

基于网络药理学和分子对接探讨人参汤改善心肌缺血再灌注损伤的潜在作用机制

苏亚亚¹, 王嘉璐¹, 周瑞莲¹, 马嘉言¹, 于小清², 杨阳^{1,3*}

1. 河北中医药大学中医学院, 中国 河北 石家庄 050200;

2. 河北中医药大学中西医结合学院, 中国 河北 石家庄 050200;

3. 河北省心脑血管病中医药防治研究重点实验室, 中国 河北 石家庄 050091

摘要: 目的: 运用网络药理学和分子对接技术探讨人参汤改善心肌缺血再灌注损伤(MIRI)的潜在作用靶点及机制。方法: 首先应用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选出人参汤的有效活性成分和作用靶点; 采用UniProt数据库注释靶点基因; 利用人类基因数据库(GeneCards)、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)获得MIRI的靶点; 运用Venn在线软件获取人参汤与MIRI的共同靶点基因, 并以Venn图展示; 采用Cytoscape 3.9.1软件构建“药物-药物有效成分-靶点”可视化网络图; 应用注释、可视化和综合发现数据库(DAVID)对交集靶点进行基因本体(GO)及京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析; 通过STRING数据库将交集靶点进行蛋白-蛋白相互作用(PPI)分析, 利用Cytoscape 3.9.1软件Cytohubba插件对PPI网络进行分析, 获取关键靶点。通过AutoDock Tools 1.5.7软件与PyMOL 2.5.0对筛选后的3个关键靶点蛋白受体和药物活性成分配体进行分子对接验证。结果: 筛选得到人参汤的45个有效活性成分和709个靶点基因, MIRI相关靶点基因1503个, 210个药物与疾病交集靶点; 获得关键核心靶点有信号转导与转录激活因子3(STAT3)、核因子 κ B亚基1(NF κ B1)、 α -丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT1), 其主要参与炎症因子、抗凋亡及增殖相关蛋白的生物合成, 由JAK-STAT、NF- κ B、PI3K-AKT信号通路介导调控炎症、细胞存活、氧化应激反应及心肌保护相关基因表达, 参与炎症反应、细胞凋亡、增殖、组织修复及心肌缺血再灌注损伤等生物学过程。KEGG通路富集分析显示主要作用机制可能与EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药信号通路、血管内皮生长因子VEGF信号通路、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物(AGE)-晚期糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路等有关。结论: 人参汤对MIRI的干预作用具有多成分、多靶点、多通路、多环节的调控特点, 其调控靶点可能主要涉及STAT3、NF κ B1、AKT1等; 其调控的通路可能涉及氧化应激和炎症反应相关信号通路、细胞凋亡、血管生成及缺氧适应信号通路等, 这为后续深入探讨人参汤改善MIRI的潜在分子作用机制奠定了基础。

关键词: 心肌缺血再灌注; 人参汤; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

*基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目“国医大师李士懋运用阴阳脉诊治疗心脑血管疾病的诊疗方案研究”(项目编号: 2023110)。

通讯作者: 杨阳, 女, 教授, 主任中医师, 研究领域: 经典方剂的证治机理研究。

Exploring the Potential Mechanism of Renshen Decoction in Ameliorating Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

Yaya Su ¹, Jialu Wang ¹, Ruilian Zhou ¹, Jiayan Ma ¹, Xiaoqing Yu ², Yang Yang ^{1,3*}

1. College of Traditional Chinese Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, Hebei, China;

2. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, Hebei, China;

3. Hebei Key Laboratory of Chinese Medicine Prevention and Treatment of Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases, Shijiazhuang 050091, Hebei, China

Abstract: Objective: To explore the potential targets and mechanism of Renshen Decoction in improving myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) using network pharmacology and molecular docking technology. Methods: Firstly, the active components and targets of Renshen Decoction were screened using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). The UniProt database was used to annotate the target genes. MIRI-related targets were obtained from the GeneCards and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) databases. Common target genes between Renshen Decoction and MIRI were identified using Venn online software and displayed in a Venn diagram. A “drug-active component-target” visualization network was constructed using Cytoscape 3.9.1. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses of the intersecting targets were performed using the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID). Protein-protein interaction (PPI) analysis of the intersecting targets was conducted via the STRING database, and key targets were identified by analyzing the PPI network with the Cytohubba plugin in Cytoscape 3.9.1. Molecular docking validation between three selected key target protein receptors and drug active component ligands was performed using AutoDock Tools 1.5.7 and PyMol 2.5.0. Results: A total of 45 active components and 709 target genes of Renshen Decoction, 1503 MIRI-related target genes, and 210 common drug-disease targets were identified. Key core targets included signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), nuclear factor kappa B subunit 1 (NFKB1), and serine/threonine-protein kinase AKT1 (AKT1), which are mainly involved in the biosynthesis of inflammatory factors, anti-apoptotic, and proliferation-related proteins. They mediate the expression of genes related to inflammation, cell survival, oxidative stress response, and myocardial protection via the JAK-STAT, NF- κ B, and PI3K-AKT signaling pathways, and are involved in biological processes such as inflammatory response, apoptosis, proliferation, tissue repair, and myocardial ischemia-reperfusion injury. KEGG pathway enrichment analysis indicated that the main mechanisms may be related to the EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance signaling pathway, vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway, advanced glycation end products (AGE)-receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathway in diabetic complications, hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) signaling pathway, and tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway. Conclusion: Renshen Decoction has a multi-component, multi-target, multi-pathway, and multi-link regulatory characteristic in its intervention against MIRI. Its regulatory targets may mainly include STAT3, NFKB1, and AKT1. The pathways involved may include oxidative stress and inflammatory response-related signaling pathways, as well as apoptosis, angiogenesis, and hypoxia adaptation signaling pathways. This lays a foundation for further in-depth exploration of the potential molecular mechanism of Renshen Decoction in improving MIRI.

Keywords: myocardial ischemia-reperfusion; Renshen Decoction; network pharmacology; molecular docking; mechanism of action

随着人口老龄化加剧、生活方式转变及危险因素增多, 心血管疾病已成为全球第一大致死疾病[1,2]。心肌缺血再灌注损伤(Myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)是指心脏供血中断后重新恢复时, 心肌组织所经历的一种损伤或功能受损状态, 这种状态可能引发心肌细胞凋亡、坏死, 导致心律失常、心肌顿抑、血管功能障碍, 严重情况下甚至导致心脏骤停[3]。2023年统计报告显示, 全球心血管疾病年死亡人数达1790万人, 其中约50%与缺血再灌注损伤(MIRI)相关, 严重影响社会经济的发展[4]。中医对MIRI无特定的病名记载, 根据其发病特征及临床表现可归于中医的“胸痹”、“心痛”、“真心痛”范畴。对胸痹心痛的记载最早可追溯至《黄帝内经·灵枢·五邪》“邪在心, 则病心痛”[5]。中医药凭借其多靶点、多通路和副作用小的优势以及中医的辨证治疗、整体观念等特点, 使其在治疗MIRI方面有着独特的优势[6]。人参汤又名理中丸、理中汤, 出自《金匮要略·胸痹心痛短气病脉证治第九》: “胸痹心中痞, 留气结在胸, 胸满, 胁下逆抢心, 枳实薤白桂枝汤主之; 人参汤亦主之[7]”。该方由人参、白术、甘草、干姜组成, 是古代治疗胸痹的经典名方[8]。网络药理学是从整体性和系统性方面对药物、疾病之间相互关系进行全面分析的一门新兴学科。本研究拟在网络药理学基础上采用分子对接技术, 进一步探讨人参汤在抗MIRI方面的具体分子作用机制, 以期为后续的进一步研究提供新思路。

1 资料与方法

1.1 药物有效成分及靶点获取

本研究利用中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <http://tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)检索人参汤组方中药: “干姜” “人参” “白术” “炙甘草”以收集该草本药的相关信息, 限定口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$, 类药性(DL) ≥ 0.18 筛选有效活性成分, 并通过TCMSP数据库获得相应化合物对应的靶点[9]。在TCMSP中检索不到的中药, 以

HERB数据库(<http://herb.ac.cn/>)作为补充[10], 查找中药成分, 根据中药成分名称在PubChem数据库[11] (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)找到该成分化学结构式, 以获取其Canonical SMILES号。通过Swiss Target Prediction平台[12] (<http://www.swisstargetprediction.ch>), 物种选择为“Homo sapiens”, 筛选出Probability > 0 的预测靶点, 再基于对应的化合物SMILES开展分析, 最后将所有潜在作用靶点整合并删除重复值后, 得出人参汤的活性成分和相关靶点。应用UniPort数据库[13] (<https://www.uniprot.org>), 以物种为人类且为已验证的基因作为筛选条件, 对预测的药物靶点名称进行校正, 统一为GeneSymbol。

1.2 疾病靶点收集

以“Myocardial ischemia reperfusion injury”为检索词, 通过人类基因数据库[14] (GeneCards, <https://www.genecards.org/>), 和在线人类孟德尔遗传数据库[15] (OMIM, <https://www.omim.org/>)进行检索, 其中GeneCards数据库所得数据以Relevance score ≥ 4.58728504180908 为筛选条件, 上述结果汇总后删除重复项, 获得MIRI的基因靶点。

1.3 筛选疾病相关靶点及绘制Venn图

将人参汤和MIRI相关靶点数据集, 利用Venn在线软件绘制韦恩图, 确定人参汤和MIRI的交集靶点作为人参汤抗MIRI的可能潜在靶点。

1.4 药物-有效成分-靶点网络图构建

将药物、有效成分和靶点导入Cytoscape 3.9.1[16]中构建“药物-有效成分-靶点”可视化处理获得初步网络图运用Network Analyzer工具, 计算各个节点的连接度(Degree)值。其中节点代表着药物、化合物或靶点, 节点之间的连接代表其存在相互作用, 节点的Degree值代表节点之间相连的数目。

1.5 蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络图构建

将获取的交集靶点输入STRING数据库[17] (<https://>

cn.string-db.org/)中,筛选条件为物种“Homo sapiens”最低相互作用得分 ≥ 0.4 ,去除在网络中断开的节点:以TSV格式导出相应结果,将文件导入Cytoscape 3.9.1,构建PPI网络。设置节点的大小、颜色与Degree值成正比。运用Cytohubba插件对PPI网络进行筛选分析,分别以最大团中心性(MCC)、紧密中心性(Closeness)、度(Degree)值、中介中心性(Betweenness)、应力中心性(Stress)计算前20个核心基因,再次利用Venn在线软件取其交集,获取关键靶点。鉴于在Cytohubba中指标MCC的可信度更好[18],因此将获得的关键靶点按照MCC降序排列,最终选取相互关系最密切的靶点作为人参汤抗MIRI的潜在核心关键靶点。

1.6 基因本体 (gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析

通过运用注释、可视化和综合发现数据库(DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) [19]和微生信可视化平台(<https://www.bioinformatics.com.cn>),本研究对人参汤和MIRI的共同靶点进行GO和KEGG富集分析。利用DAVID平台,导入人参汤与MIRI的共同靶点,并进行相应参数设置,即Thresholds设定为Count: 3, EASE: 0.05为筛选条件,分别将GO生物过程(biological processes, BP)、细胞组成(cellular components, CC)、分子功能(molecular functions, MF)和KEGG通路进行富集分析。利用微生信网站,选取 $P < 0.05$ 的条目分别制作GO三合一柱状图和KEGG富集气泡图,探讨人参汤抗MIRI相关生物学过程和关键信号通路。

1.7 靶标-通路网络构建

在KEGG的基础上,通过使用Cytoscape 3.9.1构建PPI网络,并根据Degree值进行排序,找出富集在上述通路上的人参汤改善MIRI的潜在的关键靶点,最终构建“靶标-通路”多维网络关系图。

1.8 分子对接验证

经有机小分子生物活性数据库[11](PubChem,

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)搜索关键靶点对应的有效成分并下载其sdf格式的三维结构,使用Chem3D 20.0软件将sdf格式处理后转化为mol2格式文件,同时应用蛋白质结构数据库[20](PDB, <http://www.rcsb.org>)搜索关键靶点并下载其三维结构。通过PyMOL 2.5.0和AutoDockTools 1.5.7软件对受体和配体进行相应处理,输出pdbqt格式,借助AutoDock Vina对受体和配体进行分子对接[21]。将分子对接数据导入PyMOL 2.5.0软件进行可视化展示。

2 结果

2.1 药物活性成分及其靶点的筛选

通过TCMSP数据库、HERB数据库和PubChem数据库获取炙甘草汤组方中有效化学成分筛选及潜在靶点获取及预测本次研究共筛选到符合条件的有效活性化学成分45个,预测潜在靶点基因2751个其中:人参活性成分22个,预测潜在靶点1440个;干姜活性成分5个,预测潜在靶点387个;白术活性成分7个,预测潜在靶点438个;炙甘草活性成分11个,预测靶点486个,详见表1。汇总后去除重复值,人参汤有效活性成分对应靶点基因共计709个。

2.2 人参汤活性成分与MIRI交集基因的分析

通过GeneCards、OMIM数据库得到MIRI靶点基因1503个。将人参汤709对应靶点基因与1503个疾病靶点取交集得到交集靶点210个,即人参汤抗MIRI的潜在靶点。详见图1。

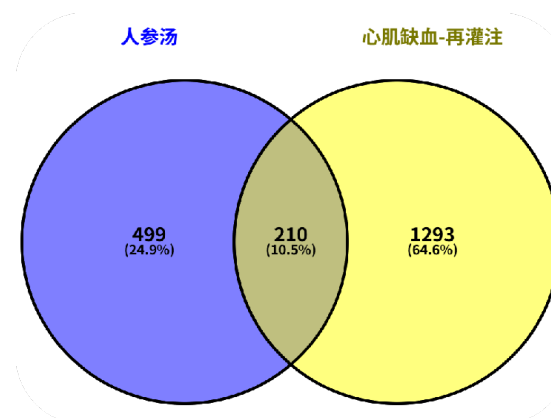


图1. 人参汤活性成分相关靶点和心肌缺血-再灌注相关靶点的韦恩图

表1. 人参汤中活性成分信息表

序号	分子名称	化合物标识号	靶点
MOL002464	1-Monolinolein	6436630	100
MOL002501	[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl] (1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	5315890	100
MOL002514	Sexangularatin	5281698	100
MOL000358	beta-sitosterol(GJ)	222284	43
MOL000359	sitosterol	12303645	44
MOL002879	Diop	33934	5
MOL000449	Stigmasterol	5280794	44
MOL000358	beta-sitosterol(RS)	222284	43
MOL003648	Inermin	91510	64
MOL000422	kaempferol	5280863	100
MOL004492	Chrysanthemaxanthin	21160900	0
MOL005308	Aposiopolamine	52143306	100
MOL005314	Celabenzine	442847	100
MOL005317	Deoxyharringtonine	285342	100
MOL005318	Dianthramine	441562	14
MOL005320	arachidonate	5312542	100
MOL005321	Frutinine A	441965	33
MOL005344	ginsenoside rh2	119307	20
MOL005348	Ginsenoside-Rh4_qt	21599928	100
MOL005356	Girinimbin	96943	100
MOL005357	Gomisin B	6443826	100
MOL005360	malkangunin	275134171	100
MOL005376	Panaxadiol	73498	26
MOL005384	suchilactone	132350840	100
MOL005399	alexandrin_qt	5742590	51
MOL005401	ginsenoside Rg5_qt	11550001	100
MOL000787	Fumarine	4970	40
MOL000020	12-senecieryl-2E,8E,10E-atractylentriol	38431006	100
MOL000021	14-acetyl-12-senecieryl-2E,8E,10E-atractylentriol	14448076	100
MOL000022	14-acetyl-12-senecieryl-2E,8Z,10E-atractylentriol	132941086	100
MOL000028	α -Amyrin	65935	58
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	15976101	45
MOL000049	3 β -acetoxyatractylone	163082913	1
MOL000072	8 β -ethoxy atractylenolide III	14448075	34
HBIN002087	18 α -glycyrrhetic acid	73398	90
HBIN002095	18 β -glycyrrhetic acid	66561710	90
HBIN015140	Alisol a 24-acetate	76336194	100
HBIN017212	Astragaln	5282102	21
HBIN028184	Glycyrrhetic acid	10114	90
HBIN028191	Glycyrrhizin	14982	29
HBIN031102	Isoquercitrin	5280804	22
HBIN031221	Isoschaftoside	3084995	1
HBIN036347	Narcissin	5481663	21
HBIN042670	Rutin	5280805	21
HBIN043316	Schaftoside	442658	1

2.3 “药物-有效成分-靶点”网络

为展现药物、中药复方成分、核心靶点之间的关系，本研究制作了有效成分编号表(表1)，通过Cytoscape 3.9.1软件，构建人参汤复方的“药物-有效成分-靶点”网络图。该网络包括760个节点，2795条边，其中左边橙色三角形代表的是人参汤药物，右边蓝色V形代表的是药物有效成分，下面紫色椭圆表示基因靶点，节点越大表明与基因靶点相连越多，度值越大。根据各个节点的Degree值，排序后发现人参汤中最主要的10个活性化合物依次为：

Ginsenoside-Rh4_qt、Celabenzine、Aposiopamine、malkangunin、Sexangularetin、suchilactone、14-acetyl-12-senecieryl-2E, 8E, 10E-atractylentriol、Alisol a 24-acetate、12-senecieryl-2E, 8E, 10E-atractylentriol、

14-acetyl-12-senecieryl-2E, 8Z, 10E-atractylentriol。
详见图2。

2.4 PPI网络构建及关键靶点的选取

将获取的交集靶点导入STRING数据库进行PPI网络分析，保存STRING数据库生成的PPI网络图以及每条边代表蛋白质和蛋白质之间的相互作用(见图3)。将输出的TSV格式文件导入Cytoscape 3.9.1软件，构建PPI网络图，详见图4，用于后续核心靶点的筛选。网络中显示表明连线越多，关联度越强，PPI网络中交集靶点的排名越靠前。结果发现，PPI网络中包含209个节点、3740条边。利用Cytohubba插件对PPI网络图进行分析，分别设置MCC、Closeness、Degree值、Betweenness和Stress(见表2)，计算前20个核心基因并绘制韦恩

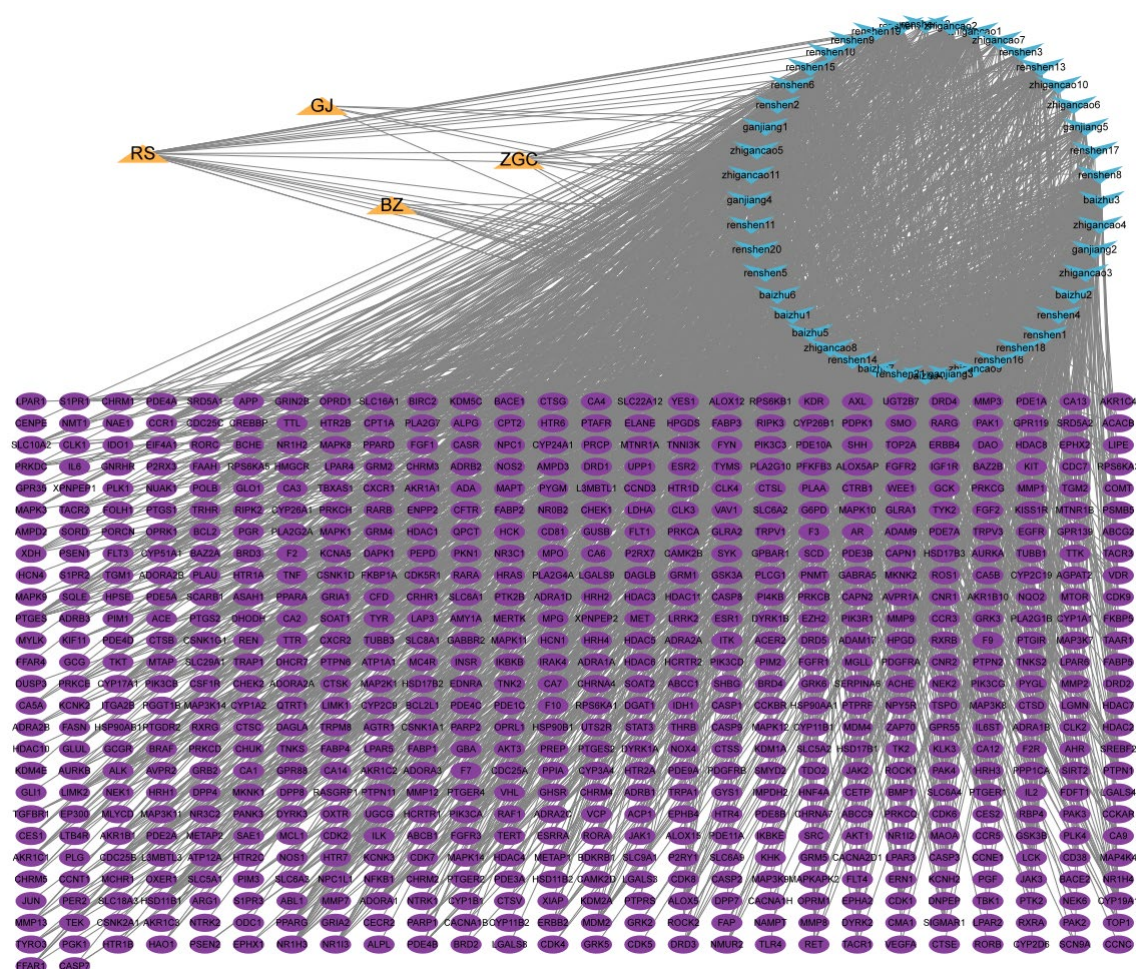


图2. “中药-活性成分-作用靶点”网络

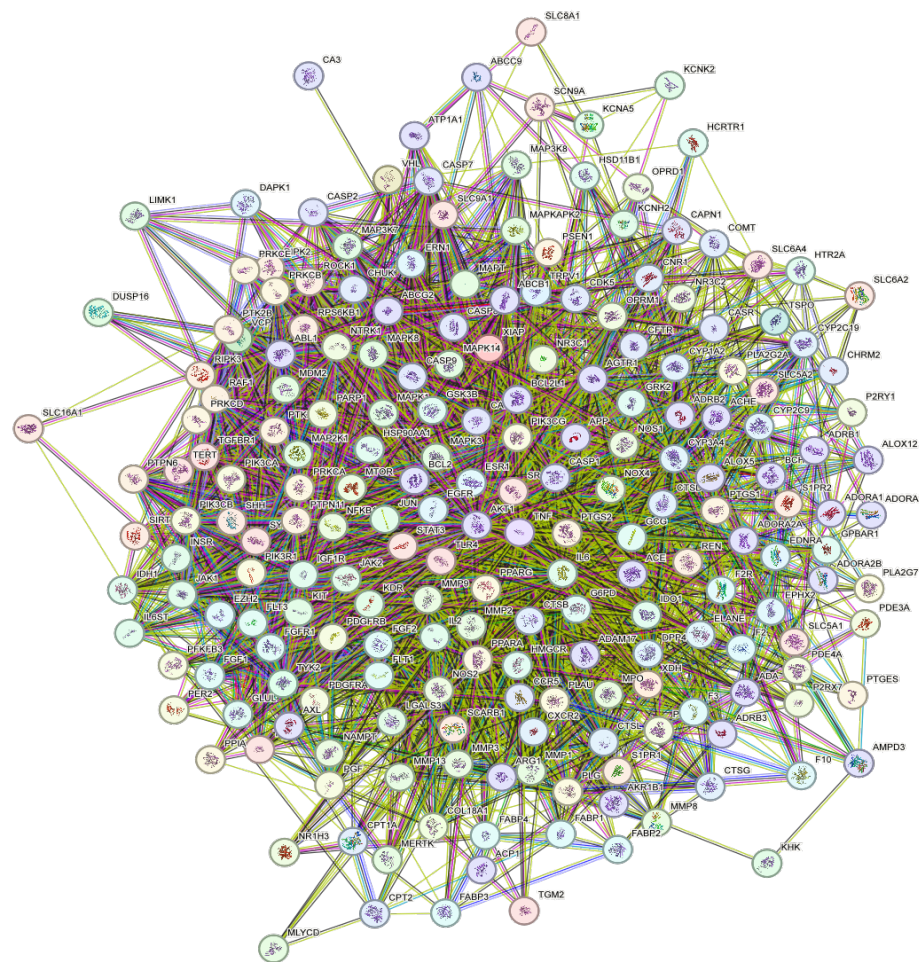


图3. 人参汤与心肌缺血-再灌注潜在靶点调控网络图

表2. 排名前20位核心基因

序号	最大团中心性	紧密中心性	Degree值	中介中心值	应力中心性
1	STAT3	IL6	IL6	IL6	IL6
2	BCL2	TNF	TNF	TNF	TNF
3	CASP3	AKT1	AKT1	AKT1	AKT1
4	IL6	SRC	SRC	SRC	SRC
5	NFKB1	EGFR	STAT3	PPARG	PPARG
6	MTOR	STAT3	EGFR	PTGS2	MAPK3
7	JUN	CASP3	CASP3	EGFR	PTGS2
8	HSP90AA1	BCL2	BCL2	MAPK3	EGFR
9	AKT1	MAPK3	MAPK3	HSP90AA1	STAT3
10	EGFR	MMP9	MMP9	STAT3	CASP3
11	SRC	NFKB1	NFKB1	CASP3	HSP90AA1
12	ESR1	PPARG	PPARG	BCL2	BCL2
13	CASP9	JUN	JUN	ESR1	MMP9
14	TNF	HSP90AA1	HSP90AA1	PPARA	JUN
15	MMP9	PTGS2	PTGS2	MMP9	PPARA
16	PTGS2	ESR1	ESR1	JUN	ESR1
17	BCL2L1	TLR4	TLR4	TLR4	NFKB1
18	PPARG	MTOR	MTOR	NFKB1	TLR4
19	MAP2K1	MAPK1	MAPK1	CASP8	SCARB1
20	MMP2	MMP2	MMP2	SCARB1	MTOR

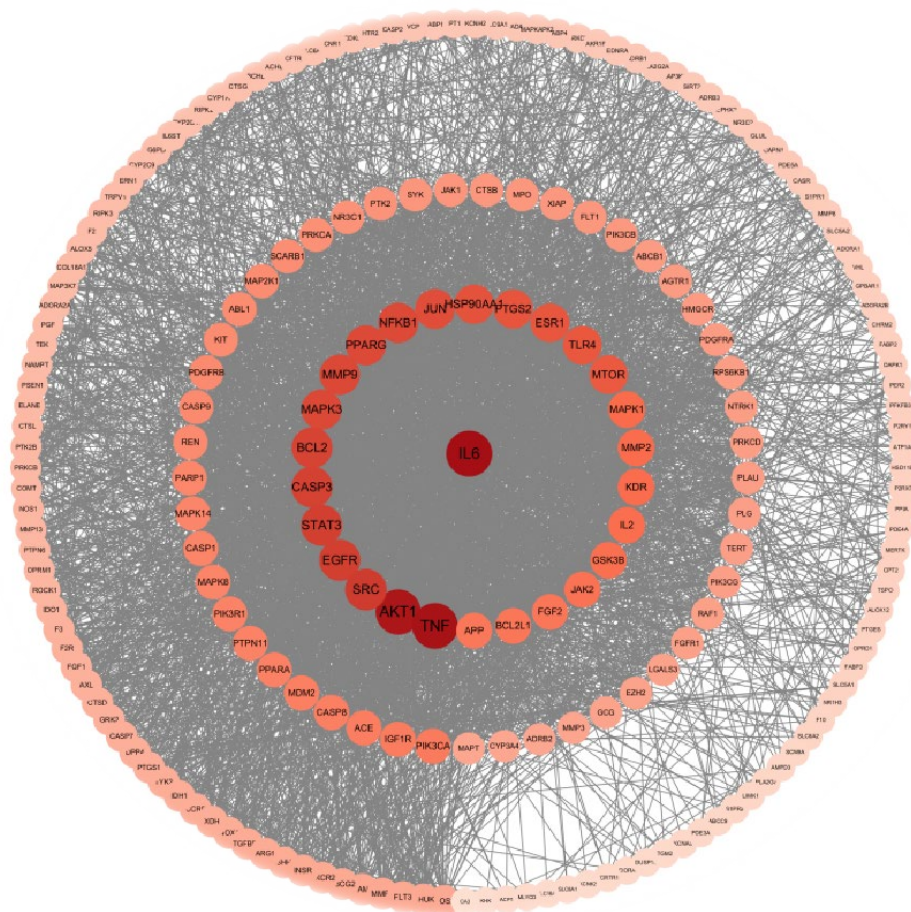


图4. 人参汤与心肌缺血-再灌注PPI蛋白相互作用关系网络图

图（见图5），在PPI网络中将10个关键靶点创建子集以构建PPI核心网络（见图6左），该网络中有10个节点、45条边。按照最大团中心性降序从红到黄渐变。颜色越红，意味着其在最大团中心性中排名越靠前。通过筛选，按照MCC降序排列得到前15个关键靶点的PPI网络图（图6右）得到15个关键靶点，按照MCC降序排列（见表3），依次为信号转导与转录激活因子3（STAT3）、B细胞淋巴瘤/白血病-2蛋白（BCL2）、半胱天冬氨酸蛋白酶3（CASP3）、白细胞介素6（IL6）、核因子 κ B亚基1（NFKB1）、Jun原癌基因、AP-1转录因子亚基（JUN）、热休克蛋白90 α （HSP90AA1）、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1（AKT1）、表皮生长因子受体（EGFR）、肉瘤基因（非受体酪氨酸激酶）（SRC）、雌激素受体 α （ESR1）、肿瘤坏死因子

（TNF）、基质金属蛋白酶9（MMP9）、前列腺素内过氧化物合酶2（COX-2）（PTGS2）、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ （PPARG）。按照最大团中心性降序从红到黄渐变。颜色越红，意味着其在最大团中心性中排名越靠前。排名最前的为排名最前的为STAT3，排名最末为PPARG。

2.5 GO功能富集分析及KEGG通路富集分析

将45个人参汤活性成分与MIRI的交集靶点导入DAVID数据库中，获得GO功能分析及KEGG通路分析结果。GO-BP富集分析显示其可能通过调控以下生物过程，包括：信号转导（signal transduction）、凋亡过程的负向调控（negative regulation of apoptotic process）、凋亡过程（apoptotic process）、细胞群体增殖的正向调控（positive regulation of cell

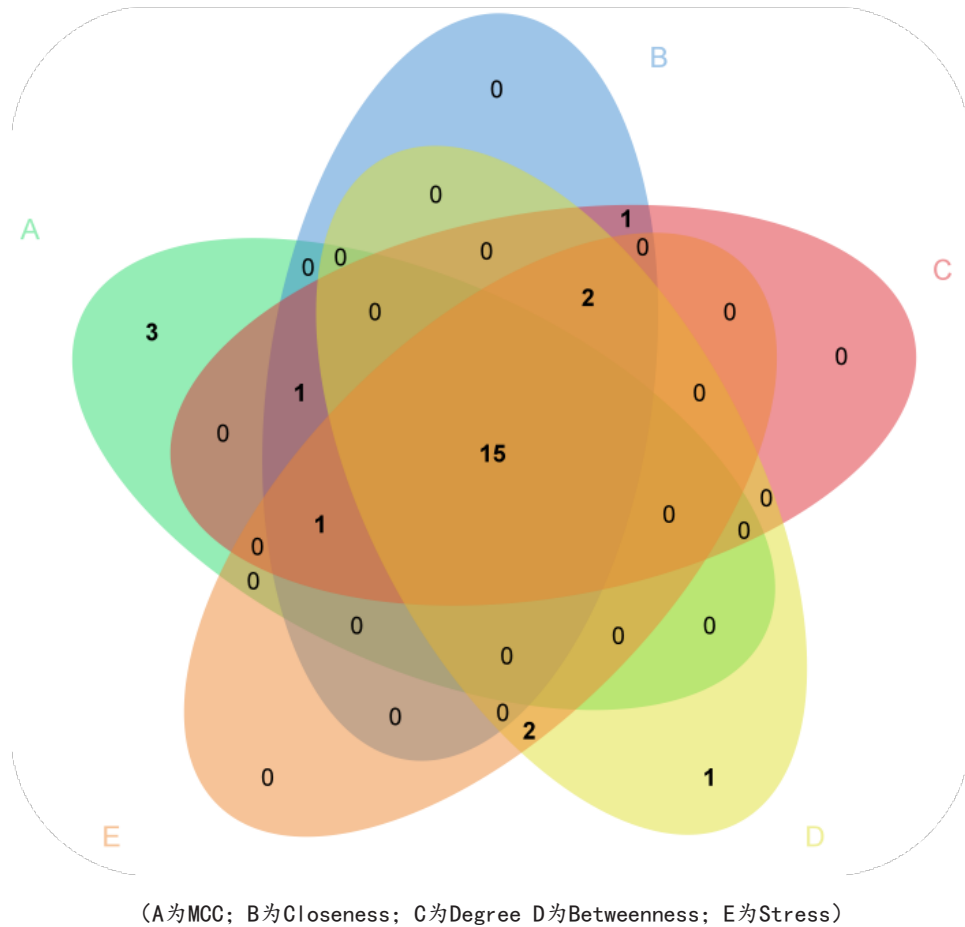


图5. 核心基因韦恩图

表3. Cytohubba交集靶点信息

蛋白编号	靶点	功能注释	中文名称
P40763	STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3	信号转导与转录激活因子3
P10415	BCL2	Apoptosis regulator Bcl-2	B细胞淋巴瘤/白血病-2蛋白
P42574	CASP3	Caspase-3, apoptosis-related cysteine peptidase	半胱天冬氨酸蛋白酶3
P05231	IL6	Interleukin-6	白细胞介素6
P19838	NFKB1	Nuclear factor kappa B subunit 1	核因子 κ B亚基1
P05412	JUN	Jun proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit	Jun原癌基因,AP-1转录因子亚基
P07900	HSP90AA1	Heat shock protein 90 alpha family class A member 1	热休克蛋白90 α
P31749	AKT1	AKT serine/threonine kinase 1	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1
P00533	EGFR	Epidermal growth factor receptor	表皮生长因子受体
P12931	SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	肉瘤基因（非受体酪氨酸激酶）
P03372	ESR1	Estrogen receptor 1	雌激素受体 α
P01375	TNF	Tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子
P14780	MMP9	Matrix metalloproteinase 9	基质金属蛋白酶9
P35354	PTGS2	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	前列腺素内过氧化物合酶2（COX-2）
P37231	PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ

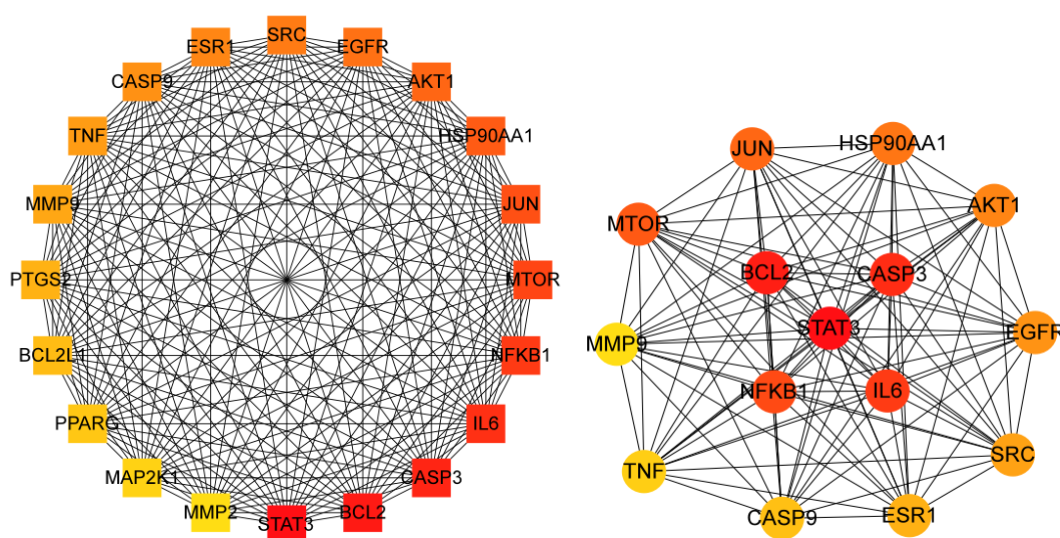


图6. 核心靶点筛选流程及核心靶点网络

population proliferation)、促进或增强由磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K- β)介导的信号通路传递过程的生物学功能(positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinaseB signal transduction)、ERK1/2信号通路正向调控(positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade)、MAPK信号通路正向调控(positive regulation of MAPK cascade)、外源物反应(response to xenobiotic stimulus)、细胞迁移正向调控(positive regulation of cell migration)、低氧应答(response to hypoxia)。GO-CC富集分析显示其主要参与以下细胞组分的构成,包括:细胞膜(membrane)、细胞质(cytoplasm)、质膜(plasma membrane)、胞质溶胶(cytosol)、线粒体(mitochondrion)、细胞表面(cell surface)、细胞核周围区域(perinuclear region of cytoplasm)、蛋白质复合物(protein-containing complex)、受体复合物(receptor complex)、膜筏(membrane raft)。GO-MF富集分析显示其分子功能主要包括:核苷酸结合(nucleotide binding)、相同蛋白质结合(identical protein binding)、转移酶活性(transferase activity)、结合腺苷三磷酸ATP分子能力(ATP binding)、激酶活性(kinase activity)、蛋白激酶活性(protein kinase activity)、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性(protein serine/threonine kinase

activity)、酶结合(enzyme binding)、蛋白质酪氨酸激酶活性(protein tyrosine kinase activity)、内肽酶活性(endopeptidase activity)。详见图7。

KEGG通路富集分析(见图8)显示其可能通过参与:EGFR酪氨酸激酶抑制剂抵抗性(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)、血管内皮生长因子VEGF信号通路(VEGF signaling pathway)、膀胱癌(Bladder cancer)、凋亡-多种物种(Apoptosis-multiple species)、胰腺癌(Pancreatic cancer)、AGE-RAGE信号通路在糖尿病并发症中的作用(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、醛固酮调节的钠重吸收(Aldosterone-regulated sodium reabsorption)、II型糖尿病(Type II diabetes mellitus)、癌症中的中心碳代谢(Central carbon metabolism in cancer)、急性髓系白血病(Acute myeloid leukemia)、催乳素信号通路(Prolactin signaling pathway)、C型凝集素受体信号通路(C-type lectin receptor signaling pathway)、肿瘤中PD-L1表达与PD-1检查点通路(PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer)、ErbB信号通路(ErbB signaling pathway)、内分泌抵抗(Endocrine resistance)、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路(HIF-1 signaling pathway)、前列腺癌(Prostate cancer)、弓形虫病(Toxoplasmosis),

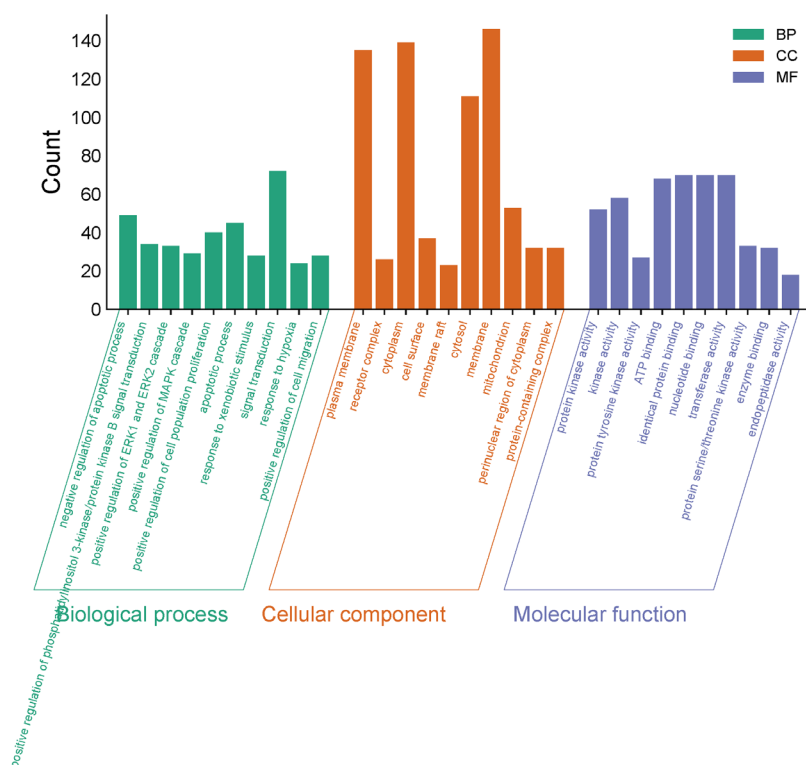


图7. GO功能富集分析

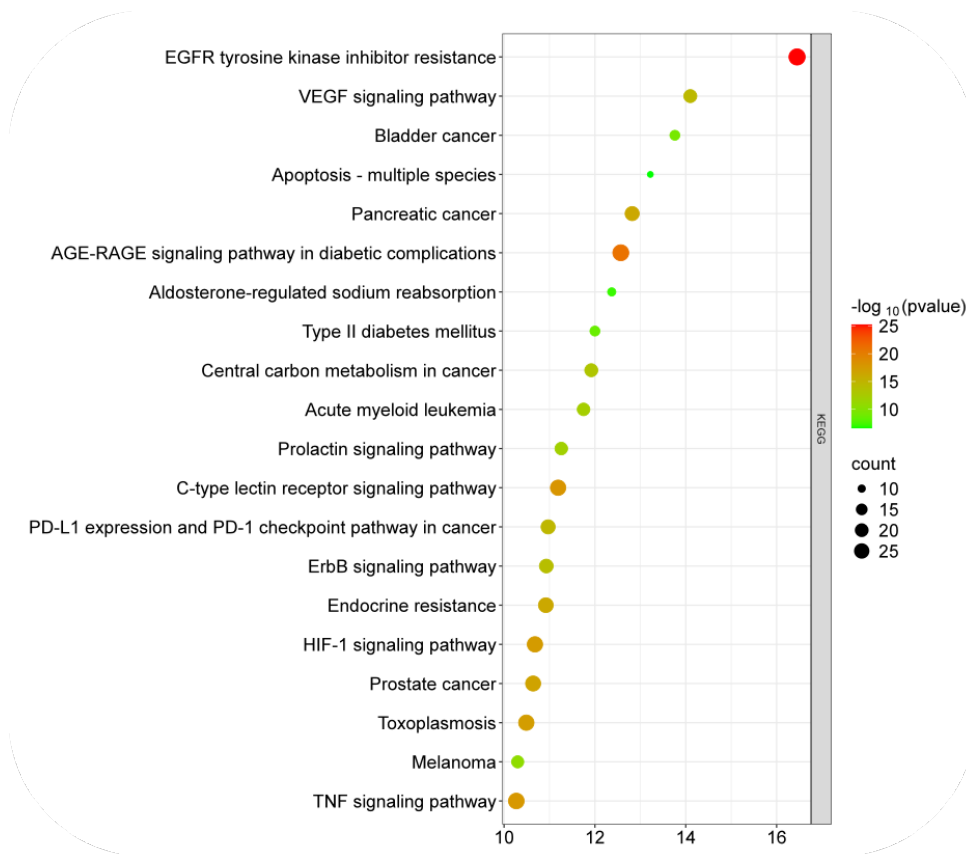


图8. KEGG 通路富集分析

黑色素瘤（Melanoma），肿瘤坏死因子（TNF）信号通路（TNF signaling pathway）为主要调控作用途径。

2.6 靶标-通路网络构建

基于KEGG通路富集分析结果，进一步对靶点-通路之间的关系进行可视化分析，构建靶标-通路网络（见图9）。其中Degree值较高的依次是MAPK3、MAPK1、PIK3CB、PIK3R1、PIK3CA、AKT1、MAP2K1、RAF1、NFKB1、MAPK8、MAPK10、EGFR、MTOR、MAPK14、STAT3、CHUK、RPS6KB1、VEGFA、PRKCA、PRKCB等共90个，主要涉及EGFR酪氨酸激酶抑制剂抵抗性、AGE-RAGE信号通路在糖尿病并发症中的作用、肿瘤坏死因子（TNF）信号通路、弓形虫病、C型凝集素

受体信号通路、前列腺癌、缺氧诱导因子-1（HIF-1）信号通路、内分泌抵抗、肿瘤中PD-L1表达与PD-1检查点通路、胰腺癌、ErbB信号通路、癌症中的中心碳代谢、血管内皮生长因子VEGF信号通路、催乳素信号通路、急性髓系白血病、黑色素瘤等20个信号通路。

2.7 分子对接验证结果分析

一般而言，配体分子与受体蛋白间结合能愈小则表示二者结合亲和力愈强，结构也愈稳定。本研究将PPI核心网络中排名前15位的靶点与靶点-通路之间构建的靶标-通路网络图中排名前15位的靶点取交集，获得共同靶点3个进行分子对接，即通过对STAT3、NFKB1、AKT1与及其相应的化合物进行分子对接。详见表4。

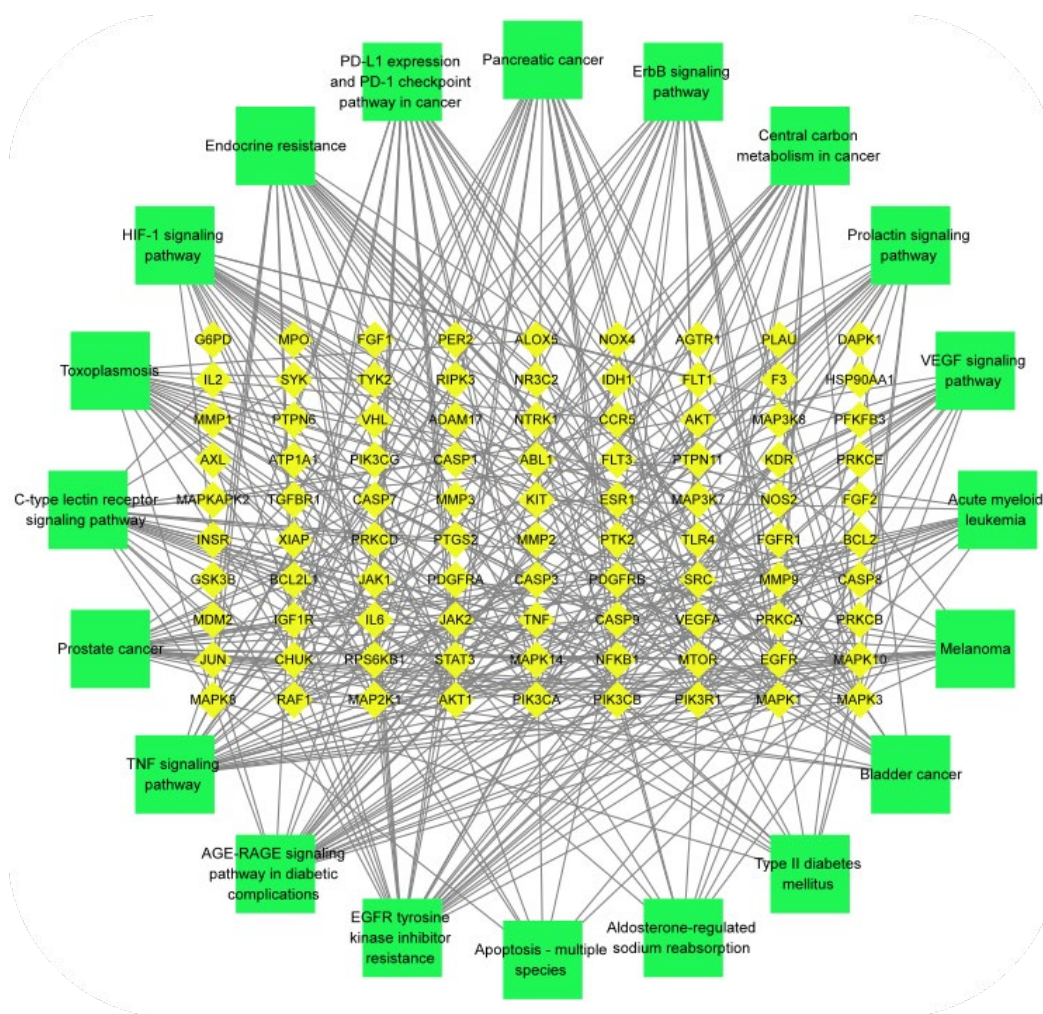


图9. 靶标-通路网络

表4. 部分关键靶点分子对接结果

靶点	蛋白编号	晶体结构编号	化合物标识号	分子名称	结合能 (kcal/mol)
STAT3	P40763	6NJS	21599928	Ginsenoside-Rh4_qt	-6.7
			442847	Celabenzine	-7.1
			275134171	malkangunin	-6.2
			5281698	Sexangularetin	-7.1
			76336194	Alisol a 24-acetate	-7.4
NFKB1	P19838	8TQD	21599928	Ginsenoside-Rh4_qt	-6.1
			442847	Celabenzine	-6.7
AKT1	P31749	1UNQ	21599928	Ginsenoside-Rh4_qt	-7.2
			442847	Celabenzine	-6.1

2.7.1 活性成分与STAT3相互作用分析

Ginsenoside-Rh4_qt、Celabenzine、malkangunin、Sexangularetin、Alisol a 24-acetate与STAT3对接结果表明，5种活性成分和STAT3均存在较强的结合作用，结合能力为Alisol a 24-acetate>Celabenzine=Sexangularetin>Ginsenoside-Rh4_qt>malkangunin。潜在的结合位点主要有THR-526、TRP-501、ASP-566、TRP-510、GLN-247、ASN-257、ASP-369、LEU-438、ARG-379、ASN-491。其中malkangunin、Alisol a 24-acetate、Ginsenoside-Rh4_qt与STAT3受体形成氢键相对较多，说明该化合物与蛋白结合口袋结合相对较强。详见图10。

2.7.2 活性成分与NFKB1相互作用分析

Ginsenoside-Rh4_qt、Celabenzine与NFKB1对接结果表明，2种活性成分和NFKB1均存在较强的结合作用，结合能力为Celabenzine>Ginsenoside-Rh4_qt。潜在的结合位点主要有GLN-83、LYS-79、GLU-232和LEU-44。其中，Ginsenoside-Rh4_qt可与氨基酸形成3个氢键，化合物与蛋白口袋结合能力相对较佳。详见图11。

2.7.3 活性成分与AKT1相互作用分析

Ginsenoside-Rh4_qt、Celabenzine与AKT1对接结果表明，2种人参汤有效成分和AKT1均存在较好的结合作用。潜在的结合位点主要有ARG-15、LYS-2、SER-2、ASP-3和GLN-113。Ginsenoside-Rh4_qt和Celabenzine分别与AKT1受体的活性残基形成3个氢

键和2个氢键。详见图12。

3 讨论

人参汤是一种十分重要的中药方剂，为胸痹虚证而设，相当于现代临床冠心病的并发症阶段，包括急性心肌梗死合并低血压、心源性休克、心力衰竭、缓慢性心律失常[22]。本方可用于冠心病、心力衰竭、心源性休克等急危重症的治疗[23,24]。在药理作用上，人参汤具有保护血管内皮细胞损伤，调节一氧化氮/内皮素(NO/ET)平衡，抗氧化，抑制脂质过氧化反应等作用[25,26]。方中人参是滋补强壮药，具有抗休克，显著增加心脏搏动、心率，兴奋垂体-肾上腺皮质系统，提高应激反应能力[27,28]。在心血管系统方面，人参汤可能有正性肌力、正性频率、正性传导作用[29]。目前，报道人参汤对MIRI有治疗作用涉及网药和分子机制甚少。

本研究综合多数据库资料，汇集了人参汤的有效成分、靶点及MIRI相关靶点。交集分析揭示了210个人参汤与MIRI共有靶点。在GO分析中，共同靶点主要涉及炎症因子、抗凋亡蛋白、增殖相关蛋白及血管生成蛋白的生物合成，由PI3K-AKT、MAPK/ERK、JAK-STAT、NF-kB及HIF-1信号通路介导，调控细胞存活、炎症反应、缺氧适应及组织修复相关基因表达，参与凋亡负调控、细胞增殖迁移、信息转导及应激应答等关键生物学过程。在CC和MF方面，这些靶点在膜结构、胞质及细胞器等方面以及激酶活性与核苷酸结合能力方面表现出核心基因的富集。这些分析揭示，人参汤可能通过参与上述生物学过程和信号通路

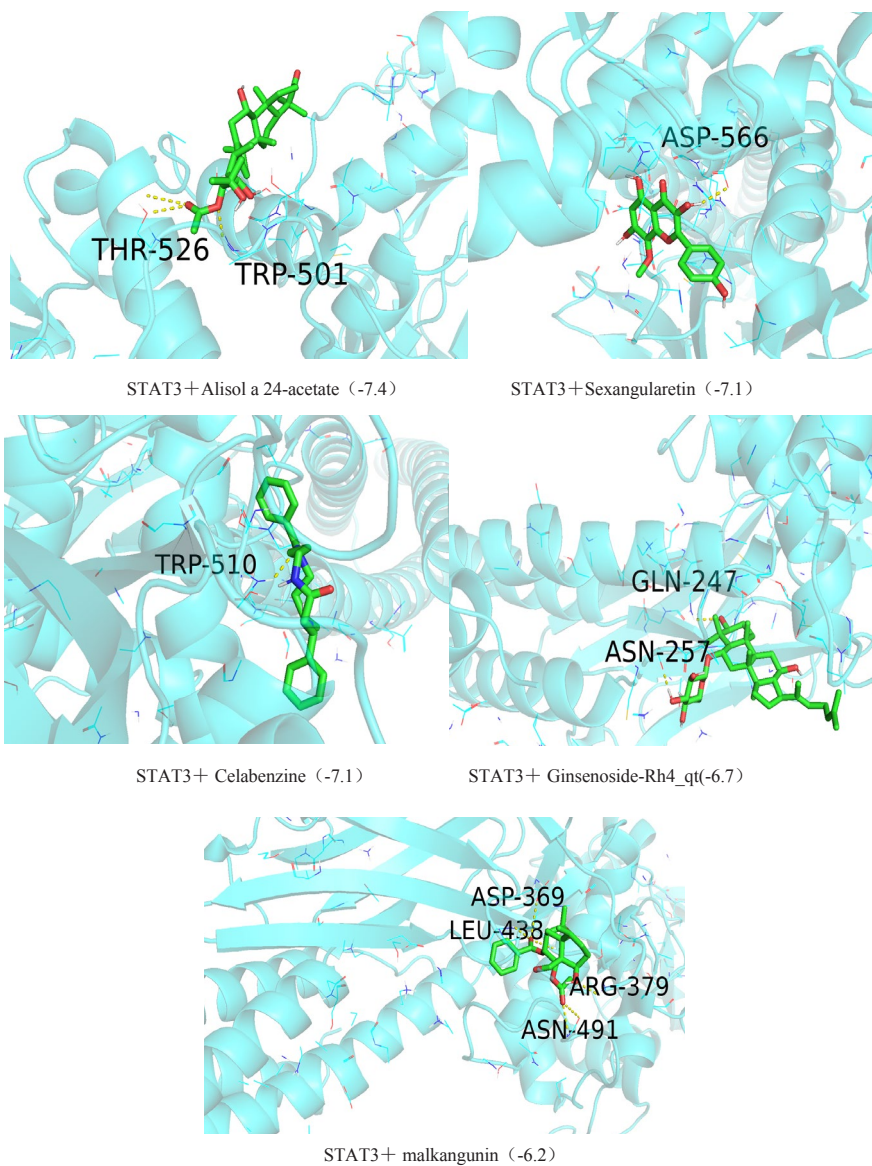


图10. 活性成分与STAT3受体分子对接模式图

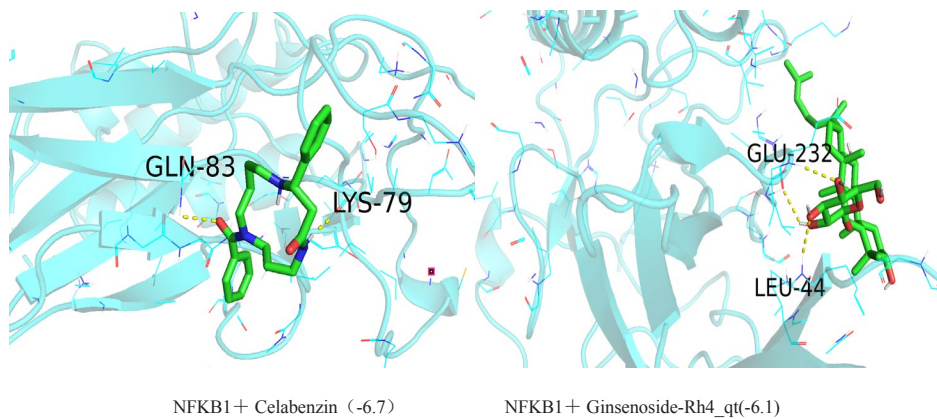


图11. 活性成分与NFKB1受体分子对接模式图

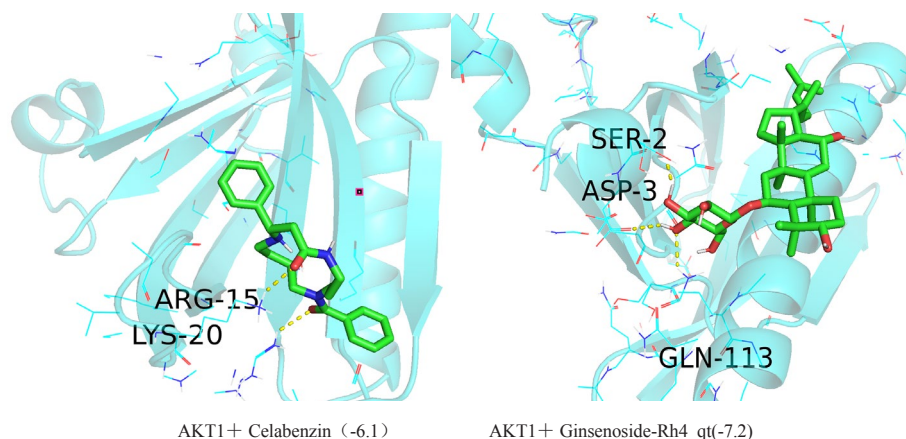


图12. 活性成分与AKT1受体分子对接模式图

改善MIRI。KEGG分析识别了20个高度富集的信号通路，表明核心靶点基因的作用不局限于单一信号通路。例如，STAT3被发现参与免疫炎症应答、组织损伤修复、VEGF血管内皮生长因子信号通路、HIF-1缺氧诱导因子-1信号通路、AGE-RAGE信号通路等11种关键通路，这突显了人参汤靶点不仅通过单一途径作用于MIRI，而是通过多个信号通路的相互作用形成复杂的信号网络，从而实现信号的级联放大效应。

基于功能相关性将KEGG富集通路结果分为以下五大类：1) 氧化应激和炎症的信号通路，包括AGE-RAGE和TNF等信号通路。AGE-RAGE的激活诱发氧化应激和炎症，且与MIRI的发病机制密切相关[30]。TNF信号通路通过调节炎症反应、细胞凋亡和氧化应激在MIRI中发挥核心作用[31]。另有研究发现，人参汤活性成分中G-Rh4可改善MIRI，其机制可能与抑制促炎细胞因子TNF- α 产生有关，该作用经由NF- κ B和STAT3信号通路实现，以此发挥抗炎作用[32]。此研究发现和本网络药理学和分子对接研究发现一致。2) 细胞生存和凋亡相关信号通路，如HIF-1信号通路等。如在针对改善MIRI上：稳定HIF-1 α 可减少心肌凋亡、增加VEGF表达[33]。抑制TNF通路可减少心肌细胞凋亡、改善心功能[34]。3) 血管和血小板相关信号通路，主要包括VEGF和HIF-1信号通路。VEGF通过促进内皮细胞的增殖和迁移，促进新血管生成[35]。缺氧诱导因子1（HIF-1）被报道为细胞生理适应的

关键组成部分，控制血管形成、调节氧化应激，并影响增殖和凋亡[36,37]。4) 代谢和能量调节相关信号通路，如Type II diabetes mellitus胰岛素抵抗核心通路：胰岛素抵抗可通过增加氧化应激和促进炎症反应，并影响心肌细胞的保护途径而导致MIRI的发病和严重程度增加[38]。5) 其他病理过程，如C型凝集素受体（C-type lectin receptor）信号通路：通过识别损伤相关分子模式（DAMPs）激活下游炎症信号，参与MIRI早期炎症级联反应[39]。因此，本研究发现人参汤抗MIRI作用涉及多条信号通路，包括氧化应激、炎症、细胞生存与凋亡、缺氧适应、血管生成等，显示了其作用的复杂性与多维性。

为实现人参汤活性成分与这些靶点具有较高的结合活性，并且在相关信号通路上仍保持较高的富集，本研究经多次筛选而获取靶标。将获得210个药物和疾病的共有靶点，利用Cytoscape插件设置参数，运用PPI网络进行分析得到的15个关键靶点与靶点-通路之间构建的靶点-通路网络图中排名前15位的靶点取交集，最终得到3个关键核心靶点，以期作为人参汤抗MIRI的潜在的靶标。这3个潜在的靶点分别是STAT3、NFKB1、AKT1。在心肌组织中，

STAT3是一种信号分子和转录因子，在心脏中起着至关重要的保护作用，通过受体和非受体酪氨酸激酶磷酸化其酪氨酸残基705（Y705）来激活[40]。STAT3的许多效应涉及直接结合DNA和目

基基因的转录激活,与p53相互作用,增强其生长阻滞和细胞凋亡诱导特性,既能通过直接DNA结合也可以通过共激活机制调节凋亡程序,保护缺血/再灌注(I/R)损伤后的心肌细胞[41]。NFKB1作为转录因子调控多个枢纽基因。这些调控因子可能作为MIRI炎症和免疫反应的关键上游调节因子,反映了心脏损伤中转录和转录后调控的复杂性[42]。有相关研究表明ANXA4在MI/R后于小鼠心肌中被上调,作为代偿反应,其过度表达通过阻止NF- κ B p50结合并启动RAGE转录,缓解MI/R和OGD/R诱导的心肌细胞损伤[43]。AKT1发挥调控心肌细胞活性和功能的重要作用。通过对下游因子的调控,AKT1不仅参与细胞增殖、凋亡和自噬等关键过程,而且在减轻MIRI中具有重要作用[44,45]。另一方面,AKT1通过调控下游的VEGF等因子,有益于血管生成,亦引起肌浆网Ca²⁺通道开放明显增加,这使MIRI中Ca²⁺超载的状态显著减轻[46,47]。本研究分析表明,人参汤可能通过调控STAT3、NFKB1、AKT1改善MIRI。在3个关键核心靶标的基础上,对人参汤抗MIRI的有效成分进一步进行分子对接验证。分子对接结果发现5个关键活性成分与STAT3、NFKB1、AKT1对接结合能都<-6.1kJ/mol,活性成分均存在一定数量的氢键受体和供体,这说明5个关键有效成分与以上相应关键靶点蛋白具有较好的结合活性,推测人参汤有效成分可能通过这些靶点发挥作用。作为一门新兴学科,网络药理学结合分子对接的研究,可能在中药研究中实现优势互补。然而本研究也存在一定的不足,主要体现在两个方面:首先,本研究的相关靶点来自TCMSP、GeneCards等数据库。由于每个数据库的侧重点稍有不同,数据库之间也存在一定的差异。因此,多个数据库之间的联合分析不排除可能存在一定的潜在风险。其次,本研究使用了分子对接技术进行验证,这对网络药理分析结果的可靠性提供了一定程度的依据,但更进一步精确的验证,仍需要基础实验来完成,这将是下一步研究的重点。

4 小结

本研究基于网络药理学与分子对接技术,揭

示了人参汤在抗MIRI过程中对炎症因子、抗凋亡及增殖相关蛋白的生物合成, JAK-STAT、NF- κ B、PI3K-AKT信号通路介导调控炎症、细胞存活、氧化应激反应及心肌保护相关基因表达,炎症反应、细胞凋亡、增殖、组织修复及心肌缺血再灌注损伤等生物学过程的调控作用。研究发现,人参汤可能通过影响氧化应激和炎症、细胞生存和凋亡、血管生成及缺氧适应等信号通路参与MIRI调控,显示出复杂的信号网络作用机制。这些信号通路与靶点基因的相互作用可能共同促进MIRI的防治效果。STAT3、NFKB1、AKT1这3个关键靶点可能构成人参汤抗MIRI作用的核心。Ginsenoside-Rh4_{qt}、Celabenzine、malkangunin、Sexangularetin、Alisol a 24-acetate等成分可能是人参汤抗MIRI主要活性物质,为进一步研究提供了新方向。

参考文献

- [1] Chen JY, Ruan HJ, Chen SY, et al. MiR-144-5p/CCL12 signaling axis modulates ischemic preconditioning-mediated cardio-protection by reducing cell viability, enhancing cell apoptosis, fibrosis, and pyroptosis[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2023, 195(3): 1999-2014.
- [2] Valgimigli M, Choi KH, Giacompo D, et al. Clopidogrel versus aspirin for secondary prevention of coronary artery disease: a systematic review and individual patient data meta-analysis[J]. Lancet, 2025, 406(10508): 1091-1102.
- [3] 赵明慧,薛凌.毛蕊异黄酮靶向高迁移率族蛋白1对心肌缺血再灌注损伤大鼠保护作用实验研究[J].陕西医学杂志,2024,53(7):873-878,883.
- [4] Alahmad B, Khraishah H, Royé D, et al. Associations between extreme temperatures and cardiovascular cause-specific mortality: results from 27 countries[J]. Circulation, 2023; 147(1): 35-46.
- [5] 武文洁,苏丽清,裘越,等.《古今名医临证金鉴·胸痹心痛卷》治疗胸痹心痛用药规律研究[J].亚太传统医药,2021,17(12):167-71.
- [6] 梁芬,吕东岭.中药抗心肌缺血再灌注损伤作用及其机制研究进展[J].中国民族民间医药,2022,31(20):65-70.
- [7] 张仲景.金匱要略[M].北京:人民卫生出版社,2005:31.

- [8] 褚策,袁雨露,杨楨,等.基于TRPV1调控内皮细胞炎症反应探讨人参汤治疗AS小鼠的作用机制[J/OL].中国实验方剂学杂志,1-13[2026-02-16].
- [9] RU J L, LIP, WANG J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6: 13.
- [10] 于海睿,万来平,邓绮梅,等.炙甘草汤“异病同治”冠心病心律失常和肺纤维化的网络药理学机制研究[J].广州中医药大学学报,2024,41(06):1588-1597.
- [11] KIM S, CHEN J, CHENG T J, et al. PubChem 2023 update[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D1373-D1380.
- [12] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. Swiss Target Prediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47 (W1): W357-W364.
- [13] CONSORTIUM U. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D523-D531.
- [14] SAFRAN M, ROSEN N, TWIK M, et al. The genecards suite[J]. J Control Release, 2022.
- [15] HAMOSH A, AMBERGER J S, BOCCHINI C, et al. Online mendelian inheritance in man (OMIM®): victor McKusick' s magnum opus[J]. American Journal of Medical Genetics Part A, 2021, 185(11): 3259-3265.
- [16] OTASEK D, MORRIS J H, BOUÇAS J, et al. Cytoscape Automation: empowering workflow-based network analysis[J]. Genome Biology, 2019, 20(1): 185.
- [17] SZKLARCZYK D, KIRSCH R, KOUTROULI M, et al. The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D638-D646.
- [18] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome[J]. BMC Systems Biology, 2014, 8(Suppl 4): S11.
- [19] HUANG D W, SHERMAN B T, LEMPICKI R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nature Protocols, 2009, 4(1): 44-57.
- [20] SEHNAL D, BITTRICH S, DESHPANDE M, et al. Mol* Viewer: modern web app for 3D visualization and analysis of large biomolecular structures[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(W1): W431-W437.
- [21] TROTT O, OLSON A J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. Journal of Computational Chemistry, 2010, 31(2): 455-461.
- [22] 熊兴江.基于重症病例及现代病理生理机制的胸痹虚证与人参汤方证内涵及其治疗冠心病、风心病、心力衰竭、低血压、肺动脉高压等急危重症体会[J].中国中药杂志,2025,50(06):1706-1714.
- [23] 熊兴江.《伤寒论》与急危重症:基于CCU重症病例及中西医结合诠释经典条文内涵、经方剂量与六经实质[J].中国中药杂志,2018,43(12):2413.
- [24] 熊兴江.经方治疗急危重症内涵、关键科学问题及体系构建[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(20):169.
- [25] ZHANG H, HU C, XUE J, et al. Ginseng in vascular dysfunction: a review of therapeutic potentials and molecular mechanisms[J]. Phytother Res, 2022, 36(2): 857.
- [26] ZHU G X, ZUO J L, XU L, et al. Ginsenosides in vascular remodeling: cellular and molecular mechanisms of their therapeutic action[J]. Pharmacol Res, 2021, 169: 105647.
- [27] FAN W, FAN L, WANG Z, et al. Rare ginsenosides: a unique perspective of ginseng research [J]. J Adv Res, 2024, doi: 10.1016/j.jare.2024.01.003.
- [28] CAI J, HUANG K, HAN S, et al. A comprehensive system review of pharmacological effects and relative mechanisms of ginsenoside Re: recent advances and future perspectives [J]. Phytomedicine, 2022, 102: 154119.
- [29] SARHENE M, NI J Y, DUNCAN E S, et al. Ginsenosides for cardiovascular diseases, update on pre-clinical and clinical evidence, pharmacological effects and the mechanisms of action [J]. Pharmacol Res, 2021, 166: 105481.
- [30] SUCHAL K, MALIK S, KHAN S I, et al. Protective effect of mangiferin on myocardial ischemia-reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats: role of AGE-RAGE/ MAPK pathways[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 42027.
- [31] GALEONE A, GRANO M, BRUNETTI G. Tumor necrosis

- factor family members and myocardial ischemia-reperfusion injury: state of the art and therapeutic implications[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(5): 4606.
- [32] To KI, Zhu ZX, Wang YN, Li GA, Sun YM, Li Y, Jin YH. Integrative network pharmacology and experimental verification to reveal the anti-inflammatory mechanism of ginsenoside Rh4. *Front Pharmacol*. 2022 Aug 31; 13: 953871.
- [33] Adluri S R, Thirunavukkarasu M, Dunna R N, et al. Abstract 18496: Disruption of Prolyl Hydroxylase-1 Attenuates Ischemia/Reperfusion Injury by Stabilizing HIF-1 Alpha Transcription Factor Followed by Activation of Beta-Catenin/VEGF/Ang-1 and NF-kappaB Signaling in Mice[J]. *Circulation*, 2010, 122(S21).
- [34] Xu X, Li S, Wang T, Zhen P, Wei Q, Yu F, Tong J. Mitigation of myocardial ischemia/reperfusion-induced chronic heart failure via Shexiang Baixin Pill-mediated regulation of the S1PR1 signaling pathway. *Phytomedicine*. 2024 Jun; 128: 155390.
- [35] ZHOU Y H, HAN Q F, GAO L, et al. HMGB1 protects the heart against ischemia-reperfusion injury via PI3K/Akt pathway-mediated upregulation of VEGF expression[J]. *Frontiers in Physiology*, 2020, 10: 1595.
- [36] Kim SY, Yang EG. Recent advances in developing inhibitors for hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylases and their therapeutic implications. *Molecules*. (2015)20: 20551–68.
- [37] Adamovich Y, Ladeuix B, Golik M, Koeners MP, Asher G. Rhythmic oxygen levels reset circadian clocks through HIF1. *Cell Metab*. (2017)25: 93–101.
- [38] SHINLAPAWITTAYATORN K, CHATTIPAKORN S C, CHATTIPAKORN N. The influence of obese insulin-resistance on the outcome of the ischemia/reperfusion insult to the heart[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2018, 25(13): 1501-1509.
- [39] Denise V, Ming W, Peter P, et al. Clec4e-Receptor Signaling in Myocardial Repair After Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *JACC: Basic to Translational Science*, 2021, 6(8): 631-646.
- [40] Harhous Z, Booz GW, Ovize M, Bidaux G, Kurdi M. An Update on the Multifaceted Roles of STAT3 in the Heart. *Front Cardiovasc Med*. 2019 Oct 25; 6: 150. doi: 10.3389/fcvm.2019.00150. PMID: 31709266; PMCID: PMC6823716.
- [41] Stephanou A. STAT-1和STAT-3在缺血/再灌注损伤中的作用. 《细胞分子医学杂志》2004年10月至12月;8(4):519-25.
- [42] Zuo Y, Yang S-Y, Qian X-K and Liu K (2025). Analysis of hub genes temporal dynamics in cardiac ischemia/reperfusion injury: a bioinformatics and experimental study. *Front. Physiol*. 16:1668586.
- [43] Zhao Z, Zhao Y, Zang X, Ren Y, Song W, Wang L, Chen K, Liang E, Zhou Y, Wang X, Niu K. ANXA4 Alleviates Cardiomyocyte Injury Associated With Ischemia-Reperfusion by Interfering With NF- κ B p50's Transcriptional Activation of RAGE. *FASEB J*. 2025 Sep 30; 39(18): e71033.
- [44] 徐启丽,邹常超,莫丽莉,等.网络药理学分析及实验验证银丹心脑通保护MIRI的作用机制[J].安徽医科大学学报,2022,57(1):131-138.
- [45] KUNUTHUR S P, MOCANU M M, HEMMINGS B A, et al. The AKT1 isoform is an essential mediator of ischaemic preconditioning [J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2012, 16(8): 1739-1749.
- [46] YANG J T, TANG L H, ZHANG F J, et al. Sevoflurane preconditioning promotes mesenchymal stem cells to relieve myocardial ischemia/reperfusion injury via TRPC6-induced angiogenesis[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 584.
- [47] BHARTI S, GOLECHHA M, KUMARI S, et al. AKT/GSK-3 β /eNOS phosphorylation arbitrates safranal-induced myocardial protection against ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *European Journal of Nutrition*, 2012, 51(6): 719-727.

