doi:10.11659/jjssx.09E024031

·基础研究·

银杏叶提取物对小鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用及机制研究

汪雅玲[1],刘海林[2],文 君[2],陈 辉[2],王 鹏[3],纪金金[2] (1.重庆市医药科技学校成人教育学院,重庆 400061;2.重庆两江新区人民医院药学部,重庆 401121;3.重庆两江新区康美社区卫生服务中心,重庆 401123)

[摘 要] **目的** 运用网络药理学及动物实验探索银杏叶提取物(GB)治疗脑缺血再灌注(CIR)损伤的机制。**方法** 运用TCMSP、GeneCards等数据库获取GB与CIR的交集靶点,利用Cytoscape软件、Metascape数据库进行相关靶点的分析及绘图。线栓法构建小鼠短暂性大脑中动脉栓塞(t-MCAO)模型,通过神经功能缺损评分、Morris水迷宫实验观察GB对t-MCAO后小鼠神经功能的影响。HE染色观察小鼠海马区域神经元病理结构变化,Western blot对网络药理学筛选的信号通路进行验证。**结果** 网络药理学预测GB包含33个活性成分,其治疗CIR的潜在作用靶点包含Caspase3、Bax等116个靶点。此外,GB可能通过PI3K-Akt、AMPK等信号通路发挥其保护作用。动物实验表明,GB治疗能显著改善小鼠神经功能及学习空间记忆能力,减轻脑组织病理学损伤,并激活p-Akt/Akt信号通路。**结论** GB凭借其多靶点及多通路的特性治疗CIR,其可能通过激活p-Akt/Akt信号通路减少神经元凋亡。

[关键词] 脑缺血-再灌注损伤;银杏叶提取物;神经功能缺损;Akt;网络药理学

[中图分类号] R961.1 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-09-06

Protective effect and mechanism of Ginkgo biloba extracts against cerebral ischemia-reperfusion injury

WANG Ya-ling[1], LIU Hai-lin[2], WEN Jun[2], CHEN Hui[2], WANG Peng[3], JI Jin-jin[2] (1. College of Adult Education, Chongqing Medical Science and Technology University, Chongqing 400061, China; 2. Department of Pharmacy, People's Hospital of Chongqing Liangjiang New Area, Chongqing 401121, China; 3. Kangmei Community Health Service Center of Chongqing Liangjiang New Area, Chongqing 401123, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Ginkgo biloba extracts (GB) in the treatment of cerebral ischemia-reperfusion (CIR) injury based on network pharmacology and animal experiments. **Methods** The intersection targets of CIR and GB were obtained from TCMSP, GeneCards and other databases. Cytoscape software and Metascape database were used to analyze and map the related targets. The model of transient middle cerebral arterial occlusion (t-MCAO) was constructed in mice by suture method, and the effects of GB on the neurological function of mice after t-MCAO were observed by the neurological deficit score and Morris water maze test. HE staining was used to observe the pathological structural changes of neuron in the hippocampus of mice, and Western blot was used to verify the signal pathways screened by network pharmacology. **Results** Network pharmacology predicted that GB contained 33 active ingredients, and 116 potential targets of GB in treatment of CIR included Caspase3, Bax, etc. In addition, GB may play a protective role through signaling pathways such as PI3K-Akt and AMPK. Animal experiments showed that GB treatment could significantly improve the neural function and learning spatial memory ability of mice, alleviate the brain histopathological injury, and activate p-Akt/Akt signaling pathway. **Conclusion** GB has the characteristics of multi-target and multi-pathways therapy for CIR, which may reduce neuronal apoptosis by activating the p-Akt/Akt signaling pathway.

Keywords: cerebral ischemia-reperfusion injury; Ginkgo biloba extracts; neurological deficit; Akt; network pharmacology

近年来,随着社会人口老年化加剧,我国脑卒中的发病率逐年攀升,已成为最主要的致死、致残性疾病,给患者家庭及社会带来沉重的负担[1]。目前,通过手术及药物溶栓的方法尽快恢复缺血区域灌注是最有效的治疗方法,但该方法治疗时间窗较窄,患者获益有限。这可能与血液复流后缺血部位发生脑缺血再灌注(cerebral ischemia-reperfusion, CIR)损伤密切相关[2]。目前仍然未找到一种公认的可有效逆转缺血性脑卒中结局的神经保护类药物。因此,继续寻找安全有效的治疗缺血性脑卒中的药物具有重要研究价值及临床意义。

银杏树在生物演化学史中具有“活化石”之称,其叶、果实和种子均具有很高的药用价值。银杏叶提取物(Ginkgo biloba extracts, GB)的主要化学成分为黄酮类、萜类内酯化合物,其具有扩张血管、增加血流量、清除氧自由基、抗炎等药理作用[3],也被临床广泛用于心脑血管疾病的治疗;目前有研究证实了GB中的成分EGb 761在CIR小鼠模型中能减少神经元凋亡,进

[基金项目] 重庆市科技局自然科学基金(CSTB2024NSCQ-MSX0085)

[通信作者] 纪金金,E-mail:502728178@qq.com

而减轻脑损伤[4]。但关于多成分多靶点的GB治疗CIR的具体机制仍未见报道。本研究采用网络药理学的方法筛选出GB治疗CIR的潜在靶点和通路,并结合动物实验对主要分子机制进行验证,以期为临床使用GB治疗CIR提供更多的实验依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析

药物活性成分筛选及靶点预测:本文以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%、药物相似性(drug-likeness, DL)≥0.18、血脑屏障(blood brain barrier, BBB)≥-0.3为筛选条件,使用中药系统药理学分析平台TCMSP(http://tcmspw.com/tcmsp.php)、TCMID(http://www.megabionetorg/tcmid/search/)、Batman-TCM(http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/)收集GB的活性成分;在TCMSP中筛选GB的潜在靶点,使用Uniprot数据库将获得的潜在靶点转化为标准基因名称。

疾病靶基因筛选:以"Cerebral ischemia-reperfusion""Cerebral ischemic stroke"为关键词,通过OMIM、GeneCards、TTD、PharmGKB数据库筛选CIR的靶基因,通过Uniprot数据库将其转化为标准基因名称。

构建GB治疗CIR的成分-靶点图:将筛选出的活性化合物及相应靶点导入Cytoscape软件中,构建"成分-靶点"网络图,分别以不同颜色和不同形状的节点来代表所对应成分和靶点。

GO富集分析:使用Metascape数据库对GB与CIR的交集靶点进行分析,主要从生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组分(cellular component, CC)进行富集分析,并按P值从大到小进行展示。

构建靶点-通路网络图:使用Metascape数据库对GB与CIR的交集靶点进行KEGG通路分析,通过Cytoscape软件构建出"靶点-通路"网络,分别以不同颜色和不同形状的节点来代表对应的靶点和通路。并运用软件中Network Analyzer工具对潜在靶点和相关通路的度值进行分析筛选。

1.2 动物实验验证

1.2.1 实验动物 48只SPF级健康雄性小鼠购自重庆医科大学实验动物中心,动物使用许可证号:SYXK渝20180003。所有动物实验人员均已通过动物实验及饲养规范化培训,手术均在全身麻醉下进行,尽量减少实验动物的痛苦。

1.2.2 主要试剂及仪器 银杏叶提取物片(规格40 mg,每片含总黄酮醇苷9.6 mg、萜类内酯2.4 mg,德国Dr. Willimar Schwabe GmbH & Co. KG,批号:1093376),BCA蛋白浓度测定试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限公司,批号:A045-1),RIPA裂解液;anti-p-Akt(美国CST,批号:#4060)、anti-Akt(美国CST,批号:#4691)、anti-Bcl-2(美国CST,批号:#3498)、anti-Bax(美国CST,批号:#5023)、anti-Caspase3(美国CST,批号:#9664)、anti-β-actin抗体(武汉三鹰,批号:#20536-1-AP)、荧光二抗(DyLight 594,山羊抗兔IgG,美国Abbkine,批号:PTX17824-300)。MCAO线栓(广州佳灵生物技术有限公司),Morris水迷宫(深圳瑞沃德科技公司),DYY-12型电泳仪(北京六一仪器厂),凝胶成像图像分析系统(美国Bio-Rad公司),电子天平(德国Sartorious公司),RE-52A型旋转蒸发仪(亚东生化仪器厂)。

1.2.3 小鼠CIR模型建立及分组 小鼠随机分为假手术(Sham)组、溶剂对照(Vehicle)组、GB高剂量组(GB-H组)、GB低剂量组(GB-L组)。采用短暂性大脑中动脉栓塞(transient middle cerebral artery occlusion, t-MCAO)构建小鼠CIR模型。麻醉后对小鼠颈部皮肤消毒,在颈中线位置作一长约2 cm的纵向切口,显微镜下仔细分离右颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA)和颈外动脉(external carotid artery, ECA)。结扎CCA和ECA,夹闭ICA,随后通过CCA的"V"型小口将线栓通过其残端插入ICA,有阻力感时停止插入,并用活结固定线栓。缺血1 h后,拔出线栓,缝合伤口;Sham组小鼠除不插入线栓外,其余操作均相同。GB-H组、GB-L组小鼠分别以200 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$、100 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ GB水溶液进行灌胃,每天1次,建模后开始给药;Vehicle组小鼠单纯给予相应体积的蒸馏水进行灌胃,连续14 d;Sham组小鼠不给予任何药物或溶剂处理。

1.2.4 神经功能评分 在术前及t-MCAO术后1、3、7、14 d,采用改良神经严重度评分(modified neurological severity score, mNSS)[5]评估小鼠运动、感觉、平衡等方面,试验重复3次,取3次测量的平均值作为最终结果。操作者和记录者为不同研究人员,且均不知实验分组及给药信息。

1.2.5 水迷宫测试 在t-MCAO后15 d,将小鼠放至平台适应60 s,然后分别从水池的4个象限将小鼠头面向池壁放入水池,记录小鼠从入水到爬上平台所需时间,找到平台后让小鼠在平台上停留5 s,寻找平台时间不超过90 s;若超过上限仍未找到平台,则帮助小鼠找到平台位置,适应5 s,此次寻找平台时间记为90 s。记录小鼠实验后1~5 d寻找平台的轨迹和时间。水迷宫实验后第6天,撤去平台,将小鼠从原平台位置

的对侧象限放入池中，记录小鼠90 s内穿越平台次数及运动轨迹图。

1.2.6 HE染色 小鼠CIR损伤72 h后，深度麻醉下断头取脑，将新鲜采集的脑组织于4%多聚甲醛中固定24~48 h，进行石蜡包埋切片，脱蜡后行HE染色。把染色的切片置于普通光学显微镜下，观察损伤部位皮层神经元的形态、细胞有无水肿以及细胞核有无固缩等情况。

1.2.7 Western blot检测小鼠t-MCAO后损伤部位靶蛋白的表达 t-MCAO后7 d，将小鼠深度麻醉后断头取脑，冰袋上分离出伤侧大脑半球，称重、剪碎后置于含RIPA蛋白裂解液（RIPA∶PMSF=100∶1）的匀浆器中（10 mg脑组织，加入100 μL裂解液）。置于冰上充分研磨并静置15 min，将匀浆移至提前预冷至4 ℃的高速离心机中，12 000 r/min离心15 min。将上清液移至新的EP管中，取少量蛋白上清液，采用BCA法测定总蛋白浓度。上样量每孔30 μg，经过SDS-PAGE凝胶电泳，转膜，室温5%BSA封闭2 h，一抗4 ℃孵育过夜，洗膜，二抗室温孵育并洗膜后显色成像。成像结果用Image-Lab检测图像灰度值并分析结果，以目标蛋白与β-actin灰度值的比值表示蛋白的表达水平。

1.3 统计学处理

所有实验数据均使用SPSS 22.0软件分析，以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，各组间比较采用单因素方差分析（*ANOVA*）。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鉴定GB的有效成分

本研究通过对TCMSP、TCMID、Batman-TCM中药系统药理学分析平台收集到银杏叶中所含的化学成分共300种。为获得活性成分，以OB≥30%、DL≥0.18、BBB≥−0.3为标准，对所有化合物进行筛选。163种化合物符合OB≥30%的标准，131种化合物符合DL≥0.10的标准，245种化合物符合BBB≥−0.3的标准。最终从300种成分中筛选出33种活性成分进一步分析，见图1。

2.2 成分-靶点网络构建

将筛选出来的33种活性成分在TCMSP中获取657个对应的靶点。检索GeneCards、OMIM、TTD、PharmGKB数据库获得CIR相关靶点1 259个。两者取交集得到116个GB治疗CIR的潜在关键作用靶点。

使用Cytoscape 3.7.3软件将33个目标化合物与116个CIR相关靶点进行连接，构建了成分-靶点网络图，包括149个节点和305条边，每个成分的平均交集

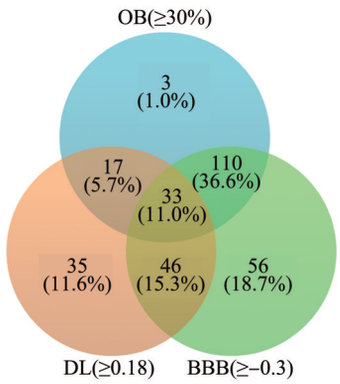


图1 各化合物性质Venny图

靶点数为9.24，每个靶点的平均度值为2.63，表明成分与靶点之间存在复杂的互补关系，见图2。其中，PIK3CG、CASP3、Bax、GSK3B、PTGS1、Bcl-2与细胞增殖和凋亡有关；MAPK14、IL10、PPARD与炎症有关。NOS3和NOX1与氧化应激相关；TGFB1与成纤维细胞的调控有关；CHRM3和CHRM4通过调节胆碱能神经元来影响学习和认知功能；F2、F10与凝血功能、血管完整性有关；CALM1在Ca^{2+}相关通路中发挥重要作用。

2.3 GO富集分析

将GB与CIR的116个交集靶点导入至数据库Metascape中，从BP、CC、MF三个方面开展GO富集分析，结果显示：筛选出的差异蛋白主要参与细胞对含氧、氮化合物及对脂质的反应等生物过程；主要分布于突触及突触后膜等部位；其生物功能包括类固醇激素受体活性、核受体及神经递质受体活性跨膜转运蛋白活性等，见图3。

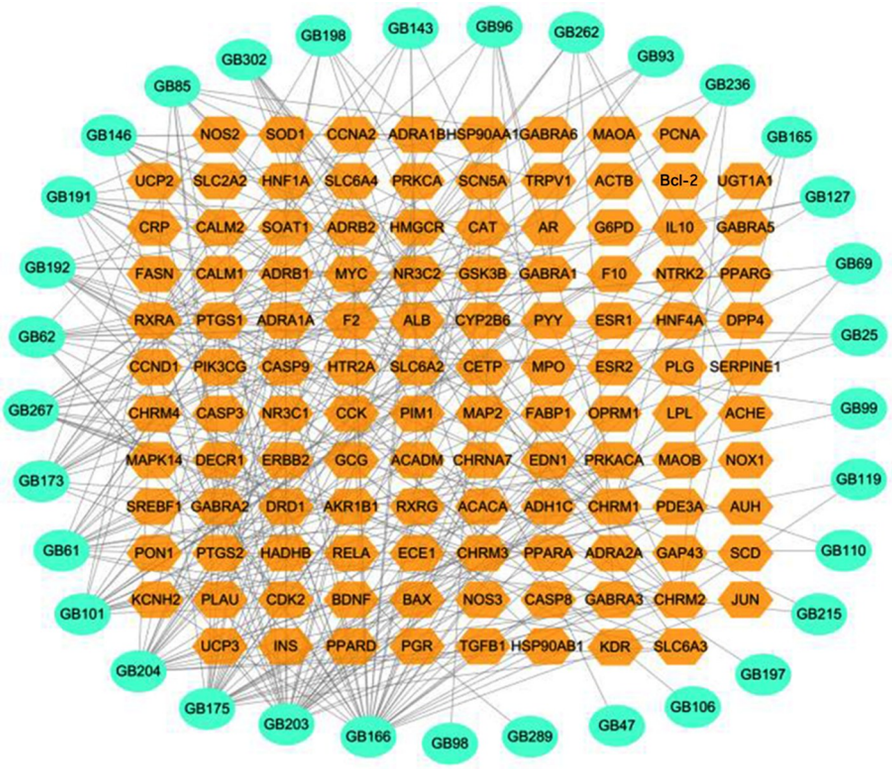
2.4 靶点-通路网络构建

将116个交集靶点导入Metascape数据库中进行KEGG通路分析，共富集到70条信号通路。其中，与CIR密切相关且度值较高的信号通路包括神经活性配体-受体相互作用信号通路、PI3K-Akt信号通路、AMPK信号通路以及Ca^{2+}相关通路等（图4），通路-靶点网络图见图5。

2.5 GB对小鼠t-MCAO后神经功能的影响

Sham组小鼠并未观察到神经功能缺损。与Sham组相比，Vehicle组、GB-L组和GB-H组小鼠在t-MCAO后不同时间点的mNSS评分均明显增加，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。与Vehicle组相比，GB-L组和GB-H组小鼠t-MCAO后3~7 d的mNSS评分显著降低（$P<0.05$），见图6a。这表明GB能明显改善t-MCAO后脑缺损。

Sham组小鼠从水迷宫实验第3天开始，寻找平台



绿色:化合物;黄色:靶点

图2　GB治疗CIR的成分-靶点网络图

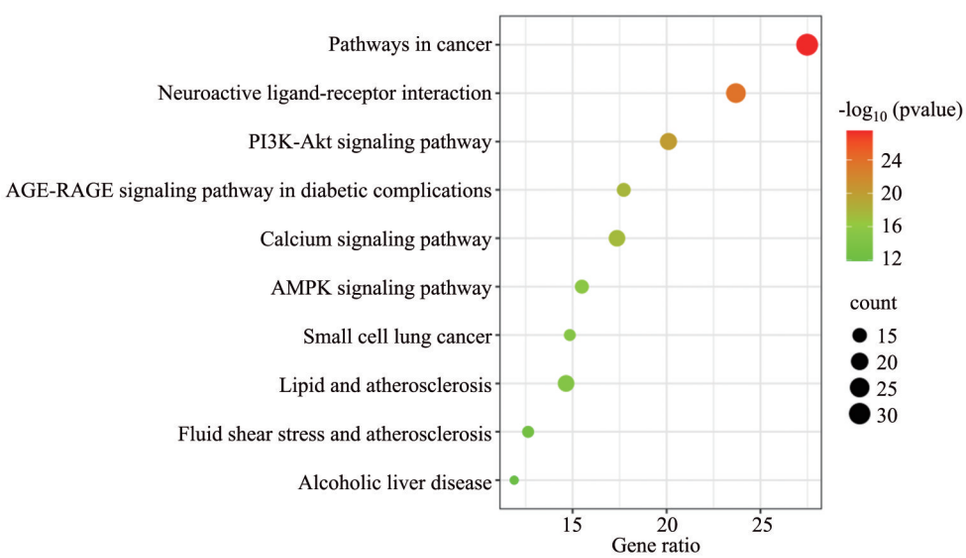
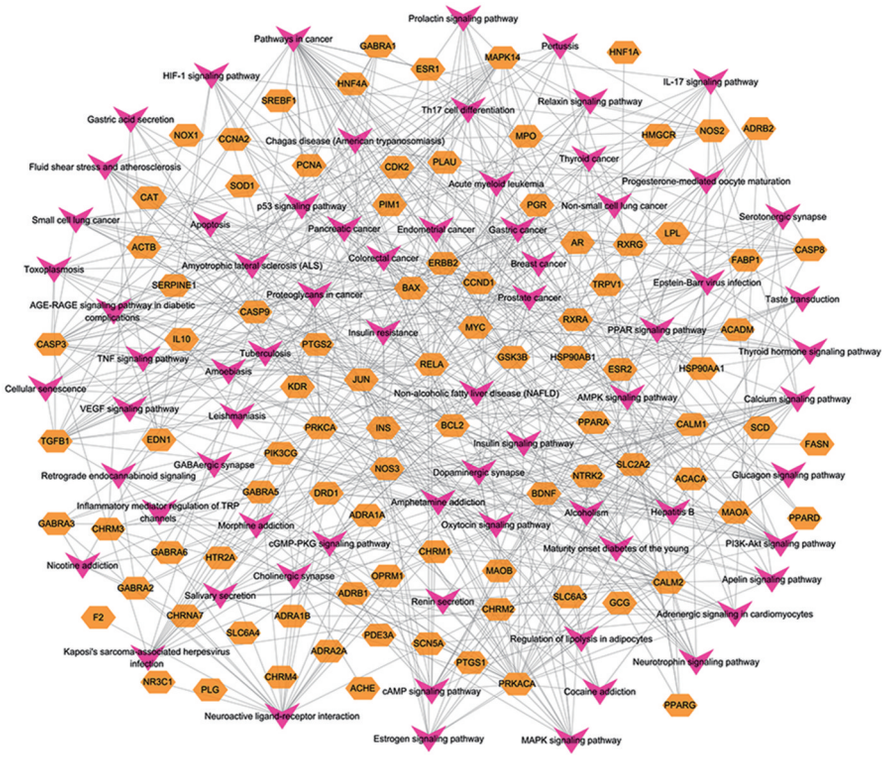


图4　GB治疗CIR相关靶点的KEGG富集分析

时间明显缩短,而Vehicle组、GB-L组和GB-H组小鼠因脑部损伤,寻找平台时间明显延长。从实验第3天开始,GB-L组和GB-H组小鼠寻找平台时间较Vehicle组小鼠缩短,差异具有统计学意义(P<0.05),见图6b。Sham组小鼠穿过平台次数明显多于Vehicle组、GB-L组和GB-H组(P<0.05);与Vehicle组相比,GB-H组小鼠穿过平台次数明显增多(P<0.05),见图6c;小鼠的游泳轨迹也进一步验证了上述结果,见图6d。以上结果表明,GB-H能改善t-MCAO后小鼠的学习、空间记忆能力。

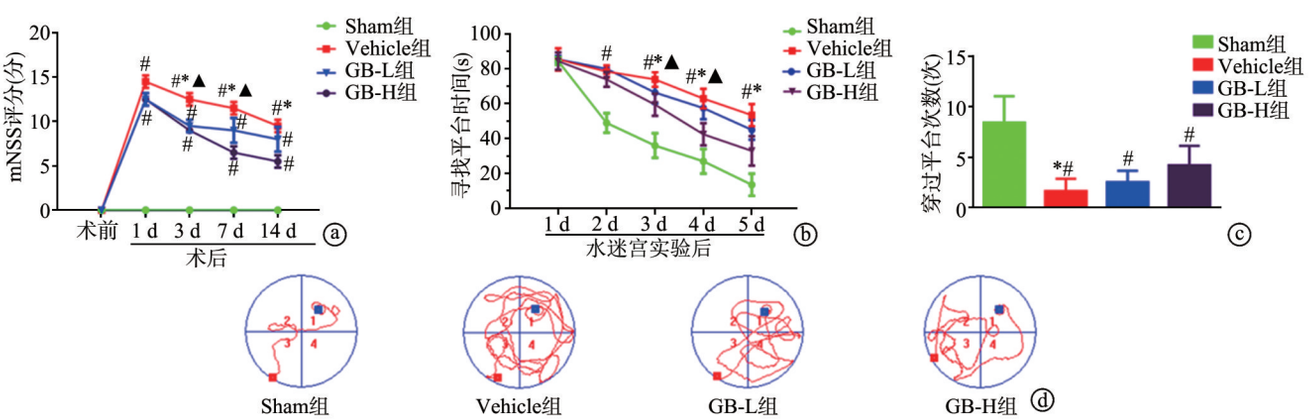
2.6　GB对小鼠t-MCAO后海马组织学的影响

Sham组小鼠大脑组织结构清晰完整,神经元排列整齐,细胞胞浆丰富无红染,胞核居中,核仁清楚,细胞周围间隙致密无水肿。Vehicle组、GB-L组和GB-H组小鼠经t-MCAO后均在缺血处观察到大片神经元消失、神经元排列稀疏、不规则、间质水肿疏松、胞核皱



橙色:靶点;紫红色:通路

图5　GB治疗CIR的通路-靶点网络图



a:mNSS评分;b~d:t-MCAO后小鼠学习记忆功能改变　#:与Sham组比较,$P<0.05$;*:与GB-H组比较,$P<0.05$;▲:与GB-L组比较,$P<0.05$

图6　t-MCAO后小鼠神经功能改变情况

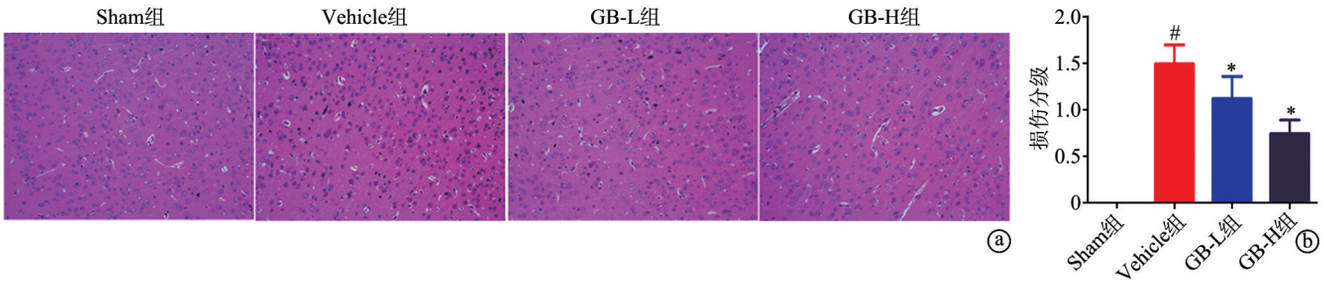
缩等。与Vehicle组相比,GB-H组及GB-L组小鼠上述损伤均显著改善($P<0.05$),见图7。

2.7　GB对小鼠t-MCAO后p-Akt/Akt信号通路影响

与Vehicle组小鼠相比,GB-L组和GB-H组小鼠中p-Akt及Bcl-2蛋白水平显著升高($P<0.05$),促细胞凋亡相关蛋白Bax和Caspase3表达水平显著降低($P<0.05$),见图8。

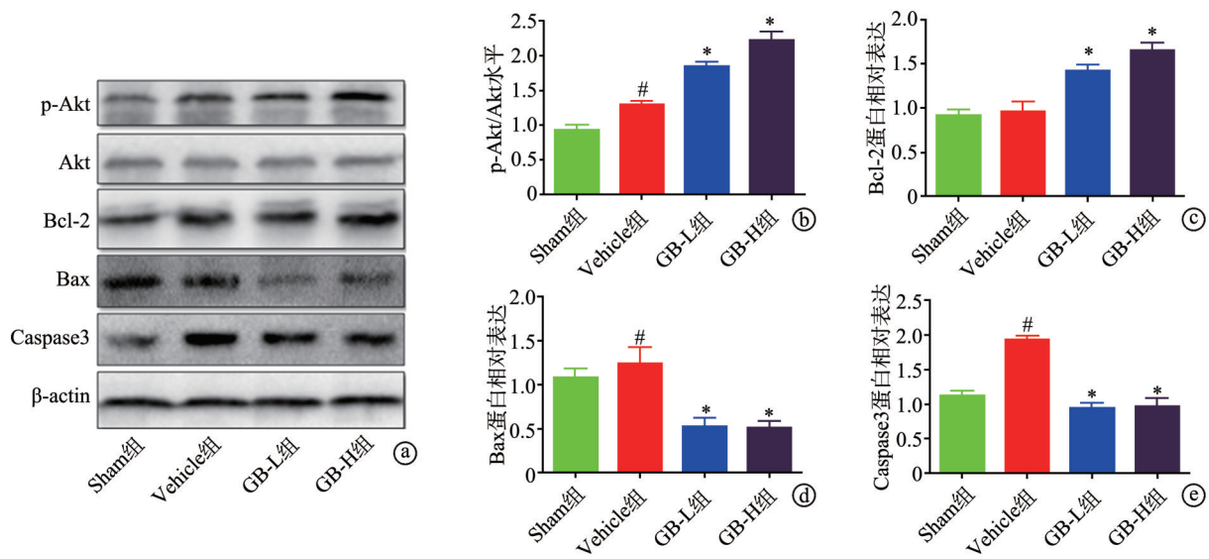
3　讨论

CIR损伤是多种临床疾病的常见病理过程,其涉及复杂的病理生理过程,如细胞内Ca^{2+}超载、氧化损伤、自噬及细胞凋亡等,各环节相互影响并共同加剧了神经元损伤[6]。尽管在过去的几十年中,针对CIR损伤的研究取得了显著进展,但目前的治疗方法仍存在局限性,主要集中在单一靶点或单一机制上。例如,常用的抗氧化剂、抗炎药物和细胞保护剂等往往只能缓解部分症状,而无法全面干预复杂的病理生理过程。近年来,随着系统生物学和网络药理学的发展,越来越多的研究开始关注多成分、多靶点的治疗策略。这些策略旨在通过调控多个生物途径来获得更全面的治疗效果。特别是中药及其提取物,因其复杂的化学成分和广泛的生物活性,成为多成分、多靶点



a:各组HE染色图(×200);b:各组HE染色损伤分级定量统计图 #:与Sham组比较,$P<0.05$;*:与Vehicle组比较,$P<0.05$

图7 GB对小鼠t-MCAO后脑组织学的影响



a:蛋白灰度图;b:p-Akt/Akt水平;c:Bcl-2蛋白表达;d:Bax蛋白表达;e:Caspase3蛋白表达 #:与Sham组比较,$P<0.05$;*:与Vehicle组比较,$P<0.05$

图8 GB对t-MCAO后小鼠p-Akt/Akt信号通路影响

治疗的重要来源。

近年来的研究表明,GB具有多种药理作用,包括抑制血小板激活因子释放、减少血管内皮的血细胞吸附、调节脂质和葡萄糖代谢以及抗氧化等,这些作用使其在心脑血管疾病的治疗中展现出显著的应用潜力[7]。GB对脑卒中具有神经保护作用,其主要机制是通过减轻氧化应激,从而减少神经元的凋亡[8]。尽管已有研究表明GB中的成分EGb 761具有显著的抗CIR损伤作用,但GB中的其他活性成分在抗CIR损伤中的具体作用机制仍有待进一步阐明。

本研究通过TCMSP等工具收集了GB的33个活性成分及其对应的116个靶点,并通过网络药理学的方法筛选了这些活性成分与CIR损伤密切相关的靶点,如Caspase3、Bax、TGF-B1、NOS3等。Caspase3和Bax是细胞凋亡的关键调控因子,在CIR过程中,氧化应激和能量耗竭会导致线粒体功能障碍,进而激活Caspase3和Bax,促进细胞凋亡[9]。TGF-B1在纤维化过程中起重要作用,CIR引起的慢性炎症反应会诱导TGF-B1表达增加,导致组织纤维化,影响器官功能恢复[10]。内皮型一氧化氮合酶NOS3则参与调节血管内皮功能和血液流动,在CIR过程中,NOS3的功能失调会导致血管收缩和血流减少,进一步加重组织损伤[9]。本研究GO富集分析结果表明,116个靶点主要富集于细胞增殖、凋亡、纤维化、氧化应激和炎症等多个生物学过程,GB中的多种活性成分能够通过调控Caspase3、Bax、TGF-B1和NOS3等多个关键靶点,协同抑制细胞凋亡、减轻纤维化、改善血管功能并调节氧化应激。

此外,本研究KEGG通路分析表明,GB可能通过神经活性配体-受体信号通路、PI3K-Akt信号通路、Ca^{2+}相关通路及AMPK信号通路等多种途径,从不同环节干预CIR损伤的发生和发展。神经活性配体-受体信号通路涉及神经元间的信号传递,保护神经元免受氧化应激和炎症反应的影响,从而减少神经元死亡[11]。PI3K-Akt信号通路是CIR损伤中调控神经元凋亡、自噬、增殖的重要通路之一,可以阻断细胞启动程序性死亡,是GB发挥脑保护作用的通路之一[12]。CIR损伤发生后,PI3K-Akt信号通路处于抑制状态,由于

能量耗竭,ROS大量生成等因素,神经元线粒体结构被破坏,维持线粒体外膜完整性的Bcl-2家族成员表达异常。Bim和Bid表达增多,并与Bcl-2结合,释放BAX。同时线粒体外膜的通透性增加,CytC释放增加,其与凋亡酶激活因子Apaf-1结合,通过Caspase9激活Caspase3,最终导致细胞凋亡的发生[13]。本研究证实,小鼠经GB处理后,其p-Akt水平显著升高,且凋亡执行蛋白Caspase3的表达明显减少。有学者证实了在t-MCAO小鼠模型中激活PI3K-Akt信号通路后,缺血部位的半暗带显著减少,神经元的损伤降低[12],本研究的结果与之一致。

为进一步观察GB对神经行为学的影响,本研究采用mNSS评估神经功能,结果显示,经GB治疗后,CIR小鼠在第3天和第7天mNSS评分显著降低,这与Yue等[14]的研究结果一致。本研究水迷宫实验发现,用GB处理的小鼠游泳轨迹更靠近平台区域,且小鼠寻找平台时间及游泳轨迹更短,提示GB改善了CIR损伤后小鼠的神经缺损及认知功能障碍,与Putteeraj等[15]的研究结果一致。

综上所述,GB通过多种活性成分协同作用,调控Caspase3、Bax、TGF-B1和NOS3等多个关键靶点,通过神经活性配体-受体信号通路、Ca^{2+}相关通路及AMPK信号通路等多种途径,从不同环节干预CIR的发生和发展,这显示出GB通过多成分、多靶点、多环节治疗CIR的整合调节特点,并且其神经保护作用可能与激活PI3K-Akt信号通路、减少神经元凋亡密切相关。这为中药在CIR治疗中的应用提供了新的研究思路和策略。但由于网络药理学受数据库信息量等的局限性,仍需深入研究。

[参考文献]

[1] Feske SK. Ischemic stroke[J]. Am J Med, 2021, 134(12): 1457-1464. doi: 10.1016/j.amjmed.2021.07.027.

[2] Herpich F, Rincon F. Management of acute ischemic stroke[J]. Crit Care Med, 2020, 48(11): 1654-1663. doi: 10.1097/CCM.0000000000004597.

[3] Song W, Zhao J, Yan XS, et al. Mechanisms associated with protective effects of Ginkgo Biloba leaf extracton in rat cerebral ischemia reperfusion injury[J]. J Toxicol Environ Health A, 2019, 82(19): 1045-1051. doi: 10.1080/15287394.2019.1686215.

[4] Hort J, Duning T, Hoerr R. Ginkgo biloba extract EGb 761 in the treatment of patients with mild neurocognitive impairment: a systematic review[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2023, 19: 647-660. doi: 10.2147/NDT.S401231.

[5] Yang Y, Liu P, Chen L, et al. Therapeutic effect of Ginkgo biloba polysaccharide in rats with focal cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury[J]. Carbohydr Polym, 2013, 98(2): 1383-1388. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.07.045.

[6] Xu Y, Zhang J, Gao F, et al. Engeletin alleviates cerebral ischemia reperfusion-induced neuroinflammation via the HMGB1/TLR4/NF-κB network[J]. J Cell Mol Med, 2023, 27(12): 1653-1663. doi: 10.1111/jcmm.17758.

[7] Liu Y, Niu P, Yan J, et al. Efficacy and safety of Ginkgo biloba extract in the treatment of unstable angina pectoris: a systematic review and network meta-analysis[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 331: 118297. doi: 10.1016/j.jep.2024.118297.

[8] Yan M, Li M, Gu S, et al. Ginkgo biloba extract protects diabetic rats against cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing oxidative stress and upregulating the expression of glutamate transporter 1[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(4): 1809-1818. doi: 10.3892/mmr.2020.10990.

[9] Hu Y, Wang G, Yang G. Overexpression of miR-188-5p down-regulates IL6ST/STAT3/ NLRP3 pathway to ameliorate neuron injury in oxygen-glucose deprivation/reoxygenation[J]. Curr Neurovasc Res, 2024, 21(3): 263-273. doi: 10.2174/0115672026313555240515103132.

[10] Park SH, Kim JY, Kim JM, et al. PM014 attenuates radiation-induced pulmonary fibrosis via regulating NF-kB and TGF-b1/NOX4 pathways[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 16112. doi: 10.1038/s41598-020-72629-9.

[11] Mukherjee A, Sarkar S, Jana S, et al. Neuro-protective role of nanocapsulated curcumin against cerebral ischemia-reperfusion induced oxidative injury[J]. Brain Res, 2019, 1704: 164-173. doi: 10.1016/j.brainres.2018.10.016.

[12] Zhou HJ, Wang XY, Wang LQ, et al. Interfering TRIB3 protects the blood brain barrier through PI3K/Akt pathway to alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetes mellitus mice[J]. Chem Biol Interact, 2024, 387: 110807. doi: 10.1016/j.cbi.2023.1108.

[13] 冯健愉,朱玉山,陈 佺,等. Bc1-2家族蛋白的生理功能及结构基础[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(8): 1477-1489. doi: 10.11844/cjcb.2019.08.0002.

[14] Yue SJ, Liu J, Feng WW, et al. System pharmacology-based dissection of the synergistic mechanism of huangqi and huanglian for diabetes mellitus[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 694. doi: 10.3389/fphar.2017.00694.

[15] Putteeraj M, Lim WL, Teoh SL, et al. Flavonoids and its neuroprotective effects on brain ischemia and neurodegenerative diseases[J]. Curr Drug Targets, 2018, 19(14): 1710-1720. doi: 10.2174/1389450119666180326125252.

(编辑:杨 颖)