

基于网络药理学与实验验证探讨绞股蓝皂苷 XVII 改善脑出血后神经损伤的作用机制

黄文^{1,2}, 李兴^{1,2}, 陈彦羽^{3*}, 邓义军^{1,2*}

1. 徐州医科大学 盐城临床学院, 江苏 盐城 224006

2. 盐城市第一人民医院 重症医学科, 江苏 盐城 224006

3. 盐城市第一人民医院 南京大学医学院盐城医学研究中心, 江苏 盐城 224006

摘要: 目的 旨在基于网络药理学筛选绞股蓝皂苷 XVII 改善脑出血后神经损伤的潜在靶点与通路, 并通过体内外实验验证其作用及对磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B1 (Akt) 信号通路的调控机制。方法 通过网络药理学平台筛选绞股蓝皂苷 XVII 与脑出血的交集靶点, 构建蛋白质相互作用网络 (PPI) 并进行关键通路的富集分析; 通过分子对接验证靶点结合能, 利用细胞实验、动物实验探索绞股蓝皂苷 XVII 治疗脑出血的分子机制。通过氯化血红素诱导 SH-SY5Y 细胞模拟脑出血模型后, 使用 CCK-8 测细胞活性、荧光探针检测细胞内活性氧 (ROS) 水平; 实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 检测肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 (IL)-1 β 、胰岛素样生长因子 1 (IGF1)、表皮生长因子受体 (EGFR)、磷酸肌醇 3 激酶调控亚基 1 (PIK3R1) 的 mRNA 表达水平。将 60 只 SD 大鼠随机分成假手术组、模型组、绞股蓝皂苷 XVII (20、40 mg/kg) 组, 采用自体血注射法构建大鼠脑出血模型, 评估大鼠神经功能评分, 干/湿质量法检测脑组织含水量, HE 染色及尼氏检测血肿周围脑组织病理变化, 试剂盒检测氧化应激指标超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 水平, Western blotting 检测 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 蛋白表达水平。结果 网络药理学筛选出 166 个共同靶点, PPI 分析揭示核心靶点 (PIK3R1、Akt1 等), KEGG 富集提示 PI3K/Akt 为核心通路。体外实验表明, 绞股蓝皂苷 XVII 显著提高细胞存活率、抑制 ROS 生成, 并下调 TNF、IL-1 β 、IGF1、EGFR、PIK3R1 mRNA 表达。体内实验证实, 绞股蓝皂苷 XVII 能够降低大鼠神经功能评分、减少脑水肿, 改善血肿周围脑组织病理损伤, 提高 SOD 活性、降低 MDA 水平及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 水平, 显著上调 PI3K、Akt 的磷酸化水平 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。结论 绞股蓝皂苷 XVII 可能通过调控 PI3K/Akt 通路改善脑出血神经损伤。

关键词: 绞股蓝皂苷 XVII; 脑出血; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素-1 β ; 胰岛素样生长因子 1; 表皮生长因子受体; 磷酸肌醇 3 激酶调控亚基 1

中图分类号: R286.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)09-2168-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.09.005

Mechanism of gypenoside XVII in improving neural injury after intracerebral hemorrhage using network pharmacology and experimental validation

HUANG Wen^{1,2}, LI Xing^{1,2}, CHEN Yanyu³, DENG Yijun^{1,2}

1. Affiliated Yancheng Clinical College, Xuzhou Medical University, Yancheng 224006, China

2. Department of Intensive Care Medicine, The First people's Hospital of Yancheng, Yancheng 224006, China

3. Yancheng Medical Research Center Nanjing University Medical School, The First people's Hospital of Yancheng, Yancheng 224006, China

Abstract: Objective To screen potential targets and pathways of gypenoside XVII in ameliorating neurological impairment following intracerebral hemorrhage through network pharmacology approaches, and further validate its therapeutic effects along with the regulatory mechanisms on the PI3K/Akt signaling pathway via both *in vitro* and *in vivo* experiments. **Methods** Network

收稿日期: 2025-07-08

基金项目: 江苏省卫生健康委科研项目 (K2023044); 盐城市科技项目基础研究计划 (YCBK2024072)

作者简介: 黄文, 硕士, 研究方向为急诊医学。E-mail: hw2441530528@163.com

*通信作者: 陈彦羽 E-mail: 2047924593@qq.com

邓义军 E-mail: dengyj2003@163.com

pharmacology platforms were used to screen common targets of gypenoside XVII and intracerebral hemorrhage, followed by PPI network construction and pathway enrichment analysis. Molecular docking was performed to validate target binding activity, while cellular and animal experiments were conducted to explore the molecular mechanism of gypenoside XVII in intracerebral hemorrhage treatment. Hemin-induced SH-SY5Y cell model mimicking intracerebral hemorrhage was established, and cell viability was assessed using the CCK-8 assay. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were measured via fluorescent probes. RT-qPCR was used to detect mRNA expression levels of *TNF*, *IL-1 β* , *IGF1*, *EGFR*, and *PIK3R1*. Sixty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into sham operation group, model group, and gypenoside XVII (20, 40 mg/kg) group. Intracerebral hemorrhage model was constructed using autologous blood injection. Neurological function scores, cerebral edema (dry-wet weight method), histopathological changes in perihematomal brain tissue (HE and Nissl staining), oxidative stress markers (SOD, MDA), inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β), and protein expression levels of p-PI3K, PI3K, p-Akt, and Akt were evaluated. **Results** Network pharmacology identified 166 common targets, with PPI analysis revealing core targets (PIK3R1, Akt1), and KEGG enrichment highlighting the PI3K/Akt pathway as central. *In vitro*, gypenoside XVII significantly increased cell viability, inhibited ROS generation, and downregulated *TNF*, *IL-1 β* , *IGF1*, *EGFR*, *PIK3R1* mRNA expression. *In vivo*, gypenoside XVII reduced neurological deficits, decreased cerebral edema, alleviated perihematomal pathological damage, enhanced SOD activity, lowered MDA and inflammatory cytokine levels (TNF- α , IL-1 β), and upregulated phosphorylation levels of PI3K and Akt ($P < 0.05$, 0.01, 0.001). **Conclusion** Gypenoside XVII may improve neurological injury after intracerebral hemorrhage by modulating the PI3K/Akt pathway.

Key words: gypenoside XVII; intracerebral hemorrhage; TNF; IL-1 β ; IGF1; EGFR; PIK3R1

脑出血是一种病死率和致残率极高的急性脑血管疾病。患者发病后 30 d 内的死亡率高达 40%，幸存者中超过 75%在发病 6 个月后仍无法独立生活，存在运动、感觉、语言或认知等严重障碍，给家庭与社会带来沉重的照护负担和经济压力^[1-2]。当前的治疗策略主要集中于早期的血肿清除以缓解占位效应和降低颅内压，以及严格的血压管理。然而，这些措施往往难以逆转由血红蛋白及其降解产物（如血红素、铁离子）触发的继发性脑损伤，这一过程涉及强烈的氧化应激、神经炎症、细胞凋亡等一系列错综复杂且相互关联的病理生理机制，最终导致不可逆的神经功能缺损^[3-4]。然而，针对脑出血后复杂的多靶点病理过程，目前仍缺乏具有明确神经保护作用的有效药物，亟待探索兼具抗炎、抗氧化及促修复作用的新型药物^[5]。

绞股蓝皂苷 XVII 是从绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino 中提取的四环三萜皂苷单体。大量研究表明，绞股蓝皂苷 XVII 具有广泛的药理活性，包括抗动脉粥样硬化、抗肿瘤、改善胰岛素抵抗以及保护心脏缺血再灌注损伤等^[6-8]。绞股蓝皂苷 XVII 在大脑缺血再灌注损伤大鼠模型中能够减弱脑梗死体积并减轻神经功能障碍^[9]。绞股蓝皂苷 XVII 能够减弱 β 淀粉样蛋白诱导的 PC12 细胞氧化应激、细胞死亡和自噬细胞死亡，防止海马体和皮层中 β 淀粉样蛋白斑块的形成，并改善小鼠的空间学习和记忆缺陷^[10-11]。然而，其在脑出血后神经损伤中的作用及其具体分子机制尚未被系

统阐明。鉴于脑出血后神经损伤与脑缺血再灌注损伤在氧化应激和神经炎症等核心病理环节上存在共通之处，推测绞股蓝皂苷 XVII 可能通过调控这些关键过程，在脑出血后神经损伤中发挥类似的保护效应。

基于此，本研究整合网络药理学、分子对接及体内外实验验证，通过筛选药物与疾病的共同靶点并富集核心通路，结合体外细胞及大鼠模型，综合评价绞股蓝皂苷 XVII 对神经功能缺损、脑水肿、氧化应激和炎症的调控作用。研究旨在阐明绞股蓝皂苷 XVII 的药效学特征及分子机制，为脑出血后神经损伤的天然药物干预提供新策略与理论依据。

1 材料

1.1 动物与细胞

雄性 SD 大鼠 60 只，体质量 220~250 g。实验大鼠批号(110011251102242615、110011251103915221、110011251103975114)；实验动物操作获武汉赛维爾生物科技有限公司实验动物中心实验动物管理与使用委员会批准(批号：赛维爾动福第 2024212 号)，符合科技部《关于善待实验动物的指导性意见》相关要求。SH-SY5Y 细胞来源于广州欣源生物科技有限公司。

1.2 试剂

绞股蓝皂苷 XVII (质量分数 > 98%，批号 24081311，成都普思生物技术有限公司)。SH-SY5Y 细胞专用培养基 (货号 CM-0208，武汉普诺赛生命科技有限公司)；氯化血红素 (货号 HY-19424，美

国 MedChemexpress 生物科技有限公司); 无菌生理盐水 (ST341-500 mL, 上海碧云天生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒 (货号 C0038, 上海碧云天生物科技有限公司); 活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (货号 S0033S, 上海碧云天生物科技有限公司); 丙二醛 (MDA) 试剂盒 (货号 G4302, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性检测试剂盒 (货号 G4306, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (货号 88-7340-88, 美国赛默飞科技公司); 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 88-6010A, 美国赛默飞科技公司); 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (货号 G1120, 北京索莱宝科技有限公司); 尼氏染色试剂盒 (货号 G1432, 北京索莱宝科技有限公司); 裂解液 (货号 P0013B, 上海碧云天生物技术有限公司); 苯甲基磺酰氟 (PMSF, 货号 ST506, 上海碧云天生物技术有限公司); 磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、p-PI3K、p-Akt、GAPDH、IL-1 β 、TNF- α 抗体 (货号 A0265、A17909、AP0427、AP0637、A19056、A23484、A22227, 武汉爱博泰克生物技术有限公司); 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记羊抗兔二抗 (货号 AS014, 武汉爱博泰克生物技术有限公司); 逆转录试剂盒 (货号 R323-01, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司); 通用型高灵敏度染料法定量 PCR 检测试剂盒 (货号 Q711-02, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。

1.3 仪器

69100 脑立体定位仪 (深圳瑞沃德生命科技有限公司); 微量进样器 (上海高鸽工贸有限公司); TJ-2A 注射泵控制器 (保定兰格恒流泵有限公司); Epoch 全波长酶标仪 (美国 BioTeK 公司); IX73 倒置荧光显微镜 (日本奥林巴斯公司); NanoDrop2000 超微量分光光度计 (美国赛默飞公司); ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪 (美国赛默飞公司); 蛋白电泳及转印系统 (美国 Bio-Rad 公司); 化学发光成像仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学研究

2.1.1 绞股蓝皂苷 XVII 靶点的预测和脑出血疾病靶点的获取 通过 SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 和 PharmMapper Servers (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 数据库检索绞股

蓝皂苷 XVII 的预测靶点。以 “cerebral hemorrhage” 和 “ICH” 为关键词, 使用 DisGeNET (<http://disgenet.com>) 和 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 数据库识别脑出血损伤的关联靶点。将绞股蓝皂苷 XVII 的潜在靶点和脑出血相关靶点取交集并去重后, 获得绞股蓝皂苷 XVII 治疗脑出血后损伤的潜在靶点, 并通过 Venny 2.1.0 可视化, 制作韦恩图。使用 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/id-mapping>) 标准化基因名称, 即得绞股蓝皂苷 XVII 治疗脑出血的潜在靶点。

2.1.2 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建与核心靶点的筛选 将交叉靶点导入 STRING 数据库, 构建 PPI 网络, 移除无连接节点, 设置最低蛋白互作置信度为 0.400, 生成 PPI 网络。下载 TSV 格式结果并导入 Cytoscape 3.9.1 软件, 使用 CytoNCA 插件计算拓扑参数。根据拓扑数据中 degree 值选择核心靶点。

2.1.3 基因本体 (GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将交叉靶点导入 DAVID (<https://david-d.ncicrf.gov>) 数据库进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析, $P < 0.05$, 通过 Bioinformatics 网站 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 绘制气泡图。

2.1.4 分子对接 通过 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 和 DisGeNET (<http://disgenet.com>) 筛选的脑出血相关靶点, 从 UniProt 数据库获取其蛋白结构, 移除结晶水并能量最小化。绞股蓝皂苷 XVII (PubChem CID: 44584555) 经 ChemBio3D 优化后定义柔性键 (AutoDockTools)。使用 AutoDock Vina 1.2.3 进行分子对接, 结合模式经 LigPlot+ 分析氢键/疏水作用, 通过分子动力学评估稳定性。结合能 ≤ -5.0 kcal/mol 为强结合。

2.2 细胞实验验证

2.2.1 细胞培养与血红素诱导建立体外脑出血模型 本研究采用血红素干预 SH-SY5Y 细胞构建体外脑出血模型, 该方法是模拟血肿毒性继发性脑损伤的经典模型^[12-13]。本研究参照 Wang 等^[14-16]研究方法, 采用血红素处理 SH-SY5Y 细胞建立体外细胞模型。SH-SY5Y 细胞复苏后接种于含有 10% FBS 和 1% 青霉素/链霉素的高糖 DMEM 培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养。使用氯化血红素干预模拟体外脑出血模型。

实验分为对照组、模型组和绞股蓝皂苷 XVII 处理组。对照组细胞常规培养 24 h 后, 更换无血清高

糖 DMEM 培养基孵育 12 h，更换完全培养基孵育 24 h；模型组细胞常规培养 24 h 后，更换含 25 $\mu\text{mol/L}$ 血红素的无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h，更换完全培养基孵育 24 h；绞股蓝皂苷 XVII 组细胞常规培养 24 h 后，更换含 25 $\mu\text{mol/L}$ 氯化血红素的无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h，更换含不同剂量（50、75、100、150 $\mu\text{mol/L}$ ）绞股蓝皂苷 XVII 的完全培养基孵育 24 h。

2.2.2 CCK-8 法检测细胞活性 使用 CCK-8 细胞增殖及毒性检测试剂盒评估细胞活力。为了确定最佳的造模条件，按照每孔 1×10^4 个细胞将 SH-SY5Y 细胞接种在 96 孔板中，培养 48 h 后，将不同剂量的血红素（3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ ）加入培养基中，分别培养 6、12、24 h。为了确定合适的给药浓度，按照每孔 1×10^4 个细胞将 SH-SY5Y 细胞接种在 96 孔板中，培养 24 h 充分贴壁后，将不同剂量（12.5、25、50、100、150、200、400 $\mu\text{mol/L}$ ）的绞股蓝皂苷 XVII 加入培养基中，培养 24 h。为了检测绞股蓝皂苷 XVII 对体外脑出血模型 SH-SY5Y 细胞的保护作用，根据 2.2.1 项下分组给予不同处理。PBS 洗涤后，加入含有 CCK-8 溶液的基础培养基，避光孵育 2 h。用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度（A）值。

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

2.2.3 ROS 检测 将 SH-SY5Y 细胞以每孔 1×10^4 个细胞接种于 96 孔黑色培养板，培养 24 h 待细胞贴壁后，分为对照组、模型组、绞股蓝皂苷 XVII 组。对照组细胞常规培养 24 h 后，更换无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h，更换完全培养基孵育 24 h；模型组细胞常规培养 24 h 后，更换含 25 $\mu\text{mol/L}$ 血红素的无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h，绞股蓝皂苷 XVII 组使用含 100 $\mu\text{mol/L}$ 绞股蓝皂苷的完全培养基培养 24 h 后，更换含 25 $\mu\text{mol/L}$ 血红素的无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h。弃去培养基，加入含 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 荧光探针的无血清培养基，37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 20 min，用预冷的 PBS 洗涤 3 次。使用荧光显微镜在 488 nm 激发波长下观察并拍照。

2.2.4 荧光定量聚合酶链式反应检测 mRNA 水平 按 2.2.3 项下分组对细胞进行处理，采用 Trizol 试剂盒（Invitrogen）根据提取细胞总 RNA，使用高容量 cDNA 逆转录试剂盒进行逆转录经 CF-96 PCR 仪检测目标基因 mRNA 的 Ct 值，ACTB 作为内参基因

进行标准化，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 分析基因的表达，引物序列见表 1。

表 1 引物序列信息
Table 1 Information of primer sequences

基因名称	引物序列
TNF	正向：5'-CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG-3'
	反向：5'-GAGGACCTGGGAGTAGATGAG-3'
IL-1B	正向：5'-ATGATGGCTTATTACAGTGGCAA-3'
	反向：5'-GTCGGAGATTCGTAGCTGGA-3'
IGF1	正向：5'-GCTCTTCAGTTCGTGTGTGGA-3'
	反向：5'-GCCTCCTTAGATCACAGCTCC-3'
EGFR	正向：5'-AGGCACGAGTAACAAGCTCAC-3'
	反向：5'-ATGAGGACATAACCAGCACC-3'
PIK3R1	正向：5'-ACCACTACCGGAATGAATCTCT-3'
	反向：5'-GGGATGTGCGGGTATATTCTTC-3'
ACTB	正向：5'-GATTCTATGTGGGCGACGA-3'
	反向：5'-TGTAGAAGGTGTGGTGCCAG-3'

2.2.5 Western blotting 分析 将 SH-SY5Y 细胞接种至 6 孔板中，每孔密度 5×10^4 个细胞，培养 24 h 后分为对照组、模型组、绞股蓝皂苷 XVII 组。对照组细胞常规培养 24 h 后，更换无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h，更换完全培养基孵育 24 h；模型组细胞常规培养 24 h 后，更换含 25 $\mu\text{mol/L}$ 血红素的无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h，绞股蓝皂苷 XVII 组分别将 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 绞股蓝皂苷 XVII 加入培养基中，培养 24 h 后，更换含 25 $\mu\text{mol/L}$ 血红素的无血清高糖 DMEM 培养基孵育 12 h。孵育结束后，去除培养基，加入裂解液，提取各组细胞总蛋白，经蛋白定量、变性、上样、快速电泳、转膜、封闭 2 h、TBST 溶液清洗条带 3 次，每次 10 min 后，加相应一抗（1：1000）4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜，再加相应二抗常温孵育 1 h，置曝光机下显影、拍照并分析。

2.3 动物实验验证

2.3.1 大鼠脑出血模型的建立 造模方法参考自发性脑出血动物模型选择及临床前药物试验指南（2024 版），采用自体血尾状核注射法建立大鼠脑出血模型^[17]。大鼠 ip 2%戊巴比妥钠麻醉，并将头部固定于脑立体定位仪，在大脑角前 1 mm，正中右侧 3 mm 处，使用直径 1.5 mm 的钻头钻孔。经大鼠尾静脉采血 100 μL ，加入 1 U/mL 肝素抗凝，针头垂直插入，深度约为 6 mm，每次缓慢注射 50 μL ，2 次间隔 10 min，留针 15 min 后拔针，使用无菌骨

蜡封住钻孔处,缝合头皮,保温至大鼠清醒。术后大鼠单独饲养在无菌笼中,提供充足的食物和水。通过 Longa 法对大鼠进行神经功能缺损评分,以判断模型是否制备成功。

2.3.2 实验分组与给药 预实验中初步设置绞股蓝皂苷 10、20、40 mg/kg 3 个 ip 剂量组,结果在 10 mg/kg 组中未呈现出明显保护作用,因此在后续正式实验中未纳入该剂量组。适应性饲养 2 周后,将大鼠随机分为假手术组、模型组、绞股蓝皂苷 XVII (20、40 mg/kg) 组,每组 15 只。在构建模型前,称取适量绞股蓝皂苷 XVII 粉末,加入无菌生理盐水,涡旋振荡至完全溶解,配制成 400 mg/mL 的母液。采用倍比稀释法,使用生理盐水将母液分别稀释至 20、40 mg/mL 的工作浓度。所有药液经 0.22 μm 无菌滤膜过滤后分装于 EP 管中,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。给药前于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中复温。绞股蓝皂苷 XVII 组分别按 20、40 mg/kg 的剂量进行 ip 给药,假手术组和模型组则注射等体积生理盐水。所有组别均连续给药 3 d。

2.3.3 神经功能缺损评分 造模 24 h 后,采用双盲法,参照 Longa 5 分制评分标准对每组大鼠进行神经功能缺损评分。评分标准如下:0 分,无症状;1 分,不能完全伸展对侧前爪;2 分,向对侧转圈;3 分,向对侧倾倒;4 分,不能自发行走,伴有意识丧失^[17]。

2.3.4 干/湿质量法检测大鼠脑组织含水量 将大鼠麻醉处死,分离全脑组织后称量脑组织湿质量,置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 电烤箱中烘干至恒重后,称量脑组织干质量,计算脑含水率。

脑含水率 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量

2.3.5 HE 染色 大鼠麻醉处死,分离脑组织,用生理盐水清洗脑组织后放入 PBS 溶液中,用显微镊去除脑组织上的脑膜,然后用新鲜配制的 4% 多聚甲醛固定 24 h,石蜡包埋。使用切片机将石蜡标本准确切成 5 μm 的薄片,分别用苏木素和伊红对脑组织进行染色,采用中性树胶封片,然后在显微镜下观察石蜡切片中大脑脑部组织病理变化情况。

2.3.6 尼氏染色 麻醉处死大鼠后分离脑组织,石蜡包埋切片,采用 100%、95%、85%、75%、55% 乙醇各处理 5 min,最后用蒸馏水冲洗 3 次。将石蜡切片置于 1% 甲苯胺蓝溶液染色 40 min,再次经梯度酒精脱水和二甲苯透明后,进行中性树胶封片,显微镜下观察大鼠脑部组织尼氏小体的形态和

数量变化。

2.3.7 免疫组化 采用免疫组织化学法检测石蜡包埋组织切片中 4-HNE 的表达。切片经脱蜡、枸橼酸盐缓冲液进行抗原修复后,使用 3% H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶活性。随后,切片于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,使用抗 4-HNE 一抗 (1:200 稀释)。接着孵育 HRP 标记的二抗, DAB 显色。最后,苏木素复染、脱水、封片。全景切片扫描仪数字化成像, CaseViewer 2.4 软件采集图像并进行分析。

2.3.8 SOD、MDA 含量测定 麻醉处死大鼠后,分离脑组织并用预冷的 PBS 匀浆。4 $^{\circ}\text{C}$, 10 000 $\times g$ 离心 15 min,收集上清液并储存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。使用 SOD 和 MDA 检测试剂盒测定脑组织匀浆液中的 SOD 和 MDA 浓度。按照试剂盒说明书计算 SOD 和 MDA 水平。

2.3.9 TNF- α 和 IL-1 β 含量检测 使用 ELISA 试剂盒测定大鼠脑组织匀浆液中 TNF- α 和 IL-1 β 。

2.3.10 Western blotting 分析 将蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物与 RIPA 裂解液按 1:100 比例混合,加入一定量的大鼠脑组织及 3 颗 2 mm 钢珠,然后在低温冷冻研磨机中研磨。离心后收集上层蛋白样品,使用 BCA 试剂盒定量蛋白,将所有蛋白调整至同一浓度。加入 4 倍体积的 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液,100 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴中变性 10 min。制备 PAGE 凝胶进行电泳。电压 80 V,当溴酚蓝移动到分离凝胶上时转换为 120 V 的恒定电压。然后,在 300 mA 的恒定电流下转膜 60 min;室温下 5% 脱脂奶封闭 2 h, TBST 冲洗 PVDF 膜 3 次,每次 5 min;用相应的一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,用 TBST 冲洗 PVDF 膜 3 次,每次 10 min;再用二抗在室温下孵育 1 h。最后,使用 ECL 试剂盒后,用 e-BOLT 对 PVDF 膜进行成像。使用 Image J 完成定量分析。

2.4 统计学方法

实验至少进行 3 次生物重复,使用 GraphPad Prism 9.5 进行统计分析和作图。多组样本采用 Oneway ANOVA 分析,使用 Tukey 对任意 2 组数据进行比较。所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 绞股蓝皂苷 XVII 及脑出血的相关靶点的交集情况

将筛选出的药物靶点 366 个与疾病靶点 2 344 个输入韦恩图制作软件 Venny 2.1,得到 166 个共有靶点,见图 1。

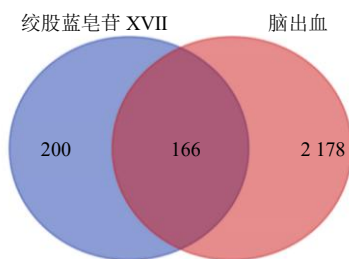


图 1 药物与疾病的 Venn 图
Fig. 1 Venn diagram of drugs and disease

3.2 PPI 网络分析交集靶点的相互作用

绞股蓝皂苷 XVII 治疗脑出血的 PPI 网络如图 2 所示，网络包含个 165 节点和 2 303 条边。节点颜色深度与度 (degree) 值呈正相关，表明了靶点蛋白间的相互作用关系。采用 Cytoscape 3.9.1 软件中的 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析，依据 degree 值降序筛选出前 10 位关键节点作为核心靶点，其 degree 值、中介中心度和紧密中心度数值见表 2。

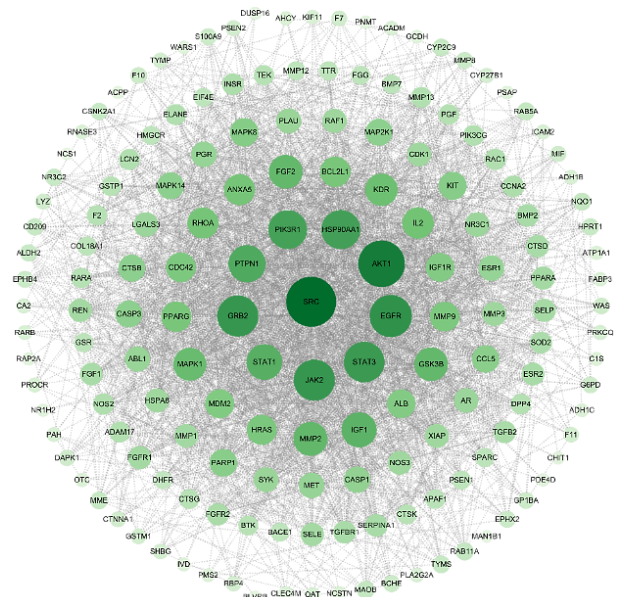


图 2 PPI 网络
Fig. 2 PPI network

3.3 GO 功能与 KEGG 通路富集分析

对绞股蓝皂苷 XVII 和脑出血的共有靶点进行 GO 富集分析，设定参考值 $P<0.05$ ，共富集得出 384 个条目。GO 富集分析结果显示，绞股蓝皂苷 XVII 主要作用于细胞膜、分泌颗粒腔、囊泡腔、细胞外基质等，分子功能包括内肽酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、跨膜受体酪氨酸激酶活性、配体激活的转录因子活性、胰岛素受体底物结合等，生物过程涉及化学应激反应、氧化应激反应、细胞增殖、蛋白

表 2 绞股蓝皂苷 XVII 治疗脑出血的核心靶点拓扑分析

核心靶点	度值	中介中心度	紧密中心度
SRC	112.0	3 531.108 20	0.755 760 40
Akt1	102.0	1 519.965 50	0.722 466 95
EGFR	89.0	971.233 30	0.672 131 10
GRB2	86.0	1 084.080 40	0.666 666 70
JAK2	86.0	792.199 50	0.672 131 10
STAT3	84.0	576.905 33	0.663 967 60
HSP90AA1	80.0	862.581 67	0.658 634 54
PIK3R1	79.0	979.090 33	0.648 221 40
PTPN11	74.0	677.552 90	0.638 132 30
STAT1	70.0	857.001 90	0.628352 46

质丝氨酸/苏氨酸激酶等，见图 3。

通过 DAVID 数据库对绞股蓝皂苷 XVII 和脑出血的共有靶点进行 KEGG 富集分析，共筛选得出 116 个信号通路，主要涉及癌症信号通路、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物 - 受体 (AGE-RAGE) 信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B1 (Akt1) 信号通路等，见图 4。

3.4 分子对接

将 PPI 网络分析得出的绞股蓝皂苷与脑出血的前 10 位关键交叉靶点，通过 AutoDockVina1.1.2 进行分子对接并计算结合能，亲和力数值小于 -5 kJ/mol 即认为小分子与对接蛋白结合能力较强，见表 3。绞股蓝皂苷 XVII 与核心靶点采用 PyMOL 软件对所得结果进行可视化处理，可发现结合过程中能够形成氢键，而氢键可以提供分子间特异性识别，这对生物体内的分子识别和信号传导起到重要作用，见图 5。

3.5 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞活力的影响

为得出血红素处理 SH-SY5Y 细胞的最佳浓度和时间，进行了时间和浓度梯度实验，如图 6 所示，当血红素给药浓度为 $25\text{ }\mu\text{mol/L}$ ，处理时间为 12 h 时，SH-SY5Y 细胞的细胞存活率约为 43%，同对照组相比具有显著性差异 ($P<0.01$)。以该浓度和时间点给药，模型稳定，便于后续实验的进行，后续细胞实验均采用该条件进行造模。

如图 7 所示，相对于对照组，绞股蓝皂苷 XVII 的给药浓度在 $150\text{ }\mu\text{mol/L}$ 及以下时，细胞存活率没有显著差异 ($P<0.001$)。如图 8 所示，与模型组比

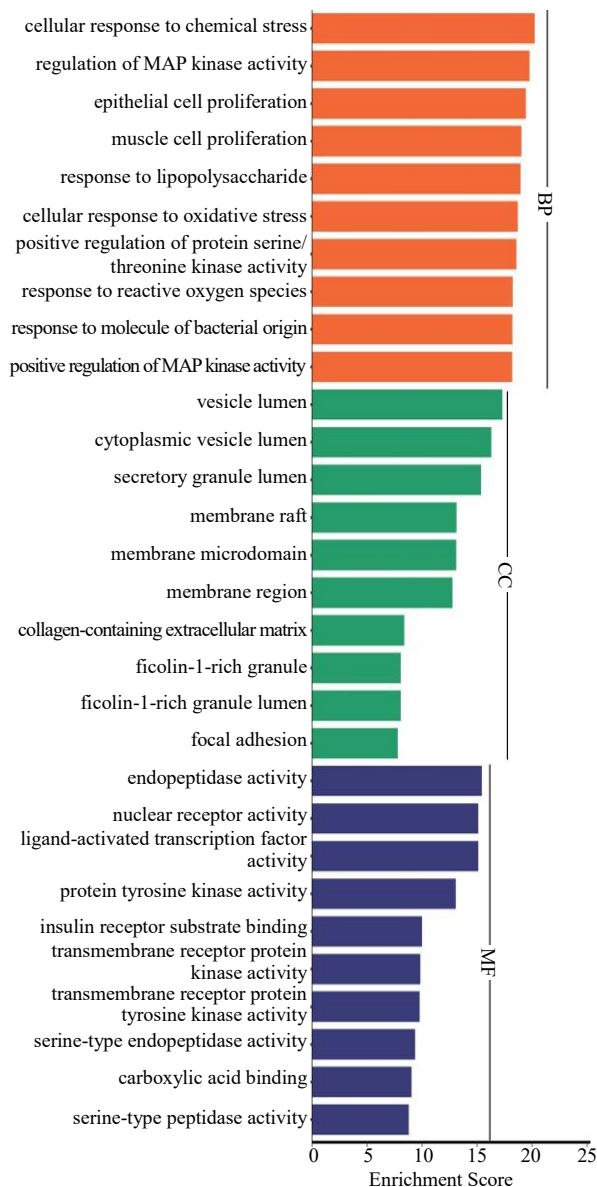


图 3 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis

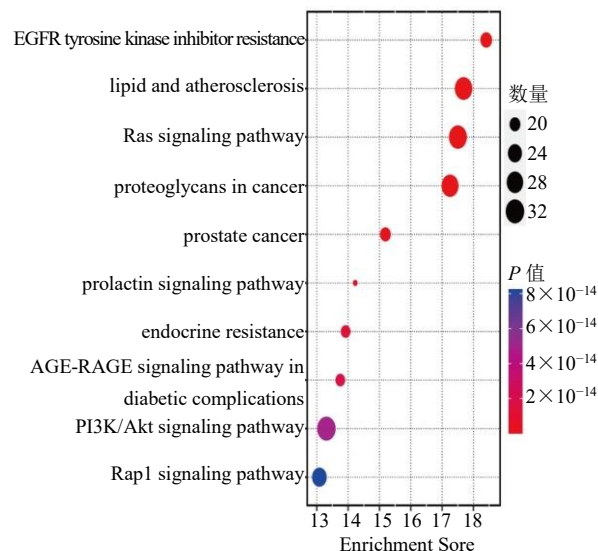


图 4 KEGG 富集通路分析

Fig. 4 KEGG pathway enrichment analysis

较, 绞股蓝皂苷 75、100、150 $\mu\text{mol/L}$ 可显著提高细胞活力 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.6 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞 ROS 荧光强度的影响

如图 9 所示, 与模型组比较, 予以 100 $\mu\text{mol/L}$ 绞股蓝皂苷 XVII 能够显著降低血红素处理后的 SH-SY5Y 细胞的 ROS 荧光强度 ($P < 0.01$)。

3.7 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞 mRNA 表达的影响

与模型组比较, 给予 100 $\mu\text{mol/L}$ 绞股蓝皂苷 XVII 后可显著下调 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IGF1$ 、表皮生长因子受体 ($EGFR$) 以及磷酸肌醇 3 激酶调控亚基 1 ($PIK3R1$) mRNA 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 见图 10。

表 3 绞股蓝皂苷 XVII 与核心靶点的相互作用

Table 3 Binding interactions between Gypenoside XVII and the core protein

靶点名称	结合能/($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	氢键数量	盐桥数量	疏水作用力数量	结合位点氨基酸
SRC	-6.6	6	0	2	LYS、ARG、MET、ASP
GRB2	-6.9	6	2	3	ARG、LYS、SER、ALA
PIK3R1	-6.9	6	1	4	LEU、ALA、TYR、GLU、PRO、TYR
AKT1	-7.9	8	1	3	LEU、GLY、THR、PHE、LYS、ASP
JAK2	-7.6	6	0	3	GLY、LYS、ASP、ARG
EGFR	-7.2	4	0	3	LEU、CYS、ASP、ARG
STAT3	-6.7	7	0	3	ASN、THR、ARG、ASP
HSP90AA1	-7.8	11	1	4	GLU、ASN、LYS、ALA、SER、GLY、PHE
PTPN11	-2.7	10	3	2	ARG、TRP、LYS、ASN、ARG、GLN
STAT1	-6.9	6	1	3	ALA、SER、THR

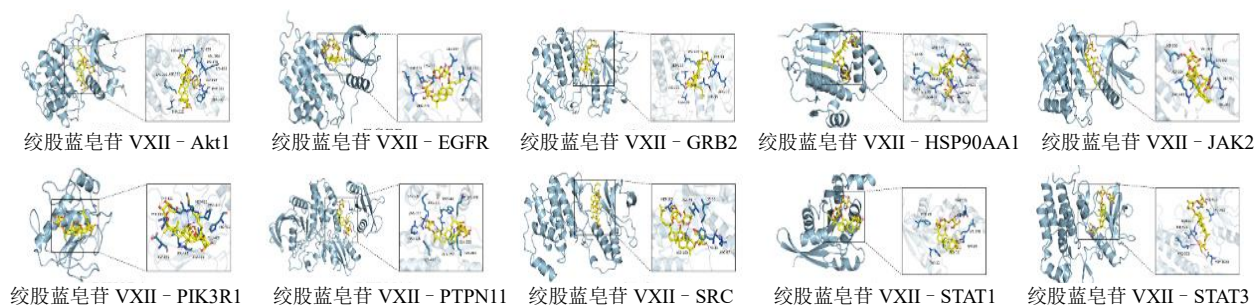
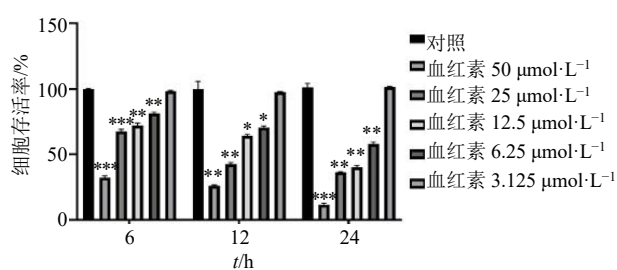
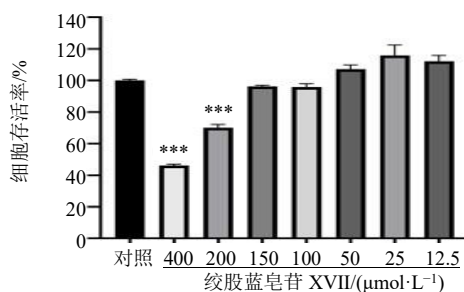


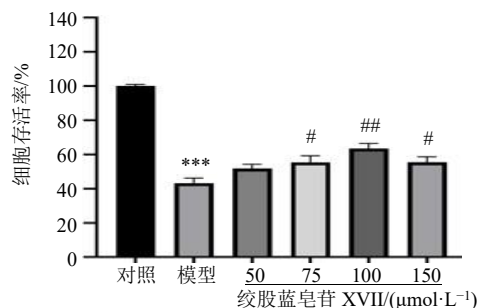
图 5 分子对接示意图

Fig. 5 Schematic diagram of molecular docking

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.图 6 不同时间和浓度对血红素处理 SH-SY5Y 细胞的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 6 Effects of different times and concentrations of hemin on SH-SY5Y cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)与对照组比较: *** $P < 0.001$ 。*** $P < 0.001$ vs control group.图 7 不同浓度绞股蓝皂苷 XVII 对 SH-SY5Y 细胞存活率的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 7 Effect of different concentrations gypenoside of XVII on cell viability of SH-SY5Y ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.8 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞的蛋白的表达的影响

如图 11 所示, 绞股蓝皂苷 XVII 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 组均可显著下调 TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、0.01), 并呈现剂量相关性。绞股蓝皂苷 XVII 100 $\mu\text{mol/L}$ 组可显著提升 PI3K/Akt 通路的蛋白磷酸化水平 ($P < 0.01$)。

与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。*** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.图 8 绞股蓝皂苷对血红素处理 SH-SY5Y 细胞的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 8 Effect of gypenoside on hemin treated SH-SY5Y cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.9 绞股蓝皂苷 XVII 对脑出血大鼠脑含水量及神经功能评分的影响

与模型组比较, 绞股蓝皂苷 XVII (20、40 mg/kg) 组可显著降低大鼠脑含水量, 减少神经功能损伤评分 ($P < 0.01$), 见图 12。

3.10 绞股蓝皂苷 XVII 对大鼠脑出血后脑组织病理学的影响

HE 染色区域为大鼠脑基底节区血肿周围的脑组织。染色结果为假手术组大鼠脑组织神经元细胞结构完整, 细胞形态正常, 排列整齐, 细胞核清晰可见; 模型组大鼠脑组织细胞排列发生紊乱, 出现较大的细胞空泡, 部分细胞核出现固缩、坏死和碎裂的现象; 与模型组相比, 绞股蓝皂苷 XVII (20、40 mg/kg) 组大鼠脑组织细胞间隙与组织空泡明显缩小, 细胞排列相对整齐和规则。

尼氏染色结果显示, 假手术组大鼠大脑皮质中, 尼氏小体呈现饱满、均匀分布, 细胞着色一致, 表明神经元功能正常; 模型组尼氏小体数量显著减少, 形态狭长萎缩, 核仁收缩且排列稀疏, 提示神

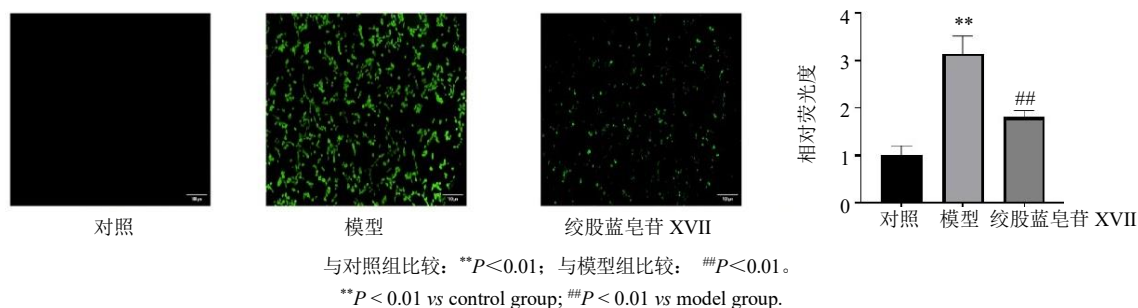


图 9 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞 ROS 荧光强度的影响 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 9 Effect of gypenoside XVII on hemin-induced ROS fluorescence intensity in SH-SY5Y cells ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

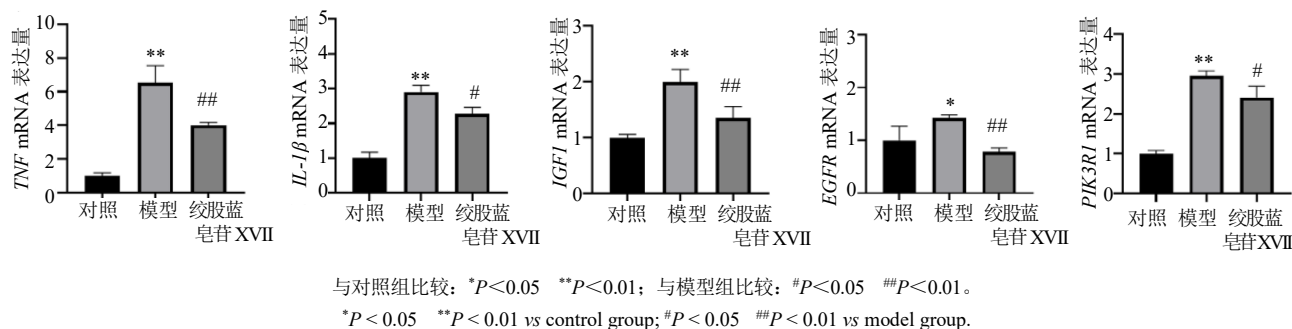


图 10 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 10 Effect of gypenoside XVII on hemin-induced mRNA expression in SH-SY5Y cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

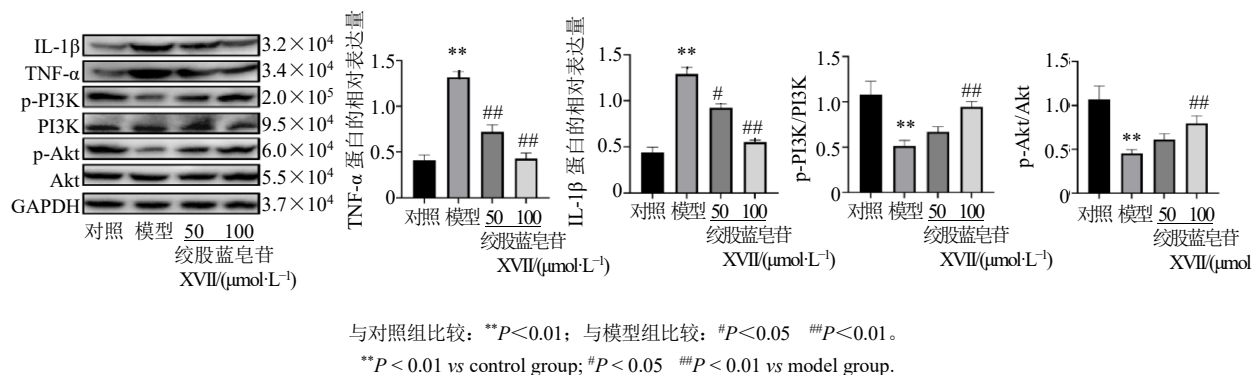


图 11 绞股蓝皂苷 XVII 对血红素诱导 SH-SY5Y 细胞的蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 11 Effect of gypenoside XVII on hemin-induced protein expression levels in SH-SY5Y cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

神经元受损;与模型组相比,绞股蓝皂苷 XVII (20、40 mg/kg) 组尼氏小体数量和细胞着色在不同程度上恢复,尼氏小体形态逐渐饱满,排列趋于正常,见图 13。

3.11 大鼠脑组织免疫组化标记 4-HNE 的结果

免疫组化结果显示,假手术组的血肿周围偶见微弱棕褐色颗粒,神经胞质内无或极少量颗粒;模型组可见密集棕褐色团块状沉积,胞质内大量颗粒聚集;绞股蓝皂苷 XVII 组棕褐色颗粒减少,且 40 mg/kg 组较 20 mg/kg 组分布较为稀疏,胞质深染颗

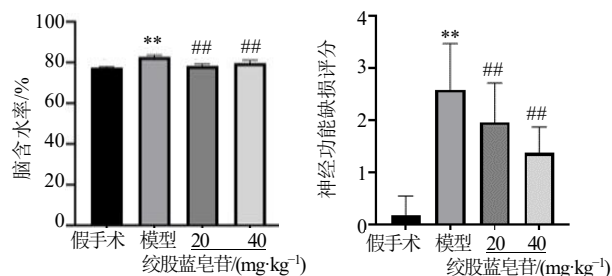
粒数量显著下降 ($P < 0.05$ 、0.01),见图 14。

3.12 绞股蓝皂苷 XVII 对脑出血大鼠脑组织匀浆 MDA、T-SOD 含量的影响

与模型组比较,绞股蓝皂苷 XVII 40 mg/kg 组 MDA 含量显著下降, SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01);绞股蓝皂苷 XVII 20 mg/kg 组 MDA 含量明显下降 ($P < 0.01$),见图 15。

3.13 绞股蓝皂苷 XVII 对脑出血大鼠脑组织匀浆 TNF-α、IL-1β 含量的影响

与模型组比较,绞股蓝皂苷 XVII 40 mg/kg 组



与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs sham operation group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图 12 绞股蓝皂苷 XVII 对脑出血大鼠脑含水量和神经功能评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 12 Effect of gypenoside XVII on brain water content and neurological function scores in intracerebral hemorrhage rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

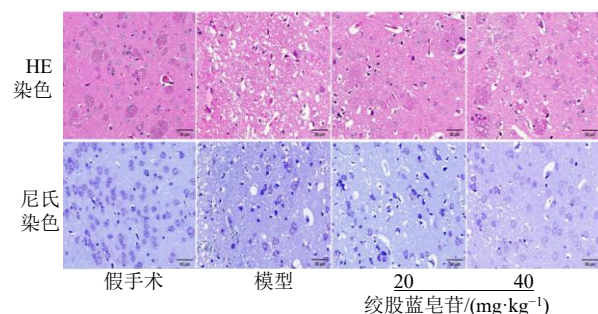
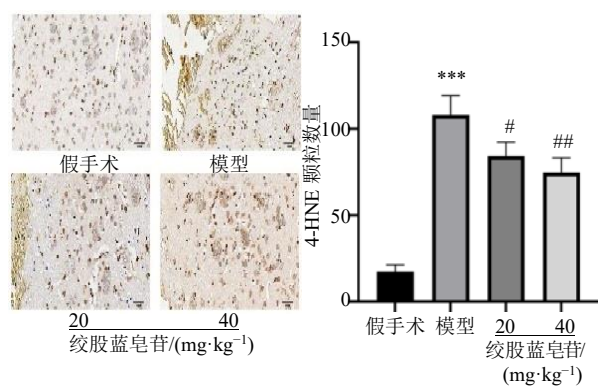


图 13 绞股蓝皂苷 XVII 对大鼠脑出血后脑组织病理学的影响 ($\times 200$)

Fig. 13 Effect of gypenoside XVII on brain histopathology in intracerebral hemorrhage rats ($\times 200$)



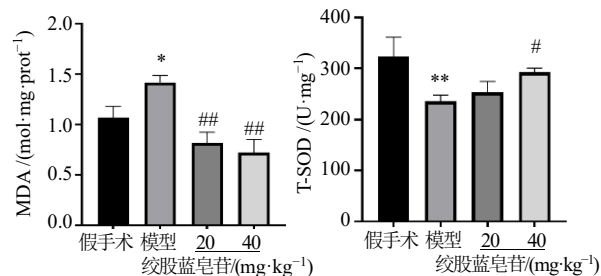
与假手术组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

*** $P < 0.001$ vs sham operation group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 14 免疫组化标记 4-HNE 结果 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 14 Immunohistochemical labeling of 4-HNE results ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

可显著降低大鼠脑组织匀浆中 TNF- α 、IL-1 β 含量 ($P < 0.05$ 、0.01), 见图 16。

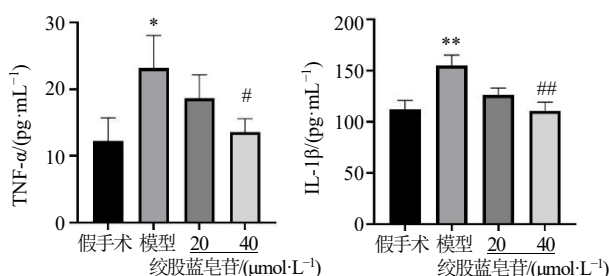


与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

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

图 15 绞股蓝皂苷 XVII 对脑出血大鼠脑组织 MDA、T-SOD 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 15 Effect of gypenoside XVII on MDA and T-SOD levels in brain tissue of intracerebral hemorrhage rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

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

图 16 绞股蓝皂苷 XVII 对脑出血大鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

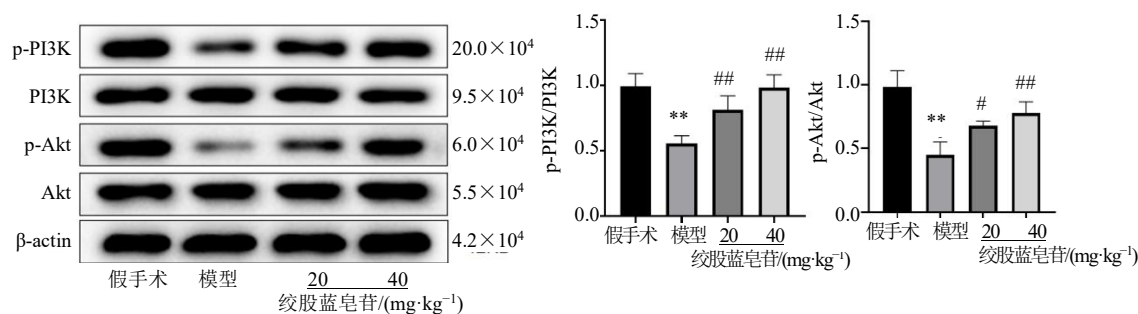
Fig. 16 Effect of gypenoside XVII on TNF- α and IL-1 β levels in brain tissue of intracerebral hemorrhage rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.14 绞股蓝皂苷 XVII 对大鼠脑组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 蛋白水平的影响

如图 17 所示,与模型组比较,绞股蓝皂苷 XVII (20、40 mg/kg)组可显著上调大鼠脑组织中 p-PI3K、p-Akt 蛋白水平 ($P < 0.05$ 、0.01)。

4 讨论

中风是全球第二大死因,其中脑出血在所有卒中类型中致残率和致死率最高,亟需开发针对该病的特异性治疗策略以改善临床预后^[18]。目前临床上针对脑出血的有效药物匮乏,中药凭借其多靶点作用和较低毒性的特点,成为发掘安全有效治疗药物的宝贵资源。



与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

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

图 17 大鼠脑组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 17 Protein expression of p-PI3K, PI3K, p-Akt, and Akt in rat brain tissue ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

本研究整合网络药理学预测与体内外实验验证,系统探讨绞股蓝皂苷 XVII 改善脑出血后神经损伤的效应及机制。通过网络药理学分析,筛选出绞股蓝皂苷 XVII 与脑出血的共同作用靶点 166 个;PPI 网络拓扑分析提示非受体酪氨酸激酶 (SRC)、Akt1、EGFR、PIK3R1 等可能是其核心靶点,其中 Akt1 和 PIK3R1 均为 PI3K/Akt 通路的关键分子,提示该通路可能是绞股蓝皂苷 XVII 改善神经损伤的核心枢纽。KEGG 富集分析进一步表明,PI3K/Akt 信号通路是绞股蓝皂苷 XVII 干预脑出血最关键的潜在通路之一,在 116 条通路中显著富集。PI3K/Akt 通路广泛参与细胞增殖、分化、代谢、存活与凋亡等生命过程,其激活已被多项研究证实可减轻脑出血后继发性脑损伤^[19-21]。分子对接结果显示,绞股蓝皂苷 XVII 与 PIK3R1、Akt1 等靶点结合稳固 (结合能均 ≤ -6.6 kJ/mol),提示其可能直接调控该通路。绞股蓝皂苷 XVII 能够通过多个氢键、疏水相互作用及范德华力与 PIK3R1 的 PH 结构域以及 Akt1 的 PH 结构域中的关键氨基酸残基形成稳定复合物。这些结合口袋通常与蛋白的变构调控或蛋白相互作用界面相关,提示绞股蓝皂苷 XVII 可能通过竞争性或变构机制影响 PI3K/Akt 通路的活化。以上多重证据一致表明,PI3K/Akt 通路是绞股蓝皂苷 XVII 发挥脑保护作用的关键介质。

在体外实验中,采用氯化血红素诱导 SH-SY5Y 细胞模拟脑出血损伤,发现绞股蓝皂苷 XVII 处理可显著提高细胞存活率、抑制 ROS 生成,并下调 TNF- α 、IL-1 β 、IGF1、EGFR、PIK3R1 mRNA 表达。Western blotting 结果进一步证实绞股蓝皂苷 XVII 可增强 PI3K 和 Akt 的磷酸化水平,提示其对 PI3K/Akt 通路的激活作用。在体内实验中,绞股蓝

皂苷 XVII 治疗显著改善脑出血大鼠神经功能评分、减轻脑水肿、抑制炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β) 释放、增强抗氧化能力 (SOD 升高,MDA 降低),并缓解血肿周围脑组织病理损伤。PI3K/Akt 通路激活后可抑制 NF- κ B 核转位,阻遏其与 TNF- α 、IL-1 β 等基因启动子结合,从而抑制炎症转录^[22-23];该通路还可通过调控 NF- κ B 信号抑制 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等因子表达,减轻炎症反应^[24]。如槲皮素可通过 PI3K/Akt/NF- κ B 通路缓解脑出血后急性肺损伤^[25]。此外,绞股蓝皂苷 XVII 还可能通过抑制 NLRP3 炎症小体活化间接调控炎症,研究表明,在肾缺血再灌注损伤中,绞股蓝皂苷 XVII 可通过抑制内质网应激阻断 NLRP3/Caspase-1 轴,减少 IL-1 β 分泌^[26],与本研究 IL-1 β 表达下调的结果一致。

综上所述,绞股蓝皂苷 XVII 可通过激活 PI3K/Akt 信号通路抑制氧化应激与神经炎症,从而显著改善脑出血后神经功能损伤,为绞股蓝皂苷 XVII 的临床应用提供了理论依据,也为脑出血的药物研发提供了新的候选分子与机制视角。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Jj van Asch C, Luitse M J, Rinkel G J, *et al.* Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: A systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(2): 167-176.
- [2] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: A systematic analysis for the global burden of disease study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795-820.
- [3] Bai Q, Sheng Z F, Liu Y, *et al.* Intracerebral haemorrhage:

- From clinical settings to animal models [J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2020, 5(4): 388-395.
- [4] Zhou Y, Wang Y, Wang J, *et al.* Inflammation in intracerebral hemorrhage: From mechanisms to clinical translation [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 25-44.
- [5] Zille M, Farr T D, Keep R F, *et al.* Novel targets, treatments, and advanced models for intracerebral haemorrhage [J]. *EBioMedicine*, 2022, 76: 103880.
- [6] 葛锦蓉, 张子仪, 张兴明, 等. 绞股蓝资源分布、化学成分、检测方法及药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(3): 1050-1063.
- [7] 白宏, 王亚, 葛维娟, 等. 绞股蓝皂苷的抗癌作用机制研究进展 [J]. *西北药学杂志*, 2019, 34(4): 564-567.
- [8] 刘剑波, 毕小玲, 王世华, 等. 绞股蓝皂苷药理作用研究进展 [J]. *中成药*, 2024, 46(10): 3358-3363.
- [9] Xie W J, Zhu T, Zhang S X, *et al.* Protective effects of gypenoside XVII against cerebral ischemia/reperfusion injury via SIRT1-FOXO3A- and Hif1a-BNIP3-mediated mitochondrial autophagy [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 622.
- [10] Meng X B, Luo Y, Liang T, *et al.* Gypenoside XVII enhances lysosome biogenesis and autophagy flux and accelerates autophagic clearance of amyloid- β through TFEB activation [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 52(3): 1135-1150.
- [11] Meng X B, Wang M, Sun G B, *et al.* Attenuation of A β 25-35-induced parallel autophagic and apoptotic cell death by gypenoside XVII through the estrogen receptor-dependent activation of Nrf2/ARE pathways [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 279(1): 63-75.
- [12] Shen D M, Wu W H, Liu J, *et al.* Ferroptosis in oligodendrocyte progenitor cells mediates white matter injury after hemorrhagic stroke [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(3): 259.
- [13] Chu X, Wu X F, Feng H, *et al.* Coupling between interleukin-1R1 and necrosome complex involves in hemin-induced neuronal necroptosis after intracranial hemorrhage [J]. *Stroke*, 2018, 49(10): 2473-2482.
- [14] Wang J, Chen R R, Liu X J, *et al.* Hck promotes neuronal apoptosis following intracerebral hemorrhage [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 37(2): 251-261.
- [15] Yang Y, Deng G Y, Wang P, *et al.* A selenium nanocomposite protects the mouse brain from oxidative injury following intracerebral hemorrhage [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 775-788.
- [16] Yi J, Tang H, Que S W, *et al.* BRD4 silencing attenuates hemin-induced neuronal ferroptosis and inflammation via the H3K27ac-ATF3 axis in an *in vitro* model of cerebral hemorrhage [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1): 556.
- [17] 张化彪, 何纲, 徐洪亮, 等. 自发性脑出血动物模型选择及临床前药物试验指南(2024年版) [J]. *实验动物与比较医学*, 2024, 44(1): 3-30.
- [18] Puy L, Parry-Jones A R, Sandset E C, *et al.* Intracerebral haemorrhage [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2023, 9(1): 14.
- [19] Zhang H B, Tu X K, Chen Q, *et al.* Propofol reduces inflammatory brain injury after subarachnoid hemorrhage: Involvement of PI3K/akt pathway [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(12): 104375.
- [20] 高洋洋, 赵志英. PI3K/Akt 信号通路及神经损伤的研究进展 [J]. *医学综述*, 2017, 23(16): 3121-3125.
- [21] Jadaun K S, Sharma A, Siddiqui E M, *et al.* Targeting abnormal PI3K/AKT/mTOR signaling in intracerebral hemorrhage: A systematic review on potential drug targets and influences of signaling modulators on other neurological disorders [J]. *Curr Rev Clin Exp Pharmacol*, 2022, 17(3): 174-191.
- [22] Zhao M, Zhou A, Xu L, *et al.* The role of TLR4-mediated PTEN/PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway in neuroinflammation in hippocampal neurons [J]. *Neuroscience*, 2014, 269: 93-101.
- [23] Zhao Y L, Shao C Y, Zhou H F, *et al.* Salvianolic acid B inhibits atherosclerosis and TNF- α -induced inflammation by regulating NF- κ B/NLRP3 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 119: 155002.
- [24] Han Y M, Sun Y, Peng S, *et al.* PI3K/AKT pathway: A potential therapeutic target in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 998: 177505.
- [25] Xin H, LV Y H, Qian Z T, *et al.* Quercetin attenuates acute lung injury after intracerebral hemorrhage in rats via PI3K/AKT/NF- κ B-mediated anti-inflammatory mechanisms [J]. *J Radiat Res Appl Sci*, 2025, 18(3): 101732.
- [26] Wang J R, Yu Y L, Zhang H R, *et al.* Gypenoside XVII attenuates renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress and NLRP3 inflammasome-triggered pyroptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 962: 176187.