基于 MAPK 信号通路探讨甘草黑豆制草乌降低心脏毒性的作用机制*

赵颖，包丽媛，宋亮亮，李文汇，王靖，刘子琴，王宏月，王家胜，祖文婷，杜红✉

北京中医药大学，北京 100029

摘要：目的：基于丝裂原活化蛋白激酶（mitogen－activated protein kinase，MAPK）信号通路探讨甘草、黑豆炮制草乌后降低心脏毒性的作用机制。方法：将 35 只 SD 大鼠随机分为空白组、生草乌高剂量组（0.24 g·kg^{-1}）、生草乌低剂量组（0.12 g·kg^{-1}）、甘草黑豆制草乌高剂量组（简称制草乌高剂量组，0.24 g·kg^{-1}）、甘草黑豆制草乌低剂量组（简称制草乌低剂量组，0.12 g·kg^{-1}），连续灌胃 14 d。监测大鼠心电图，记录心率并行心律失常评分；ELISA 检测血清肌酸激酶（creatine kinase，CK）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）、谷草转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）、氨基末端脑钠肽前体（N－terminal pro－B－type natriuretic peptide，NT－proBNP）、心肌肌钙蛋白Ⅰ（cardiac troponin Ⅰ，cTnI）水平；ELISA 检测心肌组织丙二醛（malondialdehyde，MDA）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、过氧化氢酶（catalase，CAT）水平；HE 染色观察心肌组织病理形态。以 H9*c*2 心肌细胞进一步评价心脏毒性，分为空白组、对照组、生草乌组及制草乌组。采用 MTT 法检测细胞存活率，免疫荧光染色法检测细胞核、活性氧（reactive oxygen species，ROS）及线粒体膜电位，ELISA 检测细胞 MDA、SOD、还原型谷胱甘肽（glutathione，GSH）水平，Western blot 检测细胞 p38 MAPK、p－p38 MAPK、c－Jun 氨基末端激酶（c－Jun N－terminal kinase，JNK）、p－JNK、B 淋巴细胞瘤－2（B－cell lymphoma－2，Bcl－2）、Bcl－2 相关 X 蛋白（Bcl－2 associated X protein，Bax）蛋白表达水平。结果：（1）与空白组比较，生草乌高剂量组大鼠发生严重心律失常，心率升高（$P<0.05$），心肌纤维排列疏松紊乱，血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI 水平升高（$P<0.05$），心肌组织 MDA 水平升高、SOD 与 CAT 水平降低（$P<0.05$）。（2）与生草乌组比较，制草乌高剂量组大鼠心律基本正常，心肌组织结构正常，血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI 水平降低（$P<0.01$），心肌组织 MDA 水平降低、CAT 水平升高（$P<0.01$）。（3）与对照组比较，20 g·L^{-1}生草乌组细胞出现凋亡，ROS 释放增加，线粒体膜电位降低（$P<0.01$），MDA 水平升高、GSH 水平降低（$P<0.01$），p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bax、Bax/Bcl－2 表达水平升高（$P<0.05$），Bcl－2 表达水平降低（$P<0.01$）。（4）与生草乌组比较，20 g·L^{-1}制草乌组细胞存活率升高（$P<0.01$），细胞凋亡和 ROS 释放减少（$P<0.01$），线粒体膜电位升高（$P<0.01$），MDA 水平降低、SOD 与 GSH 水平升高（$P<0.01$），p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bax、Bax/Bcl－2 表达水平降低（$P<0.01$），Bcl－2 表达水平升高（$P<0.01$）。结论：生草乌诱导心脏发生氧化应激、线粒体功能障碍和细胞凋亡，MAPK、JNK 信号通路过度激活，产生心脏毒性；甘草黑豆制草乌可能通过提升抗氧化和抗凋亡能力，抑制 MAPK、JNK 信号通路，从而发挥心脏减毒作用。

关键词：甘草黑豆制草乌；心脏毒性；MAPK 信号通路；JNK 信号通路；生草乌；炮制减毒；氧化应激；细胞凋亡

DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.07.226

中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674－8999(2026)07－1531－10

Action Mechanism of Caowu（Radix Aconiti Agrestis）Processed with Gancao（Licorice）and Heidou（black soybean）Reducing Cardiac toxicity Based on MAPK Signaling Pathway

ZHAO Ying，BAO Liyuan，SONG Liangliang，LI Wenhui，WANG Jing，LIU Ziqin，WANG Hongyue，WANG Jiasheng，ZU Wenting，DU Hong

Beijing University of Chinese Medicine，Beijing China 100029

* **基金项目：**国家自然科学基金项目（82274206，82130113）

作者简介：赵颖（1999－），女，山东聊城人，医学硕士，主要从事毒性中药炮制机理研究。

✉ **通信作者：**杜红，医学博士，教授，博士研究生导师，主要从事中药炮制机制研究。E－mail：duhong@vip.163.com

Abstract: Objective: To investigate the mechanism by which licorice and black bean processed Caowu to reduce cardiac toxicity based on the mitogen – activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. Methods: Thirty – five SD rats were randomly divided into a blank group, a high – dose group of raw Caowu (0.24 g · kg^{-1}), a low – dose group of raw Caowu (0.12 g · kg^{-1}), a high – dose group of Caowu processed with licorice and black soybean (high – dose group with processed Caowu, 0.24 g · kg^{-1}), and a low – dose group of Caowu processed with licorice and black soybean (0.12 g · kg^{-1}), and administered continuously for 14 days. Monitor rat ECGs, record heart rate and parallel arrhythmia scores; ELISA detects serum creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), and N – terminal pro – B – type natriuretic peptide (NT – proBNP). cardiac troponin I (cTnI) levels; ELISA detected malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) levels in myocardial tissue; HE staining observes the pathological morphology of myocardial tissue. Cardiotoxicity was further evaluated using H9c2 cardiomyocytes, and divided into a control group, a blank group, a raw Aconitum group, and a processed Aconitum group. Cell survival rate was measured by MTT; Immunofluorescence staining detects nucleus, reactive oxygen species (ROS), and mitochondrial membrane potentials; ELISA detects cellular levels of MDA, SOD, and reduced glutathione (GSH); Western blot was used to detect the expression levels of p38 MAPK, p – p38 MAPK, c – Jun N – terminal kinase (JNK), p – JNK, B – cell lymphoma – 2 (Bcl – 2), and Bcl – 2 associated X protein (Bax). Results: (1) Compared with the blank group, rats in the high – dose raw Aconitum group exhibited severe arrhythmia, increased heart rate ($P<0.05$), disorganized myocardial fiber arrangement, elevated serum levels of CK, LDH, AST, NT – proBNP, and cTnI ($P<0.05$), increased myocardial tissue MDA levels, and decreased SOD and CAT levels ($P<0.05$). (2) Compared with the raw Aconitum group, rats in the high – dose processed Aconitum group had mostly normal heart rhythms, normal myocardial tissue structure, decreased serum levels of CK, LDH, AST, NT – proBNP, and cTnI ($P<0.01$), decreased myocardial tissue MDA levels, and increased CAT levels ($P<0.01$). (3) Compared with the blank group, cells in the 20 g · L^{-1} raw Aconitum group showed apoptosis, increased ROS release, decreased mitochondrial membrane potential ($P<0.01$), elevated MDA levels, decreased GSH levels ($P<0.01$), increased expression levels of p – p38 MAPK/p38 MAPK, p – JNK/JNK, Bax and Bax/Bcl – 2 ($P<0.05$), and decreased Bcl – 2 expression ($P<0.01$). (4) Compared with the raw Aconitum group, cells in the 20 g · L^{-1} processed Aconitum group showed increased cell viability ($P<0.01$), reduced apoptosis and ROS release ($P<0.01$), increased mitochondrial membrane potential ($P<0.01$), decreased MDA levels, increased SOD and GSH levels ($P<0.01$), decreased expression levels of p – p38 MAPK/p38 MAPK, p – JNK/JNK, Bax and Bax/Bcl – 2 ($P<0.01$), and increased Bcl – 2 expression ($P<0.01$). Conclusion: Raw Caowu induces cardiac oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and cell apoptosis, with overactivation of MAPK and JNK signaling pathways, resulting in cardiotoxicity. Caowu processed with licorice and black soybean may exert cardioprotective effects by enhancing antioxidant and anti – apoptotic capacity and inhibiting MAPK and JNK signaling pathways.

Key words: Caowu processed with Gancao (licorice) and Heidou (black soybean); cardiotoxicity; MAPK signaling pathway; JNK signaling pathway; raw Caowu; detoxification by herb processing; oxidative stress; cell apoptosis

草乌为毛茛科植物北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb. 的干燥块根，能祛风除湿、温经止痛[1]，生品有大毒，主要表现为心脏毒性，使用不当会导致心律失常、急性心力衰竭甚至心搏骤停[2]等事件，常需炮制后使用。1963 年版《中华人民共和国药典》[3]收载制草乌，具体炮制方法为甘草、黑豆煎汤与生草乌共煮至透。北京、甘肃等多地炮制规范亦收载甘草、黑豆等辅料炮制草乌[4-5]。甘草黑豆制草乌的炮制方法独具一格，加热的同时引入两味补益类中药。相关研究表明，甘草、黑豆中的活性成分具有抗氧化等多种药理作用。侯立静等[6]发现，甘草素、甘草苷可改善甲硝唑致斑马鱼表皮角质细胞的氧化损伤；甘草茎叶黄酮可减轻脂多糖所致小鼠海马神经元细胞氧化损伤，提高细胞抗氧化能力，抑制线粒体膜电位下降及细胞凋亡[7]。杨红等[8]测定黑豆水提液中总黄酮与总多酚含量及其活性，发现黑豆有抗氧化、抗炎活性。黑豆多肽对超氧阴离子自由基、羟自由基等氧化因子有一定的清除能力[9]。

乌头类生物碱是草乌中的主要毒性成分，相关研究表明，乌头碱致心脏毒性作用机制主要集中在离子通道、氧化损伤、细胞凋亡、能量代谢等方面。前期药理研究结果表明，生草乌会导致心肌细胞活性氧（reactive oxygen species，ROS）释放增加，线粒体膜电位降低，发生细胞凋亡。丝裂原活化蛋白激酶（mitogen – activated protein kinase，MAPK）是普遍存在于真核生物体内的一类蛋白激酶，MAPK 信号转导通路在心脏氧化损伤中起重要作用[10]。MAPK 家族信号通路主要包括 p38 MAPK、c – Jun 氨基末端激酶（c – Jun N – terminal kinase，JNK）、细胞外调节蛋白激酶 1/2（extracellular signal – regulated kinase 1/2，ERK1/2）3 个亚族[10]。研究表明，ROS 是 MAPK 信号通路上游的影响因素，p38 MAPK 和 JNK

通路可被 ROS、炎症等激活，导致细胞坏死、凋亡。同时，p38 MAPK 信号通路是乌头碱类物质发挥毒性的重要途径[11]，乌头碱会导致机体内 ROS 过量产生，发生氧化应激损伤。

草乌经甘草、黑豆炮制后可降低毒性，但有关甘草黑豆制草乌减毒机制的研究较少。上述研究提示，甘草黑豆制草乌减毒作用可能与提升抗氧化水平、调控 MAPK 信号通路等有关。基于此，本研究以心脏毒性与氧化应激损伤为切入点，观察生草乌与甘草黑豆制草乌对大鼠、H9c2 心肌细胞的毒性差异，并基于 MAPK 信号通路探讨相关作用机制，为提高草乌的临床安全性提供理论依据。

1　材料

1.1　动物与细胞　SPF 级雄性 SD 大鼠 35 只，体质量 180 ~ 200 g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，许可证号：SCXK（京）2019 - 0010。大鼠饲养于北京中医药大学动物房，温度（22 ± 2）℃，相对湿度（50 ± 5）%，光暗循环 12 h/12 h，自由饮水。本研究获得北京中医药大学实验动物伦理委员会许可，伦理审批号：BUCM - 4 - 2023022102 - 1018。

大鼠 H9c2 心肌细胞，购自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。

1.2　药物与试剂　草乌（北京华邈中药工程技术开发中心，批号：311271）；甘草片（批号：2102001）、黑豆（批号：2108014）购自北京市双桥燕京中药饮片厂，均经北京中医药大学中药资源与鉴定系王晶娟教授鉴定为毛茛科植物北乌头的干燥块根、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎及豆科植物大豆 *Glycine max*（L.）Merr. 的干燥成熟种子。肌酸激酶（creatine kinase，CK）试剂盒（批号：10426022N）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）试剂盒（批号：10220020N）、谷草转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）试剂盒（批号：104277010H）均购自山东博科生物产业有限公司；氨基末端脑钠肽前体（N - terminal pro - B - type natriuretic peptide，NT - proBNP）测定试剂盒（批号：202309）、心肌肌钙蛋白Ⅰ（cardiac troponin Ⅰ，cTnI）测定试剂盒（批号：202309）均购自江苏科特生物科技有限公司；丙二醛（malondialdehyde，MDA）试剂盒（批号：20230822）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）试剂盒（WST - 1 法，批号：20230815）、过氧化氢酶（catalase，CAT）试剂盒（批号：20230901）、还原型谷胱甘肽（glutathione，GSH）试剂盒（批号：20230428）、线粒体膜电位检测试剂盒（批号：20221015）均购自北京索莱宝科技有限公司；活性氧（reactive oxygen species，ROS）检测试剂盒（上海碧云天生物技术有限公司，批号：S003M）；BCA 蛋白定量试剂盒（苏州新赛美生物科技有限公司，批号：20231103）；β - Tubulin 抗体（批号：3522112107）、HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体（批号：9300014001）均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；p38 MAPK 抗体（批号：00137988）、JNK 抗体（批号：10023911）均购自武汉三鹰生物技术有限公司；p - JNK 抗体（批号：B5702）、B 淋巴细胞瘤 - 2（B - cell lymphoma - 2，Bcl - 2）抗体（批号：RK562）、Bcl - 2 相关 X 蛋白（Bcl - 2 assaciated X protein，Bax）抗体（批号：RK13）均购自美国 ImmunoWay Biotechnology 公司；p - p38 MAPK 抗体（美国 Cell Signaling Technology 公司，批号：13）。

1.3　仪器　3111 型二氧化碳培养箱（美国 ThermoFisher Scientific 公司）；Eclipse Ts2R - FL 型倒置荧光显微镜（日本 Nikon 公司）；F6/10 型匀浆机（上海净信科技）；Epoch 型酶标仪（美国 BioTek 公司）；BY - R20 型医用离心机（北京白洋医疗器械有限公司）；ECG - 3306G 型心电图机（广州市三锐电子科技有限公司）；JJ - 12J 型脱水机、JB - P5 型包埋机（武汉俊杰电子有限公司）；RM2016 型病理切片机（上海徕卡仪器有限公司）；DYY - 6C 型电泳仪（北京六一生物科技有限公司）。

2　方法

2.1　生草乌、甘草黑豆制草乌制备　根据 2020 年版《中华人民共和国药典》[1] 炮制生草乌：除去杂质，洗净，干燥。根据 1963 年版《中华人民共和国药典》[3] 炮制甘草黑豆制草乌：取净草乌，用凉水浸漂，每日换水 2 ~ 3 次，泡至口尝无麻舌感为度，取出。用甘草、黑豆煎汤共煮透，至内无白心为止，取出，除去甘草、黑豆，干燥，即得。每 50 kg 草乌，用甘草 2.5 kg，黑豆 5 kg。通过上述方法制得的生草乌与甘草黑豆制草乌，经检查测定均属合格饮片。

2.2　动物实验

2.2.1　药物制备　生草乌与甘草黑豆制草乌水煎液制备：分别称取生草乌、甘草黑豆制草乌粗颗粒（过 1 号筛）12.00 g、24.00 g，加 10 倍量水浸泡 30 min，煮沸后保持微沸继续煎煮 1 h，过滤，滤渣加 10 倍量水继续煎煮 30 min，将两次滤液合并，定容至 1 000 mL，得质量浓度为 12 g · L^{-1}、24 g · L^{-1} 药液。

2.2.2　动物分组及给药　35 只大鼠适应性喂养 7 d 后，采用随机数字表法分为空白组、生草乌高剂量组（0.24 g·kg^{-1}）、生草乌低剂量组（0.12 g·kg^{-1}）、甘草黑豆制草乌高剂量组（0.24 g·kg^{-1}）、甘草黑豆制草乌低剂量组（0.12 g·kg^{-1}），每组 7 只。各组大鼠按照相应剂量灌胃生草乌或甘草黑豆制草乌水煎液，空白组大鼠以等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液灌胃，连续 14 d。

2.2.3　心电图监测　灌胃第 14 d 时对大鼠进行心电图检测，标准Ⅱ导联配置记录心电图，ECG－3306G 心电图机记录心脏信号，选出各组代表性心电图，确定心律失常类型；记录心率，采用 Curtis 和 Walker（1988）心律失常评分法进行定量分析。

2.2.4　大鼠血清指标测定　各组大鼠心电图检测完毕后，经腹主动脉取血，室温静置 1 h，4 ℃、3 000 r·min^{-1}离心 15 min，分离血清。根据试剂盒说明书检测大鼠血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI 水平。需要说明的是，生草乌高剂量组中，2 只大鼠血液样本轻微溶血，1 只大鼠血清样本不足，予以剔除，故其余各组随机选取 4 只大鼠血清样本进行检测。

2.2.5　大鼠心肌组织指标测定　取存放于－80 ℃的大鼠心肌组织，解冻后使用样品制备液在冰浴中匀浆，4 ℃、10 000 r·min^{-1}离心 15 min，取上清，按照试剂盒说明书检测心肌组织中 MDA、SOD 和 CAT 水平。需要说明的是，部分大鼠心肌组织样本量较少，未能达到检测标准，故各组随机选取 3 只大鼠心肌组织样本进行检测。

2.2.6　HE 染色　大鼠心肌组织用 4% 多聚甲醛固定 24 h，乙醇脱水，石蜡包埋，制备 4 μm 厚度的切片。组织切片常规脱蜡脱水，行 HE 染色，采用光学显微镜观察心肌组织病理学变化。

2.3　细胞实验

2.3.1　药物制备　生草乌、甘草黑豆制草乌溶液制备：取草乌炮制品粉末，过 50 目筛，称取 2 g，加入 50 mL 甲醇置于具塞锥形瓶中，称质量，超声 1 h，再次称质量，以甲醇补足失量，过滤，滤液均匀分装至已称定质量的无菌离心管中，40 ℃烘箱挥干甲醇，再次称定离心管质量，4 ℃冰箱保存，并计算提药率。临用前用完全培养基溶解，0.45 μm 微孔滤膜过滤至另一无菌离心管中，稀释至相应浓度。

2.3.2　MTT 检测　取对数生长期 H9c2 心肌细胞接种于 96 孔板，每孔 100 μL，边缘孔用无菌 PBS 填充以减少蒸发，5% CO_2、37 ℃培养箱中孵育。24 h 后弃去旧培养基，分为空白组、对照组及药物组，具体干预方式如下。空白组：不接种细胞，只加培养基 100 μL，24 h 后弃去旧培养基，加入新鲜培养基 100 μL；对照组：接种细胞，加入新鲜培养基 100 μL；药物组：接种细胞，分别加入含不同浓度（1、2、5、10、20、40 g·L^{-1}，以生药量计）生草乌或甘草黑豆制草乌的培养基 100 μL；每组设置 3～6 个复孔。孵育 24 h 后弃去旧培养基，加入含 MTT 培养基 100 μL，再孵育 4 h 后弃去上清，每孔加入 150 μL DMSO，振荡 10 min，在 490 nm 波长下测定各孔光密度值（A），计算细胞存活率。

细胞存活率＝（$A_{药物组}$－$A_{空白组}$）/（$A_{对照组}$－$A_{空白组}$）×100%

2.3.3　免疫荧光染色　取对数生长期 H9c2 心肌细胞接种于 24 孔板，5% CO_2、37 ℃培养箱中孵育。24 h 后弃去旧培养基，分别加入含不同浓度（5、10、20 g·L^{-1}，以生药量计）生草乌、甘草黑豆制草乌的培养基各 500 μL。孵育 24 h 后，按照 Hoechst 33258 染液、ROS、线粒体膜电位检测试剂盒说明书染色，倒置荧光显微镜下观察，检测细胞核、ROS 及线粒体膜电位。

2.3.4　ELISA 检测　取对数生长期 H9c2 心肌细胞接种于 6 孔板，5% CO_2、37 ℃培养箱中孵育。24 h 后弃去旧培养基，分别加入含不同浓度（5、10、20 g·L^{-1}，以生药量计）生草乌、甘草黑豆制草乌的培养基各 2 mL。孵育 24 h 后用细胞刮刀收集细胞，离心，取上清；分别加入适量 MDA、SOD、GSH 提取液，匀浆机破碎细胞（破碎 5 s，间隔 3 s，重复 10 次，全程冰上操作），离心，取上清，BCA 法测定浓度，并根据试剂盒说明书测定细胞中 MDA、SOD、GSH 水平。

2.3.5　Western blot　取对数生长期 H9c2 心肌细胞接种于 6 孔板，5% CO_2、37 ℃培养箱中孵育。24 h 后弃去旧培养基，分别加入含不同浓度（5、10、20 g·L^{-1}，以生药量计）生草乌、甘草黑豆制草乌的培养基各 2 mL。孵育 24 h 后提取蛋白，BCA 法测定浓度。制胶后上样，电泳，电转膜，快速封闭 10 min，加入一抗（p－p38 MAPK、p－JNK、Bcl－2、Bax 稀释比例为 1∶1 000，p38 MAPK 稀释比例为 1∶2 000，JNK 稀释比例为 1∶3 000，β－Tubulin 稀释比例为 1∶5 000）于 4 ℃冰箱孵育过夜，后加入二抗（稀释比例为 1∶5 000）室温孵育 2 h，加入显影液曝光，用 Image J 软件分析条带灰度值，计算 p38 MAPK、p－p38 MAPK、JNK、p－JNK、Bcl－2、Bax 蛋白相对表达量。

2.4　统计学方法　采用 GraphPad Prism 9.0 软件分析数据，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。若数据符合正态分布且方差齐，多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 t 检验；若数据不服从正态分布，采用非参数检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3　结果

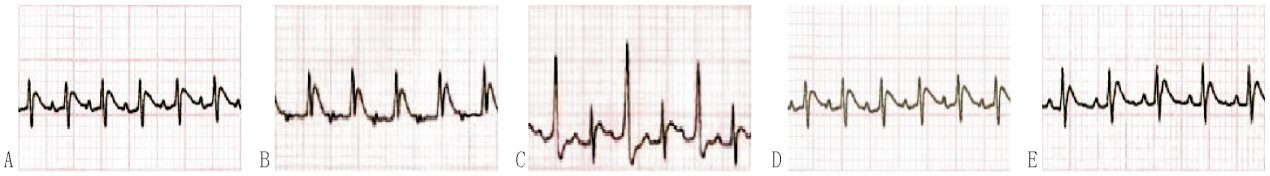
3.1　生草乌、甘草黑豆制草乌对大鼠心脏的影响

3.1.1　大鼠心电图、心率及心律失常评分　空白组大鼠心电图的 P 波、QRS 波正常，符合正常窦性心律；生草乌低剂量组大鼠出现双 P 波，为房性心律失常；生草乌高剂量组大鼠 QRS 波群振幅增大，为频发性室性早搏；甘草黑豆制草乌低、高剂量组大鼠为正常窦性心律，见图 1。与空白组比较，生草乌高剂量组大鼠心率升高（$P < 0.05$）；甘草黑豆制草乌低剂量组大鼠心率较同剂量生草乌组降低（$P < 0.01$）。各组大鼠心律失常评分比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 1。

表 1　各组大鼠心率与心律失常评分比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	心率/次 · min^{-1}	心律失常评分/分
空白组	7	397.41 ± 72.37	0.57 ± 0.79
生草乌低剂量组	7	475.53 ± 43.11	2.71 ± 2.69
生草乌高剂量组	7	500.90 ± 39.06 *	3.86 ± 2.34
甘草黑豆制草乌低剂量组	7	341.73 ± 86.73 ##	1.71 ± 2.29
甘草黑豆制草乌高剂量组	7	409.66 ± 67.55	2.43 ± 1.99

注：与空白组比较，* $P < 0.05$；与同剂量生草乌组比较，## $P < 0.01$。



注：A：空白组；B：生草乌低剂量组；C：生草乌高剂量组；D：甘草黑豆制草乌低剂量组；E：甘草黑豆制草乌高剂量组。

图 1　各组大鼠心电图

3.1.2　大鼠血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI 水平　与空白组比较，生草乌低、高剂量组大鼠血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI（低剂量组除外）水平明显升高（$P < 0.05$）；与同剂量生草乌组比较，甘草黑豆制草乌组大鼠血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP（低剂量组除外）、cTnI（低剂量组除外）水平明显降低（$P < 0.05$），见表 2。

3.1.3　大鼠心肌组织 MDA、SOD、CAT 水平　与空白组比较，其他 4 组大鼠心肌组织 MDA 水平明显升高、CAT 水平明显降低（$P < 0.05$）；与空白组比较，生草乌高剂量组大鼠心肌组织 SOD 水平明显降低（$P < 0.01$）；与同剂量生草乌组比较，甘草黑豆制草乌组大鼠心肌组织 MDA 水平显著降低、CAT 水平显著升高（$P < 0.05$）；与生草乌低剂量组比较，甘草黑豆制草乌低剂量组大鼠心肌组织 SOD 水平显著升高（$P < 0.01$），见表 3。

表 2　各组大鼠血清 CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	CK/U · L^{-1}	LDH/U · L^{-1}	AST/U · L^{-1}	NT－proBNP（ρ/ng · L^{-1}）	cTnI（ρ/ng · L^{-1}）
空白组	4	223.24 ± 10.77	1 214.41 ± 35.06	114.41 ± 5.57	21.95 ± 1.71	101.28 ± 9.29
生草乌低剂量组	4	269.67 ± 19.99 **	1 389.55 ± 62.00 **	145.29 ± 7.10 **	28.74 ± 3.61 *	112.07 ± 8.89
生草乌高剂量组	4	281.31 ± 12.49 **	1 580.17 ± 75.63 **	158.95 ± 10.49 **	29.96 ± 3.36 *	133.65 ± 31.67 *
甘草黑豆制草乌低剂量组	4	225.50 ± 5.64 ##	1 213.31 ± 78.05 ##	115.37 ± 6.24 ##	25.62 ± 1.43	85.26 ± 5.72
甘草黑豆制草乌高剂量组	4	225.70 ± 8.19 ##	1 289.76 ± 43.75 ##	117.64 ± 3.33 ##	22.16 ± 1.59 #	80.45 ± 3.37 ##

注：与空白组比较，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$；与同剂量生草乌组比较，# $P < 0.05$，## $P < 0.01$。

表 3　各组大鼠心肌组织 MDA、SOD、CAT 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

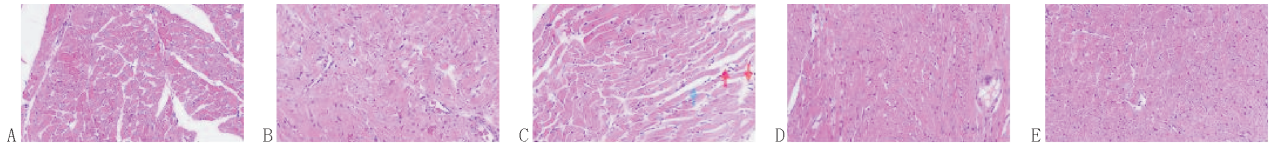
组别	n	MDA/μmol · g^{-1}	SOD/U · mg^{-1}	CAT/U · mg^{-1}
空白组	3	1.01 ± 0.10	37.52 ± 1.76	22.16 ± 2.31
生草乌低剂量组	3	2.17 ± 0.06 *	14.05 ± 3.39	4.95 ± 0.76 **
生草乌高剂量组	3	2.25 ± 0.00 *	7.57 ± 1.86 **	0.66 ± 0.33 **
甘草黑豆制草乌低剂量组	3	1.69 ± 0.03 *##	54.06 ± 24.18 ##	9.06 ± 1.98 **#
甘草黑豆制草乌高剂量组	3	1.98 ± 0.02 *##	17.80 ± 1.71	12.26 ± 0.71 **##

注：与空白组比较，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$；与同剂量生草乌组比较，# $P < 0.05$，## $P < 0.01$。

3.1.4　各组大鼠心肌组织病理形态　HE 染色显示，空白组大鼠心肌组织形态正常；与空白组比较，生草乌低剂量组大鼠心肌纤维排列较为紊乱，生草乌高剂量组大鼠心肌纤维排列较为疏松紊乱且组织间隙增大（见蓝色箭头），心肌纤维断裂、纤维溶解（见红色箭头）；甘草黑豆制草乌低、高剂量组大鼠心肌组织结构基本正常，见图 2。

3.2　生草乌、甘草黑豆制草乌对大鼠 H9c2 心肌细胞的影响

3.2.1　心肌细胞存活率　与对照组比较，2、5、10、20、40 g·L^{-1}生草乌组细胞存活率降低（$P<0.01$）。随着生草乌浓度升高，细胞存活率逐渐降低，细胞毒性增加。与对照组比较，40 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞存活率降低（$P<0.01$）；与同浓度生草乌组比较，2、5、10、20、40 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞存活率显著升高（$P<0.01$），见表 4。生草乌对心肌细胞的 LC_{50} 为 20.95 g·L^{-1}，甘草黑豆制草乌对心肌细胞的 LC_{50} 为 39.51 g·L^{-1}，说明生草乌的毒性更大。40 g·L^{-1}生草乌干预心肌细胞的存活率较低，心脏毒性较大，不利于后续实验，因此选取 5、10、20 g·L^{-1}作为后续实验浓度。



注：A：空白组；B：生草乌低剂量组；C：生草乌高剂量组；D：甘草黑豆制草乌低剂量组；E：甘草黑豆制草乌高剂量组。

图 2　各组大鼠心肌组织病理染色图（HE，100×）

表 4　各组 H9c2 心肌细胞存活率比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	浓度（ρ/g·L^{-1}）	细胞存活率/%
对照组	3		100.04±1.86
生草乌组	3	1	98.07±2.21
	3	2	79.36±3.34**
	3	5	80.62±3.42**
	3	10	74.95±3.43**
	3	20	66.25±7.13**
	3	40	16.71±4.10**
甘草黑豆制草乌组	3	1	100.59±1.78
	3	2	100.63±0.76##
	3	5	95.41±2.39##
	3	10	94.73±2.41##
	3	20	93.30±1.71##
	3	40	48.72±6.84**##

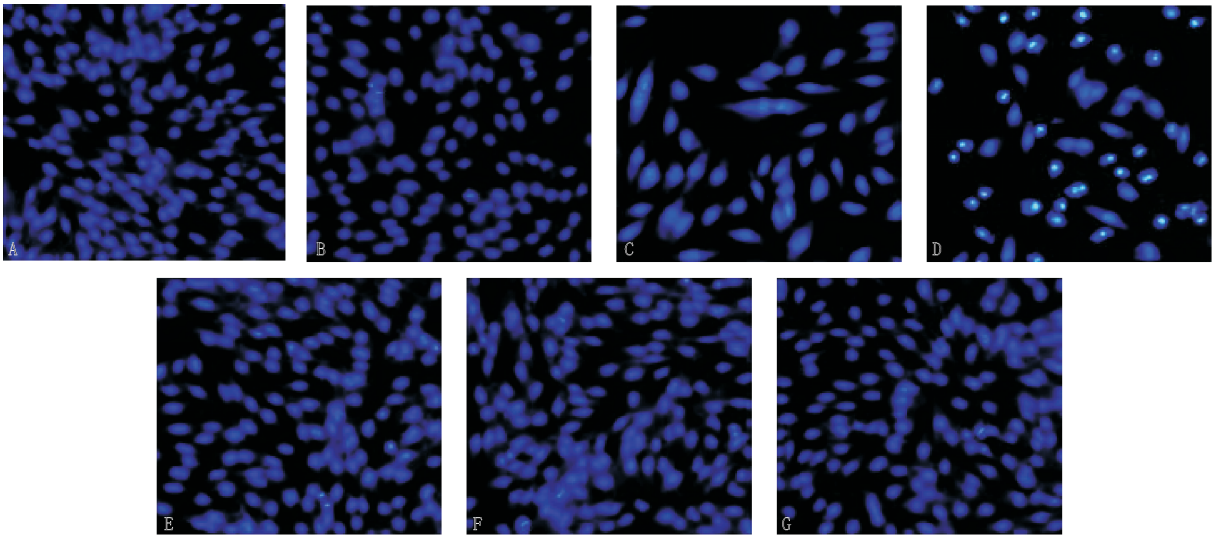
注：与对照组比较，** $P<0.01$；与同浓度生草乌组比较，## $P<0.01$。

3.2.2　心肌细胞核、ROS、线粒体膜电位　对照组细胞核呈均一淡蓝色荧光，无破碎；20 g·L^{-1}生草乌组细胞核有亮蓝色荧光颗粒，染色质浓缩，出现凋亡细胞核特征；10 g·L^{-1}生草乌组细胞核蓝色荧光加深，未出现细胞核固缩或破碎。对照组细胞有少量 ROS 产生；20 g·L^{-1}生草乌组细胞产生大量 ROS；5 g·L^{-1}生草乌组及 10、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞有少量 ROS 生成。与对照组比较，10、20 g·L^{-1}生草乌组细胞核荧光强度、ROS 释放增加，线粒体膜电位降低（$P<0.01$）；与对照组比较，5、10、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞线粒体膜电位降低（$P<0.01$）；与同浓度生草乌组比较，10、20 g·L^{-1} 甘草黑豆制草乌组细胞核荧光强度、ROS 释放减少，线粒体膜电位（10 g·L^{-1}除外）升高（$P<0.01$）；与 5 g·L^{-1}生草乌组比较，同浓度甘草黑豆制草乌组细胞线粒体膜电位升高（$P<0.01$），见表 5、图 3—图 5。

表 5　各组 H9c2 心肌细胞核、ROS 荧光强度及线粒体膜电位比较　（$\bar{x}\pm s$）

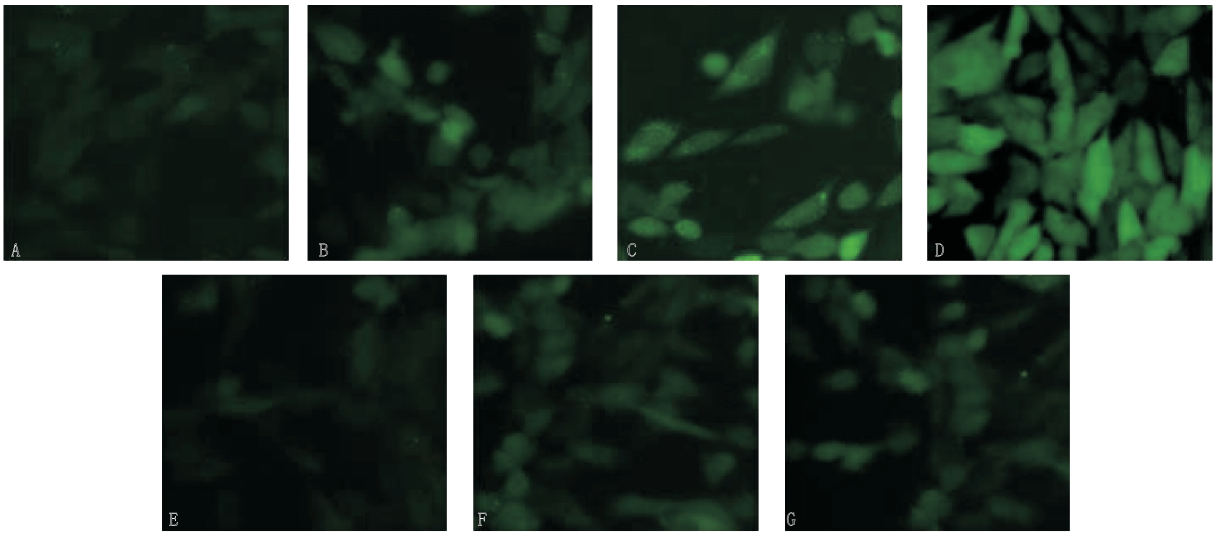
组别	n	浓度（ρ/g·L^{-1}）	细胞核荧光强度	ROS 荧光强度	线粒体膜电位
对照组	3		41.48±5.45	25.14±0.65	54.05±0.86
生草乌组	3	5	42.65±3.11	28.45±0.98	15.11±0.07**
	3	10	62.56±2.97**	33.65±0.97**	19.14±4.27**
	3	20	95.61±4.54**	80.10±3.82**	6.88±0.15**
甘草黑豆制草乌组	3	5	44.05±2.71	24.57±0.55	41.28±0.44**##
	3	10	43.06±3.62##	27.17±0.36##	28.65±1.16**
	3	20	40.09±2.35##	27.50±0.69##	23.20±1.03**##

注：与对照组比较，** $P<0.01$；与同浓度生草乌组比较，## $P<0.01$。



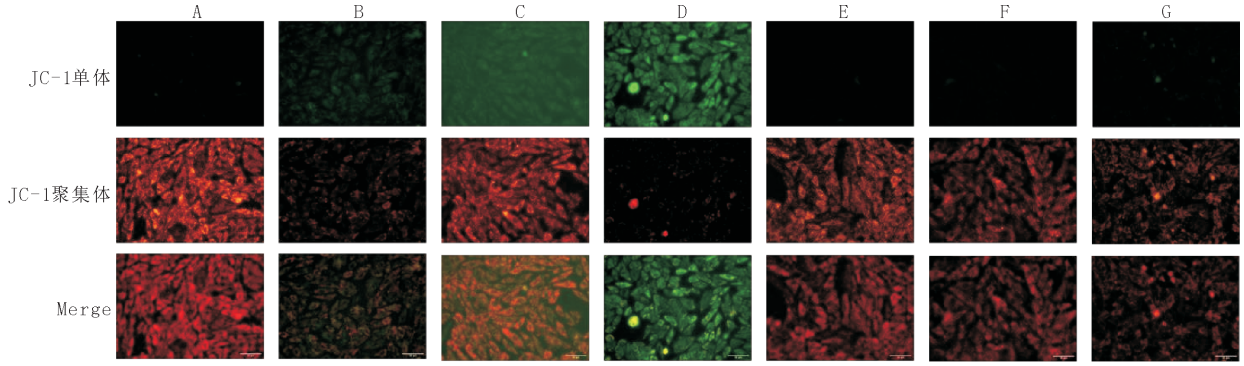
注：A：对照组；B：5 g·L^{-1}生草乌组；C：10 g·L^{-1}生草乌组；D：20 g·L^{-1}生草乌组；E：5 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；F：10 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；G：20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组。

图 3　各组 H9c2 心肌细胞细胞核免疫荧光染色图（100 ×）



注：A：对照组；B：5 g·L^{-1}生草乌组；C：10 g·L^{-1}生草乌组；D：20 g·L^{-1}生草乌组；E：5 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；F：10 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；G：20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组。

图 4　各组 H9c2 心肌细胞 ROS 免疫荧光染色图（200 ×）



注：A：对照组；B：5 g·L^{-1}生草乌组；C：10 g·L^{-1}生草乌组；D：20 g·L^{-1}生草乌组；E：5 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；F：10 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；G：20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组。

图 5　各组 H9c2 心肌细胞线粒体膜电位免疫荧光染色图（200 ×）

3.2.3　心肌细胞 MDA、SOD、GSH 水平　与对照组比较，5、10、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞 MDA 水平明显升高、GSH 水平显著降低（$P<0.05$）；10、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞 SOD 水平显著高于对照组（$P<0.01$），5、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞 GSH 水平明显低于对照组（$P<0.05$）。与同浓度生草乌组比较，5、10、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞 MDA 水平明显降低、GSH 与 SOD（5 g·L^{-1}除外）水平显著升高（$P<0.01$），见表 6。

表 6　各组 H9c2 心肌细胞 MDA、SOD、GSH 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	浓度（ρ/g·L^{-1}）	MDA/μmol·g^{-1}	SOD/U·mg^{-1}	GSH/mg·g^{-1}
对照组	3		2.06±0.12	21.10±0.20	214.69±8.84
生草乌组	3	5	2.60±0.03*	22.88±0.44	69.80±3.14**
	3	10	2.68±0.01**	20.99±2.56	59.41±3.26**
	3	20	3.25±0.56**	19.11±0.86	4.03±0.07**
甘草黑豆制草乌组	3	5	1.92±0.09$^{\#\#}$	23.59±0.08	181.42±13.08$^{*\#\#}$
	3	10	1.77±0.11$^{\#\#}$	27.06±1.56$^{**\#\#}$	201.84±6.71$^{\#\#}$
	3	20	2.31±0.09$^{\#\#}$	25.96±1.28$^{**\#\#}$	65.50±32.50$^{**\#\#}$

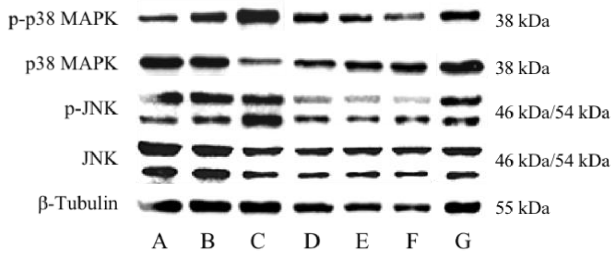
注：与对照组比较，$*P<0.05$，$**P<0.01$；与同浓度生草乌组比较，$\#\#P<0.01$。

3.2.4　心肌细胞 MAPK、JNK 信号通路相关蛋白表达水平　与对照组比较，20 g·L^{-1}生草乌组细胞 p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bax、Bax/Bcl－2 表达水平升高（$P<0.05$），Bcl－2 表达水平降低（$P<0.01$）；与对照组比较，5、10 g·L^{-1}生草乌组细胞 Bax、Bax/Bcl－2 表达水平升高，Bcl－2 表达水平降低（$P<0.01$）；与对照组比较，5、10、20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组细胞 Bax（10 g·L^{-1}除外）、Bcl－2 表达水平升高（$P<0.05$）。与 20 g·L^{-1}生草乌组比较，同浓度甘草黑豆制草乌组细胞 p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bax、Bax/Bcl－2 表达水平降低，Bcl－2 表达水平升高（$P<0.01$）；与 10 g·L^{-1}生草乌组比较，同浓度甘草黑豆制草乌组细胞 Bax、Bax/Bcl－2 表达水平降低，Bcl－2 表达水平升高（$P<0.01$），见表 7、图 6—图 7。

表 7　各组 H9c2 心肌细胞 p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bcl－2、Bax、Bax/Bcl－2 表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	浓度（ρ/g·L^{-1}）	p－p38 MAPK/p38 MAPK	p－JNK/JNK	Bcl－2/β－Tubulin	Bax/β－Tubulin	Bax/Bcl－2
对照组	3		1.00±0.26	1.00±0.14	1.00±0.05	1.00±0.07	1.00±0.12
生草乌组	3	5	0.95±0.16	0.74±0.03	0.70±0.05**	2.36±0.19**	3.38±0.19**
	3	10	1.39±0.08	0.98±0.08	0.49±0.02**	2.32±0.14**	4.79±0.48**
	3	20	3.44±0.58**	1.53±0.28*	0.66±0.03**	2.55±0.13**	3.89±0.30**
甘草黑豆制草乌组	3	5	1.76±0.36	0.90±0.16	1.01±0.03**	1.93±0.12**	1.90±0.12$^{*\#\#}$
	3	10	1.25±0.31	0.61±0.08	1.23±0.02$^{*\#\#}$	1.01±0.06$^{\#\#}$	0.83±0.04$^{\#\#}$
	3	20	1.09±0.30$^{\#\#}$	0.64±0.12$^{\#\#}$	1.33±0.09$^{**\#\#}$	1.79±0.22$^{**\#\#}$	1.34±0.17$^{\#\#}$

注：与对照组比较，$*P<0.05$，$**P<0.01$；与同浓度生草乌组比较，$\#\#P<0.01$。



注：A：5 g·L^{-1}生草乌组；B：10 g·L^{-1}生草乌组；C：20 g·L^{-1}生草乌组；D：5 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；E：10 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；F：20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；G：对照组。

图 6　各组 H9c2 心肌细胞 p－p38 MAPK、p38 MAPK、p－JNK、JNK 蛋白条带图



注：A：5 g·L^{-1}生草乌组；B：10 g·L^{-1}生草乌组；C：20 g·L^{-1}生草乌组；D：5 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；E：10 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；F：20 g·L^{-1}甘草黑豆制草乌组；G：对照组。

图 7　各组 H9c2 心肌细胞 Bcl－2、Bax 蛋白条带图

4　讨论

草乌味辛性热，可祛风除湿、温经止痛，常用于风寒湿痹、关节疼痛等[1]。草乌生品有大毒，使用

不当会引发心脏毒性，其主要毒性成分乌头碱及次乌头碱等可导致心肌细胞发生氧化应激，从而诱导细胞凋亡[12]。李晓娟等[13]通过网络药理学分析发现，3－脱氧乌头碱、乌头碱等乌头类生物碱可作用于 MAPK1、MAPK14 等靶点，介导 MAPK 信号通路等途径，诱发心脏毒性。目前，辅料加热炮制草乌的机制尚未明确，本研究探讨辅料的加入与草乌共热可否改变心脏毒性及其作用机制，因此选定甘草黑豆制草乌进行后续实验。

CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI 是评价心肌损伤的客观指标，心肌受损时上述指标在血清中水平升高[14－16]。线粒体膜电位下降是细胞凋亡早期的标志性事件，JC－1 从红色荧光到绿色荧光的转变可灵敏检测细胞膜电位下降。线粒体是细胞内 ROS 的主要来源，为氧化应激的关键靶点；当 ROS 过量产生，抗氧化系统无法抗衡时发生氧化应激，进一步诱导细胞死亡或凋亡[17]。MDA 是酶和非酶系统产生的氧自由基，攻击生物膜中多不饱和脂肪酸并触发细胞内脂质过氧化，可破坏细胞膜的通透性[18]。SOD、CAT、GSH 是抗氧化系统的关键酶，可清除氧自由基，减轻氧化物对细胞的损伤[19]。本研究发现，生草乌组大鼠发生心律失常，心率加快，CK、LDH、AST、NT－proBNP、cTnI、MDA 水平均有不同程度升高，SOD、CAT 水平下降，心肌纤维排列紊乱；生草乌促使细胞中 ROS 大量释放，细胞凋亡发生，线粒体膜电位及抗氧化酶水平降低；甘草黑豆制草乌组大鼠心脏无明显损伤，脂质过氧化和氧化应激水平降低。通过细胞实验进一步证实，甘草黑豆制草乌可明显缓解细胞受损及氧化应激，改善细胞状态。

甘草黑豆制草乌引入甘草、黑豆两味中药为炮制辅料，在炮制过程中引入辅料中有效成分，同时对生物碱含量测定发现有毒成分大幅降低。甘草可调和诸药，缓解药物毒性；黑豆可解毒，常用于药食中毒[1]。甘草、黑豆作为常用的补益减毒类中药，其成分甘草苷、甘草酸、甘草次酸、黑豆色素、黑豆粗多糖等有抗氧化的药理作用[6,20－22]。本研究表明，辅料的加入可在一定程度上缓解生草乌所致的氧化损伤，降低生草乌诱导的一系列心脏毒性反应。现代药理研究亦表明，甘草酸等可逆转氧化应激的破坏作用，同时抑制脂质过氧化，发挥抗氧化活性。庄开颜等[23]发现，甘草酸可以抑制乌头碱诱导的斑马鱼心脏中 ROS 生成，减弱乌头碱导致的细胞凋亡，其可能通过 MAPK、GRB2、CDC42 等关键靶点发挥减毒作用。宋臻臻[24]发现，甘草酸可以通过调控 MAPK 等关键靶点拮抗乌头碱心脏毒性。黑豆提取物同样被证明可以降低体内 MDA 与 ROS 水平，抑制氧化应激，缓解机体损伤[8－9]。

MAPK 信号通路是真核生物重要的信号传导途径，调节细胞的增殖、分化及凋亡。p38 MAPK、JNK 信号通路为 MAPK 的主要分支，参与细胞应激、炎症反应等多种生物过程，相关研究表明氧化应激可使 p38 MAPK 及 JNK 激活，从而导致多种疾病的发生或细胞凋亡等[10]。细胞凋亡通常由 Bcl－2 家族调控，该家族在线粒体途径发挥重要作用，在受到凋亡刺激后，促凋亡蛋白 Bax 干扰线粒体膜电位，促使细胞色素 C 释放，导致 Caspase－9 活化，进一步激活 Caspase－3，通过线粒体途径诱发细胞凋亡[25]。本研究显示，生草乌打破体内氧化与抗氧化系统的平衡，诱导大鼠心脏发生氧化应激，产生心脏毒性。与对照组相比，生草乌组细胞 p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bax 表达水平显著升高，Bcl－2 表达水平显著降低。p38 MAPK、JNK 蛋白激酶被激活，MAPK 信号通路发生级联反应，激活后的 p38 MAPK、JNK 通过磷酸化下游底物（如 Bcl－2 家族蛋白等）参与调控细胞凋亡。甘草黑豆制草乌组大鼠心脏状态明显改善，未发生严重氧化损伤；心肌细胞 p－p38 MAPK/p38 MAPK、p－JNK/JNK、Bax 蛋白表达水平较生草乌组明显降低，Bcl－2 蛋白表达水平明显升高，说明甘草黑豆制草乌可以抑制 MAPK、JNK 信号通路的激活。

综上，生草乌的毒性机制可能与诱导心脏发生氧化应激相关，从而引起线粒体膜电位降低、能量代谢紊乱，LDH 释放增加，使 p38 MAPK、JNK 信号通路过度激活，下游 Bcl－2 及 Bax 蛋白受到调控，诱导细胞凋亡，加重生草乌的心脏毒性。甘草黑豆制草乌的减毒机制可能是甘草、黑豆辅料的引入并加热炮制草乌，提升了机体抗氧化能力，减轻氧化损伤，维持机体内氧化与抗氧化系统的相对平衡，保证线粒体功能，避免 ROS 在机体内大量积累，改善细胞状态，抑制 p38 MAPK、JNK 信号通路激活，下游蛋白 Bcl－2、Bax 受到相应调控，细胞凋亡有所改善。

草乌作为有毒中药，其心脏毒性与线粒体功能障碍、细胞凋亡及 MAPK 相关信号通路激活相关。单体配伍、中药炮制等多种方法可降低草乌的心脏毒性，后续仍需要大量的体内外实验及临床试验阐明草乌中有毒物质在动物和人体内的动态代谢过

程，全面揭示其作用机制，为临床安全应用草乌提供依据。

参考文献：

[1]国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版 一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：247－248.
[2]Sheth S，Tan E C，Tan H H，et al. Herb－induced cardiotoxicity from accidental aconitine overdose[J]. Singapore Med J，2015，56(7)：e116－e119.
[3]中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(1963 年版一部)[M]. 北京：人民卫生出版社，1964：188.
[4]北京市药品监督管理局. 北京市中药饮片炮制规范：2008 年版[M]. 北京：化学工业出版社，2010.
[5]甘肃省药品监督管理局. 甘肃省中药饮片炮制规范[M]. 兰州：甘肃科学技术出版社，2009.
[6]侯立静，耿雪，周倩. 甘草素及甘草苷对甲硝唑诱导的斑马鱼胚胎氧化损伤的保护作用[J]. 时珍国医国药，2022，33(6)：1314－1316.
[7]何磊，裴宏岩，曾建宁，等. 甘草茎叶黄酮提取工艺优化及其抗氧化损伤作用[J]. 吉林农业大学学报，2025，47(1)：92－103.
[8]杨红，唐莉，李毅，等. 8 种食品水提液的抗氧化和抗炎活性比较[J]. 食品与机械，2023，39(11)：192－197.
[9]张榕欣，邱英莲，邓金兰，等. 超声波辅助双酶法制备黑豆多肽的工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 饲料研究，2022，45(13)：79－82.
[10]Wu X T，Liu Z Y，Liao W B. The involvement of gaseous signaling molecules in plant MAPK cascades：function and signal transduction[J]. Planta，2021，254(6)：127.
[11]Sun G B，Sun H，Meng X B，et al. Aconitine－induced Ca^{2+} overload causes arrhythmia and triggers apoptosis through p38 MAPK signaling pathway in rats[J]. Toxicol Appl Pharmacol，2014，279(1)：8－22.
[12]刘巧云，张宇燕，万海同，等. 次乌头碱与甘草苷、甘草次酸配伍的减毒作用[J]. 中华中医药杂志，2013，28(9)：2601－2604.
[13]李晓娟，汤新乐，热孜亚·艾力木江，等. 基于网络毒理学与分子对接技术初步探究准噶尔乌头炮制减毒的作用机制[J]. 新疆医科大学学报，2023，46(4)：500－512.
[14]Salah K，Stienen S，Pinto Y M，et al. Prognosis and NT－proBNP in heart failure patients with preserved versus reduced ejection fraction[J]. Heart，2019，105(15)：1182－1189.
[15]Banu M，Hoque M R. Relationship of cardiac troponin (CTn－I) with heart failure patients in Bangladesh[J]. Mymensingh Med J，2019，28(4)：734－737.
[16]金铭，蔡珍珍，王宁宁，等. 心肌损伤标志物对急性心梗患者的诊断价值分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报，2021，42(12)：1024－1027.
[17]张家铭，段燕，武云霞. 活性氧与线粒体自噬在牙周炎中的作用[J]. 口腔医学，2024，44(3)：237－240.
[18]Mas－Bargues C，Escrivá C，Dromant M，et al. Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease[J]. Arch Biochem Biophys，2021，709：108941.
[19]李雪飞，江洪，胡笑容，等. 橙皮苷对大鼠心肌缺血/再灌注损伤诱导自噬的影响机制研究[J]. 疑难病杂志，2015，14(10)：1070－1073，1101.
[20]董晞，赵世萍，刘岩，等. 甘草苷对乌头碱致心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中华中医药杂志，2009，24(2)：163－166.
[21]陈萍，张保石. 黑豆皮花青素降血脂及抗氧化效果[J]. 河北大学学报：自然科学版，2016，36(5)：524－528.
[22]胡懿化. 黑豆多糖的生物活性及其机制研究[D]. 太谷：山西农业大学，2022.
[23]庄开颜，高硕，柳晴，等. 基于斑马鱼模型和网络药理学的甘草酸拮抗乌头碱心脏毒性作用与机制研究[J]. 药物评价研究，2021，44(7)：1368－1376.
[24]宋臻臻. 基于中药化学生物学四逆汤组方配伍减毒作用研究[D]. 保定：河北大学，2020.
[25]李首才. IMD 经 bax/bcl－2/caspase－3 途径抑制损伤心肌细胞凋亡研究[D]. 太原：山西医科大学，2023.

收稿日期：2026－03－02
编辑：刘凯歌