 主要涉及对外源刺激的反应 (response to xenobiotic stimulus)、基因表达的正向调节

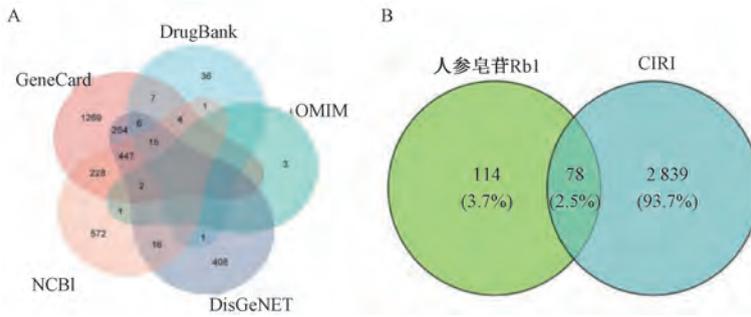


图1 人参皂苷 Rb1、CIRI 靶点韦恩图

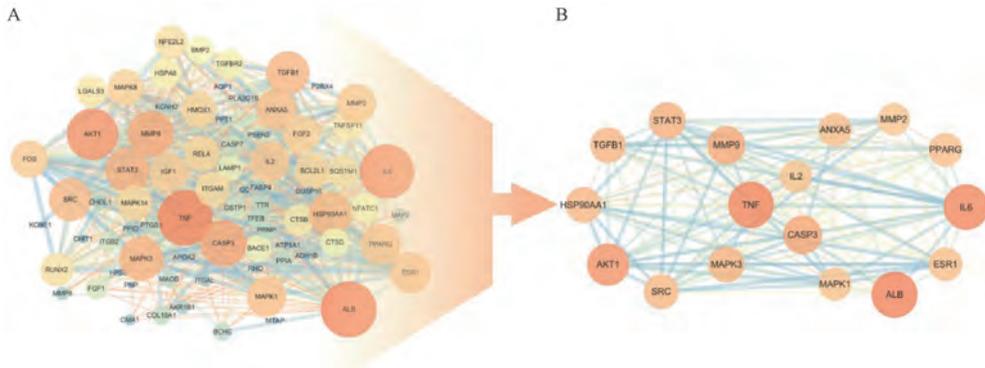


图2 人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 相关靶点的 PPI 网络

(positive regulation of gene expression)、细胞凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process) 等, CC 主要涉及细胞外区 (extracellular region)、细胞外空间 (extracellular space)、细胞外泌体 (extracellular exosome) 等, MF 主要涉及酶结合 (enzyme binding)、相同的蛋白质结合 (identical protein binding)、MAP 激酶活性 (MAP kinase activity) 等。

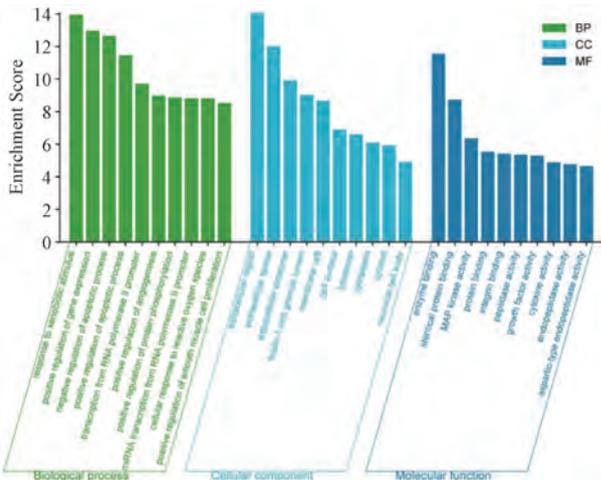


图3 人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 的 GO 富集分析

KEGG 通路富集分析共得到 146 条相关信号通路, 根据  $P$  值排序, 前 20 条通路如图 4 所示, 主要为癌症 (pathways in cancer)、脂质和动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、MAPK 信号通路 (MAPK signaling pathway) 等。

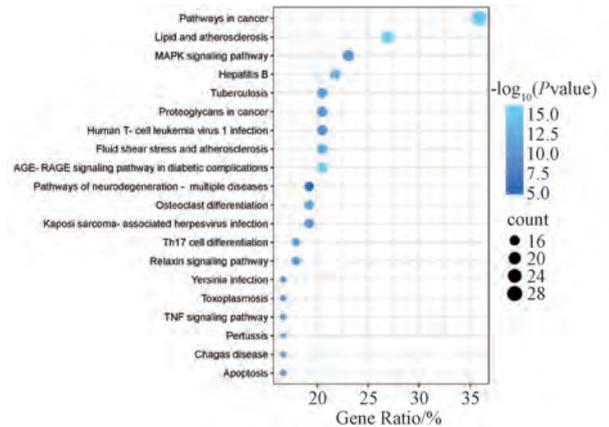


图4 人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 的 KEGG 通路分析

3.4 “人参皂苷 Rb1-靶点-CIRI/通路”网络 将人参皂苷 Rb1 抗 CIRI 的交集靶点导入 Cytoscape 3.7.1 软件中构建“人参皂苷 Rb1-靶点-CIRI”网络, 见图 5A。再将 KEGG 通路分析中排名前二十的作为 CIRI 相关疾病通路及其靶点, 导入软件中绘制“人参皂苷 Rb1-靶点-通路”网络, 如图 5B 所示, 深蓝表示人参皂苷 Rb1, 绿色表示各靶点, 浅蓝表示不同信号通路, 以度值为参数进行网络拓扑分析。在靶点方面, MAPK1、MAPK3、MAPK8、MAPK14 排名靠前, 揭示它们在人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 中发挥关键作用; 在通路方面, MAPK、AGE-RAGE、TNF 等信号通路可能与人参皂苷 Rb1 改善 CIRI 密切相关。

3.5 分子对接 依据“人参皂苷 Rb1-靶点-通路”和核心 PPI 网络  $P$  值发现, MAPK 信号通路及基质金属蛋白

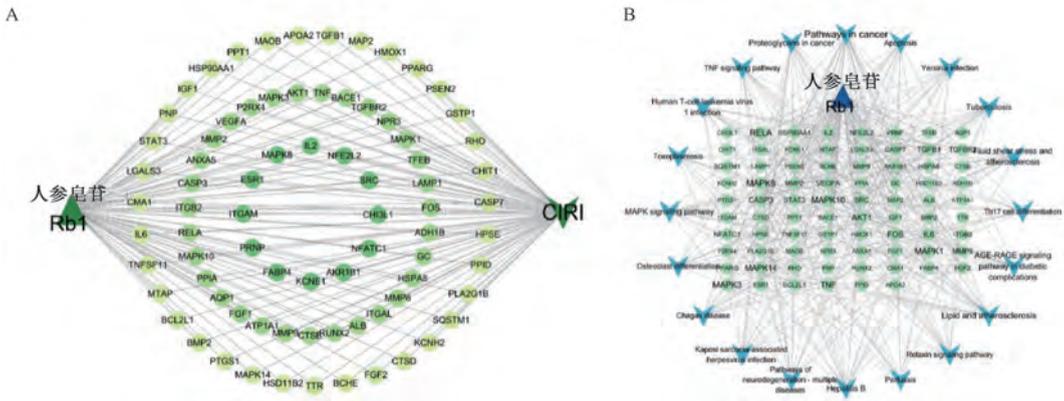


图5 “人参皂苷 Rb1-靶点-CIRI/通路”网络

(MMP-2、MMP-9) 在人参皂苷 Rb1 治疗 CIRI 中发挥关键作用。基于此，本研究将排序靠前的 MAPK1、MAPK3、MAPK8、MAPK14 等 MAPK 信号通路蛋白，以及 MMP-2、MMP-9 等蛋白分别与人参皂苷 Rb1 进行分子对接，结果见

图6，可知人参皂苷 Rb1 与以上靶点的结合能均小于 -5 kcal/mol，提示两者具有较强的结合能力，能够形成稳定的构象。

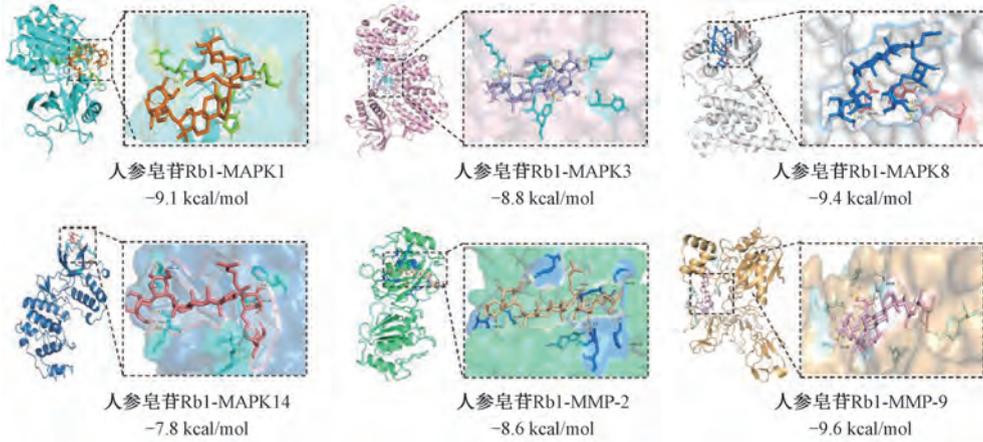
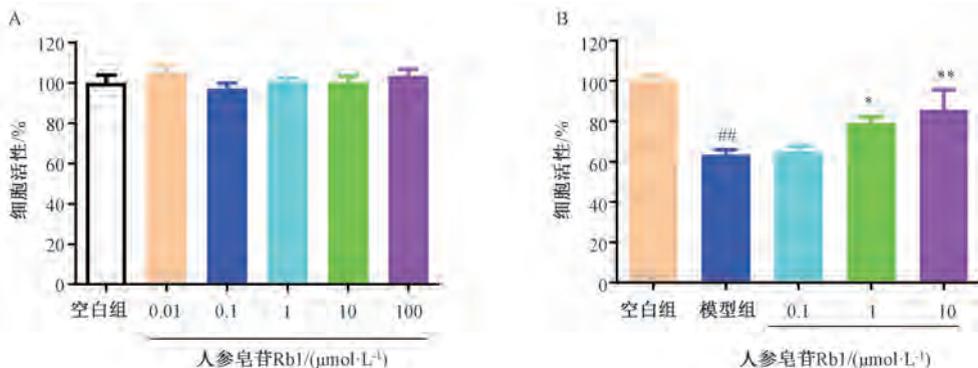


图6 人参皂苷 Rb1 与 MAPK1/3/8/14 和 MMP-2/9 的分子对接靶点图

3.6 人参皂苷 Rb1 对 bEnd. 3 细胞活性的影响 本研究首先考察了人参皂苷 Rb1 对正常培养下细胞损伤的影响，如图7A所示，在常氧环境及正常培养基中用不同浓度(0.01、0.1、1、10、100 μmol/L) 人参皂苷 Rb1 处理细胞24 h后，细胞活性无明显变化 ( $P>0.05$ )，说明人参皂苷

Rb1 在此浓度范围内对无明显细胞毒性。

再考察了人参皂苷 Rb1 (0.1、1、10 μmol/L) 对经 OGD/R 后细胞活性的影响，如图7B所示，与空白组比较，OGD/R 诱导损伤后细胞活性降低 ( $P<0.01$ )，而经人参皂苷 Rb1 (1、10 μmol/L) 处理后增加 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。

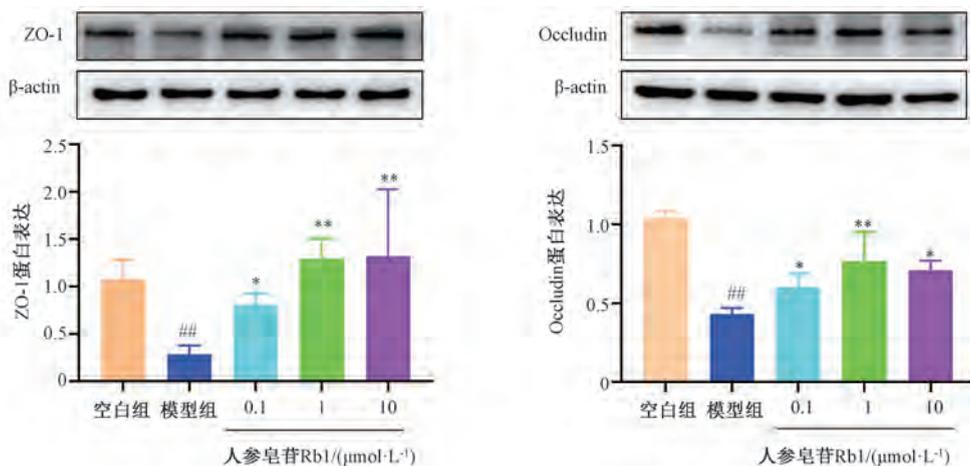


注：与空白组比较， $##P<0.01$ ；与模型组比较， $*P<0.05$ ， $**P<0.01$ 。

图7 人参皂苷 Rb1 对 bEnd. 3 细胞活性的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

3.7 人参皂苷 Rb1 对 OGD/R 诱导的 bEnd. 3 细胞 ZO-1、Occludin 蛋白表达的影响 如图 8 所示, 与正常组比较, 模型组细胞 ZO-1、Occludin 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ); 与模

型组比较, 0.1、1、10  $\mu\text{mol/L}$  人参皂苷 Rb1 组细胞 ZO-1、Occludin 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

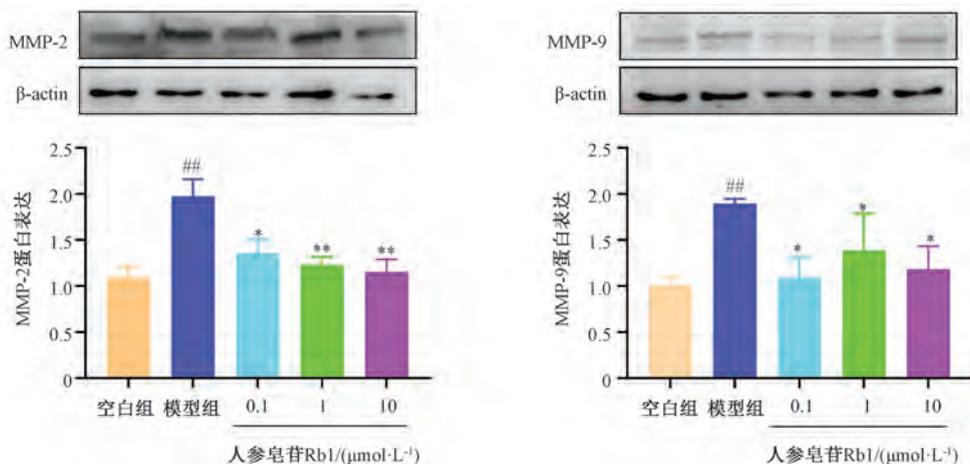


注: 与正常组比较,  $\#\# P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $* P < 0.05$ ,  $** P < 0.01$ 。

图 8 各组 bEnd. 3 细胞 ZO-1、Occludin 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

3.8 人参皂苷 Rb1 对 OGD/R 诱导 bEnd. 3 细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达的影响 如图 9 所示, 与正常组比较, 模型组细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组

比较, 0.1、1、10  $\mu\text{mol/L}$  人参皂苷 Rb1 组细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。



注: 与正常组比较,  $\#\# P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $* P < 0.05$ ,  $** P < 0.01$ 。

图 9 各组 bEnd. 3 细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

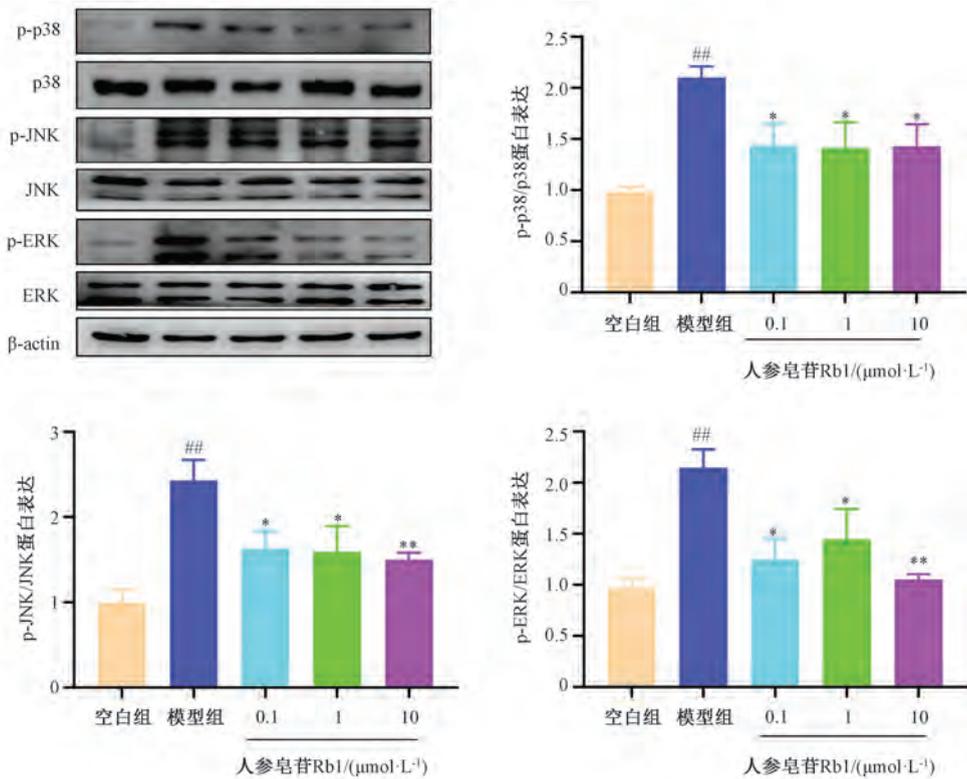
3.9 人参皂苷 Rb1 对 OGD/R 诱导 bEnd. 3 细胞 MAPK 通路相关蛋白表达的影响 如图 10 所示, 与正常组比较, 模型组细胞 p38、ERK、JNK 磷酸化水平升高 ( $P < 0.01$ ), 表明 MAPK 通路被激活; 与模型组比较, 0.1、1、10  $\mu\text{mol/L}$  人参皂苷 Rb1 组细胞 p-p38、p-ERK、p-JNK 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

参皂苷 Rb1 具有抗氧化应激、抗炎、改善神经元免受缺血性损伤等作用<sup>[15-17]</sup>。本研究利用网络药理学、分子对接技术对人参皂苷 Rb1 抗 CIRI 的核心靶点进行了预测分析, 发现其关键靶点可能是 MAPK1、MAPK3、MMP-2、MMP-9, 主要涉及 MAPK、AGE-RAGE 等信号通路。分子对接结果显示, 人参皂苷 Rb1 与 MAPK1/3/8/14、MMP-2/9 核心靶点之间的结合具有稳定的构象。

#### 4 讨论

中风是一种由多种遗传易感性因素导致的复杂疾病, 其后遗症的发生率和严重程度给临床诊疗和患者生活质量带来了严重负担<sup>[13]</sup>。在中医中缺血脑卒中又名“中风”, 临床表征主要为喁僻不遂、不识人、舌强难言等症状, 治则以活血化瘀、化痰通络为主<sup>[14]</sup>。现代药理研究表明, 人

血脑屏障破坏的实质是关键紧密连接蛋白活性的改变<sup>[18]</sup>, 紧密连接蛋白的功能受脑微血管内皮细胞的调节, 可防止外周血白细胞重新聚集到脑实质<sup>[19]</sup>。其中, ZO-1 和 Occludin 为紧密连接形成和功能的关键调节因子, 在紧密连接的组装、屏障功能和信号转导中发挥着直接核心的作



注：与正常组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ 。

图 10 各组 bEnd. 3 细胞 p-38/p38、p-JNK/JNK、p-ERK/ERK 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

用，是 CIRI 诱导的血脑屏障破坏的关键分子靶标<sup>[20-21]</sup>。已有研究证实，人参皂苷 Rb1 可以抑制促炎因子的产生及尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 (NOX4) 衍生的自由基诱导神经炎症，维持血脑屏障的通透性<sup>[22-23]</sup>。本研究结果显示，人参皂苷 Rb1 能增强 OGD/R 诱导的 bEnd. 3 细胞中 ZO-1、Occludin 蛋白表达，提示它维持血脑屏障的通透性可能与上调紧密连接蛋白表达有关。金属基质蛋白酶 (MMPs) 是一种多功能内肽酶，对于组织的形成、神经元的重塑和维持血脑屏障的完整性至关重要，中风后的血脑屏障完整性受损可能导致紧密连接蛋白的降解和细胞外基质的分解<sup>[24]</sup>。本研究结果显示，人参皂苷 Rb1 可抑制 OGD/R 诱导 bEnd. 3 细胞 MMP-2/9 蛋白表达，初步验证了网络药理学预测的结果。

MAPK 信号通路的主要作用是响应刺激将信息从细胞膜发送到细胞核<sup>[25]</sup>，在控制应激反应和缺血性卒中血脑屏障的破坏中起着重要作用<sup>[26-27]</sup>。在脑缺血早期，MAPK 信号通路中的 p38 被激活，ERK 和 JNK 以时间依赖的方式被激活，在缺血脑中呈高表达<sup>[28-29]</sup>。本研究结果显示，人参皂苷 Rb1 可抑制 p-p38、p-ERK 和 p-JNK 在 OGD/R 诱导的 bEnd. 3 细胞中的表达，提示它能有效抑制缺血性卒中所致脑损伤中 MAPK 的激活。

综上所述，人参皂苷 Rb1 可增强 OGD/R 诱导 bEnd. 3 细胞活性，升高 ZO-1、Occludin 蛋白表达，降低 MMP-2/9 蛋白表达，其作用机制可能与调节 MAPK 信号通路有关，为临床防治 CIRI 药物的开发提供了实验依据和思

路借鉴。

#### 参考文献：

- [1] 任牧宏, 李勇, 陈海, 等. 体外培育牛黄对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用[J]. 中成药, 2023, 45(6): 1989-1997.
- [2] Virani S S, Alomso A, Aparocoo H J, et al. Heart disease and stroke statistics—2021 update: a report from the american heart association[J]. *Circulation*, 2021, 143(8): e254-e743.
- [3] Spence J D. China stroke statistics 2019: a wealth of opportunities for stroke prevention[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2020, 5(3): 240-241.
- [4] Li L, Scott C A, Rothwell P M. Trends in stroke incidence in high-income countries in the 21st century: population-based study and systematic review[J]. *Stroke*, 2020, 51(5): 1372-1380.
- [5] 叶维, 张红, 王莉, 等. 汉黄芩素通过调控 JNK/AP-1 信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经功能障碍、脑组织损伤的影响[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3241-3246.
- [6] Datta A, Sarmah D, Mounica L, et al. Cell death pathways in ischemic stroke and targeted pharmacotherapy[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(6): 1185-1202.
- [7] 刘英飞, 陈博威, 田丰铭, 等. 补阳还五汤通过 Cav-1 抑制铁死亡对脑缺血小鼠的神经保护作用[J]. 中成药, 2024, 46(2): 605-610.
- [8] Reish N J, Jamshidi P, Stamm B, et al. Multiple cerebral

- hemorrhages in a patient receiving Lecanemab and treated with t-PA for stroke[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(5): 478-479.
- [ 9 ] Liu Y, Fan D. The preparation of ginsenoside Rg5, its antitumor activity against breast cancer cells and its targeting of PI3K[J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 246.
- [10] 张璟璇, 袁美春, 李海霞, 等. 人参皂苷 Rb1 对氧-糖剥夺诱导的大鼠原代皮层神经元损伤的保护作用[J]. *中成药*, 2019, 41(10): 2339-2344.
- [11] 张高娇, 王芯芯, 周 佳, 等. 小窝蛋白 Cav-1 介导人参皂苷 Rb1 对小鼠脑缺血再灌注损伤的脑保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2020, 25(3): 265-270.
- [12] 黄 鹏, 吴 斌, 高增祥, 等. 人参皂苷 Rb1 调控 MAPK 通路改善小鼠脑缺血再灌注诱导血脑屏障损伤的作用研究[J]. *药物评价研究*, 2024, 47(3): 513-520.
- [13] Benakis C, Brea D, Caballero S, et al. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal  $\gamma\delta$  T cells[J]. *Nat Med*, 2016, 22(5): 516-523.
- [14] 程 引, 高文波, 李 培, 等.《金匱要略》“中风三方”探讨[J]. *北京中医药大学学报*, 2023, 46(10): 1361-1366.
- [15] Ni X C, Wang H F, Cai Y Y, et al. Ginsenoside Rb1 inhibits astrocyte activation and promotes transfer of astrocytic mitochondria to neurons against ischemic stroke[J]. *Redox Biol*, 2022, 54: 102363.
- [16] Shi Y H, Li Y, Wang Y, et al. Ginsenoside-Rb1 for ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis of preclinical evidence and possible mechanisms[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 285.
- [17] Gao X, Zhang X, Cui L, et al. Ginsenoside Rb1 promotes motor functional recovery and axonal regeneration in post-stroke mice through cAMP/PKA/CREB signaling pathway[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 154: 51-60.
- [18] Lin W, Qin Y, Ren Y. Flunitrazepam and its metabolites induced brain toxicity: Insights from molecular dynamics simulation and transcriptomic analysis[J]. *J Hazard Mater*, 2024, 465: 133113.
- [19] Kazmierski R, Michalak S, Wencel-Warot A, et al. Serum tight-junction proteins predict hemorrhagic transformation in ischemic stroke patients[J]. *Neurology*, 2012, 79(16): 1677-1685.
- [20] Sattler R, Xiong Z, Lu W Y, et al. Specific coupling of NMDA receptor activation to nitric oxide neurotoxicity by PSD-95 protein[J]. *Science*, 1999, 284(5421): 1845-1848.
- [21] Kaneko S, Kawakami S, Hara Y, et al. A critical role of TRPM2 in neuronal cell death by hydrogen peroxide[J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 101(1): 66-76.
- [22] Su L J, Ren Y C, Chen Z, et al. Ginsenoside Rb1 improves brain, lung, and intestinal barrier damage in middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) mice via the PPAR $\gamma$  signaling pathway[J]. *Chin J Nat Med*, 2022, 20(8): 561-571.
- [23] Chen W, Guo Y, Yang W, et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 on integrity of blood-brain barrier following cerebral ischemia[J]. *Exp Brain Res*, 2015, 233(10): 2823-2831.
- [24] Zhang S, An Q, Wang T, et al. Autophagy- and MMP-2/9-mediated reduction and redistribution of ZO-1 contribute to hyperglycemia-increased blood-brain barrier permeability during early reperfusion in stroke[J]. *Neuroscience*, 2018, 377: 126-37.
- [25] 贺 旭, 宋祯彦, 王珊珊, 等. 基于网络药理学和动物实验探讨脑秦方治疗脑缺血的作用机制[J]. *中成药*, 2022, 44(7): 2356-2362.
- [26] Fann D Y, Lim Y A, Cheng Y L, et al. Evidence that NF- $\kappa$ B and MAPK signaling promotes NLRP inflammasome activation in neurons following ischemic stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(2): 1082-1096.
- [27] Freitas-andrade M, Wang N, Bechberger J F, et al. Targeting MAPK phosphorylation of Connexin43 provides neuroprotection in stroke[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(4): 916-935.
- [28] Hou K, Xiao Z C, Dai H L. p38 MAPK endogenous inhibition improves neurological deficits in global cerebral ischemia/reperfusion mice[J]. *Neural Plast*, 2022, 2022: 3300327.
- [29] Bai Y, Wang L, Xu R, et al. Mesenchymal stem cells with p38 mitogen-activated protein kinase interference ameliorate mouse ischemic stroke[J]. *Exp Biol Med ( Maywood )*, 2023, 248(23): 2481-2491.