

基于整合药理学探讨黄芪甲苷治疗缺血性脑卒中的作用机制



李 波¹, 徐 昊², 黄秀秀¹, 侯 芬¹, 邹紫勤³, 李 群⁴

1. 湖南中医药大学第一附属医院放射影像科 (长沙 410007)
2. 湖南中医药大学中西医结合学院 (长沙 410208)
3. 湖南中医药大学第一中医临床学院 (长沙 410208)
4. 湖南中医药大学第一附属医院口腔科 (长沙 410007)

【摘要】目的 运用整合药理学方法系统探究黄芪甲苷 (astragaloside IV, AS-IV) 治疗缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 的作用机制。**方法** 通过多个数据库检索 AS-IV 的潜在作用靶点与 IS 的疾病靶点, 并利用 Venny 网站筛选二者的共同靶点。借助 STRING 数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 利用 Cytoscape 3.9.1 软件及 CytoHubba 插件筛选核心靶点。将 AS-IV 与 IS 的共同靶点输入 DAVID 数据库, 并进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析, 以明确相关作用通路。使用 AutoDock Vina 1.2.5 软件对 AS-IV 与核心靶点进行分子对接验证, 利用 PyMol 2.5 软件进行可视化对接。通过体外培养人神经母细胞瘤细胞株 (SH-SY5Y 细胞) 建立氧糖剥夺/复糖复氧 (OGD/R) 模型, 对 AS-IV 治疗 IS 的作用机制进行验证。**结果** 共筛选出 AS-IV 潜在作用靶点 371 个、IS 相关靶点 121 个、二者交集靶点 41 个。通过 PPI 分析确定了关键核心靶点, 如 BCL2、IL-6、TNF 等。GO 及 KEGG 分析结果表明, AS-IV 治疗 IS 与 NF- κ B 信号通路等相关。分子对接结果显示, AS-IV 与 10 个核心靶点具有较强的结合能力。细胞实验结果表明, 与空白组相比, 模型组 TNF、NF- κ B、IL-6、Caspase-3、IL-1 β 水平均显著升高, BCL2 水平显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, AS-IV 低、中、高剂量组及 TNF 抑制剂组 TNF、NF- κ B、IL-6、Caspase-3、IL-1 β 水平均显著降低, BCL2 水平显著升高 ($P < 0.05$); 与 AS-IV 中剂量组相比, AS-IV 中剂量 +TNF 激动剂组 TNF、NF- κ B、IL-6、Caspase-3、IL-1 β 水平均显著升高, BCL2 水平显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** AS-IV 可以通过调控 TNF/NF- κ B 信号通路抑制炎症反应, 从而发挥治疗 IS 的作用。

【关键词】 缺血性脑卒中; 黄芪甲苷; 网络药理学; 分子对接; TNF/NF- κ B 信号通路

【中图分类号】 R 285.5 **【文献标识码】** A

Exploring the mechanism of astragaloside IV in the treatment of ischemic stroke based on integrated pharmacology

LI Bo¹, XU Hao², HUANG Xiuxiu¹, HOU Fen¹, ZOU Ziqin³, LI Qun⁴

1. Department of Radiology, The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202509091

基金项目: 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目 (U22A20377); 湖南省教育厅资助科研项目 (23C0168)

通信作者: 李群, 副主任医师, Email: liqun@hnuocm.edu.cn

<https://slyyx.whuzhmedj.com/>

2. School of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. The First Clinical College of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

4. Department of Stomatology, The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

Corresponding author: LI Qun, Email: liqun@hnuucm.edu.cn

【Abstract】Objective To systematically explore the mechanism of astragaloside IV (AS-IV) in the treatment of ischemic stroke (IS) using integrated pharmacology method. **Methods** Potential targets of AS-IV and disease targets of IS were retrieved from multiple databases. The common targets were screened using the Venny website. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed via the STRING database, and core targets were analyzed using Cytoscape 3.9.1 software with the CytoHubba plugin. The common targets of AS-IV and IS were imported into the DAVID database for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis to identify relevant pathways. AutoDock Vina 1.2.5 software was used to validate the molecular docking between AS-IV and the core targets, and Pymol 2.5 software was used to visualize the docking results. An oxygen-glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R) model was established using in vitro cultured human neuroblastoma SH-SY5Y cells to verify the mechanism of AS-IV in treating IS. **Results** A total of 371 potential targets for AS-IV, 121 targets related to IS, and 41 intersection targets were screened. PPI network analysis identified key core targets such as BCL2, IL-6, and TNF. GO and KEGG analyses indicated that the mechanism of AS-IV in treating IS was associated with the NF- κ B signaling pathway. Molecular docking results demonstrated a strong binding ability between AS-IV and the 10 core targets. Cell experiment results showed that compared with the blank group, the levels of TNF, NF- κ B, IL-6, Caspase-3, and IL-1 β in the model group were significantly increased, while the BCL2 level was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of TNF, NF- κ B, IL-6, Caspase-3, and IL-1 β in the AS-IV low-, medium-, and high-dose groups, as well as the TNF inhibitor group, were significantly decreased, while BCL2 levels were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the AS-IV medium-dose group, the levels of TNF, NF- κ B, IL-6, Caspase-3, and IL-1 β in the AS-IV medium-dose+TNF agonist group were significantly increased, and the BCL2 level was significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** AS-IV may inhibit inflammation by regulating the TNF/NF- κ B signaling pathway, thereby exerting its therapeutic effect on IS.

【Keywords】 Ischemic stroke; Astragaloside IV; Network pharmacology; Molecular docking; TNF/NF- κ B signaling pathway

缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 是全球范围内重要的致死和致残原因之一, 给社会和家庭带来了巨大的经济和精神负担^[1]。IS 的病理生理过程是一个复杂的级联反应, 涉及兴奋性毒性、氧化应激、血脑屏障破坏、炎症反应和细胞凋亡等多个环节, 最终导致不可逆的神经元损伤和功能缺陷^[2-4]。尽管 IS 急性期治疗 (如静脉溶栓和机械取栓) 已取得显著成效, 但其治疗窗口期窄, 且无法有效阻止继发性脑损伤的进展^[5-6]。因此, 寻找能够干预 IS 病理级联反应、促进神经功能恢复的有效药物, 仍是当前神经科学领域的研究热点和挑战。

中医药在卒中治疗中积累了丰富的临床经验。补阳还五汤是治疗中风后遗症的经典名方, 以益气活血为核心治则, 临床应用广泛且疗效显著^[7-8]。黄芪作为该方剂中的君药, 发挥着至关重要的作用。黄芪甲苷 (astragaloside IV, AS-IV) 是黄芪中含量最高、活性最强的皂苷类单体成分^[9]。现代药理学研究已证实, AS-IV 具有广泛的生物学活性, 包括抗炎 (如通过调控 NF- κ B 介导的炎症) 和抗氧化 (如激活 Nrf2/ARE 通路) 等, 并在多种神经系统疾病模型中展现出神经保护作用^[10-13]。多项研究进一步表明, AS-IV 能够有效减轻大鼠中脑动脉闭塞模型所致的脑梗死体积和

神经功能缺损,其机制可能与抑制小胶质细胞活化、减轻氧化应激损伤及调控自噬等有关^[14-16]。然而,中药成分具有多靶点、多通路的复杂作用特征,目前 AS-IV 治疗 IS 的分子机制尚未完全阐明,一定程度上限制了其开发和应用。因此,本研究拟采用网络药理学方法,系统筛选 AS-IV 治疗 IS 的潜在作用靶点和信号通路,并运用分子对接技术验证 AS-IV 与核心靶点的结合能力,最后通过建立体外神经元氧糖剥夺/复糖复氧(oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R)损伤模型,对预测的关键信号通路进行实验验证,旨在从“整体-局部-分子”多个层面系统揭示 AS-IV 治疗 IS 的分子机制,为其临床应用和新药研发提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 实验细胞株

人神经母细胞瘤细胞株 SH-SY5Y (批号: CL-0208, 武汉普诺赛生命科技有限公司)。

1.2 药物和试剂

黄芪甲苷(纯度: $\geq 98\%$, 批号: HY-N0431R, MedChemExpress); 重组人 TNF- α 激动剂(纯度: $\geq 98\%$, 批号: HY-P70426G, Selleck Chemicals); 依那西普(纯度: $\geq 98\%$, 批号: HY-108847, Selleck Chemicals)。

Advanced qPCR SYBR Master Mix (批号: 11185ES08, 翌圣生物科技(上海)股份有限公司); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, BCL-2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cysteine aspartate protease-3, Caspase-3)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 抗体(批号分别为 10375-2-AP、17590-1-AP、1-220aa、26593-1-AP、163-175aa、16806-1-AP、1-212aa, 武汉三鹰生物技术有限公司)。TNF- α 、IL-6、IL-1 β ELISA 试剂(批号分别为 EZHTNFA-150K、EZIL-6、RAB0273, 默克生命科学技术(南通)有限公司)。

1.3 仪器

CO 细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific

公司); SynergyH1 型多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); Applied Biosystems QuantStudio 5 型荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ChemiDoc XRS+ 型化学发光成像分析仪(美国 Bio-Rad 公司); 5424R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.4 网络药理学及分子对接分析

1.4.1 AS-IV 靶点筛选

以“Astragaloside IV”作为核心检索词,通过检索 Comparative Toxicogenomics Database (<https://ctdbase.org.hnu.cm.opac.vip/>)、SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 和 PharmMapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 数据库获取 AS-IV 的潜在药理作用靶点,并利用 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 的官方基因符号进行标准化统一,将其汇总到 Microsoft Excel 16.0 软件中剔除重复条目,最终构建 AS-IV 潜在作用靶点集合。

1.4.2 IS 疾病靶点筛选

在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>) 及 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 中以“Ischemic Stroke”作为核心检索词,将检索到的与 IS 相关的基因靶点进行汇总,并依据官方基因符号进行标准化处理,将其汇总到 Microsoft Excel 16.0 软件中去除重复项,从而获得 IS 疾病相关靶点集合。

1.4.3 AS-IV 靶点与 IS 疾病相关靶点交集

借助在线生物信息学工具 Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 筛选 AS-IV 治疗 IS 的关键潜在靶点,并汇总前述构建的 AS-IV 潜在作用靶点与 IS 疾病相关靶点,筛选出二者的交集靶点,最后利用 Venny 2.1 的可视化功能生成 Venn 图。

1.4.4 构建 AS-IV-IS 疾病靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络

将交集靶点上传至 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>),将物种严格限定为“Homo sapiens”,并采用中等置信度 (medium confidence score) > 0.4 作为蛋白质间相互作用的筛选阈值。基于数据库中已知和预测的蛋白质相互作用信息,构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络。最后,导出高分辨率的 PPI 网络图以及节点(蛋白质)与边(相互作用)

信息的 TSV 格式文件,以供后续深入分析。

1.4.5 构建 AS-IV-IS 疾病靶点的核心网络图

将 STRING 数据库导出的 TSV 格式文件导入 Cytoscape 3.9.1 软件,从复杂的 PPI 网络中识别出居于核心调控地位的关键靶点。利用其内置的 CytoHubba 插件,采用度 (Degree) 拓扑算法对网络中的所有节点进行重要性评估。依据度值从高到低对所有靶点进行排序,筛选出排名前 10 位的靶点作为 AS-IV 治疗 IS 的核心靶点。同时,对核心网络进行可视化,图谱中节点的颜色深度与度值大小呈正相关,从而直观展示核心靶点的拓扑重要性。

1.4.6 基因本体论功能和京都基因与基因组百科全书通路富集分析

将共同靶点基因列表提交至功能注释和富集分析数据库 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>),以人类全基因组为背景,分别进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析。GO 分析从生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 3 个维度阐释靶点功能。KEGG 分析则用于识别这些靶点显著参与的信号通路。设定校正后的 P 值 (Adjusted P -value) < 0.05 作为富集显著性的阈值。按照 P 值由小到大的顺序对富集结果进行排序,并选取排名前 20 的 GO 条目和 KEGG 通路,借助生物信息学在线绘图平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 的可视化功能,将结果以气泡图的形式呈现,图中气泡的大小代表富集到的基因数量,颜色代表 P 值的大小。

1.4.7 分子对接

从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载排名前 10 的核心靶点蛋白高分辨率三维晶体结构,经 PyMOL 2.5 和 AutoDockTools 1.5.6 软件预处理(移除水分子、杂原子等,加氢并计算电荷),生成 PDBQT 格式受体文件。从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取 AS-IV 三维结构,经 Chem3D 能量最小化得到稳定构象作为配体文件。随后利用 AutoDock Vina 1.2.5 软件在靶蛋白活性口袋周围设置格点盒子进行柔性对接,输出结合能信息。结合能绝对值越大,表明结合越稳

定。选取最低结合能构象为最佳模式,最后通过 PyMOL 2.5 软件可视化分析 AS-IV 与靶蛋白活性位点氨基酸残基的氢键、疏水作用等相互作用力。

1.5 实验验证

1.5.1 细胞培养与 OGD/R 模型建立

将人神经母细胞瘤细胞株 (SH-SY5Y) 置于含 10% 胎牛血清及 1% 青霉素-链霉素双抗溶液的 DMEM 高糖培养基中,置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度的恒温培养箱内进行常规培养与传代。待细胞生长至对数期且融合度达到 70%~80% 时,用于 OGD/R 损伤模型。具体操作:首先弃去原培养基,用 PBS 缓冲液清洗细胞两次,随后换用无糖 DMEM 培养基,并将细胞置于三气培养箱 (1% O₂, 5% CO₂, 94% N₂) 中进行缺氧缺糖处理 4 h。缺氧处理结束后,迅速将培养板取出,更换为正常的含血清高糖培养基,并转入常规培养箱中复糖复氧培养 24 h,以模拟脑缺血再灌注后的病理生理过程^[17]。

1.5.2 不同浓度 AS-IV、TNF 抑制剂及 TNF 激动剂对细胞存活率的影响

采用 CCK-8 法检测药物对 SH-SY5Y 细胞存活率的影响,以确定后续实验中各药物的安全有效浓度。取对数生长期细胞,调整密度后接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后,分别设置不同浓度梯度的 AS-IV (10 μg/mL、20 μg/mL、40 μg/mL、80 μg/mL、160 μg/mL)、TNF 抑制剂 (依那西普, Etanercept; 25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、400 ng/mL) 以及 TNF 激动剂 (重组人 TNF-α; 5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL、80 ng/mL) 实验组^[18-20],并设空白对照组,每组设 4 个复孔。药物干预 24 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,继续在培养箱中孵育 2 h,使用多功能酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的光密度值。根据光密度值计算细胞存活率,并据此筛选出对细胞无明显毒性且具有潜在活性的药物浓度范围,用于后续的分组干预实验。

1.5.3 实验分组及干预

根据 CCK-8 实验结果,选取合适的药物浓度进行后续机制验证实验。实验共分为 6 组:①空白对照组 (Control):仅进行常规培养,不作任何处理;②模型组 (OGD/R):仅进行 OGD/R 处理;③ AS-IV 低、中、高剂量组 (AS-IV-L/M/H):在 OGD/R 处理后的复糖复氧阶段,分别加入终浓

度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$ 、80 $\mu\text{g/mL}$ 的 AS-IV 进行干预；④ TNF 抑制剂组：在复糖复氧阶段，加入终浓度为 100 ng/mL 的依那西普作为阳性对照；⑤ AS-IV 中剂量 +TNF 激动剂组：在复糖复氧阶段，同时加入 40 $\mu\text{g/mL}$ 的 AS-IV 和 20 ng/mL 的重组人 TNF- α 进行干预。所有药物均与细胞共培养 24 h 后，收集细胞或细胞上清液用于后续指标检测。

1.5.4 RT-qPCR 实验检测 mRNA 表达

药物干预 24 h 后，采用 Trizol 法提取细胞总 RNA，并使用微量分光光度计测定其浓度与纯度。取 1 μg 总 RNA，按照逆转录试剂盒说明书将其逆转录为 cDNA。随后，以合成的 cDNA 为模板，使用 SYBR Green Master Mix 在实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增。依据试剂说明书，将反应程序设置为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min，然后进行 40 个循环（94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 30 s）。实验检测的核心靶基因包括 TNF、NF- κB 、IL-6、Caspase-3、IL-1 β 和 BCL2，并以 GAPDH 作为内参基因进行校正。所有实验重复 3 次，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各靶基因的相对 mRNA 表达水平。引物序列见表 1。

1.5.5 Western blot 实验检测蛋白表达

收集各组细胞，加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液进行冰上裂解，提取总蛋白并通过 BCA 法进行定量。取等量蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，随后将分离的蛋白转移至 PVDF

膜上。使用 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h 后，分别加入 TNF、NF- κB 、IL-6、Caspase-3、IL-1 β 、BCL2 以及内参 GAPDH 的一抗，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育过夜。次日，经 TBST 洗膜后，加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的相应二抗室温孵育 1 h。最后，使用 ECL 化学发光底物进行显影，并通过化学发光成像系统采集图像。利用 Image J 1.54p 软件对目的条带的灰度值进行半定量分析，计算各蛋白的相对表达量。

1.5.6 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平检测

在各组细胞干预培养 24 h 后，小心吸取细胞培养上清液，并于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下离心以去除细胞碎片。采用 ELISA 法进行检测，严格按照人源 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β ELISA 试剂盒的说明书进行操作。使用酶标仪在相应波长处测定各孔的吸光值，并根据标准曲线计算出上清液中各种细胞因子的精确浓度（ pg/mL ）。

1.5.7 统计分析

所有实验数据均采用 SPSS 26.0 统计软件进行处理与分析，计量资料以均数和标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）的形式表示。多组间的均数比较采用单因素方差分析。若方差齐性检验结果显示方差齐，则组间两两比较采用 LSD-t 检验；若方差不齐，则采用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学及分子对接结果

2.1.1 AS-IV 与 IS 靶点交集分析

将 371 个 AS-IV 潜在作用靶点与 121 个 IS 疾病相关靶点导入 Venny 2.1 工具进行交集分析，结果显示，药物与疾病的交集靶点数量为 41 个，见图 1。

2.1.2 AS-IV 与 IS 交集靶点的 PPI 网络

为探究 41 个交集靶点之间的相互作用关系，将其导入 STRING 数据库并构建 PPI 网络。该网络由 41 个节点和 464 条边组成，网络的平均节点度为 22.6，表明这些靶蛋白之间形成了紧密且复杂的调控网络，见图 2。

2.1.3 AS-IV-IS 疾病靶点的核心网络图

将 PPI 网络数据导入 Cytoscape 软件，利用 CytoHubba 插件的拓扑分析功能，依据度（degree）值对节点的重要性进行排序。筛选出网络中排

表1 引物序列

Table 1. Primer sequence

基因	引物序列 (5'→3')	产物长度 (bp)
TNF	F: CTCATCTACTCCCAGGTCCTTTC	82
	R: CGATGCGCTGATGGCTGTG	
NF- κB	F: ATGGTGCTCGGCTTCGAAAC	87
	R: CGCCTCTGTCATTCGTGCTTCC	
IL-6	F: GTGTTGCCTGCTGCCTTCC	92
	R: TCTGAAGAGGTGAGTGGCTGTG	
Caspase-3	F: GAACTGGACTGTGGCATTGAGAC	115
	R: AATAATAACCAGGTGCTGTGGAGTATG	
IL-1 β	F: CCACCTCCAGGGACAGGATA	134
	R: TCAACACGCAGGACAGGTAC	
BCL-2	F: GAACTGGGGGAGGATTGTGG	164
	R: CATCCCAGCCTCCGTTATCC	
GAPDH	F: CTTTGGTATCGTGAAGGACTC	150
	R: GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT	

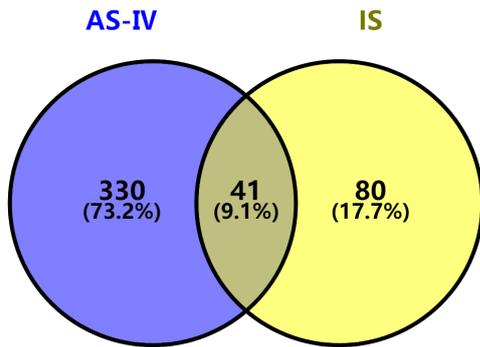


图1 黄芪甲苷与缺血性脑卒中交集靶点的Venn图
Figure 1. Venn diagram of the intersection targets of astragaloside IV and ischemic stroke

注: AS-IV, astragaloside IV, 黄芪甲苷; IS, ischemic stroke, 缺血性脑卒中。

名前10位的关键靶点, 分别为 BCL2、IL-6、TNF、IL-1 β 、PPARG、Caspase-3、MMP9、HSP90AA1、ESR1 及 AKT1, 见图3。

2.1.4 GO和KEGG富集分析

GO分析结果显示, 在BP层面, 靶点主要富集于PI3K/AKT信号通路的正向调控、凋亡过程的负向调控、细胞群体增殖的正向调控及炎症

反应等; 在CC层面, 主要涉及膜筏、细胞质、线粒体及细胞核等; 在MF层面, 主要与同种蛋白结合、酶结合及蛋白激酶活性等相关。KEGG通路富集分析结果表明, 这些靶点显著富集于NF- κ B信号通路、血脂与动脉粥样硬化、AGE-RAGE信号通路、PI3K-AKT信号通路及凋亡通路等, 见图4。

2.1.5 分子对接结果

结果显示, AS-IV与排名前10个核心靶点均表现出良好的结合能力, 其结合能均低于-7.0 kcal/mol, 提示两者之间能够形成稳定的复合物, 见表2。通过Pymol软件对最佳对接构象进行可视化分析, 可以发现AS-IV分子能够精准地嵌入靶蛋白的活性口袋中, 并与周围的关键氨基酸残基形成多个氢键及疏水相互作用, 见图5。

2.2 实验验证结果

2.2.1 不同浓度AS-IV、TNF抑制剂及TNF激动剂对细胞存活率的影响

CCK-8实验结果显示, 与0 μ g/mL AS-IV处理组相比, 10 μ g/mL浓度的AS-IV对SH-SY5Y细胞活力无显著影响 ($P > 0.05$); 当浓度达到

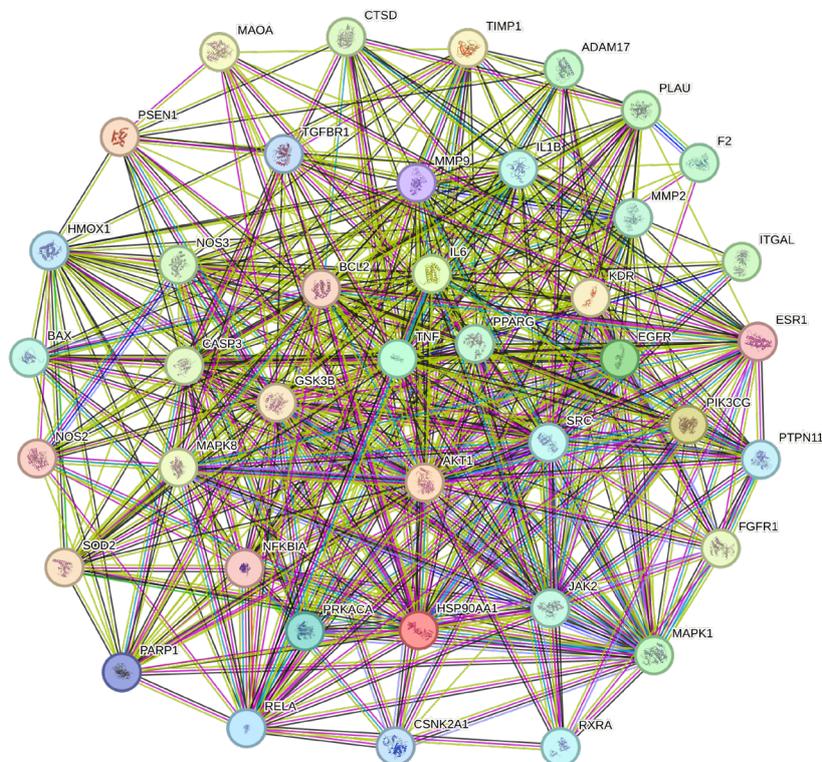


图2 黄芪甲苷与缺血性脑卒中交集靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络图

Figure 2. Protein-protein interaction network of the intersection targets for astragaloside IV and ischemic stroke

注: 图中每个节点代表一个交集靶点蛋白, 节点之间的连线代表蛋白间的相互作用关系。节点的大小和颜色深度与其在网络中的度值呈正相关, 连线的粗细代表相互作用置信度的高低。

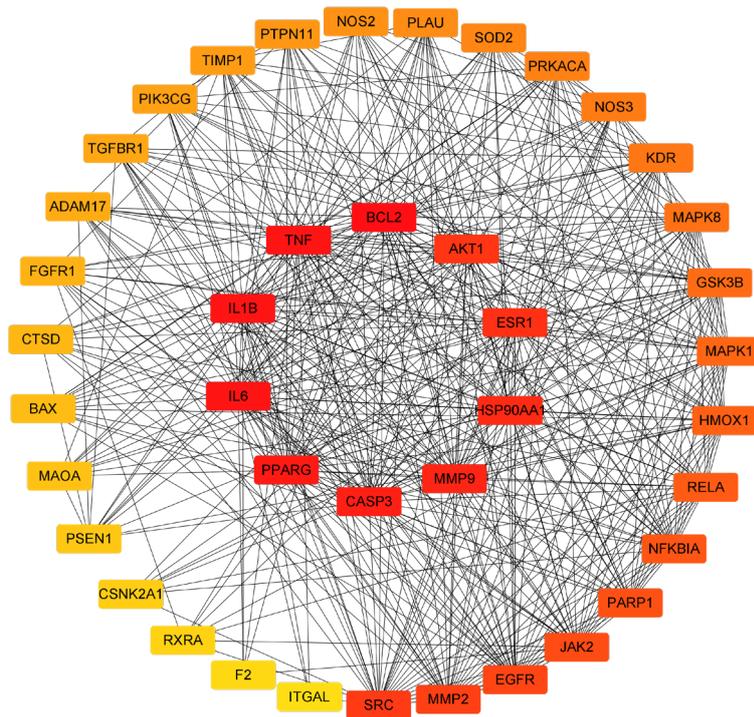


图3 黄芪甲苷与缺血性脑卒中交集靶点的核心网络图

Figure 3. Core network diagram of the intersection targets for astragaloside IV and ischemic stroke

注：节点颜色越深，代表其度值越高。

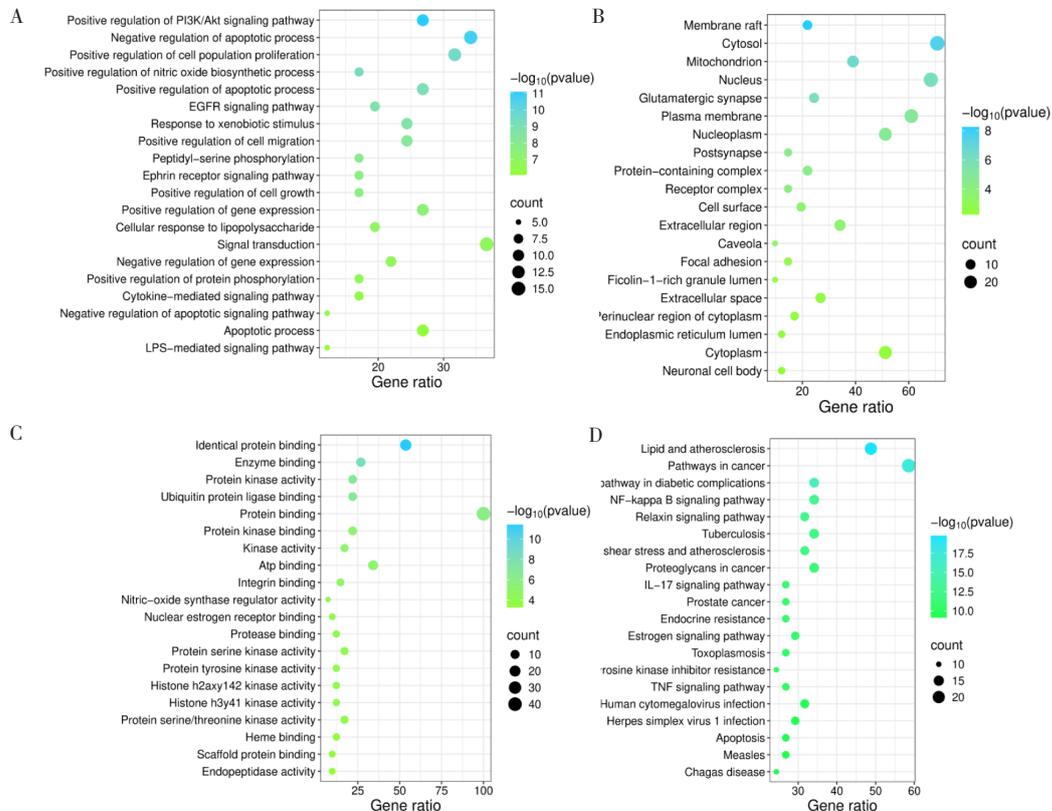


图4 黄芪甲苷与缺血性脑卒中交集靶点的基因本体论功能及京都基因与基因组百科全书通路富集分析气泡图
Figure 4. Bubble charts of Gene Ontology functional and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis for the intersection targets of astragaloside IV and ischemic stroke

注：A. 生物过程；B. 细胞组分；C. 分子功能；D. 京都基因与基因组百科全书富集通路。

表2 黄芪甲苷与核心靶点的结合能

Table 2. Binding energy of astragaloside IV to core targets

核心靶点	结合能 (kcal/mol)
TNF	-9.7
IL-6	-9.3
MMP9	-8.5
PPARG	-8.0
Caspase-3	-8.0
ESR1	-7.4
HSP90AA1	-7.3
AKT1	-7.3
BCL2	-7.2
IL-1 β	-7.2

20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞活力开始显著下降 ($P < 0.05$),但细胞存活率仍大于80%。同样,在高于25 ng/mL 的依那西普浓度范围外, TNF 抑制剂对细胞活力具有显著影响; 在高于5 ng/mL 的重组人 TNF- α 浓度范围外, TNF 激动剂对细胞活力具有显著影响。基于此实验结果, 综合考虑细胞毒性及潜在治疗效果, 本研究选取 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为 AS-IV 的低、中、高剂量组浓度, 选取 100 ng/mL 作为 TNF 抑制剂组的干预浓度, 选取 20 ng/mL 作为 TNF 激动剂组的干预浓度, 用于后续机制验证实验, 见图 6。

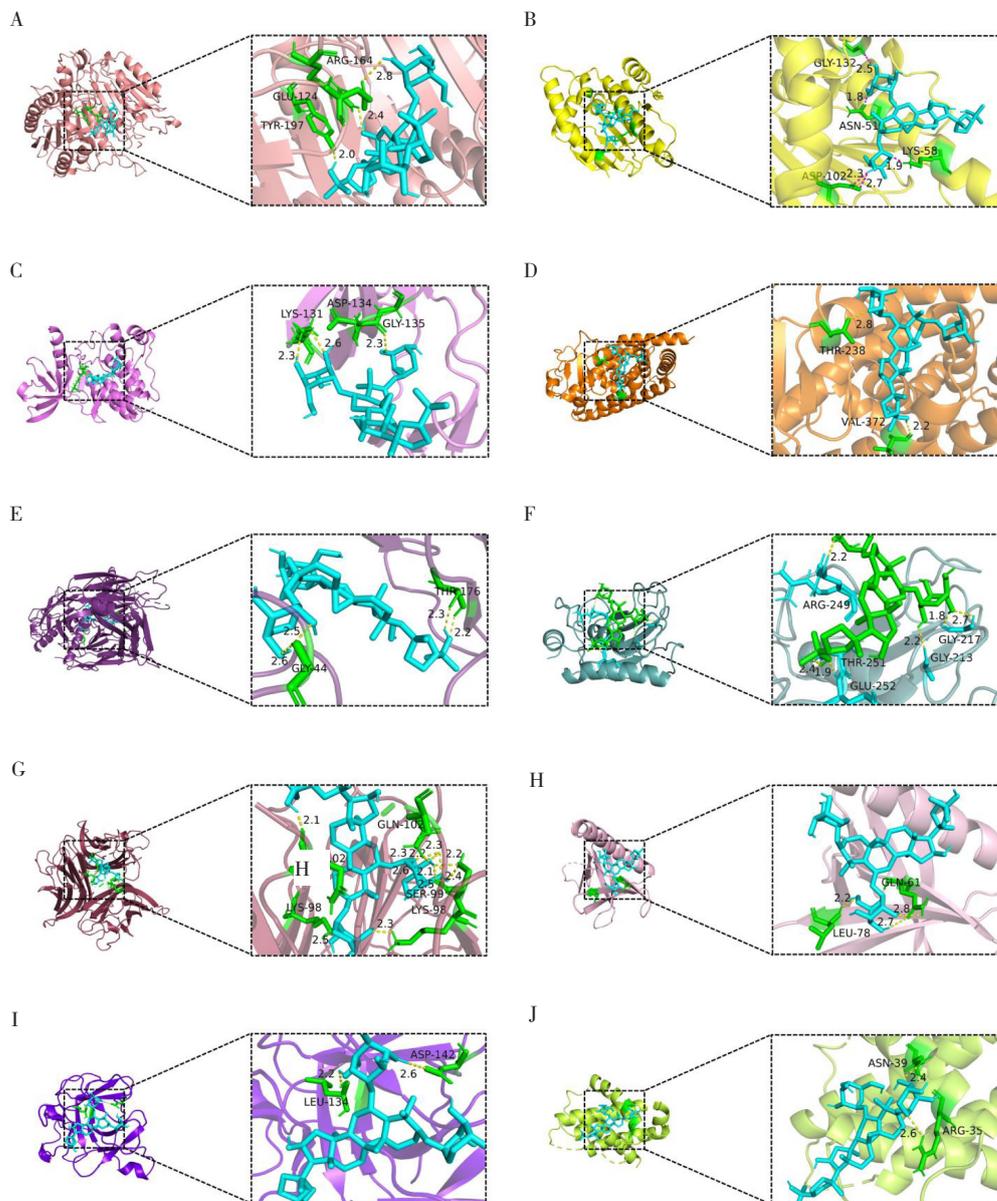


图5 黄芪甲苷与核心靶点的分子对接可视化结果

Figure 5. Visualization results of molecular docking between astragaloside IV and core targets

注: A. 黄芪甲苷与TNF; B. 黄芪甲苷与IL-6; C. 黄芪甲苷与MMP9; D. 黄芪甲苷与PPARG; E. 黄芪甲苷与Caspase-3; F. 黄芪甲苷与ESR1; G. 黄芪甲苷与HSP90AA1; H. 黄芪甲苷与AKT1; I. 黄芪甲苷与BCL2; J. 黄芪甲苷与IL-1 β 。

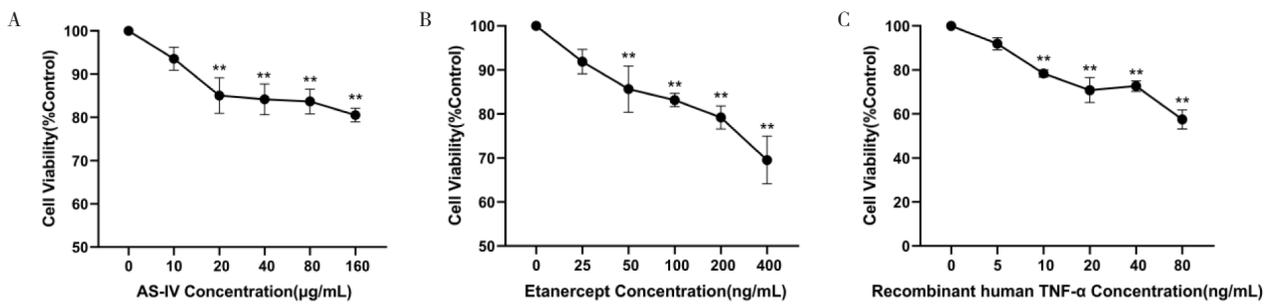


图6 不同浓度黄芪甲苷、TNF抑制剂及TNF激动剂对细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Figure 6. Effects of different concentrations of AS-IV, TNF inhibitor and TNF agonist on cell viability ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注: A. 黄芪甲苷; B. TNF抑制剂; C. TNF激动剂。AS-IV, astragaloside IV, 黄芪甲苷; 与0 µg/mL药物浓度组比较, ** $P < 0.01$ 。图中纵轴为细胞活力(%), 横轴为各药物浓度。

2.2.2 AS-IV对SH-SY5Y细胞相关mRNA表达水平的影响

RT-qPCR 实验结果显示, 与空白对照组相比, 模型组中促炎及促凋亡相关基因 *TNF*、*NF-κB*、*IL-6*、*Caspase-3*、*IL-1β* 的 mRNA 表达水平均显著升高, 抗凋亡基因 *BCL2* 的 mRNA 水平则显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比, AS-IV 低、中、高剂量组及 TNF 抑制剂组均能显著下调 *TNF*、*NF-κB*、*IL-6*、*Caspase-3*、*IL-1β* 的 mRNA 表达水平, 并显著上调 *BCL2* 的 mRNA 水平 ($P < 0.01$), 且 AS-IV 的效应呈现一定的剂量依赖性。值得注意的是, 与 AS-IV 中剂量组相比, AS-IV 中剂量 +TNF 激动剂组的保护作用被显著逆转, 其 *TNF*、*NF-κB*、*IL-6*、*Caspase-3*、*IL-1β* 的 mRNA

水平显著回升, 而 *BCL2* 的 mRNA 水平显著下降 ($P < 0.01$)。以上结果提示 AS-IV 可能通过调控上述基因的转录水平来发挥其对 OGD/R 损伤的神经保护作用, 见图 7。

2.2.3 AS-IV对SH-SY5Y细胞相关蛋白表达的影响

结果表明, 与空白对照组相比, 模型组细胞中 *TNF*、*NF-κB*、*IL-6*、*Caspase-3*、*IL-1β* 蛋白的表达显著上调, 而 *BCL-2* 蛋白的表达显著下调 ($P < 0.01$)。经 AS-IV 低、中、高剂量或 TNF 抑制剂干预后, 上述促炎、促凋亡蛋白的表达水平均被显著抑制, 抗凋亡蛋白 *BCL-2* 的表达则显著增强 ($P < 0.01$), 其效果与 mRNA 水平的变化趋势一致。TNF 激动剂的加入显著削弱了

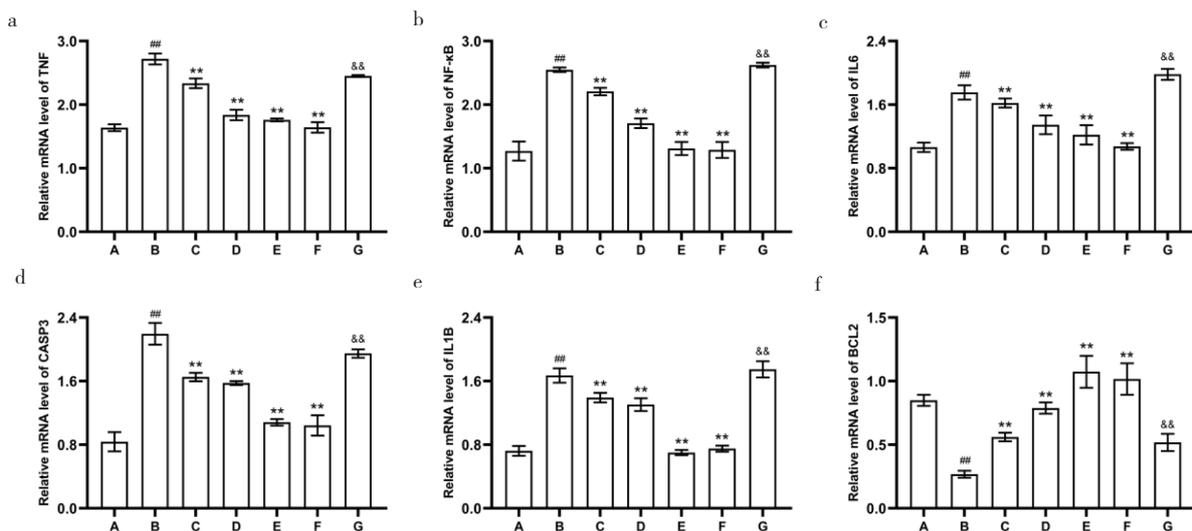


图7 RT-qPCR检测各组细胞*TNF*、*NF-κB*、*IL-6*、*Caspase-3*、*IL-1β*、*BCL2*的mRNA表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Figure 7. The mRNA expression levels of *TNF*, *NF-κB*, *IL-6*, *Caspase-3*, *IL-1β*, and *BCL2* in each group of cells were detected by RT-qPCR ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注: a. *TNF* mRNA表达水平; b. *NF-κB* mRNA表达水平; c. *IL-6* mRNA表达水平; d. *Caspase-3* mRNA表达水平; e. *IL-1β* mRNA表达水平; f. *BCL2* mRNA表达水平。与空白组相比, ## $P < 0.01$; 与模型组相比, ** $P < 0.01$; 与AS-IV中剂量组相比, ⁵⁵ $P < 0.01$ 。A为空白组, B为模型组, C为AS-IV低剂量组, D为AS-IV中剂量组, E为AS-IV高剂量组, F为TNF抑制剂组, G为AS-IV中剂量+TNF激动剂组。

AS-IV 中剂量组的保护效应, 导致 TNF、NF- κ B 等蛋白表达水平相较于单纯中剂量组显著回升, 而 BCL-2 表达则被抑制 ($P < 0.01$)。这表明 AS-IV 的神经保护作用与其对这些关键蛋白表达的调控密切相关, 见图 8。

2.2.4 各组细胞中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达水平

与空白对照组相比, 模型组上清液中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的浓度显著升高 ($P < 0.01$),

表明 OGD/R 成功诱导了细胞的炎症反应。与模型组相比, AS-IV 低、中、高剂量和 TNF 抑制剂均能显著降低这三种炎症因子的分泌水平 ($P < 0.01$), 从而有效抑制炎症。当 TNF 激动剂与 AS-IV 中剂量共同作用时, 上清液中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的浓度相较于单纯 AS-IV 中剂量组显著升高 ($P < 0.01$), 进一步证实了 AS-IV 的抗炎作用与对 TNF 信号通路的抑制有关, 见图 9。

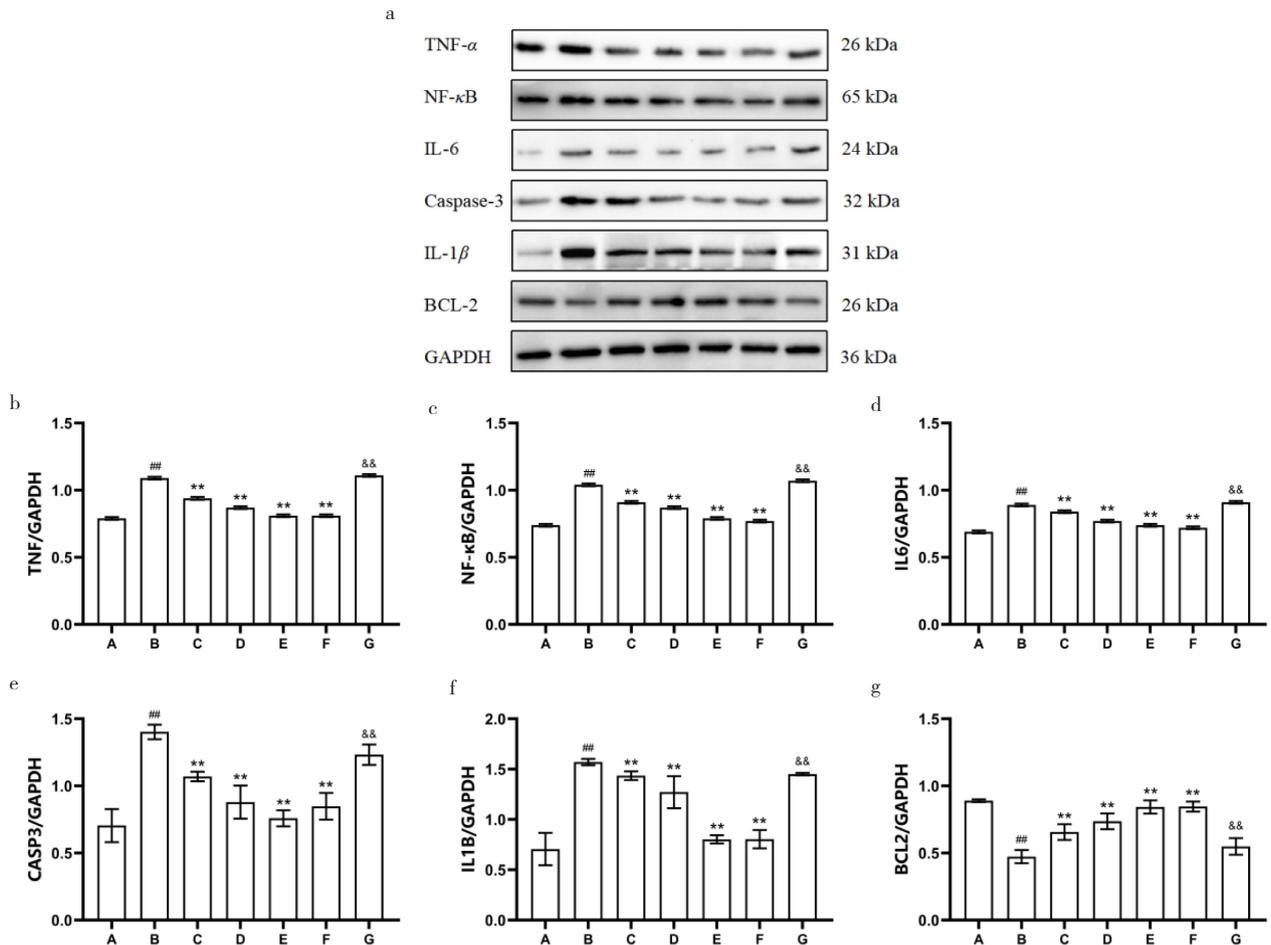


图8 Western blot实验检测各组细胞中TNF、NF- κ B、IL-6、Caspase-3、IL-1 β 、BCL2蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Figure 8. Western blot was used to detect the protein contents of TNF, NF- κ B, IL-6, Caspase-3, IL-1 β , and BCL2 in each group of cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注: a. 蛋白条带图; b. TNF蛋白表达水平; c. NF- κ B蛋白表达水平; d. IL-6蛋白表达水平; e. Caspase-3蛋白表达水平; f. IL-1 β 蛋白表达水平; g. BCL2蛋白表达水平。

3 讨论

IS 后复杂的病理生理过程为药物开发带来了巨大挑战, 而针对单一靶点的药物往往难以取得理想的治疗效果。中药活性成分因其多靶点、多途径的整合调节特性, 在治疗 IS 等复杂疾病方面

展现出独特优势。本研究综合运用网络药理学、分子对接和实验验证方法, 系统探讨了黄芪主要活性成分 AS-IV 治疗 IS 的作用机制。

本研究通过网络药理学分析筛选出 10 个核心靶点, 这些靶点参与了 IS 的核心病理环节——神经炎症和细胞凋亡^[21]。脑缺血后, 小胶质细胞和

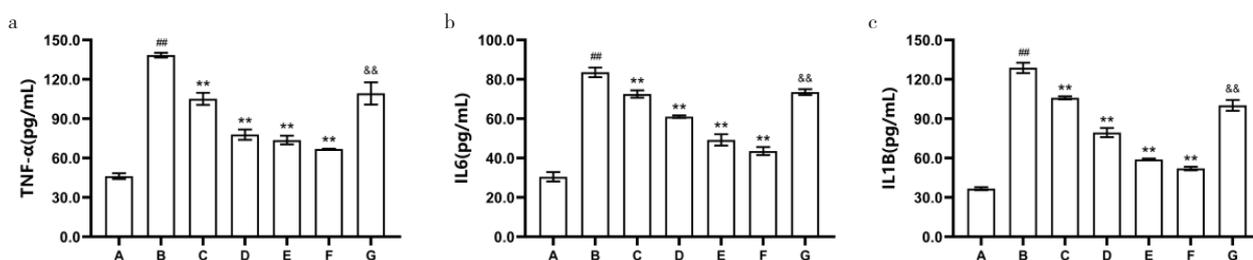


图9 ELISA法检测各组细胞上清液中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 9. The expression levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β in the supernatant of each group of cells were detected by ELISA ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注: a. TNF- α 表达水平; b. IL-6表达水平; c. IL-1 β 表达水平。

星形胶质细胞大量释放 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等促炎细胞因子, 形成瀑布式的炎症级联反应, 加剧脑组织损伤^[22-25]。同时, 缺血缺氧诱导的氧化应激会触发细胞凋亡, 其中 BCL-2 和 Caspase-3 之间的失衡是关键调控节点^[26-27]。AKT1 作为 PI3K/AKT 信号通路的核心分子, 是促进细胞存活、抑制凋亡的重要激酶^[28]。AS-IV 能够同时作用于这些炎症和凋亡网络中的多个关键节点, 体现了其“整合调节”的潜力。

KEGG 富集分析进一步将这些离散的靶点关联到具体的信号通路上, 结果提示 NF- κ B 信号通路是 AS-IV 发挥作用的核心枢纽。在静息状态下, NF- κ B 与抑制蛋白 I κ B 结合在胞质中^[29-30]。当受到 TNF- α 等刺激时, I κ B 激酶被激活, 导致 I κ B 磷酸化降解, 从而释放 NF- κ B。活化的 NF- κ B 启动下游大量促炎 (包括 TNF、IL-1 β 、IL-6 等) 和促凋亡基因的转录^[31-32]。这种由 TNF- α 激活 NF- κ B, NF- κ B 再促进 TNF- α 等炎症因子产生的正反馈循环, 是神经炎症持续和放大的关键机制^[33]。AS-IV 可能通过干预这一恶性循环来发挥神经保护作用。

本研究体外实验结果验证了上述预测。通过成功建立 OGD/R 模型, 模拟了 IS 的体外病理过程, 发现神经元中炎症和凋亡指标显著升高。AS-IV 的干预显著抑制了 OGD/R 诱导的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达, 并下调了 NF- κ B 和 Caspase-3 的水平, 上调了 BCL-2 的水平, 这与既往关于 AS-IV 抗炎抗凋亡的研究结果一致^[34]。最为关键的证据来自“挽救实验”: 当外源性添加 TNF- α 激动剂后, AS-IV 的保护作用被显著削弱。这直接表明 TNF- α 是 AS-IV 发挥作用的关键上游靶点, AS-IV 通过抑制 TNF- α 及其介导的下游

NF- κ B 信号通路, 阻断了炎症和凋亡的级联反应。分子对接结果也从原子层面支持了 AS-IV 与 TNF 等核心靶点直接结合的可能性, 为其抑制靶点功能提供了结构生物学基础。现有研究也证实了 AS-IV 对 IS 的治疗作用, 如 AS-IV 可抑制 NF- κ B 核转位以降低 TNF- α 、IL-1 β 水平^[35], 与本研究体外下调 NF- κ B、减少炎症因子的结果一致。Zhang 等的研究发现, AS-IV 通过 Nrf2/HO-1 通路间接抑制 NF- κ B^[36]。本研究 GO 分析也提示其靶点涉及抗氧化相关过程, 表明 AS-IV 可能通过多通路协同抗炎。在凋亡调控上, Shi 等在原代神经元模型中发现 AS-IV 通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进小鼠局灶性缺血性中风后的脑血管生成和神经恢复^[37]。上述研究虽揭示了 AS-IV 的部分作用通路, 但均未明确其调控 NF- κ B 的上游核心靶点。本研究进一步通过实验验证了 TNF 是 AS-IV 调控 NF- κ B 通路的上游关键靶点, 说明 TNF/NF- κ B 信号通路是有效减轻神经炎症和细胞凋亡的关键环节。

本研究也存在一些局限性: 首先, 网络药理学的预测结果依赖于现有数据库的完整性和准确性; 其次, 缺乏体内实验验证, SH-SY5Y 细胞系作为肿瘤细胞系来源的神经元模型, 其响应可能与原代神经元存在差异, 无法完全模拟体内复杂的细胞互作环境, 特别是与胶质细胞、血管内皮细胞的相互作用。未来研究应在动物模型的基础上进一步验证 AS-IV 的体内药效及其对 TNF/NF- κ B 通路的调控作用, 并结合多组学技术, 更全面地绘制 AS-IV 干预 IS 的调控网络。

综上所述, 本研究采用整合药理学策略系统揭示了 AS-IV 治疗 IS 的作用机制。研究发现, AS-IV 通过多靶点协同作用, 抑制了由 TNF- α 介

导的 NF- κ B 信号通路的激活,从而有效减轻神经炎症和细胞凋亡,发挥保护神经的作用。本研究为深入理解补阳还五汤治疗中风的科学内涵提供了分子层面的证据,并为进一步探索探究 AS-IV 在脑卒中治疗中的应用潜力提供了依据。

参考文献

- 1 Feigin VL, Brainin M, Norrving B, et al. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022[J]. *Int J Stroke*, 2022, 17(1): 18–29. DOI: [10.1177/17474930211065917](https://doi.org/10.1177/17474930211065917).
- 2 Alsbrook DL, Di Napoli M, Bhatia K, et al. Neuroinflammation in acute ischemic and hemorrhagic stroke[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2023, 23(8): 407–431. DOI: [10.1007/s11910-023-01282-2](https://doi.org/10.1007/s11910-023-01282-2).
- 3 Neves D, Salazar IL, Almeida RD, et al. Molecular mechanisms of ischemia and glutamate excitotoxicity[J]. *Life Sciences*, 2023, 121814. DOI: [10.1016/j.lfs.2023.121814](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121814).
- 4 Zong P, Feng J, Li CX, et al. Activation of endothelial TRPM2 exacerbates blood–brain barrier degradation in ischemic stroke[J]. *Cardiovasc Res*, 2024, 120(2): 188–202. DOI: [10.1093/cvr/cvad126](https://doi.org/10.1093/cvr/cvad126).
- 5 Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: 2019 update to the 2018 guidelines for the early management of acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association[J]. *Stroke*, 2019, 50(12): e344–e418. DOI: [10.1161/STR.0000000000000211](https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000211).
- 6 Campbell BCV, De Silva DA, Macleod MR, et al. Ischaemic stroke[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 70. DOI: [10.1038/s41572-019-0118-8](https://doi.org/10.1038/s41572-019-0118-8).
- 7 Song T, Zhang Y, Zhu L, et al. The role of JAK/STAT signaling pathway in cerebral ischemia–reperfusion injury and the therapeutic effect of traditional Chinese medicine: a narrative review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(46): e35890. DOI: [10.1097/md.00000000000035890](https://doi.org/10.1097/md.00000000000035890).
- 8 诸葛陆杰, 方燕, 金华倩, 等. 补阳还五汤上调 miR-199a-5p 表达促进脑缺血大鼠神经发生和血管生成[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2020, 49(6): 687–696. [Zhuge LJ, Fang Y, Jin HQ, et al. Chinese medicine Buyang Huanwu decoction promotes neurogenesis and angiogenesis in ischemic stroke rats by upregulating miR-199a-5p expression[J]. *Journal of Zhejiang University (Medical Sciences)*, 2020, 49(6): 687–696.] DOI: [10.3785/j.issn.1008-9292.2020.12.03](https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9292.2020.12.03).
- 9 Chen C, Bu X, Deng L, et al. Astragaloside IV as a promising therapeutic agent for liver diseases: current landscape and future perspectives[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1574154. DOI: [10.3389/fphar.2025.1574154](https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1574154).
- 10 Yao M, Zhang L, Wang L. Astragaloside IV: a promising natural neuroprotective agent for neurological disorders[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 159: 114229. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.114229](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114229).
- 11 Zhang W, Yang Y, Zhang X, et al. Astragaloside IV relieves central sensitization by regulating astrocytic ROS/NF- κ B nuclear translocation signaling in chronic migraine male rats[J]. *Phytother Res*, 2025, 39(3): 1438–1452. DOI: [10.1002/ptr.8436](https://doi.org/10.1002/ptr.8436).
- 12 Liang Y, Chen B, Liang D, et al. Pharmacological effects of astragaloside IV: a review[J]. *Molecules*, 2023, 28(16): 6118. DOI: [10.3390/molecules28166118](https://doi.org/10.3390/molecules28166118).
- 13 Su X, Guo H, Zhou Y, et al. Astragaloside IV attenuates high glucose-induced NF- κ B-mediated inflammation through activation of PI3K/AKT-ERK-dependent Nrf2/ARE signaling pathway in glomerular mesangial cells[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(9): 4133–4148. DOI: [10.1002/ptr.7875](https://doi.org/10.1002/ptr.7875).
- 14 Xiao L, Dai Z, Tang W, et al. Astragaloside IV alleviates cerebral ischemia–reperfusion injury through NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis inhibition via activating Nrf2[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9925561. DOI: [10.1155/2021/9925561](https://doi.org/10.1155/2021/9925561).
- 15 Shi YH, Zhang XL, Ying PJ, et al. Neuroprotective effect of astragaloside IV on cerebral ischemia/reperfusion injury rats through sirt1/mapt pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 639898. DOI: [10.3389/fphar.2021.639898](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.639898).
- 16 Ding Y, Jie K, Xin L, Shao B. Astragaloside IV plays a neuroprotective role by promoting PPAR γ in cerebral ischemia–reperfusion rats[J]. *Behav Brain Res*, 2025, 476: 115267. DOI: [10.1016/j.bbr.2024.115267](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.115267).
- 17 张苗苗, 胡利明, 周全, 等. 人参皂苷 Ro 对氧糖剥夺/复糖复氧诱导 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用及机制[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2025, 32(1): 35–41. [Zhang MM, Hu LM, Zhou Q, et al. Therapeutic effect and mechanism of ginsenoside Ro on SH-SY5Y cell injury induced by oxygen–glucose deprivation/reoxygenation[J]. *Chinese Journal of Neuroimmunology and Neurology*, 2025, 32(1): 35–41.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-2963.2025.01.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-2963.2025.01.006).
- 18 Xu Z, Yang D, Huang X, et al. Astragaloside IV protects 6-hydroxydopamine-induced SH-SY5Y cell model of Parkinson's disease via activating the JAK2/STAT3 pathway[J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 631501. DOI: [10.3389/fnins.2021.631501](https://doi.org/10.3389/fnins.2021.631501).
- 19 Liu S, Wang Y, Wen H, et al. Hydroxysafflor yellow A inhibits TNF- α -induced inflammation of human fetal lung fibroblasts via NF- κ B signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 4050327. DOI: [10.1155/2019/4050327](https://doi.org/10.1155/2019/4050327).
- 20 Dos Passos Junior RR, de Freitas RA, Reppetti J, et al. High levels of tumor necrosis factor- α reduce placental aquaporin 3 expression and impair in vitro trophoblastic cell migration[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 696495. DOI: [10.3389/fphys.2021.696495](https://doi.org/10.3389/fphys.2021.696495).
- 21 Amruta N, Rahman AA, Pinteaux E, et al. Neuroinflammation and fibrosis in stroke: the good, the bad and the ugly[J]. *J Neuroimmunol*, 2020, 346: 577318. DOI: [10.1016/j.jneuroim.2020.577318](https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577318).
- 22 Lu W, Chen Z, Wen J. Flavonoids and ischemic stroke-induced neuroinflammation: focus on the glial cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 170: 115847. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.114229](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114229).

- [j.biopha.2023.115847](#).
- 23 Wang D, Wang Y, Shi J, et al. Edaravone dextrane alleviates ischemic injury and neuroinflammation by modulating microglial and astrocyte polarization while inhibiting leukocyte infiltration[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 130: 111700. DOI: [10.1016/j.intimp.2024.111700](#).
- 24 Tirandi A, Sgura C, Carbone F, et al. Inflammatory biomarkers of ischemic stroke[J]. *Intern Emerg Med*, 2023, 18(3): 723–732. DOI: [10.1007/s11739-023-03201-2](#).
- 25 Jayaraj RL, Azimullah S, Beiram R, et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 142. DOI: [10.1186/s12974-019-1516-2](#).
- 26 Mokhtari Sangdehi SR, Hajizadeh Moghaddam A, Ranjbar M. Anti-apoptotic effect of silymarin-loaded chitosan nanoparticles on hippocampal Caspase-3 and BCL-2 expression following cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Int J Neurosci*, 2022, 132(11): 1102–1109. DOI: [10.1080/00207454.2020.1860971](#).
- 27 Hussar P. Apoptosis regulators BCL-2 and caspase-3[J]. *Encyclopedia*, 2022, 2(4): 1624–1636. DOI: [10.3390/encyclopedia2040111](#).
- 28 Glaviano A, Foo ASC, Lam HY, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 138. DOI: [10.1186/s12943-023-01827-6](#).
- 29 Barnabei L, Laplantine E, Mbongo W, et al. NF- κ B: at the borders of autoimmunity and inflammation[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 716469. DOI: [10.3389/fimmu.2021.716469](#).
- 30 Liu D, Zhong Z, Karin M. NF- κ B: a double-edged sword controlling inflammation[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(6): 1250. DOI: [10.3390/biomedicines10061250](#).
- 31 Anilkumar S, Wright-Jin E. NF- κ B as an inducible regulator of inflammation in the central nervous system[J]. *Cells*, 2024, 13(6): 485. DOI: [10.3390/cells13060485](#).
- 32 Zhang L, Ludden CM, Cullen AJ, et al. Nuclear factor kappa B expression in non-small cell lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115459. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.115459](#).
- 33 Zamanian MY, Golmohammadi M, Gardanova ZR, et al. The roles of neuroinflammation in l-DOPA-induced dyskinesia: dissecting the roles of NF- κ B and TNF- α for novel pharmacological therapeutic approaches[J]. *Eur J Neurosci*, 2025, 61(5): e70034. DOI: [10.1111/ejn.70034](#).
- 34 Li H, Yao C, Shi K, et al. Astragaloside IV attenuates hypoxia/reoxygenation injury-induced apoptosis of type II alveolar epithelial cells through miR-21-5p[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 7747–7754. DOI: [10.1080/21655979.2021.1982845](#).
- 35 Hou Y, Yan Z, Wan H, et al. A combination of astragaloside IV and hydroxysafflor yellow A attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury via NF- κ B/NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway[J]. *Brain Sci*, 2024, 14(8): 781. DOI: [10.3390/brainsci14080781](#).
- 36 Zhang C, Shi Z, Xu Q, et al. Astragaloside IV alleviates stroke-triggered early brain injury by modulating neuroinflammation and ferroptosis via the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Acta Cir Bras*, 2023, 38: e380723. DOI: [10.1590/acb380723](#).
- 37 Shi G, Chen J, Zhang C, et al. Astragaloside IV promotes cerebral angiogenesis and neurological recovery after focal ischemic stroke in mice via activating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Heliyon*, 2023, 9(12): e22800. DOI: [10.1016/j.heliyon.2023.e22800](#).

收稿日期: 2025 年 09 月 30 日 修回日期: 2026 年 01 月 12 日
本文编辑: 张 苗 黄 笛

引用本文: 李波, 徐昊, 黄秀秀, 等. 基于整合药理学探讨黄芪甲苷治疗缺血性脑卒中的作用机制[J]. 数理医药学杂志, 2026, 39(2): 101–113. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202509091](#).

Li B, Xu H, Huang XX, et al. Exploring the mechanism of astragaloside IV in the treatment of ischemic stroke based on integrated pharmacology[J]. *Journal of Mathematical Medicine*, 2026, 39(2): 101–113. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202509091](#).