

# 瓜蒌薤白半夏汤促进线粒体自噬改善心肌缺氧/复氧损伤的物质基础与机制



祝家璇, 宋先胜, 杨紫琦, 冼乐尧, 周 华, 何 凡, 黄虞枫

广州中医药大学第二临床医学院/广东省中医院(广州 510120)

**【摘要】**目的 鉴定瓜蒌薤白半夏汤(GXBD)改善心肌缺氧/复氧(H/R)损伤的物质基础,分析其通过促进线粒体自噬发挥心肌保护的分子机制。方法 采用传统煎煮法制备GXBD标准汤剂,通过醇沉工艺得到化学部位,利用D101大孔吸附树脂进一步分离纯化。建立H9c2心肌细胞H/R损伤模型,应用CCK-8法分别检测复方水洗部位、40%乙醇洗部位和90%乙醇洗部位的抗心肌细胞损伤活力。运用超高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术分析并鉴定复方40%乙醇洗部位的化学成分;通过Western Blot检测各组细胞中半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶3(Caspase-3)、帕金蛋白(Parkin)和FUN14域蛋白1(FUNDC1)的蛋白表达,验证复方中活性单体成分金圣草黄素抗H/R心肌细胞损伤的作用机制。结果 复方水洗部位、40%乙醇洗部位与90%乙醇洗部位均呈剂量依赖性地提高H/R心肌细胞的存活率,40%乙醇洗部位效果更好。复方40%乙醇洗部位中可鉴定出金圣草黄素等88种化合物成分,且金圣草黄素可显著上调H/R心肌细胞Parkin和FUNDC1表达,下调Caspase-3表达,减轻H/R心肌细胞损伤。结论 GXBD复方活性成分金圣草黄素可激活线粒体自噬,抑制细胞凋亡,从而改善心肌H/R损伤。

**【关键词】**瓜蒌薤白半夏汤;金圣草黄素;心肌细胞损伤;线粒体自噬;细胞凋亡;半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶3;帕金蛋白;FUN14域蛋白1

**【中图分类号】** R966

**【文献标识码】** A

Study on the material basis and mechanism of Gualou Xiebai Banxia decoction in promoting mitophagy to ameliorate myocardial hypoxia/reoxygenation injury

ZHU Jiakuan, SONG Xiansheng, YANG Ziqi, XIAN Leyao, ZHOU Hua, HE Fan, HUANG Yufeng

The Second Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

Corresponding authors: HUANG Yufeng, Email: fongfonghuang@hotmail.com; HE Fan, Email: nisahe@126.com

**【Abstract】**Objective To identify the material basis of Gualou Xiebai Banxia decoction (GXBD) in ameliorating myocardial hypoxia/reoxygenation (H/R) injury and to elucidate its cardioprotective molecular mechanism mediated through the promotion of mitophagy. Methods The standard decoction of GXBD was prepared by the traditional decoction method. Chemical fractions were obtained via ethanol precipitation and further separated and purified using

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202602014

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82574770); 广东省中医药局项目(20241149)

通信作者: 黄虞枫, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, Email: fongfonghuang@hotmail.com

何凡, 博士, 教授, 博士研究生导师, Email: nisahe@126.com

D101 macroporous resin. An H/R injury model was established in H9c2 cardiomyocytes. The protective effects of the aqueouswashed fraction, the 40% ethanol-eluted fraction and the 90% ethanol-eluted fraction of GXBD against cardiomyocyte damage were evaluated by the CCK8 assay. UPLC-Q-TOFMS was employed to analyze and identify the chemical constituents of the 40% ethanol-eluted fraction. Western Blot was performed to detect the protein expression levels of cysteinyl aspartate specific proteinase-3 (Caspase-3), Parkin, and FUN14 domain-containing protein 1 (FUNDC1) in each group, providing preliminary validation of the mechanism by which the active monomer chrysoeriol from GXBD attenuates H/R-induced cardiomyocyte injury. **Results** The aqueous-eluted, 40% ethanol-eluted, and 90% ethanol-eluted fractions all dose-dependently increased the survival rate of H/R-injured cardiomyocytes, with the 40% ethanol-eluted fraction showing superior efficacy. A total of 88 compounds, including chrysoeriol, were identified in the 40% ethanol-eluted fraction of the compound. Chrysoeriol significantly upregulated the expression of Parkin and FUNDC1, downregulated the expression of Caspase-3, and alleviated H/R-induced injury in cardiomyocytes. **Conclusion** The active component chrysoeriol derived from the GXBD formula activates mitophagy and suppresses apoptosis, thereby ameliorating myocardial hypoxia/reoxygenation (H/R) injury.

**【Keywords】** Gualou Xiebai Banxia decoction; Chrysoeriol; Hypoxia/reoxygenation myocardial cell injury; Mitophagy; Apoptosis; Caspase-3; Parkin; FUNDC1

瓜蒌薤白半夏汤 (Gualou Xiebai Banxia decoction, GXBD) 是张仲景《金匱要略》中治疗“胸痹”的经典名方,由瓜蒌、薤白、半夏及白酒配伍而成<sup>[1]</sup>。该复方含有萜类、黄酮、生物碱、有机酸、甾体及甾体皂苷、核苷等多种化学成分组成,其中木犀草素、腺苷、香草酸和苦瓜素 B 可能是治疗冠心病的潜在有效成分<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明, GXBD 具有保护血管内皮细胞、改善血液流变学、抗心肌纤维化等作用,临床常用于治疗痰浊闭阻型冠心病等缺血性心脏病<sup>[3-6]</sup>。

近年研究发现,心肌在缺血缺氧环境下,会激活线粒体自噬,减少线粒体损伤和凋亡,发挥重要的心肌细胞保护作用<sup>[7-9]</sup>。线粒体外膜受体在维持线粒体稳态和线粒体介导的细胞凋亡中发挥重要作用,与各种心血管疾病密切相关<sup>[10-11]</sup>。其中,帕金蛋白 (Parkin) 和 FUN14 域蛋白 1 (FUN14 domain-containing protein 1, FUNDC1) 是启动线粒体自噬的经典膜受体<sup>[12]</sup>。Chen 等<sup>[13]</sup>研究发现,天麻素通过 PTEN 诱导的激酶 1 (PTEN induced kinase 1 gene, PINK1)/Parkin 途径改善线粒体吸收,缓解心肌缺血再灌注损伤。Wang 等<sup>[14]</sup>研究显示,AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK)/FUNDC1 信号通路可改善线粒体功能障碍,缓解心肌损伤。化痰祛痰方可通过降低 FUNDC1 表达,调控线粒体自噬改善动脉粥样硬化家兔肝脏脂质沉积<sup>[15]</sup>。而 GXBD 中是否存在活性成分通过

激活线粒体自噬、减少细胞凋亡、缓解缺血性心肌损伤的机制尚不清楚。本研究旨在分析 GXBD 抗缺血性心肌损伤的有效部位和活性成分,阐释其促进线粒体自噬,减少心肌细胞凋亡,发挥心肌保护的分子机制,为 GXBD 改善心肌缺氧/复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 损伤机制研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

C170i 型细胞培养箱 (德国 Eppendorf 公司); CA92014 型缺氧小室 (美国 Billups-Rothenber 公司); IX80+DP80 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 6546 型超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用系统 (美国 Agilent 公司); Alpha2-4LSC-Plus 真空冷冻干燥机 (德国 Christ 公司); U-2910 型紫外分光光度计 (日本 Hitachi 公司); Entris II 型万分之一分析天平 (德国 Sartorius 公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

瓜蒌子 (批号: 221202, 产地: 安徽) 和薤白 (批号: 221101, 产地: 广西) 购自广州致信中药饮片有限公司, 瓜蒌皮 (批号: 230302301, 产地: 浙江) 购自广东康美药业股份有限公司, 清半夏 (批号: YP23B01, 产地: 甘肃) 购自梅州广药采芝林药业有限公司, 以上药材饮片经广州中医药大学第二临床学院何凡教授鉴定符合《中国药典 (2025 年版)》饮片质量要求; 黄酒 (峨

州市仙岩酿造厂生产,酒精度数:14% vol,符合 GB/T 13662 要求);芦丁对照品(上海颀心实验室设备有限公司,批号:20220327001,纯度>98%);金圣草黄素(chrysoeriol, CSR)对照品(成都瑞芬思德丹生物科技有限公司,批号:RFS-J12702302015,纯度>98%);卡托普利(德国默克生命科学有限公司,批号:SLCM1503,纯度>98%);DMEM 高糖培养基(批号:6124561)、青霉素-链霉素双抗生素(批号:15140-122)、胎牛血清(批号:N2780776P)、PBS 缓冲液(批号:6124372)均购自美国 Gibco 公司;胰蛋白酶(批号:20220324)和 CCK-8 试剂盒(批号:20241011)购自苏州新赛美生物科技有限公司;RIPA 裂解液(批号:YA362490)、BCA 试剂盒(货号:A55864)、Rabbit anti-FUNDC1(批号:38664A05)均购自美国 Thermo Fisher 公司;兔抗半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 3(Caspase-3)抗体(批号:BA076520997)和兔抗  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(批号:4967S)购自美国 Cell Signaling Technology 公司;兔抗 Parkin 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:PK10076);小鼠抗热休克蛋白-60(heat shock protein 60, HSP60)抗

体(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司,批号:I0923);抗兔二抗(批号:D30425-15)、抗小鼠二抗(批号:D30418-25)均购自美国 LI-COR 公司;高纯氮(广州丹欧童贸易有限公司,批号:20250116);D101 大孔树脂(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号:C14727891);甲醇和乙醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 细胞

H9c2 心肌细胞株(苏州海星生物科技有限公司,批号:TCR-C607-UD)。

### 1.4 GXBD 化学部位制备

#### 1.4.1 正交试验优化提取工艺

根据《古代经典名方关键信息表(25 首方剂)》<sup>[16]</sup>中 GXBD 项下的现代对应方法,采用传统煎煮工艺制备标准汤剂:取 30.00 g 瓜蒌、20.70 g 薤白和 17.25 g 清半夏,加黄酒 1 000 mL 煎煮 2 次,每次 30 min;合并滤液,减压浓缩,加乙醇至规定浓度,将药液密闭,4 °C 环境下静置,分离上清和沉淀,上清液减压浓缩,冷冻干燥,即得样品。

以浸膏密度(A)、乙醇浓度(B)、醇沉时间(C)为考察因素,设计  $L_9(3)^4$  正交试验,以总黄酮含量为评价指标,优化醇沉工艺(表 1)。

表 1 GXBD 有效成分提取工艺正交实验因素水平表

Table 1. Factor level table for the orthogonal experimental design of the extraction process of active ingredients from GXBD

水平	因素			
	A 浸膏密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	B 乙醇浓度 (%)	C 醇沉时间 (h)	D 空白
1	1.10	60	12	1
2	1.15	70	18	2
3	1.20	80	24	3

#### 1.4.2 总黄酮的测定方法

精密称定芦丁对照品 5 mg,加 50% 甲醇制成 0.2 mg/mL 的芦丁对照品溶液。分别精密量取该溶液 0、1、2、3、4、5 mL,各置于 10 mL 量瓶中,分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL、10% 硝酸铝溶液 0.3 mL、1 mol/L 氢氧化钠溶液 4 mL,加水定容至刻度。在 500 nm 波长处测定各对照品溶液的吸光度,以对照品浓度为横坐标(X, mg/mL)、吸光度为纵坐标(Y)绘制标准曲线。精密称定样品 100 mg,置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度,超声至完全溶解,静置至恢复室温,得样品溶液。采用与对照品相同的方法处理样品溶液,测定其吸光度值并代入标准曲线方程,计算总黄酮含量。

### 1.5 GXBD 化学部位纯化工艺优化

将最优醇提工艺上清液冷冻干燥后即得粗提取物。称取粗提取物的干燥粉 5 g,加纯水 100 mL 溶解,制成 50 mg/mL 的水溶液。将该水溶液通过装有相当于醇提物 5 倍量 D101 大孔吸附树脂的玻璃柱,依次用纯水 500 mL、40% 乙醇 500 mL 和 90% 乙醇 500 mL 洗脱,分别收集 3 种洗脱液,减压浓缩后冷冻干燥,制成粉末样品,分别命名为水洗部位、40% 乙醇洗部位和 90% 乙醇洗部位。

### 1.6 GXBD 有效部位筛选

#### 1.6.1 细胞培养

H9c2 细胞使用含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基,置于 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  的细胞培养箱中培养。当细胞生长密度达到约 80% 时进行

传代, 取对数生长期的细胞用于后续实验。

### 1.6.2 不同洗脱部位对H9c2细胞活力影响

分别称取 3 个不同洗脱部位的冻干粉末各 28 mg, 加入 7 mL PBS 溶液溶解, 配制成 4 mg/mL 的药物母液, 再用 DMEM 培养基将母液稀释至各实验所需浓度。调整 H9c2 细胞密度为  $8 \times 10^4$  个/mL, 按每孔 100  $\mu$ L 接种于 96 孔板中。除对照组 (Ctrl 组) 外, 根据给药浓度设置 9 个剂量组, 终浓度分别为 3.13、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00、200.00、400.00、800.00  $\mu$ g/mL, 每组设置 3 个平行复孔。细胞培养 48 h 后, 更换为新鲜培养基, 每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8 试剂, 避光孵育 1.5 h, 随后在 450 nm 波长处测定吸光度, 并计算各组 H9c2 细胞的存活率。

### 1.6.3 不同洗脱部位对H/R H9c2细胞的药效作用

将 H9c2 细胞分为 Ctrl 组、模型组 (H/R 组)、不同洗脱部位药物组 (分为水洗部位组、40% 乙醇洗部位组和 90% 乙醇洗部位组) 及阳性药物组 (CA 组), 每组均设置 3 个平行复孔。药物溶液的配制方法同“1.6.2”项下。CA 组中, 称取 13 mg CA, 溶于 2 mL PBS 溶液中, 配制成 6.95 mg/mL 的母液, 再用 DMEM 培养基稀释至 320  $\mu$ mol/L 的浓度进行给药。不同洗脱部位药物组均设为 100、200、400  $\mu$ g/mL 3 个浓度。

根据课题组报道的 H/R 建模方法进行实验<sup>[17]</sup>。将调整好密度的 H9c2 细胞接种于 96 孔板, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h, 待细胞生长融合至约 80% 时, 进行 H/R 模型构建。除 Ctrl 组和 H/R 组外, 其余各组在 H/R 模型构建前 1 h 进行预给药。随后 H/R 组和各药物组加入缺氧液, 将细胞转移至缺氧小室中缺氧处理 2.5 h。缺氧结束后, 更换为 DMEM 培养基进行复氧, 同时所有组每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8 试剂, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中避光孵育 1.5 h。最后, 在 450 nm 波长处测定吸光度, 并计算各组 H9c2 细胞的存活率。

### 1.7 40%乙醇洗部位化学成分分析

采用超高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, UHPLC-Q-TOF-MS) 技术分析富集得到的 40% 乙醇洗部位。色谱柱为 ACQUITYPremierHSS T3 色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu$ m), 以 0.1%

甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B) 为流动相进行梯度洗脱 (0~2 min, 5% $\rightarrow$ 25% B; 2~4 min, 25% $\rightarrow$ 50% B; 4~11 min, 50% $\rightarrow$ 90% B; 11~13 min, 90% $\rightarrow$ 99% B), 流速为 0.30 mL/min, 进样量为 2  $\mu$ L。采用电喷雾 (ESI) 电离技术, 正、负离子检测模式; 喷雾电压: 正离子模式为 4 500 V, 负离子模式为 -4 500 V; MS1、MS2 采集范围为 70~1 700 *m/z*。采用 Progenesis Q1 软件, 根据样品碎片离子信息进行质谱数据处理分析, 鉴定 40% 乙醇洗部位中的主要化学成分。

### 1.8 分子对接筛选活性成分

为进一步筛选 40% 乙醇洗部位的活性成分, 对 40% 乙醇洗部位中鉴定出的黄酮类、生物碱类以及萜类与 Parkin、FUNDC1 和 Caspase-3 3 个靶点进行分子对接验证, 其中结合能低于 -7 kcal/mol, 说明化合物与靶点结合活性强烈。

### 1.9 CSR抗H/R心肌细胞损伤机制

#### 1.9.1 CSR对H/R心肌损伤的保护作用

将 H9c2 细胞分为 Ctrl 组、H/R 组、CSR 不同浓度组、CA 组, 每组设 3 个平行复孔。称取 CSR 1.2 mg, 加入二甲基亚砜溶液 50  $\mu$ L 溶解, 得 24 mg/mL CSR 母液, 再用 DMEM 培养基稀释至所需浓度。除 Ctrl 组正常培养外, 其余组别均进行 H/R 造模, 方法同“1.6.3”项。CSR 组设 1.25、2.50、5.00、10.0、20.0、40.0、80.0  $\mu$ mol/L 不同浓度组别, 采用 CA 组以 320  $\mu$ mol/L 浓度进行给药, 采用 CCK-8 法检测细胞活力变化。

#### 1.9.2 CSR对心肌细胞凋亡蛋白和线粒体自噬蛋白表达的影响

将 H9c2 细胞分为 6 组, Ctrl 组、H/R 组、CSR 组、线粒体自噬激动剂雷帕霉素组 (Rap 组)、线粒体自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤组 (3-MA 组)、CSR+3-甲基腺嘌呤组 (C+3 组), 每组设 3 个平行复孔。除 Ctrl 组正常培养外, 其余组别均进行 H/R 造模, 方法同“1.6.3”项。CSR 组、Rap 组和 3-MA 组分别以 40、5  $\mu$ mol/L 和 5 mmol/L 浓度进行给药, C+3 组给予 40  $\mu$ mol/L 的 CSR 和 5 mmol/L 的 3-MA。

H/R 处理结束后, 收集各组细胞, 使用 RIPA 裂解液提取总蛋白, 采用 BCA 法进行定量。取等量蛋白样品进行 12% SDS-PAGE 电泳分离, 并转印至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭后, 分别与 Caspase-3、Parkin 和 FUNDC1 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜后与 HRP 标记二抗室温孵育 2 h。最后采用 ECL 化学

发光显影,通过化学发光成像系统采集并分析条带。

### 1.10 统计学分析

本研究计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),事后两两比较使用Tukey's多重检验。利用Progenesis Q1软件对质谱检测的化学成分进行鉴定,所有统计分析均使用SPSS 25.0和GraphPad Prism 9.0软件完成,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 正交试验结果

经比较各因素极差(R值)可知,各考察

因素对提取的GXBD有效成分含量影响大小依次为浸膏密度(A) > 乙醇浓度(B) > 醇沉时间(C),最优提取工艺组合为 $A_3B_1C_3$ ,即浸膏密度为 $1.20 \text{ g/cm}^3$ 、乙醇浓度为60%、醇沉时间为24 h(表2和表3)。根据所建立的标准曲线 $Y=0.0088X+0.1142$  ( $r=0.9999$ ),采用正交试验优化的提取工艺平行开展3次验证试验,通过测定总黄酮得率评估工艺稳定性,得到总黄酮含量为 $0.146\% \pm 0.002\%$ 、 $0.139\% \pm 0.006\%$ 和 $0.141\% \pm 0.007\%$ ,平均值为 $0.142\% \pm 0.007\%$ ,与正交试验筛选的最优工艺下的得率吻合。

表2 提取工艺因素水平正交表及正交试验结果

Table 2. Orthogonal array of factor levels for the extraction process and experimental results

试验号	A	B	C	D	总黄酮得率(%)
1	1.10	60	12	1	0.093
2	1.10	70	18	2	0.092
3	1.10	80	24	3	0.065
4	1.15	60	18	3	0.132
5	1.15	70	24	1	0.102
6	1.15	80	12	2	0.073
7	1.20	60	24	2	0.144
8	1.20	70	12	3	0.096
9	1.20	80	18	1	0.081
K1	5.233	11.700	9.567	9.933	
K2	10.400	10.867	9.833	11.600	
K3	15.600	8.667	11.833	9.700	
R	10.367	3.033	2.266	1.900	

表3 排队评分法方差分析表

Table 3. Analysis of variance table for the ranking score method

方差来源	偏差平方和	自由度	F	显著性
浸膏密度	161.202	2	25.024	是
乙醇浓度	14.736	2	2.287	否
醇沉时间	9.209	2	1.430	否
误差	6.440	2		

注:  $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

### 2.2 GXBD化学部位纯化工艺优化

水、40%乙醇、90%乙醇洗部位总黄酮的含量分别为0.98%、1.54%、0.66% ( $n=3$ ),结果表明,40%乙醇洗部位效果最好,故选取40%乙醇洗部位进行后续物质成分保护作用的研究。

### 2.3 不同洗脱部位对H9c2细胞H/R损伤的药效作用

#### 2.3.1 不同洗脱部位对H9c2细胞活力影响

实验结果显示,与Ctrl组相比,各浓度40%乙醇洗部位处理组的细胞存活率差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),表明该浓度范围内40%乙醇洗部位对H9c2细胞无明显毒性作用(图1)。当水洗部位和90%乙醇洗部位浓度升高至 $800 \mu\text{g/mL}$

时,H9c2存活率极显著降低( $P < 0.01$ )。

#### 2.3.2 不同洗脱部位对H/R造模的H9c2细胞存活率的影响

与Ctrl组相比,H/R组细胞的存活率显著降低( $P < 0.01$ ),标志造模成功。与H/R组相比,40%乙醇洗部位的100、200、 $400 \mu\text{g/mL}$ 剂量组细胞存活率显著增加( $P < 0.01$ ),且浓度为 $400 \mu\text{g/mL}$ 时细胞存活率最高;水洗部位和90%乙醇洗部位的200、 $400 \mu\text{g/mL}$ 剂量组细胞存活率增加( $P < 0.01$ ),且浓度为 $400 \mu\text{g/mL}$ 时细胞存活率最高,且随给药浓度升高,细胞存活率越高,呈剂量依赖性(图2)。后续实验采用40%乙醇洗部位进行。

### 2.4 40%乙醇洗部位化学成分分析

通过查阅 Pubchem、ChemicalBook、ChemSpider、Pubmed、CNKI 等数据库，对 GXBD 中化学成分的相关数据进行整理归纳，构建本地化学成分数据库。采用 Progenesis QI 软件进行数

据峰提取及峰匹配。通过对 40% 乙醇洗部位的质谱数据进行分析，从 40% 乙醇洗部位中共鉴定出 88 个化学成分（图 3），包括生物碱类 9 个、黄酮类 4 个、核苷类 8 个、芳香酸类 13 个、萜类及其苷类 9 个（附表 1）。

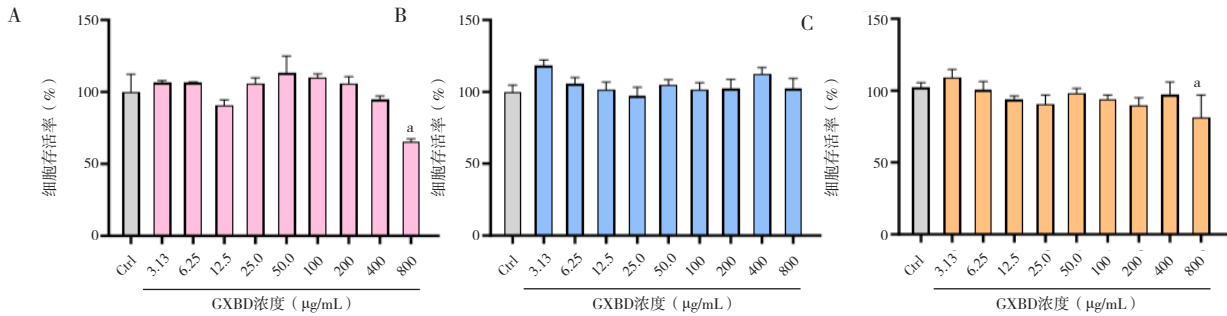


图1 不同洗脱部位对正常H9c2心肌细胞活力的影响 (n=3)

Figure 1. Effect of different elution fractions on the viability of normal H9c2 cardiomyocytes (n=3)

注：A. 水洗部位组；B. 40%乙醇洗部位组；C. 90%乙醇洗部位组；与Ctrl组比较，<sup>a</sup>P<0.01。

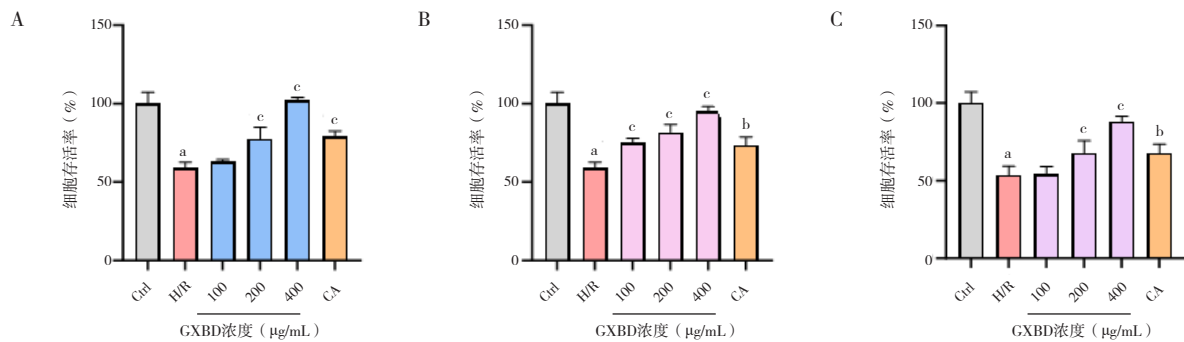


图2 不同洗脱部位对H/R损伤细胞活力的影响 (n=3)

Figure 2. Effect different elution fractions on the viability of H/R-injured cells (n=3)

注：A. 水洗部位组；B. 40%乙醇洗部位组；B. 90%乙醇洗部位组；与Ctrl比较，<sup>a</sup>P<0.01；与H/R比较，<sup>b</sup>P<0.05，<sup>c</sup>P<0.01。

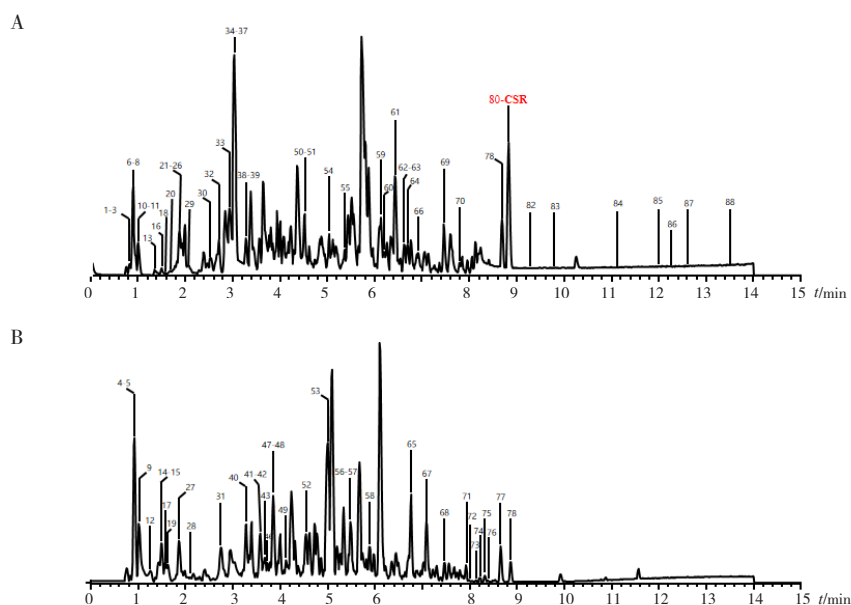


图3 GXBD40%乙醇洗部位总离子流

Figure. 3. Total ion chromatogram of the 40% ethanol-eluted purified fraction from GXBD

注：A. 正离子模式；B. 负离子模式；80-CSR对应的色谱峰为GXBD中CSR特征峰。

## 2.5 分子对接

22个化合物与 Parkin、FUNDC1 和 Caspase-3 的结合能见表 4，以结合能均  $< -7$  kcal/mol 进行综合排名，其中与 3 个靶点结合能均  $< -7$  kcal/mol 的化合物有 3 个，分别为法巴森 (fabacein)、奥佩库林 A (opercurin A) 和 CSR，其中，CSR 对 3

个靶点均表现出均衡且高效的结合能力，具备多靶点调节的潜力，其黄酮母核均能与 Caspase-3 和 FUNDC1 活性位点的关键残基形成稳定氢键 (图 4A 和图 4B)，同时，其芳香环还能精准插入 Parkin 的 Leu204 疏水裂隙中 (图 4C)。因此，后续选择 CSR 作为代表性活性成分进行机制研究。

表4 靶点与成分的结合能

Table 4. Binding energy of targets and components

序号	名称	结合能 (kcal/mol)		
		Caspase-3	Parkin	FUNDC1
1	虫草素 (cordycepin)	-5.8	-5.0	-5.6
2	葫芦巴碱 (trigonelline)	-4.3	-4.0	-4.1
3	毛果芸香碱 (pilocarpine)	-4.8	-4.3	-4.6
4	西藏龙胆碱 (gentiatisbetine)	-4.6	-4.6	-5.1
5	掌叶半夏碱戊 (pedatisectine F)	-4.9	-4.3	-5.3
6	枇杷苷A (eriojaposide A)	-7.8	-6.3	-7.1
7	栀子黄素A (gardenin A)	-6.6	-5.6	-6.2
8	甘草苷 (liquiritin)	-7.3	-6.6	-6.8
9	茉莉酸 (jasmonic acid)	-5.1	-4.7	-5.3
10	五味子醇甲 (schizandrin)	-6.2	-5.9	-5.5
11	哈尔满碱 (harman)	-5.6	-5.6	-5.6
12	肉叶芸香碱 (harmine)	-5.7	-5.6	-5.8
13	法巴森 (fabacein)	-7.2	-7.1	-7.3
14	红豆杉树脂醇 (taxiresinol)	-7.3	-6.2	-7.5
15	柯伊利素-7-O-葡萄糖苷 (thermopsoside)	-7.6	-6.6	-7.4
16	知母皂苷BII (timosaponin BII)	-7.8	-6.1	-7.3
17	欧乌头碱 (napelline)	-7.3	-6.8	-7.3
18	奥佩库林A (opercurin A)	-8.4	-7.4	-7.5
19	雪上一枝蒿甲素 (bullatine A)	-7.5	-6.4	-7.4
20	薤白苷F (macrostemonoside F)	-8.1	-6.5	-7.6
21	金圣草黄素 (chrysoeriol)	-7.3	-7.2	-7.4
22	蚱蜢酮 (grasshopper ketone)	-5.1	-4.8	-5.0

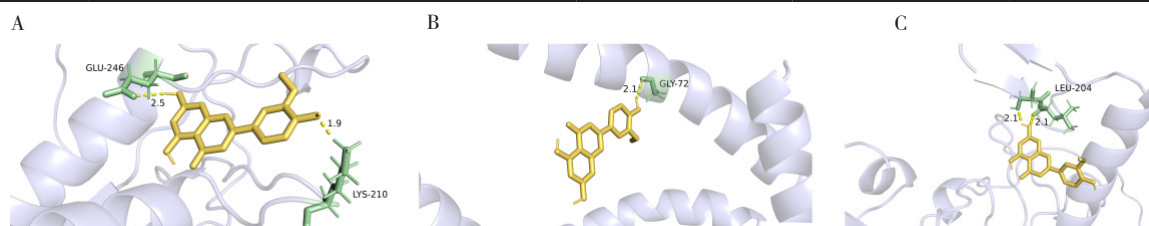


图4 CSR与Caspase-3、FUNDC1和Parkin分子对接模式图

Figure 4. Molecular docking pattern diagram of CSR with Caspase-3, FUNDC1, and Parkin.

注: A. Caspase-3; B. FUNDC1; C. Parkin。

## 2.6 CSR对H/R的H9c2心肌细胞的干预作用

### 2.6.1 CSR对H/R和H9c2细胞存活率影响

与 Ctrl组相比，CSR 在 20.0、40.0、80.0  $\mu\text{mol/L}$  的浓度下表现出显著的抗 H/R 心肌细胞损伤作用 ( $P < 0.01$ )，且呈剂量依赖性 (图 5)。

### 2.6.2 H9c2细胞内凋亡蛋白以及线粒体自噬蛋白检测

同 Ctrl组相比，H/R组的细胞凋亡蛋白 Caspase-3 表达量显著增加 ( $P < 0.01$ )，给予 CSR

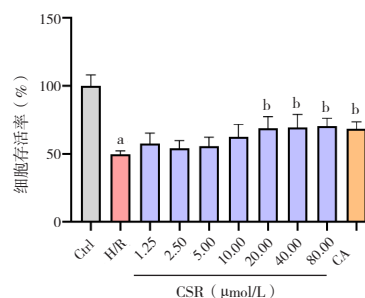


图5 CSR对H/R细胞活力的影响 ( $n=3$ )

Figure 5. Effect of CSR on H/R-induced cell viability ( $n=3$ )

注: 与Ctrl组比较,  $^a P < 0.01$ ; 与H/R组比较,  $^b P < 0.05$ 。

干预后 Caspase-3 表达量显著降低 ( $P < 0.01$ )，见图 6A 和图 6B。同 Ctrl 组相比，H/R 组的 Parkin 和 FUNDC1 表达量极显著降低 ( $P < 0.01$ )，给予 CSR 后可显著上调线粒体自噬相关蛋白 Parkin

( $P < 0.01$ ) 和 FUNDC1 的表达 ( $P < 0.05$ )，见图 6C~6E。结果提示，CSR 可能通过激活 Parkin 和 FUNDC1 依赖的线粒体自噬途径，抑制细胞凋亡，减轻 H9c2 心肌细胞的 H/R 损伤。

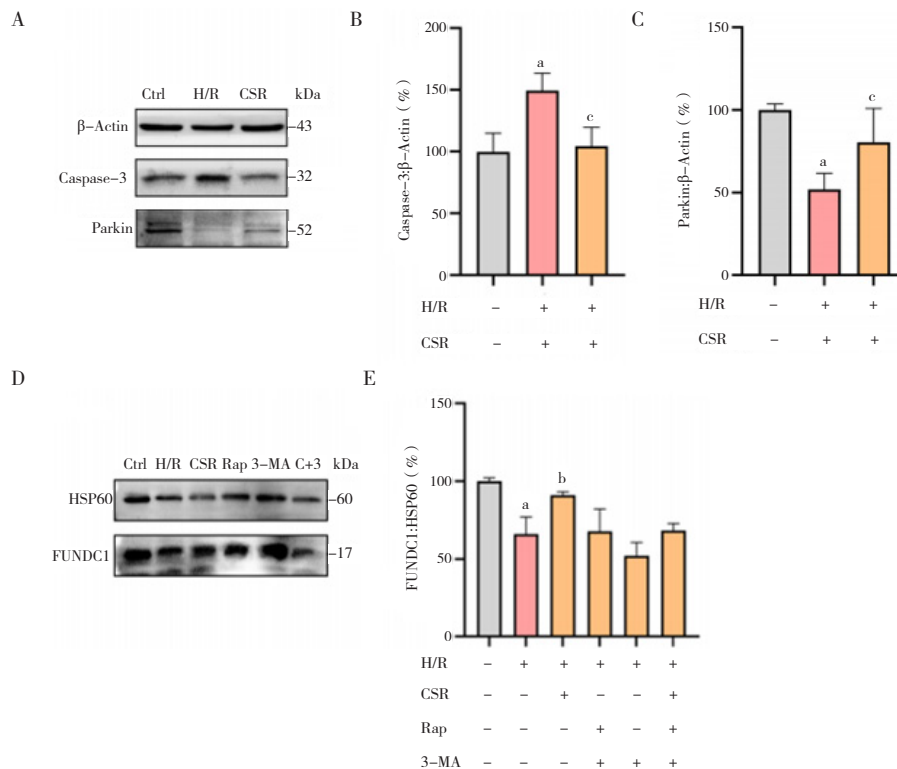


图6 CSR对H/R细胞凋亡蛋白以及线粒体自噬蛋白相关指标的影响

Figure 6. Effect of CSR on apoptotic and mitophagy-related proteins in H/R-induced cells

注：A和B. Caspase-3蛋白表达变化；A和C. Parkin蛋白表达变化；D和E. FUNDC1蛋白表达变化；与Ctrl组比较，<sup>a</sup> $P < 0.01$ ；与H/R组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ，<sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

本研究围绕 GXBD 改善 H/R 心肌损伤的物质基础与作用机制展开，包括复方有效部位分离纯化、活性化学成分鉴定到细胞分子机制验证。在工艺与成分分析层面，采用水提醇沉法联合大孔吸附树脂得到 GXBD 中黄酮为代表的 40% 乙醇洗脱部位，其黄酮含量为 1.54%，与文献<sup>[18]</sup>报道基本一致。采用 UHPLC-Q-TOF-MS 技术进一步从 40% 乙醇洗脱部位鉴定出 88 种化合物，涵盖黄酮类、生物碱类、氨基酸类等多种结构类型，与现有研究报道结果基本一致<sup>[19]</sup>。其中，CSR 是一种天然黄酮化合物，存在于瓜蒌、金银花等多种中草药中，且可通过抑制凋亡通路减轻心肌缺血再灌注损伤<sup>[20-22]</sup>。本研究在 40% 乙醇洗脱部位中也鉴定出 CSR 成分，且该成分表现出良好的抗心肌损伤作用。在细胞保护作用与机制层面，研究发现

GXBD 的 40% 乙醇洗脱部位与水洗部位均能剂量依赖性地提升 H9c2 心肌细胞在 H/R 损伤模型中的存活率，并改善细胞形态学异常，提示 GXBD 确有保护心肌潜力。研究表明，CSR 不仅显著抑制凋亡关键蛋白 Caspase-3 的表达，还可上调线粒体自噬相关蛋白 Parkin 与 FUNDC1 的表达。Caspase-3 是细胞凋亡的关键执行蛋白，其高表达直接反映细胞凋亡水平<sup>[23]</sup>。本次 Parkin 的实验结果与李想等<sup>[24]</sup>的研究结果一致。本研究还通过线粒体膜蛋白抑制剂和激动剂实验进一步验证 H/R 模型细胞中 FUNDC1 的表达趋势，结果也符合预期。本次实验结果显示，CSR 通过激活 Parkin 和 FUNDC1 介导的线粒体自噬通路，减少细胞凋亡，从而发挥心肌保护作用。

GXBD 临床用于治疗痰浊闭阻型胸痹，中医学所述之“痰浊”源于脾失健运，津液化失其正，又因胸阳不振，气机不畅，痰浊上犯，导致痰浊

闭阻型胸痹，与现代医学之冠心病的基本病理机制具有病证对应的关系<sup>[25]</sup>。冠状动脉狭窄导致心肌细胞处于缺血缺氧的状态，心肌细胞可通过调控线粒体自噬相关的信号通路蛋白或激酶，激活线粒体自噬过程，减轻心肌细胞损伤<sup>[26]</sup>。GXBD中活性成分 CSR 通过激活线粒体自噬保护心肌细胞，在分子水平上为治疗痰浊闭阻型胸痹提供了思路。然而，GXBD 作为中医经典名方，其药效机制是多成分、多靶点协同作用的结果。除 CSR 外，本研究表现出的黄酮类成分和其他化学成分也有可能通过不同途径参与心肌保护。例如，牛耘等<sup>[27]</sup>发现 GXBD 通过调控转化生长因子- $\beta$ 1/Smads 通路，能抑制心肌细胞外基质重构，可显著改善心肌缺血大鼠的心功能和心肌病理形态变化，降低大鼠心肌损伤程度。陈文豪等<sup>[28]</sup>报道 GXBD 可通过调节缺氧诱导因子-1 $\alpha$ /血管内皮生长因子通路，发挥缓解心肌损伤作用。GXBD 还可以促进成纤维细胞生长因子 21/成纤维细胞生长因子受体 1/ $\beta$ -klotho 蛋白-成纤维细胞生长因子受体底物 2 信号通路蛋白的表达，抑制了成纤维细胞受体底物 2 $\alpha$  的磷酸化，减轻心肌细胞的凋亡<sup>[29]</sup>。Tsikas 等<sup>[30]</sup>报道的氨基酸类成分可能通过改善能量代谢或抗氧化应激发挥辅助作用。因此，未来的研究仍需关注 GXBD 整体成分群的协同效应。本次研究虽基于体外模型验证了复方化学组分和代表性化学成分的抗心肌细胞损伤作用，但其体内药效及药代动力学特性尚未验证。此外，PINK1-Parkin 与 FUNDC1 是线粒体自噬的两条经典途径。传统观点认为二者相对独立，但近年研究表明，这两条通路之间存在复杂的交互作用。磷酸甘油酸变位酶家族成员 5 (PGAM family member 5, PGAM5) 是连接两条通路的上游关键节点蛋白之一。在缺氧应激下，PGAM5 可促进 FUNDC1 去磷酸化，激活 FUNDC1 介导的线粒体自噬<sup>[31]</sup>。同时，PGAM5 也是 PINK1/Parkin 通路上游调控蛋白，全长形式的 PGAM5 促进 PINK1 的稳定积聚，激活 Parkin 通路<sup>[32]</sup>。另外，膜相关 RING-CH 型蛋白 5 (membrane-associated RING-CH-type finger 5, MARCH5) 是另一关键的交互调控节点。研究表明，MARCH5 通过对 FUNDC1 进行泛素化修饰，调节 FUNDC1 通路<sup>[33]</sup>。同时，MARCH5 通过介导线粒体融合蛋白 2 的泛素化降解，调控 Parkin 通路<sup>[34]</sup>。通路之间的交互作用及

其上游调控机制仍需进一步研究，未来可通过动物实验、基因敲除或过表达模型，并结合代谢组学、转录组学、蛋白质组学等多组学技术，深入揭示 GXBD 多成分协同作用网络及其在心肌保护中的系统生物学机制。

综上所述，本研究采用 UHPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定并验证了 GXBD 中以 CSR 为代表的黄酮类活性成分的抗 H/R 心肌损伤的保护作用。采用分子生物学技术，通过体外实验进一步明确了 GXBD 中的活性成分 CSR 通过激活 Parkin 和 FUNDC1 介导的线粒体自噬通路减轻心肌 H/R 损伤的药效机制。

附件见《药学前沿》官网附录 ( <https://yxqy.whuzhmedj.com/futureApi/storage/appendix/202602014.pdf> )

#### 参考文献

- 1 张仲景, 著. 金匱要略 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 31.
- 2 Xiang Z, Wang Y, Liu S. The chemical and metabolite profiles of Gualou-Xiebai-Banxia decoction, a classical traditional Chinese medicine formula, by using high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and in-house software[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 288: 114994. DOI: 10.1016/j.jep.2022.114994.
- 3 Zhu L, Bao Y, Liu Z, et al. Gualou-Xiebai herb pair ameliorate atherosclerosis in HFD-induced ApoE mice and inhibit the ox-LDL-induced injury of HUVECs by regulating the Nrf2-mediated ferroptosis[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 326: 117892. DOI: 10.1016/j.jep.2024.117892.
- 4 Zhu L, Liu Z, Liu J, et al. NCOA4 linked to endothelial cell ferritinophagy and ferroptosis: a key regulator aggravate aortic endothelial inflammation and atherosclerosis[J]. Redox Biol, 2025, 79: 103465. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103465.
- 5 Ding YF, Peng YR, Shen H, et al. Gualou Xiebai decoction inhibits cardiac dysfunction and inflammation in cardiac fibrosis rats[J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16: 49. DOI: 10.1186/s12906-016-1012-5.
- 6 李纪新, 周瑞玲, 黄弘博, 等. 中药及活性成分干预动脉粥样硬化的关键途径: 血管平滑肌细胞增殖、迁移与表型转化[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(23): 6583-6597. [Li JX, Zhou RL, Huang HB, et al. Critical pathways of traditional Chinese medicine and active ingredients for intervention in atherosclerosis: proliferation, migration, and phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2025, 50(23): 6583-6597.] DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20250811.602.
- 7 Saito T, Nah J, Oka SI, et al. An alternative mitophagy pathway mediated by Rab9 protects the heart against ischemia[J]. J Clin

- Invest, 2019, 129(2): 802–819. DOI: [10.1172/JCI122035](https://doi.org/10.1172/JCI122035).
- 8 Sun Y, Cai Y, Zang QS. Cardiac Autophagy in sepsis[J]. Cells, 2019, 8(2): 141. DOI: [10.3390/cells8020141](https://doi.org/10.3390/cells8020141).
- 9 Xia JY, Chen C, Lin Q, et al. Role of mitophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury and Chinese medicine treatment[J]. Chin J Integr Med, 2023, 29(1): 81–88. DOI: [10.1007/s11655-021-3301-1](https://doi.org/10.1007/s11655-021-3301-1).
- 10 Yao RQ, Ren C, Xia ZF, et al. Organelle-specific autophagy in inflammatory diseases: a potential therapeutic target underlying the quality control of multiple organelles[J]. Autophagy, 2021, 17(2): 385–401. DOI: [10.1080/15548627.2020.1725377](https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1725377).
- 11 Zhang W, Ren H, Xu C, et al. Hypoxic mitophagy regulates mitochondrial quality and platelet activation and determines severity of I/R heart injury[J]. Elife, 2016, 5: e21407. DOI: [10.7554/eLife.21407](https://doi.org/10.7554/eLife.21407).
- 12 Fang G, Wen X, Jiang Z, et al. FUNDC1/PFKP-mediated mitophagy induced by KD025 ameliorates cartilage degeneration in osteoarthritis[J]. Mol Ther, 2023, 31(12): 3594–3612. DOI: [10.1016/j.ymthe.2023.10.016](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2023.10.016).
- 13 Chen L, Lv Y, Wu H, et al. Gastrodin exerts perioperative myocardial protection by improving mitophagy through the PINK1/Parkin pathway to reduce myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Phytomedicine, 2024, 133: 155900. DOI: [10.1016/j.phymed.2024.155900](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155900).
- 14 Wang Y, Jasper H, Toan S, et al. Mitophagy coordinates the mitochondrial unfolded protein response to attenuate inflammation-mediated myocardial injury[J]. Redox Biol, 2021, 45: 102049. DOI: [10.1016/j.redox.2021.102049](https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102049).
- 15 陈丝, 贾连群, 宋因, 等. 化痰祛痰方调控线粒体自噬相关蛋白减少动脉粥样硬化家兔肝脏脂质沉积的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41(4): 310–315. [Chen, S, Jia, LQ, Song, N, et al. Stasis-removing phlegm-resolving formula reduces hepatic lipid deposition in rabbits with atherosclerosis through regulating mitochondrial autophagy related proteins[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2018, 41(4): 310–315.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-2157.2018.04.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-2157.2018.04.009).
- 16 国家中医药管理局. 《古代经典名方关键信息表(25首方剂)》[EB/OL]. (2022-09-16) [2026-04-03]. <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/gongzuodongtai/2022-09-27/27803.html>.
- 17 李永鑫, 高彦宇, 王晓雨, 等. 金丹含药血清通过 PINK1/Parkin 通路减轻 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤的机制研究[J]. 时珍国医药, 2022, 33(11): 2615–2618. [Li, YX, Gao, YY, Wang, XY, et al. Mechanism of Jindan-containing serum alleviating H/R injury in H9c2 cardiomyocytes via the PINK1/Parkin pathway[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2022, 33(11): 2615–2618.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-0805.2022.11.14](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-0805.2022.11.14).
- 18 韩晓强, 孙海彪, 刘海波. 正交试验法优选瓜蒌总黄酮的提取工艺[J]. 中国药物与临床, 2014, 14(10): 1365–1366. [Han XQ, Sun HB, Liu HB. Optimization of extraction process for total flavonoids from *Trichosanthis Fructus* by orthogonal test method[J]. Chinese Remedies & Clinics, 2014, 14(10): 1365–1366.] DOI: [10.11655/zgywylc2014.10.019](https://doi.org/10.11655/zgywylc2014.10.019).
- 19 刘明阳, 金莹, 赵启韬, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 分析酒煎瓜蒌薤白半夏汤物质成分[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(9): 141–148. [Liu, MY, Jin, Y, Zhao, QT, et al. Analysis of chemical constituents in wine-fried Gualou Xiebai Banxia decoction by UPLC-Q-TOF-MS[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2024, 51(9): 141–148.] DOI: [10.13192/j.issn.1000-1719.2024.09.039](https://doi.org/10.13192/j.issn.1000-1719.2024.09.039).
- 20 刘飞, 李佳, 张永清. 栝楼雄株茎叶黄酮类化合物的分离及其清除 DPPH 能力研究[J]. 中草药, 2016, 47(23): 4141–4145. [Liu, F, Li, J, Zhang, YQ. Separation of flavonoids from stems and leaves of male plants in *Trichosanthes kirilowii* and study on their activity of scavenging DPPH free radical[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(23): 4141–4145.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.004](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.004).
- 21 黄文静, 熊乐文, 张龙霏, 等. 不同种质金银花发育过程中黄酮类成分含量变化规律研究[J]. 中草药, 2022, 53(10): 3156–3164. [Huang, WJ, Xiong, LW, Zhang, LF, et al. Study on content variation of flavonoids in different germplasm during development of *Lonicerae japonicae flos*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(10): 3156–3164.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.026](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.026).
- 22 邓颖, 白殊同. 金圣草黄素相关药理作用机制的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(10): 1155–1162. [Deng, Y, Bai, ST. Research advance of chrysoeriol on its pharmacological action and underlying mechanism[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2022, 27(10): 1155–1162.] DOI: [10.12092/j.issn.1009-2501.2022.10.010](https://doi.org/10.12092/j.issn.1009-2501.2022.10.010).
- 23 谢建, 高波, 梁珊珊, 等. 茯苓酸通过调控 PINK1/Parkin 信号通路介导的线粒体自噬改善冠心病大鼠心肌梗死[J]. 中国药房, 2025, 36(18): 2267–2272. [Xie J, Gao B, Liang SS, et al. Improvement effects of pachymic acid on myocardial injury in coronary heart disease rats by regulating mitochondrial autophagy mediated by the PINK1/Parkin signaling pathway[J]. China Pharmacy, 2025, 36(18): 2267–2272.] DOI: [10.6039/j.issn.1001-0408.2025.18.09](https://doi.org/10.6039/j.issn.1001-0408.2025.18.09).
- 24 李想, 张华敏, 崔海峰, 等. 栝楼薤白半夏汤对心肌缺血再灌注损伤大鼠自噬及 PINK1/Parkin 通路作用研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(11): 1626–1630. [Li X, Zhang HM, Cui HF, et al. Effect of Gualou Xiebai Banxia decoction on autophagy and the PINK1/Parkin pathway in rats with myocardial ischemiareperfusion injury[J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2020, 26(11): 1626–1630.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-3250.2020.11.017](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-3250.2020.11.017).
- 25 贾梦丽, 娄政驰, 张蕊, 等. 基于玄府理论探讨苍附导痰汤治疗痰浊闭阻型冠心病胸痛临床研究[J]. 中医药信息, 2024, 41(1): 54–58. [Jia ML, Lou ZC, Zhang R, et al. A randomized controlled study of Cangfu Daotan decoction for chest pain in patients with coronary heart disease of phlegm turbid obstruction type based on xuanfu theory[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2024, 41(1): 54–58.] DOI: [10.19656/j.cnki.1002-2406.20240111](https://doi.org/10.19656/j.cnki.1002-2406.20240111).
- 26 Song X, Deng J, Wang D, et al. Rg<sub>1</sub>-R<sub>1</sub> attenuates cardiac ischemia/reperfusion-induced endothelial cell injury through activating the

- ULK1/PGAM5-FUNDC1-mitophagy pathway[J]. *J Ginseng Res*, 2026, 50(2): 100973. DOI: [10.1016/j.jgr.2025.100973](https://doi.org/10.1016/j.jgr.2025.100973).
- 27 牛耘, 谭颖颖, 张琪. 瓜蒌薤白半夏汤调控 TGF- $\beta$ 1/Smads 信号通路对心肌缺血模型大鼠心肌细胞外基质重构的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2025, 31(3): 456-462. [Niu Y, Tan YY, Zhang Q. Effect of Gualou Xiebai Banxia Tang on regulating TGF- $\beta$ 1/Smads signaling pathway on the extracellular matrix remodeling in myocardial ischemia model rats[J]. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2025, 31(3): 456-462.] DOI: [10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2025.03.021](https://doi.org/10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2025.03.021).
- 28 陈文豪, 孟维闪, 李红, 等. 瓜蒌薤白半夏汤对心肌缺血模型大鼠心肌微血管生成与 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 相关通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(17): 1-9. [Chen WH, Meng WS, Li H, et al. Effect of Gualou Xiebai Banxia decoction on myocardial microvascular generation and the HIF1 $\alpha$ /VEGF related pathway in myocardial ischemia model rats[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2024, 30(17): 1-9.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20240523](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20240523).
- 29 Wu M, Hu C, Sun T, et al. Effective fraction of Gualou-Xiebai-Banxia decoction inhibits the apoptosis of myocardial cells induced by ox-LDL via FGF21/FGFR1/ $\beta$ Klotho-FRS2 $\alpha$  signal pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt B): 117054. DOI: [10.1016/j.jep.2023.117054](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117054).
- 30 Tsikas D, Gambaryan S. Nitrous anhydrase activity of carbonic anhydrase II: cysteine is required for nitric oxide (NO) dependent phosphorylation of VASP in human platelets[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2021, 36(1): 525-534. DOI: [10.1080/14756366.2021.1874946](https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1874946).
- 31 Ma K, Zhang Z, Chang R, et al. Dynamic PGAM5 multimers dephosphorylate BCL-xL or FUNDC1 to regulate mitochondrial and cellular fate[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2020, 27(3): 1036-1051. DOI: [10.1038/s41418-019-0396-4](https://doi.org/10.1038/s41418-019-0396-4).
- 32 Wang Y, Ren T, Li C, et al. Mechanisms involved in the regulation of mitochondrial quality control by PGAM5 in heart failure[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2024, 29(3): 510-518. DOI: [10.1016/j.cstres.2024.05.004](https://doi.org/10.1016/j.cstres.2024.05.004).
- 33 Li K, Xia X, Tong Y. Multiple roles of mitochondrial autophagy receptor FUNDC1 in mitochondrial events and kidney disease[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2024, 12: 1453365. DOI: [10.3389/fcell.2024.1453365](https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1453365).
- 34 Zoabi FH, Zerihun M, Lizarovich R, et al. Inhibiting MARCH5/Mfn2 signaling as an alternative strategy to protect cardiomyocytes from hypoxia-induced mitochondrial dysfunction[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2025, 27: 3045-3065. DOI: [10.1016/j.csbj.2025.07.001](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2025.07.001).

收稿日期: 2026 年 02 月 05 日 修回日期: 2026 年 03 月 11 日  
本文编辑: 李 阳 钟巧妮