

## 基于网络药理、分子对接及实验验证探究姜黄素治疗脑梗死的机制研究

崔乃松<sup>1,2</sup>, 刘承薇<sup>3</sup>, 王东岩<sup>1,2\*</sup>

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150001

3. 哈尔滨市红十字中心医院, 黑龙江 哈尔滨 150076

**摘要:** **目的** 整合网络药理学、分子对接与体外实验, 系统阐明姜黄素治疗脑梗死的多靶点机制。**方法** 运用网络药理学筛选姜黄素与脑梗死的共同靶点, 构建相关网络并开展基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析, 通过分子对接验证核心靶点结合活性; 以 N2a 细胞构建氧糖剥夺/复氧 (OGD/R) 模型, 设置对照组、模型组及姜黄素组, 采用 CCK-8 法、Annexin V-FITC/PI 双染、流式细胞术分别检测细胞活力、凋亡率及 ROS 阳性率, 通过 RT-qPCR 检测 E1A 结合蛋白 p300 (EP300)、信号转导及转录激活蛋白 3 (STAT3)、组蛋白去乙酰化酶 1 (HDAC1) 的 mRNA 表达水平。**结果** 姜黄素与脑梗死共有 145 个交集靶点, PPI 网络筛选出 STAT3、EP300、HDAC1 等 6 个核心靶点。分子对接显示姜黄素与 EP300 结合能最低。与模型组比较, 姜黄素 (15.0、30.0  $\mu\text{mol/L}$ ) 组显著改善 N2a 细胞活力 ( $P < 0.001$ ); 姜黄素 30.0  $\mu\text{mol/L}$  组凋亡率及 ROS 水平均显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), EP300、STAT3、HDAC1 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.05$ )。**结论** 姜黄素可能通过下调 EP300、STAT3、HDAC1 的表达, 减轻氧化应激、炎症与神经元凋亡, 发挥神经保护作用。

**关键词:** 姜黄素; 脑梗死; 网络药理学; 分子对接; E1A 结合蛋白 p300; 信号转导及转录激活蛋白 3; 组蛋白去乙酰化酶 1

**中图分类号:** R286.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2026)03-0587-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.03.005

## Mechanism of curcumin in treatment of cerebral infarction based on network pharmacology, molecular docking, and experimental verification

CUI Naisong<sup>1,2</sup>, LIU Chengwei<sup>3</sup>, WANG Dongyan<sup>1,2</sup>

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, China

3. Harbin Red Cross Central Hospital, Harbin 150076, China

**Abstract: Objective** To systematically elucidate the multi-target mechanism of curcumin in treatment of cerebral infarction by integrating network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experiments. **Methods** To screen common targets of curcumin and cerebral infarction by network pharmacology, construct relevant networks, and perform GO and KEGG enrichment analyses. Molecular docking was conducted to validate the binding activity of core targets. The N2a cells were used to construct the OGD/R model. A control group, model group and curcumin group were set up. The cell viability, apoptosis rate and ROS positive rate were detected by CCK-8 method, Annexin V-FITC/PI double staining and flow cytometry, respectively. The mRNA expression levels of EP300, STAT3, and HDAC1 were detected by RT-qPCR. **Results** A total of 145 intersection targets between curcumin and cerebral infarction were identified. PPI network analysis screened out 6 core targets including STAT3, EP300, and HDAC1. Molecular docking revealed that curcumin had the lowest binding energy with EP300. Compared with the model group, curcumin (15 and 30  $\mu\text{mol/L}$ ) groups significantly improved N2a cell viability ( $P < 0.001$ ). Curcumin 30  $\mu\text{mol/L}$  group showed significantly reduced apoptosis rate and ROS levels ( $P < 0.01$ ,  $0.001$ ), as well as significantly decreased mRNA expression of EP300, STAT3, and HDAC1 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Curcumin may exert neuroprotective effects by downregulating the expression of EP300, STAT3, and HDAC1, thereby alleviating oxidative stress, inflammation, and neuronal apoptosis.

**Key words:** curcumin; cerebral infarction; network pharmacology; molecular docking; EP300; STAT3; HDAC1

收稿日期: 2026-01-12

基金项目: 黑龙江省中医药科研项目 (ZHY2023-114)

作者简介: 崔乃松, 男, 主治医师, 博士。E-mail: cns15804613901@163.com

\*通信作者: 王东岩, 女, 博士。E-mail: Doctor\_WangDongyan@126.com

脑梗死是指因动脉粥样硬化、血栓形成等核心病理因素引发脑部血液循环障碍，导致脑血管堵塞或严重狭窄，使脑血流灌注显著下降，进而造成脑组织缺血、缺氧性坏死的疾病，是临床最常见的脑卒中类型，具有高致残率、高病死率特征<sup>[1-2]</sup>。脑梗死的发病机制主要基于脑血流中断导致的缺血级联反应，动脉粥样硬化是核心病因，其斑块破裂可引发局部血栓形成或远端栓塞，导致血管闭塞<sup>[3]</sup>。中医将脑梗死归属于“中风”范畴，其病因病机多概括为正气亏虚、痰瘀互结、风痰上扰、脉络瘀阻，核心病机为“瘀血阻络”，治疗以活血化瘀、通络开窍、益气扶正为核心法则<sup>[4]</sup>。中医药治疗中风历史悠久，具整体调节、多靶点优势，不良反应小耐受好，兼顾症状与病理修复，契合脑梗复杂病理生理特点<sup>[5]</sup>。姜黄素具有抗氧化、抗炎、神经保护及抗凋亡作用，治疗脑梗死时可抑制氧化应激与炎症，减轻缺血再灌注损伤、保护血脑屏障、缩小梗死体积、改善神经功能<sup>[6-10]</sup>。基于此，本研究结合网络药理学、分子对接及体外实验，探究姜黄素治疗脑梗死的靶点与机制，为中医药治疗提供依据并奠定新型神经保护剂基础。

## 1 网络药理学与分子对接方法

### 1.1 姜黄素靶点收集

从 SwissTargetPrediction (<http://www.swiss-target-prediction.ch/>)、SEA (<https://sea.bkslab.org/>)、PharmMapper ([http://www.lilab-ecust.cn/pharm\\_mapper/](http://www.lilab-ecust.cn/pharm_mapper/))、ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) 数据库中，以“curcumin”为关键词系统检索其潜在作用靶点，其中 SwissTargetPrediction 数据库设定物种为“homo sapiens (人类)”，选取预测概率(probability) > 0 的靶点作为候选靶点，SEA 数据库输入姜黄素结构信息并设定物种为人类，选取  $P$  值  $< 1 \times 10^{-5}$  的靶点，PharmMapper 数据库上传姜黄素 3D 结构文件、设定“target identification”模式且物种限定为“homo sapiens”，选取拟合分数(Fit Score) 大于 2 的靶点，ChEMBL 数据库则筛选物种为“homo sapiens”的靶点以保障与脑梗死疾病研究的物种一致性；随后将各数据库筛选得到的靶点汇总，在 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 中进行靶点名称标准化、冗余信息去除等处理，以获取相应的药物靶点基因。

### 1.2 脑梗死相关靶点筛选

在 TTD (<https://db.idrblab.net/ttd/>)、OMIM

(<https://www.omim.org>)、DisGeNET (<https://disgenet.com>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库中检索“cerebral infarction”“cerebrovascular infarction”“ischemic cerebral infarction”，为保证筛选结果的相关性与可靠性，对各数据库检索结果设定如下筛选标准：GeneCards 数据库选取 relevance score  $\geq 1$  的靶点；DisGeNET 数据库选取关联评分  $\geq 0.1$  的靶点；TTD 和 OMIM 数据库的检索结果则全部纳入。将上述各数据库筛选所得靶点合并，经去重处理后获得最终的脑梗死相关靶点。

### 1.3 姜黄素治疗脑梗死的潜在作用靶点筛选

将经标准化处理后的姜黄素药物靶点基因集与脑梗死疾病靶点基因集导入 Venny 2.1.0 在线分析平台 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)。筛选标准设定为：仅保留同时存在于药物靶点集与疾病靶点集中的基因(即交集部分)，定义为姜黄素治疗脑梗死的潜在作用靶点；剔除仅属于药物特有或疾病特有的非交集基因。纳入原则：只要基因符号(Gene Symbol)在两个数据集中完全匹配，即视为有效交集靶点，不再额外设置表达量或亲和力阈值，以确保全面覆盖潜在的“药物-疾病”相互作用网络。最终通过构建韦恩图对交集结果进行可视化展示，并导出交集靶点列表用于后续网络构建与富集分析。

### 1.4 构建“药物-靶点-疾病”网络

利用 Cytoscape 3.7.1 生物信息学可视化平台，将姜黄素、脑梗死及其潜在作用靶点数据整合，构建多维度的“药物-靶点-疾病”网络模型。通过内置的 Analyze Network 计算各节点的拓扑参数，节点象征生物实体(药物、靶点或疾病)，边则表征分子间相互作用。度中心性作为关键指标，反映连接紧密度，度值越高提示该节点在复杂网络调控中的核心地位越显著。

### 1.5 蛋白相互作用(PPI)网络图并筛选核心靶点

STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org>) 整合了基因组、转录组、蛋白结构、文献挖掘与实验验证等多维证据，将经去重、标准化处理的姜黄素治疗脑梗死潜在作用靶点导入该数据库，设定最小相互作用置信度阈值  $\geq 0.9$  (高置信度标准，减少假阳性结果)，同时限定物种为“homo sapiens”，构建针对性 PPI 网络。将生成的网络数据以 TSV 格式导出后，导入生物网络可视化软件 Cytoscape 3.7.1，通过调整节点大小、边的粗细优化可视化效果，直

观呈现蛋白质间相互作用强度。核心靶点筛选采用 5 项关键网络拓扑指标：特征向量中心性 (eigenvector)、中介中心性 (betweenness)、接近中心性 (closeness)、度中心性 (degree)、网络中心性 (network)，以各项指标中位数为截断值，最终选取 5 项指标排名前 6 位的交集靶点作为核心靶点。

### 1.6 基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

在 Metascape 数据库 (<https://metascape.org>) 中，导入“姜黄素-脑梗死”交集靶点，将物种限定为“homo sapiens”，选择“Custom Analysis”模式，分别开展生物过程 (BP)、细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 的 GO 功能富集分析及 KEGG 信号通路富集分析，以系统阐明靶点蛋白参与的核心生物学过程、亚细胞定位及分子作用模式，进而揭示姜黄素治疗脑梗死的潜在作用机制，并以气泡图、柱状图等可视化形式输出分析结果。

### 1.7 药物与核心靶点的分子对接

从 PubChem 化合物数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取姜黄素关键成分的 3D 结构 SDF 格式文件作为配体分子。通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 获取核心靶蛋白的 PDB 格式三维结构作为受体。借助 CB-Dock2 在线对接平台，采用基于曲率特征的盲对接算法开展分子对接并计算结合能，评估配体-受体结合的亲和力，选取结合能最优的构象作为最终对接结果，利用 Pymol 软件进行三维可视化分析。

## 2 体外实验验证

### 2.1 材料

**2.1.1 细胞** 小鼠神经母细胞瘤 (N2a) 细胞购于 Sigma-Aldrich 公司。

**2.1.2 药物与试剂** 姜黄素 (质量分数 98%，上海碧云天生物技术有限公司，批号 SM1079-10mM)；高敏 CCK-8 法细胞增殖检测试剂盒 (CCK-8，上海臻诺生物科技有限公司，批号 KGA317s-500)；Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司，批号 C1062S)；RNA 抽提试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司，批号 R0018S)；RevertAid RT 反转录试剂盒 (Thermo Fisher Scientific，批号 K1691)；SYBR Green (上海碧云天生物技术有限公司，批号 D7260-1ml)；ROS 活性检测试剂盒 (Thermo Fisher Scientific，批号 88-5930-74)；无 EDTA 胰酶 (武汉博士德生物，批号

PYG0107)。

**2.1.3 设备与仪器** IX71 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus)；TD5A 台式低速离心机 (上海赵迪生物科技有限公司)；TGL-16 台式高速冷冻离心机 (上海赵迪生物科技有限公司)；Varioskan™ LUX 多功能酶标仪 (Thermo Fisher Scientific)；LightCycler 96 实时荧光定量 PCR 分析仪 [罗氏诊断产品 (上海) 有限公司]；Attune™ NxT 流式细胞仪 (Thermo Fisher Scientific)。

### 2.2 方法

**2.2.1 细胞培养与氧糖剥夺/复氧 (OGD/R) 损伤** N2a 细胞培养于含 10% 胎牛血清、4.5 g/mL 葡萄糖、100 μg/mL 青霉素与 100 μg/mL 链霉素的杜氏改良 Eagle 培养基 (DMEM) 中，置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、21% O<sub>2</sub> 的常氧环境中培养。为诱导 OGD 损伤，将 N2a 细胞转移至无血清、无葡萄糖的 DMEM 培养基中，在 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、95% N<sub>2</sub> 的三气培养箱中孵育 3 h。OGD 损伤结束后，将细胞置于含血清和葡萄糖的 DMEM 培养基中，在常氧条件下复氧 24 h<sup>[11]</sup>。复氧期间，分别用 7.5、15.0、30.0 μmol/L 姜黄素<sup>[7-8]</sup>或 0.1% 二甲亚砜作为溶剂对照处理细胞 24 h。在复氧开始时 (0 h)，将姜黄素预先溶解于含血清和葡萄糖的 DMEM 复氧培养基中，随复氧培养基同时加入细胞，持续干预 24 h。对照组细胞全程在常氧条件下的完整 DMEM 培养基中常规培养，未进行 OGD/R 损伤及任何处理。

**2.2.2 细胞活力测定** 将 N2a 细胞接种于 96 孔板，经 OGD/R 后，将细胞随机分为对照组 (不进行 OGD/R 损伤)、模型组 (仅接受 OGD/R 损伤模型)、姜黄素组 (在模型组基础上分别给予 7.5、15.0、30.0 μmol/L 姜黄素干预 24 h)，采用 CCK-8 试剂盒，严格按照说明书操作，以评估细胞活力。

**2.2.3 Annexin V/PI 流式染色法验证姜黄素对 N2a 细胞细胞凋亡的影响** N2a 细胞随机分为对照组 (不做 OGD/R 损伤造模)、模型组 (构建 OGD/R 损伤模型)、姜黄素组 (模型组基础上给予 30.0 μmol/L 姜黄素干预)。收集细胞制成 2×10<sup>5</sup> 个细胞/mL 悬液，每孔 2 mL 接种于 6 孔板，37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵育 48 h。吸上清暂存，无 EDTA 胰酶消化细胞，上清终止后离心收集，预冷 PBS 洗 2 次，取 1×10<sup>5</sup> 个细胞加 500 μL Binding Buffer 重悬，依次加 5 μL Annexin V-FITC、5 μL PI，室温避光反应 10 min 后流式检测。

**2.2.4 活性氧 (ROS) 检测** 采用 ROS 活性检测试剂盒进行检测。将 N2a 细胞于  $2 \times 10^4$  个/孔接种 96 孔板, 孵育 24 h 贴壁后分组, 分组同 2.2.3 项下。24 h 后加 15  $\mu\text{mol/L}$  DCFH-DA 孵育 30 min, 流式检测荧光强度。

**2.2.5 实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 检测** 细胞分组同 2.2.4 项下, 24 h 后, 将 RNA 反转录为 cDNA (程序: 37  $^{\circ}\text{C}$ 、15 min, 85  $^{\circ}\text{C}$ 、5 s, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、2 h)。采用实时荧光定量 PCR 分析仪及 SYBR Green 定量 mRNA, 反应条件: 95  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 95  $^{\circ}\text{C}$ 、5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 45 个循环。以 GAPDH 为内参,  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法检测目标基因 mRNA 相对表达量。

**2.2.6 统计学方法** 实验数据经正态性与方差齐性检验后, 用 GraphPad Prism 9.0 进行统计分析及绘图, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组用独立样本 *t* 检验, 多组进行 One-way ANOVA 及 Tukey 多重比较。

### 3 结果

#### 3.1 姜黄素与脑梗死作用靶点的筛选

经多数据库系统筛选后, 对姜黄素相关靶点与脑梗死作用靶点开展交集分析, 借助 Venny 2.1.0 在线分析平台绘制韦恩图进行可视化呈现, 结果提示两者间存在 145 个共同作用靶点, 见图 1。

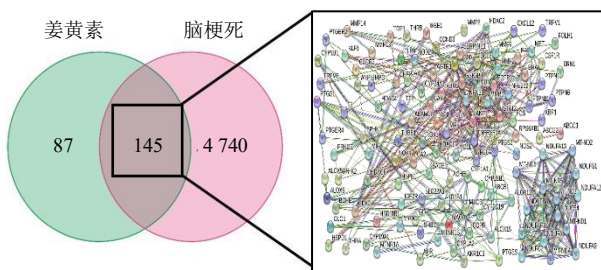


图 1 姜黄素与脑梗死共有靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of the common targets of curcumin and cerebral infarction

#### 3.2 “药物 - 靶点 - 疾病”网络的构建分析

将姜黄素、脑梗死的作用靶点, 导入 Cytoscape

3.7.1 生物信息学可视化平台构建“药物 - 靶点 - 疾病”网络, 最终形成含 147 个节点与 290 条边的网络, 见图 2。

#### 3.3 GO 及 KEGG 富集分析

GO 功能富集分析中 BP 主要包括对细菌来源分子的反应、对脂多糖的反应、活性氧代谢过程等; CC 主要包括还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶复合体、呼吸链复合体 I、细胞器包膜腔等; MF 主要包括电子转移活性、血红素结合、作用于还原型

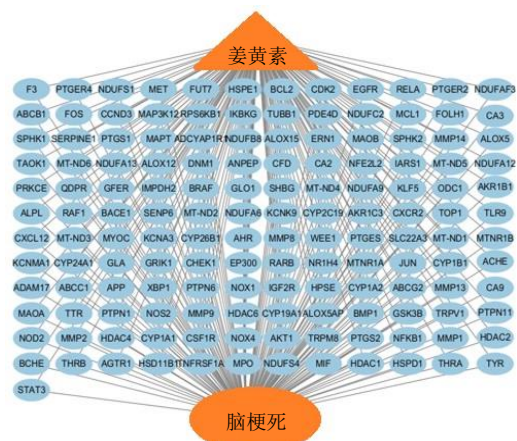


图 2 “药物 - 靶点 - 疾病”网络图

Fig. 2 “Drug - target - disease” network diagram

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (磷酸) 的氧化还原酶活性等, 见图 3。通过 KEGG 通路富集分析, 共筛选出排名前 30 位的通路绘制气泡图, 主要富集的通路包括磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、乙型肝炎、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、人巨细胞病毒感染、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、EB 病毒感染、化学致癌 - 受体激活、丙型肝炎、癌症中的蛋白聚糖、人类 T 细胞白血病病毒 1 型感染、IL-17 信号通路、前列腺癌等, 见图 4。

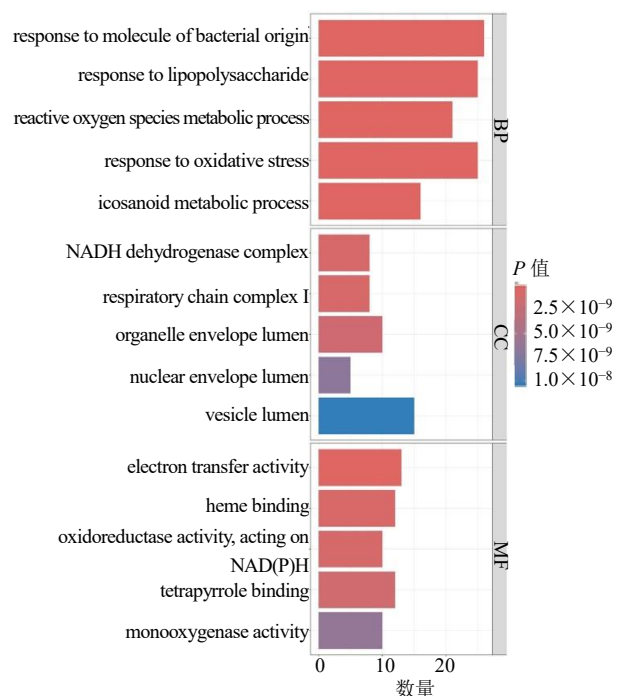


图 3 GO 功能分析

Fig. 3 GO function analysis

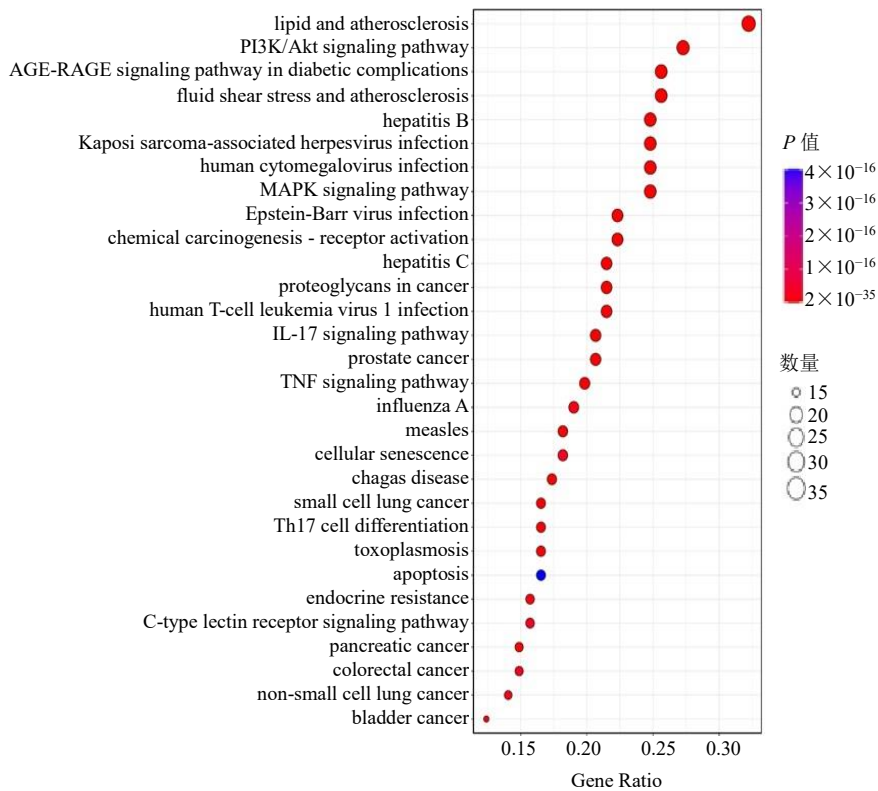


图 4 KEGG 通路分析

Fig. 4 KEGG Pathway Analysis

### 3.4 PPI 网络分析及筛选关键靶点基因

利用 STRING 数据库导入 145 个药物与疾病交集靶点以构建 PPI 网络图, 见图 5A。设定最小相互作用置信度阈值  $\geq 0.9$  (高置信度), 物种限定为 homo sapiens, 隐藏网络中无连接的离散节点。将构建的 PPI 网络以 TSV 格式导出, 导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 使用 CytoNCA 插件进行两轮拓扑筛选, 第 1 轮筛选: 计算网络中所有节点的 5 项拓扑参数, 包括特征向量中心性、中介中心性、接近中心性、度中心性 (degree)、网络中心性。以各项参数的中位数作为截断值, 具体阈值分别为 degree 中位数 = 3、特征向量中心性中位数 = 0.024、中介中心性中位数 = 0.333、接近中心性中位数 = 0.448、网络中心性中位数 = 2.000。筛选规则: 仅保留 5 项参数均  $\geq$  各自中位数的节点。经第 1 轮筛选后, 从原始 145 个节点中获得 22 个关键节点, 形成包含 22 个节点和 57 条边的子网络, 见图 5B。第 2 轮筛选: 将第 1 轮获得的 22 个节点构成的新网络再次导入 CytoNCA 插件, 重新计算上述 5 项拓扑参数, 并以新网络中各项参数的中位数作为截断值, 阈值分别为 degree 中位数 = 9、特征向量中心性中位数 = 0.363、中介中心性中位数 = 22.255、接近中心性中

位数 = 0.568、网络中心性中位数 = 7.007。筛选规则同第 1 轮, 即保留 5 项参数均  $\geq$  各自中位数的节点。经第 2 轮筛选后, 最终确定 6 个核心靶点, 包括信号转导及转录激活蛋白 3 (STAT3)、Jun 原癌基因 (JUN)、E1A 结合蛋白 p300 (EP300)、RELA 原癌基因 (RELA)、组蛋白去乙酰化酶 1 (HDAC1)、核因子- $\kappa$ B1 (NF- $\kappa$ B1), 形成包含 6 个节点和 15 条边的核心网络, 见图 5C、表 1。

### 3.5 姜黄素与核心靶点的分子对接

将 6 个核心靶点与姜黄素进行分子对接分析, 导入 CB-Dock2 在线工具进行分子对接验证并计算结合能, 见表 2, 最终选择亲和力最高的 3 对构象, 并在 Pymol 中进行可视化, 见图 6。

## 4 体外实验结果

### 4.1 姜黄素对 N2a 细胞活力的影响

结果显示, 与模型组相比, 姜黄素 (15、30  $\mu$ mol/L) 组细胞活力显著升高 ( $P < 0.001$ ), 见图 7。

### 4.2 流式细胞术检测姜黄素对 N2a 细胞凋亡的影响

通过 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术对 N2a 细胞凋亡的检测分析显示, 与模型组相比, 姜黄素组处理的 N2a 细胞凋亡率显著降低 ( $P < 0.001$ ), 见图 8。

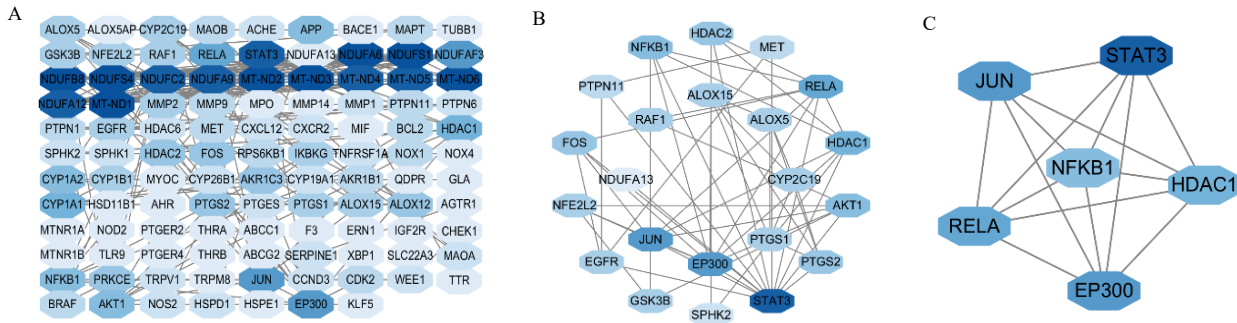


图 5 PPI 网络图 (A)、PPI 网络图第 1 次网络拓扑分析 (B)、PPI 网络图第 2 次网络拓扑分析 (C)  
Fig. 5 PPI network diagram (A), PPI network diagram after the first network topology analysis (B), PPI network diagram after the second network topology analysis (C)

表 1 姜黄素治疗脑梗死的关键靶点

Table 1 Targets of curcumin in treatment of cerebral infarction

靶点	degree	特征向量中心性	中介中心性	接近中心性	网络中心性
STAT3	13	0.409	260.905	0.724	9.265
JUN	9	0.363	35.486	0.568	7.023
EP300	9	0.374	22.255	0.568	7.007
RELA	8	0.343	18.238	0.553	6.095
HDAC1	7	0.304	24.260	0.538	5.967
NF-κB1	6	0.284	9.333	0.525	4.533

表 2 活性成分与靶点的结合能

Table 2 Binding energy of active components and target

靶点	结合能/(kJ·mol <sup>-1</sup> )
STAT3	-7.6
JUN	-6.7
EP300	-9.4
RELA	-7.1
HDAC1	-7.5
NF-κB1	-6.9

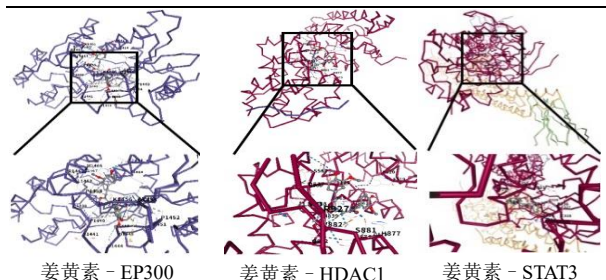
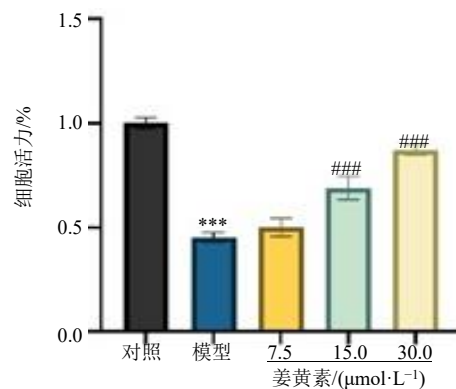


图 6 姜黄素与核心靶点分子对接可视化图

Fig. 6 Visualization of the docking between curcumin and the core target molecule

### 4.3 流式细胞术检测姜黄素对 N2a 细胞 ROS 水平的影响

与模型组相比,姜黄素组处理的 N2a 细胞 ROS 阳性率显著降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 9。



与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: #### $P < 0.001$ 。  
\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; #### $P < 0.001$  vs model group.

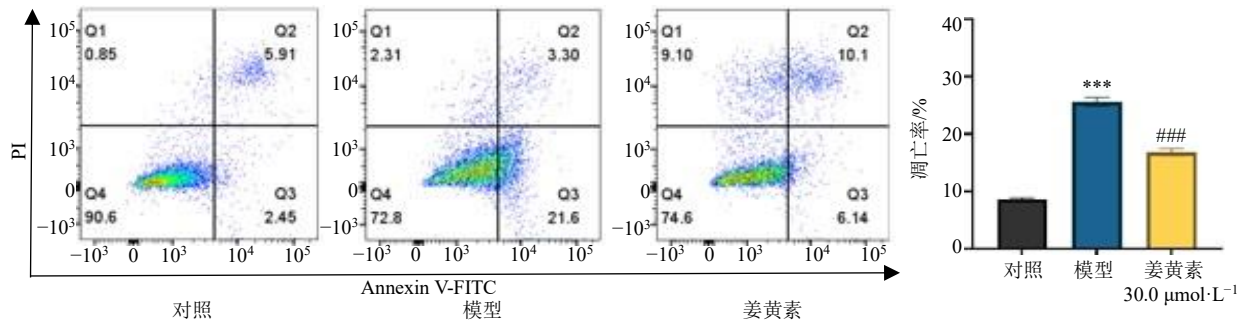
图 7 姜黄素对 N2a 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 7 Effect of curcumin on the viability of N2a cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

### 4.4 姜黄素对 N2a 细胞中 EP300、STAT3、HDAC1 mRNA 表达的影响

qRT-PCR 检测显示,与模型组相比,姜黄素组 EP300、STAT3、HDAC1 mRNA 表达水平均显著下调 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

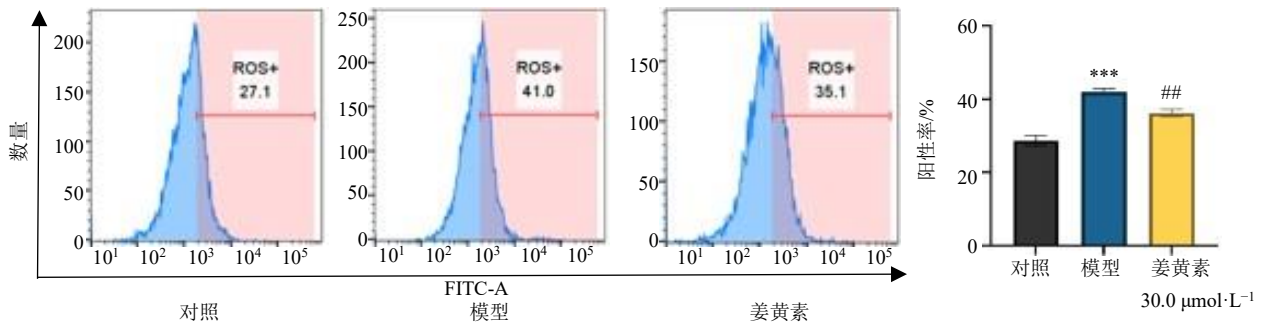
### 5 讨论

脑梗死是缺血性脑血管病主要类型,病理生理



与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ### $P < 0.001$ 。  
 \*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ### $P < 0.001$  vs meodel group.

图 8 姜黄素对 N2a 细胞细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
 Fig. 8 Effect of curcumin on apoptosis of N2a cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。  
 \*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ## $P < 0.01$  vs meodel group.

图 9 流式细胞术检测姜黄素对 N2a 细胞 ROS 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
 Fig. 9 Flow cytometry analysis of the effect of curcumin on the ROS levels of N2a cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

表 3 姜黄素对 N2a 细胞中 EP300、STAT3、HDAC1 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effects of curcumin on the mRNA expression of EP300, STAT3 and HDAC1 in N2a cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度/ (μmol·L <sup>-1</sup> )	mRNA 相对表达量		
		EP300	STAT3	HDAC1
对照	—	1.01 ± 0.17	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.08
模型	—	2.69 ± 0.03*	3.37 ± 0.49*	2.04 ± 0.17*
姜黄素	30.0	1.52 ± 0.40#	2.12 ± 0.39#	1.49 ± 0.16#

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ 。  
 \* $P < 0.05$  vs control group; # $P < 0.05$  vs meodel group.

复杂, 涉及氧化应激、炎症、神经细胞凋亡等环节, 西医单一靶点治疗难覆盖多维度损伤, 是其治疗瓶颈<sup>[12-13]</sup>。中医药具整体调节、多靶点优势, 脑梗死治疗前景广阔; 中医视其为“中风”, 病机“瘀血阻络”, 气血不畅致脑脉失养引发病理变化<sup>[14]</sup>。姜黄作为传统活血化瘀中药, 具有破血行气、通经止痛的功效。本研究采用网络药理学、分子对接与体

外实验验证相结合的方法, 系统探究姜黄素治疗脑梗死的作用机制, 旨在为其临床应用提供依据。

本研究通过多数据库整合筛选, 获得了姜黄素与脑梗死的 145 个共同作用靶点, 这些靶点广泛参与脑梗死的核心病理进程, 印证了姜黄素治疗脑梗死是通过调控多个靶点协同发挥作用的特点。进一步通过 PPI 网络构建与拓扑分析, 筛选出 STAT3、JUN、EP300、RELA、HDAC1、NFKB1 等核心靶点, 上述靶点在脑梗死的病理生理中起重要作用。STAT3 作为重要的转录调控因子, 其异常激活可促进促炎因子释放与神经细胞凋亡<sup>[15]</sup>; JUN 参与炎症反应与氧化应激介导的细胞损伤, 加剧缺血区域的组织破坏<sup>[16]</sup>; EP300 通过调控染色质乙酰化状态影响基因转录, 与 STAT3 结合后可增强转录活性<sup>[17]</sup>; RELA 作为 NF-κB 通路的核心亚基, 其入核可启动炎症因子的大量表达, 放大炎症瀑布反应<sup>[18]</sup>; HDAC1 则通过去乙酰化作用抑制抗凋亡基因表

达,加重神经细胞损伤<sup>[19]</sup>;NF-κB1 作为 NF-κB 通路的上游调控因子,通过激活 RELA 参与炎症与凋亡的协同调控<sup>[20]</sup>。分子对接结果显示,姜黄素与 STAT3、EP300 等核心靶点均具良好结合活性,能够稳定结合于靶点的活性口袋区域,为其调控靶点功能提供了分子基础,其中与 EP300、HDAC1、STAT3 的结合亲和力尤为突出,这也为后续体外实验的靶点选择提供了可靠依据。

GO 与 KEGG 富集分析从分子层面揭示姜黄素治脑梗的生物学基础,GO-BP 富集于活性氧代谢、氧化应激反应、炎症反应调控等核心病理过程。这些过程正是脑梗死缺血再灌注损伤的关键环节,即缺血缺氧引发的线粒体功能障碍会导致活性氧大量生成,进而诱发氧化应激与炎症反应,形成恶性循环加剧神经损伤<sup>[21]</sup>;CC 层面富集于线粒体相关结构,提示姜黄素可能通过调控线粒体功能改善能量代谢,缓解缺血区域神经细胞的能量匮乏;MF 层面则富集于氧化还原酶活性等相关功能,表明姜黄素可能通过调节氧化还原平衡,减轻氧化应激损伤。KEGG 通路富集分析显示,交集靶点主要富集于多个与脑梗死病理密切相关的信号通路,这些通路相互交织构成复杂的调控网络。其中,PI3K/Akt 信号通路作为调控细胞存活、凋亡及能量代谢的核心通路,在脑梗死缺血损伤时,因上游激酶活性受抑、下游信号传导受阻导致其整体活性显著降低,进而削弱神经细胞存活信号<sup>[22]</sup>,而姜黄素可能通过激活该通路增强细胞存活信号;MAPK 信号通路的异常激活会介导炎症反应与细胞凋亡<sup>[23]</sup>,姜黄素对该通路的抑制可减轻神经损伤;IL-17 信号通路作为炎症反应的重要调控通路,其激活会加剧炎症浸润<sup>[24]</sup>,姜黄素对该通路的干预有助于缓解炎症损伤。这些富集结果与脑梗死的已知发病机制高度契合,进一步证实了姜黄素通过多通路协同调控干预脑梗死病理进程的作用模式。

体外实验为网络药理学预测的机制提供直接证据,本研究以 N2a 细胞为对象,用 OGD/R 模型模拟脑梗死缺血再灌注损伤,探究姜黄素的神经保护作用。细胞活力检测显示,姜黄素组细胞活力显著升高,对缺血损伤神经细胞有直接保护作用。细胞凋亡检测显示,姜黄素能有效抑制 OGD/R 模型诱导的神经细胞凋亡,这与交集靶点中凋亡相关基因的调控特征一致。ROS 检测结果表明,姜黄素可显著降低 OGD/R 损伤引发的 ROS 过量生成,减轻

氧化应激损伤。RT-qPCR 检测进一步证实,姜黄素处理可有效下调 EP300、STAT3、HDAC1 的 mRNA 表达。

综上所述,本研究通过网络药理学、分子对接及体外实验验证,阐明了姜黄素治疗脑梗死的多靶点、多通路协同作用机制,证实姜黄素可通过调控 EP300、STAT3、HDAC1 减轻氧化应激、炎症反应与神经细胞凋亡,发挥神经保护作用。该研究结果为姜黄素治疗脑梗死提供了坚实的科学依据,推动中医药在脑血管疾病治疗中的临床应用具有重要的理论价值与实践意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Majumder D. Ischemic stroke: Pathophysiology and evolving treatment approaches [J]. *Neurosci Insights*, 2024, 19: 26331055241292600.
- [2] 冯凯,郑志东. 脑梗死急性期中西医结合诊疗专家共识 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2024, 22(7): 1153-1162.
- [3] Liang Y, Chen J, Chen Y, *et al.* Advances in the detection of biomarkers for ischemic stroke [J]. *Front Neurol*, 2025, 16: 1488726.
- [4] Jiang H J, Huang X L, Xian B, *et al.* Chinese herbal injection for cardio-cerebrovascular disease: Overview and challenges [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1038906.
- [5] Liu L, Chen D H, Zhou Z Y, *et al.* Traditional Chinese medicine in treating ischemic stroke by modulating mitochondria: A comprehensive overview of experimental studies [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1138128.
- [6] Younis H M, Mohamed A A. A review on curcumin: Pharmacological promises and biomedical activities [J]. *Arch Pharm*, 2025, 358(11): e70129.
- [7] Yang X Y, Xu L, Zhao H, *et al.* Curcumin protects against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by attenuating oxidative stress and inflammation: A meta-analysis and mechanism exploration [J]. *Nutr Res*, 2023, 113: 14-28.
- [8] Wu S G, Guo T, Qi W X, *et al.* Curcumin ameliorates ischemic stroke injury in rats by protecting the integrity of the blood-brain barrier [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 783.
- [9] Pluta R, Furmaga-Jabłońska W, Januszewski S, *et al.* Post-ischemic brain neurodegeneration in the form of Alzheimer's disease proteinopathy: Possible therapeutic role of curcumin [J]. *Nutrients*, 2022, 14(2): 248.
- [10] 马萌萌,王雪娇,姚亚轩,等. 姜黄素药理作用、药动学及制剂开发的研究进展 [J]. *中草药*, 2026, 57(6):

- 2394-2405.
- [11] Xie C J, Gu A P, Cai J, *et al.* Curcumin protects neural cells against ischemic injury in N2a cells and mouse brain with ischemic stroke [J]. *Brain Behav*, 2018, 8(2): e00921.
- [12] 高长玉, 吴成翰, 赵建国, 等. 中国脑梗死中西医结合诊治指南(2017) [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(2): 136-144.
- [13] Guo Y L, Li P Y, Boltze J. Recent advances in mechanistic, therapeutic, and diagnostic research of cerebrovascular diseases: Updates from brain & BrainPET 2022 [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2023, 43(2\_suppl): 4-7.
- [14] Liu Y, Cui W Q, Liu H X, *et al.* Exploring the “genemetabolite” network of ischemic stroke with blood stasis and toxin syndrome by integrated transcriptomics and metabolomics strategy [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 11947.
- [15] 郑贵明, 卢俊彦, 史立彬. 柚皮苷调节 JAK2/STAT3 信号通路对急性缺血性脑梗死大鼠神经损伤的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2023, 21(16): 2977-2983.
- [16] Chokkalla A K, Mehta S L, Jeong S, *et al.* FTO promotes post-stroke neuroprotection by m<sup>6</sup>A demethylation of c-Jun [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2025, 45(10): 1877-1890.
- [17] Kundu G, Ghasemi M, Yim S, *et al.* STAT3 Protein-protein interaction analysis finds P300 as a regulator of STAT3 and histone 3 lysine 27 acetylation in pericytes [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(9): 2102.
- [18] Sun X T, Cao S, Mao C Y, *et al.* Post-translational modifications of p65: State of the art [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1417502.
- [19] Lisek M, Bochenska N, Tomczak J, *et al.* Epigenetic regulation in ischemic neuroprotection: The dual role of HDACs and HATs in neuroinflammation and recovery [J]. *Antioxidants*, 2025, 14(8): 1015.
- [20] Guo Q, Jin Y Z, Chen X Y, *et al.* NF-κB in biology and targeted therapy: New insights and translational implications [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 53.
- [21] Kovacheva E, Gevezova M, Koeva M, *et al.* Mitochondrial function, oxidative stress, inflammation and thrombolytic treatment in ischemic stroke [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(21): 10289.
- [22] Liu T L, Li X L, Zhou X W, *et al.* PI3K/AKT signaling and neuroprotection in ischemic stroke: Molecular mechanisms and therapeutic perspectives [J]. *Neural Regen Res*, 2025, 20(10): 2758-2775.
- [23] Mustafa M, Ahmad R, Tantry I Q, *et al.* Apoptosis: A comprehensive overview of signaling pathways, morphological changes, and physiological significance and therapeutic implications [J]. *Cells*, 2024, 13(22): 1838.
- [24] Deng G Z, Guo M D, Fan J H, *et al.* Interleukin-17 family in health and immune diseases: From origin to clinical implications [J]. *Neural Regen Res*, 2026, 21(5): 1809-1833.

[责任编辑 高源]