

基于 UPLC-Q-Orbitrap/MS 研究甘草不同炮制品黄酮类成分抗心律失常的差异活性成分及机制

唐梦洁, 张方圆, 田 静, 耿 玉, 蔡广知, 高文义, 贡济宇*

长春中医药大学 药学院, 吉林 长春 130117

摘要: 目的 采用 UPLC-Q-Orbitrap MS 结合网络药理学技术及体内外实验, 探究生甘草、炙甘草、炒甘草 3 种炮制品的抗心律失常药效差异, 初步阐明其药效物质基础与作用机制, 为临床优选提供依据。方法 使用 $4.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氯化钡诱导斑马鱼心律失常模型, 实验设置对照组、模型组、白藜芦醇(阳性药, $30.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组、生甘草(生甘草黄酮提取物, $28.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组、炒甘草(炒甘草黄酮提取物, $26.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组及炙甘草(炙甘草黄酮提取物, $31.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组, 采用心率、静脉窦至动脉球(SV-BA)间距和心包水肿面积评价药效, 呋啶橙(AO)染色法评估心肌细胞凋亡水平; 通过 UPLC-Q-Orbitrap MS 分析 3 种甘草炮制品黄酮类化学成分并辨识差异化合物; 利用网络药理学预测 3 种炮制品的差异活性成分, 预测关键靶点与通路; 分别用不同浓度($0, 5, 10, 20, 40, 80, 120 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的柚皮素与甘草查尔酮 A 处理 H9C2 细胞 24 h, 采用 CCK-8 法检测细胞活力, 考察药物对细胞增殖的影响; 使用 $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 阿霉素(Dox)与药物共同处理细胞 24 h, 评价药物对 Dox 诱导的细胞存活率的影响; Western blotting 法检测 H9C2 细胞磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(Akt)通路及凋亡相关蛋白表达水平。结果 3 种炮制品黄酮类成分能够逆转氯化钡诱导的心率降低、SV-BA 间距和心包水肿面积增加, AO 染色显示心包区域荧光强度降低($P < 0.05, 0.01$), 提示心肌细胞凋亡情况改善, 且炙甘草的心脏损伤修复率更高; UPLC-Q-Orbitrap MS 分析表征了 51 个黄酮类成分, 并筛选出不同炮制品间的 21 个差异成分; 网络药理学筛选得到 88 个共同作用靶点, 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析确定 AKT1、肿瘤坏死因子(TNF)等 15 个核心靶点, 锁定柚皮素、甘草查尔酮 A 为关键活性成分, 富集分析推测其通过调控 PI3K-Akt 通路、抑制细胞凋亡发挥作用; 体外细胞毒性实验表明, 柚皮素在 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下、甘草查尔酮 A 在 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时对细胞活力无明显影响, 2 者均可逆转 Dox 诱导的 H9C2 细胞损伤; Western blotting 实验表明柚皮素与甘草查尔酮 A 处理能够逆转 Dox 诱导的 PI3K、Akt1 蛋白表达水平的下降, 同时, 能够下调裂解型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cleaved Caspase-3)蛋白表达水平, 上调 B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)/Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)比值($P < 0.05, 0.01$), 从而逆转细胞凋亡。结论 炙甘草是抗心律失常最佳炮制品, 增效机制与炮制后特有成分柚皮素、甘草查尔酮 A 相关, 二者通过激活 PI3K-Akt 通路、抑制心肌细胞凋亡实现心脏保护, 为炙甘草增效的科学内涵提供理论与实验依据。

关键词: UPLC-Q-Orbitrap MS; 甘草; 清炒; 蜜炙; 斑马鱼; 心律失常; 网络药理学; 柚皮素; 甘草查尔酮 A; PI3K-Akt 信号通路

中图分类号: R284.1; R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)02-0567-17

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.02.016

Study on differential active components and mechanisms of antiarrhythmic effects of flavonoids from different processed products of *Glycyrrhiza uralensis* based on UPLC-Q-Orbitrap/MS

TANG Mengjie, ZHANG Fangyuan, TIAN Jing, GENG Yu, CAI Guangzhi, GAO Wenyi, GONG Jiyu

School of Pharmaceutical Science, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To investigate the differences in the anti-arrhythmic efficacy of three processed products of *Glycyrrhiza uralensis* (raw, honey-fried, and stir-fried) by integrating UPLC-Q-Orbitrap MS, network pharmacology, and *in vivo* and *in vitro*

收稿日期: 2025-09-10

基金项目: 吉林省自然科学基金资助项目(YDZJ202401442ZYTS)

作者简介: 唐梦洁(2003—), 硕士研究生, 研究方向为中药活性物质分析。E-mail: tang353124@163.com

*通信作者: 贡济宇, 教授, 博士生导师, 从事中药分析学研究。E-mail: gjy0431@126.com

experiments. This study aims to elucidate their pharmacodynamic material basis and mechanisms of action, providing a basis for optimal clinical selection. **Methods** A zebrafish arrhythmia model was induced using $4.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ barium chloride. The experimental groups included a control group, a model group, a positive control group (resveratrol, $30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), and groups treated with *G. uralensis* flavonoid extracts of raw ($28.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), stir-fried ($26.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), and honey-fried ($31.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Efficacy was evaluated by measuring heart rate, SV-BA distance, and pericardial edema area, while cardiomyocyte apoptosis was assessed using acridine orange (AO) staining. Flavonoid constituents in the three processed products were analyzed by UPLC-Q-Orbitrap MS to identify differential compounds. Based on these, active components were screened, and network pharmacology was employed to predict key targets and pathways. H9C2 cells were treated with various concentrations ($0, 5, 10, 20, 40, 80, 120 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of naringenin and licochalcone A for 24 h, and cell viability was determined using the CCK-8 assay to examine the effects on cell proliferation. Cells were also co-treated with $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ doxorubicin (Dox) and the compounds for 24 h to evaluate their effects on Dox-induced cell viability. The expression levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) pathway and apoptosis-related proteins in H9C2 cells were detected by Western blotting. **Results** The flavonoid components from all three processed products reversed the barium chloride-induced decrease in heart rate and increases in SV-BA distance and pericardial edema area. AO staining showed reduced pericardial fluorescence intensity, indicating attenuated cardiomyocytes apoptosis, with honey-fried *G. uralensis* demonstrating the highest cardiac injury repair rate. UPLC-Q-Orbitrap/MS analysis characterized 51 flavonoid components and identified 21 differential compounds among the products. Network pharmacology screening yielded 88 common targets. Protein-protein interaction (PPI) network analysis identified 15 core targets, including AKT1 and tumor necrosis factor (TNF). Naringenin and licochalcone A were pinpointed as key compounds. Enrichment analysis suggested their action involves regulating the PI3K-Akt pathway and inhibiting apoptosis. *In vitro* cytotoxicity tests showed that naringenin ($\leq 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and licochalcone A ($\leq 40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) had no significant effect on cell viability. Both compounds reversed Dox-induced H9C2 cell injury. Western blotting showed that naringenin and licochalcone A treatment reversed the Dox-induced downregulation of PI3K and AKT1 protein expression. Additionally, they reduce the expression level of cleaved Caspase-3 protein and upregulated the Bcl-2/Bax ratio, thereby counteracting apoptosis. **Conclusion** Honey-processed *G. uralensis* is the most effective processed product against arrhythmia. Its enhanced efficacy is associated with specific post-processing components, naringenin and licochalcone A, which confer cardioprotection by activating the PI3K-Akt pathway and inhibiting cardiomyocyte apoptosis. This study provides theoretical and experimental evidence for the scientific basis underlying the efficacy enhancement of honey-fried *G. uralensis*.

Key words: UPLC-Q-Orbitrap/MS; *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; stir-fried; honey-fried; zebrafish; arrhythmia; network pharmacology; naringenin; licochalcone A; PI3K-Akt signaling pathway

心血管疾病已成为全球公共卫生健康的重大威胁, 心律失常作为其常见并发症, 严重危害患者生命安全^[1]。目前临床应用的抗心律失常药物虽种类繁多, 但多数存在致心律失常风险、肝肾功能损伤及电解质紊乱等显著不良反应, 极大限制了其长期用药的安全性^[2]。中药甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 素有“国之药老”之称, 在心血管疾病治疗领域应用历史悠久, 其含有的黄酮类成分因具有明确的抗心律失常活性而备受关注^[3]。已有研究证实, 黄酮类成分是甘草发挥抗心律失常作用的核心物质基础, 且炮制过程可显著影响此类成分的含量分布及结构转化^[4-5]。这些黄酮类成分能够通过调控离子通道、调节氧化应激与炎症反应、改善心肌细胞代谢功能等多途径协同作用, 实现心脏保护效应^[6]。

中药炮制是调整药性、实现增效减毒的核心技术手段。甘草经炒制、蜜炙等不同方法炮制后, 其

化学成分组成及药理活性会发生显著改变^[7]。当前, 关于甘草抗心律失常作用的研究多聚焦于生甘草药材或其单一活性成分, 缺乏对不同炮制品间药效差异的比较^[8]; 同时, 将炮制引发的化学成分变化与中药多靶点作用机制相关联的整体性研究策略仍较为薄弱。斑马鱼因具有心脏发育过程透明、心脏电生理特征与人类高度相似等优势, 已成为研究心律失常发病机制及药物活性评价的理想模型^[9]; 而网络药理学的研究思路与中药多成分、多靶点的作用特点高度契合, 可为解析中药复杂体系的作用机制提供有力支撑。

基于此, 本研究以生甘草、炒甘草及蜜炙甘草的黄酮类提取物为研究对象, 系统分析不同炮制品中黄酮类成分的差异特征, 筛选关键活性成分, 并通过构建“差异成分-靶点-通路”调控网络深入探讨其抗心律失常的整体作用机制。本研究旨在阐明甘

草经炮制后抗心律失常作用增强的科学内涵, 为临床合理选用甘草炮制品、推动中药炮制现代化及抗心律失常创新药物研发提供科学依据。

1 材料

1.1 试剂

氯化钡(批号 C15732633), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 白藜芦醇(批号 M17HB178543, 质量分数 $\geq 98\%$)、甘草昔(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 ST07010120MG)、甘草素(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 A26IB224335)、柚皮素(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 JS334600)、甘草查尔酮 A(质量分数 $\geq 98\%$, 批号 JS315035)、亚甲基蓝(批号 M06GS147305, 质量分数 $\geq 97\%$), 上海源叶生物科技有限公司; 阿霉素(货号 2212E3), 深圳万乐药业有限公司; 甲酸、乙腈为色谱纯。

磷脂酰肌醇 3-激酶抗体(PI3K, 货号 A2M11, 1:1000), 美国 Selleck 生物科技有限公司; 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 抗体(AKT1, 货号 GB13427-50, 1:1000), Servicebio 公司; B 细胞淋巴瘤 2 蛋白抗体(Bcl-2, 货号 A0208, 1:2000), ABclonal; Bcl-2 关联 X 蛋白抗体(Bax, 货号 50599-2-Ig, 1:20000)、裂解型半胱天冬酶-3/P17/P19 (cleaved Caspase-3/P17/P19, 货号 19677-1-AP, 1:5000)、 β -肌动蛋白抗体(β -actin, 货号 66009-1-Ig, 1:1000)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶抗体(GAPDH, 货号 60004-1-Ig, 1:1000)购自武汉三鹰生物技术有限公司。

甘草购自甘肃鑫盛达广源中药材有限公司, 产地甘肃, 批号 20200808, 经长春中医药大学蔡广知副教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎; 蜂蜜产自吉林省, 批号 20241015, 经长春中医药大学蔡广知副教授鉴定, 其质量符合《中国药典》2025 年版相关规定。

1.2 仪器

AL204 型万分之一电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Infinite M200 Pro 型酶标仪, 帝肯(上海)实验器材有限公司; CKX41SF 型倒置荧光显微镜, 日本奥林巴斯公司; R-201 型旋转蒸发器, 上海申顺生物科技有限公司; NR200 型电脑色差仪, 深圳三恩时科技有限公司; ACQUITY UPLC 型超高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; Thermo Q-Exactive Orbitrap 质谱仪, 赛默飞世尔科技公司。

1.3 动物

野生型 AB 品系斑马鱼, 购自南京一树梨生物科技有限公司。斑马鱼培育环境维持在(28.0 \pm 0.5) °C, 14 h 光照、10 h 黑暗的循环培养。每日定时 2 次, 活体丰年虾喂养。

1.4 细胞

H9C2 细胞, 货号 STCC30008, 购自武汉梓杉生物有限公司。细胞用含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基在 37 °C、5% CO₂ 的饱和湿度下培养。

2 方法

2.1 饮片制备

2.1.1 炼蜜制备^[10] 称取约 1 kg 蜂蜜, 置于控温电磁炉上。将温度设定为 120 °C, 加热蜂蜜至色泽加深、黏度增大, 呈现半透明、有光泽的浓稠状态时停止。取出蜂蜜并使其自然冷却, 获得炼蜜。

2.1.2 炙甘草饮片的制备^[11] 在炼蜜中加入适量清水稀释, 加入待炮制的甘草饮片, 控温电磁炉设定为 120 °C, 不断翻炒饮片, 炒至黄色至深黄色, 不粘手时取出, 晾凉, 得炙甘草。

2.1.3 炒甘草饮片的制备^[10,12] 在甘草片中加入 0.6 倍量的水, 使其与甘草充分接触后, 置入炒货机中并控温在 250 °C 炒至表面呈黄色或棕黄色, 内部颜色加深, 取出放凉, 得炒甘草。

所有饮片均平行制备 8 批。

2.2 总黄酮成分的提取

精密称取甘草不同炮制品粉末各 100 g, 过 3 号筛, 加入 70% 乙醇 2 L, 于室温下采用超声提取法(250 W、40 kHz) 提取 2 次, 每次 40 min, 合并上清液。取预处理后的 AB-8 型大孔吸附树脂 600 mL, 以蒸馏水为溶剂进行湿法装柱; 将上述合并后的上清液浓缩至质量浓度为 7.5 g·L⁻¹ 的粗提物, 以 1.0 mL·min⁻¹ 的体积流量上样至树脂柱。洗脱过程分 2 步进行: 第 1 步以蒸馏水为洗脱剂, 按 2 倍柱体积(BV)·h⁻¹ 的体积流量洗脱 5 个 BV; 第 2 步换用体积分数为 70% 的乙醇溶液, 维持 2 BV·h⁻¹ 的体积流量洗脱 6 BV, 收集 70% 乙醇洗脱液, 经减压浓缩, 冷冻干燥后, 分别获得生甘草、炒甘草及炙甘草总黄酮提取物冻干粉, 生、炙、炒甘草总黄酮提取物质量分数分别为 60.62%、69.80%、69.80%。

2.3 总黄酮的化学成分分析

2.3.1 色谱条件 采用 Waters ACQUITY UPLC HSS

T₃(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)色谱柱, 柱温30 °C, 流动相0.1%甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱0~2 min, 20%→33% B, 2~10 min, 33%→42% B, 10.0~11.5 min, 42%→50% B, 11.5~13.5 min, 50%→61% B, 13.5~17.5 min, 61% B, 17.5~20.0 min, 61%~85% B; 20~22 min, 85%→20% B; 22~25 min, 20% B, 体积流量0.3 mL·min⁻¹; 进样量2 μL; 检测波长372 nm。

2.3.2 质谱条件 采用HESI离子源, 正、负离子扫描模式; 设置检测模式为Full MS-ddMS², 正离子和负离子模式分别扫描, 扫描范围为m/z 100~1 500, MS¹分辨率为70 000, MS²分辨率为17 500; 毛细管电压3.5、-3.2 kV; 源内温度350 °C; 毛细管温度320 °C; 阶跃碰撞能量为20、45、70 V; 鞘气体积流量35 arb; 辅助气体积流量10 arb。

2.3.3 供试品溶液制备 精密称取生、炒、炙甘草总黄酮冻干粉粉末0.1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(250 W、40 kHz)30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摆匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.4 差异活性成分筛选

本研究首先采用MS-DIAL软件完成色谱峰的对齐、保留时间校正与峰面积提取, 对所得数据进行归一化预处理后, 将数据集导入SIMCA 14.1软件, 进行主成分分析(PCA)与偏最小二乘判别分析(PLS-DA)。通过变量重要性投影(VIP)值和P值对3种甘草炮制品总黄酮差异化合物进行筛选, GraphPad Prism 9.5软件对差异化合物的离子响应强度进行统计分析。化学成分鉴定采用Xcalibur 4.0质谱工作站中的Qual Browser软件完成分析, 并通过系统查阅相关文献, 对比化合物名称、相对分子质量、分子式及MS²二级碎片等信息, 从而实现对目标化学成分的鉴定。

2.5 斑马鱼对甘草黄酮提取物耐受性考察

将发育至72 h斑马鱼放入24孔板中, 每孔10个胚胎, 并设置3个复孔。所有溶液均采用E3培养液(5 mmol·L⁻¹ NaCl、0.17 mmol·L⁻¹ KCl、0.33 mmol·L⁻¹ CaCl₂、0.33 mmol·L⁻¹ MgSO₄)配制。生、炙、炒甘草黄酮提取物的质量浓度分别设置为0、5、10、20、40、60、80、120、160、200 μg·mL⁻¹, 将各组斑马鱼置于(28.0±0.5) °C的恒温光照培养箱中共培养24 h, 观察斑马鱼存活情况, 确定各甘草黄酮提取物的半数致死浓度(LC₅₀)。

2.6 总黄酮对斑马鱼心律失常的影响

2.6.1 最佳甘草黄酮提取物给药浓度的确定 将受精后72 h的斑马鱼胚胎随机分为6组, 分别为对照组、模型组、生甘草黄酮提取物组、炙甘草黄酮提取物组、炒甘草黄酮提取物组(每组设置3个复孔, 每孔放置8个胚胎于24孔细胞培养板中, 置于28 °C恒温环境下处理24 h)。除对照组外, 其余各组均采用4.2 μg·mL⁻¹氯化钡^[13]构建斑马鱼心律失常模型。

生、炙、炒甘草黄酮提取物组分别设置4个质量浓度梯度, 依次为1/5 LC₅₀、1/4 LC₅₀、1/3 LC₅₀、1/2 LC₅₀。氯化钡诱导的斑马鱼心律失常典型表型包括心包水肿、静脉窦-动脉球(SV-BA)间距延长及心率减慢, 本实验通过测定SV-BA间距、心包面积及心率确定最优给药剂量, 所有指标均采用Image J软件进行量化统计分析。

2.6.2 分组、造模及给药 将受精后72 h的斑马鱼胚胎随机分为6组, 即对照组、模型组、白藜芦醇(阳性药, 30.0 μg·mL⁻¹)组、生甘草(生甘草黄酮提取物28.6 μg·mL⁻¹)组、炒甘草(炒甘草黄酮提取物26.7 μg·mL⁻¹)组及炙甘草(炙甘草黄酮提取物31.4 μg·mL⁻¹)组, 其中生、炒、炙甘草黄酮提取物组的给药浓度均设定为1/3 LC₅₀。每组设置3个复孔, 每孔放置10个胚胎于24孔细胞培养板中, 在28 °C条件下处理24 h。除对照组外, 其余各组均采用4.2 μg·mL⁻¹氯化钡构建斑马鱼心律失常模型。孵育结束后, 于体视显微镜下观察胚胎心脏形态, 测定SV-BA间距、心包面积, 计算修复率, 录制心跳视频并记录60 s内心搏次数, 使用Image J Version 1.53t软件分析数据。

修复率=(模型组指标均值-给药组指标均值)/(模型组指标均值-对照组指标均值)

2.6.3 吖啶橙(AO)染色评估心肌细胞凋亡状态 AO可穿透细胞膜与细胞内核酸特异性结合, 正常细胞因核酸结构完整, 与AO结合后呈现均匀绿色荧光; 而凋亡细胞由于DNA断裂及RNA与AO的结合状态改变, 会呈现黄绿色或橙红色荧光片段。具体实验操作如下: 染色前预处理阶段, 采用pH 7.4的磷酸缓冲盐溶液(PBS)清洗胚胎, 以去除培养液残留及非特异性吸附物; 将2.5 μg·mL⁻¹的AO工作液经0.22 μm微孔滤膜滤过后, 与胚胎在28 °C避光条件下共孵育30 min; 孵育结束后, 用PBS在摇床(50 r·min⁻¹)上轻柔清洗2次, 每次10 min,

以充分去除未特异性结合的染料；将经清洗后的胚胎用 3% 甲基纤维素固定于洁净载玻片，置于荧光显微镜下观察并采集图像；采用 Image J 软件分析图像，计算特定区域的平均荧光密度，及荧光密度降低率据此量化细胞凋亡水平。

荧光密度降低率=(模型组荧光密度均值-给药组荧光密度均值)/(模型组荧光密度均值-对照组荧光密度均值)

2.7 网络药理学分析

2.7.1 潜在活性成分及靶点预测 通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索 3 种甘草炮制品黄酮类成分差异化合物，获取其对应的 SMILES 号。将其导入 SwissADME 在线分析平台，依据其胃肠道吸收 (GI absorption) 为 “High” 以及 5 种类药性 (包括 Lipinski、Ghose、Veber、Egan、Muegge) 中满足 $Y \geq 2$ 为筛选标准，筛选出口服生物利用度较高且类药性良好的潜在活性成分。进一步将筛选所得活性成分的 SMELES 号导入 Swiss Target Prediction (<http://www.swiss target prediction.ch/>) 数据库，设定物种为 “*Homo sapiens*”，并保留概率大于 0 的预测靶点。最终，对全部靶点进行合并与去重处理，获得活性成分对应的潜在作用靶点。

2.7.2 心律失常疾病靶点的获取 使用 DisgeNET (<https://www.disgenet.org/>)、GeneCard (<https://www.genecard.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>) 数据库，以 “arrhythmia” 为检索词检索，合并去重后得到心律失常相关靶点。成分与疾病靶点导入 Venny 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)，得药物-疾病靶点韦恩图。

2.7.3 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析 将交集靶点导入 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 数据库，选定研究物种为人类，置信度为中等，得到靶点蛋白之间相互作用关系。将分析结果以 .tsv 格式文件导出，文件上传至 Cytoscape 3.7.2 软件，构建可视化的 PPI 网络。利用 CentiScaPe 插件对该网络进行拓扑分析，根据度值 (degree)、介数中心性 (betweenness centrality)、接近中心性 (closeness centrality) 值筛选出核心靶点。

2.7.4 基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将交集靶点输入 David (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库，进行 GO 和 KEGG 通路分析。

2.7.5 基于“差异成分-靶点-通路”网络筛选核心成分 将差异活性成分、交集靶点、通路文件导入

Cytoscape 3.7.2 软件绘制 “差异成分-靶点-通路” 网络图。计算拓扑参数，以度值、介数中心性、接近中心性值的中位数值筛选核心差异成分。

2.8 分子对接验证

运用 AutoDock vina 将核心成分与核心靶点进行分子对接，采用 PyMOL 软件将对接结果可视化。

2.9 实验验证

2.9.1 CCK-8 法检测细胞活力 当 H9C2 细胞融合率达到 80%~90% 时，以每孔 1×10^4 个的细胞密度接种到 96 孔板中，培养 12 h 使细胞融合率再次达到 80%。设置柚皮素与甘草查尔酮 A 的作用浓度梯度分别为 0、5、10、20、40、80、120 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另设空白组 (无细胞添加基础培养基) 和对照组 (有细胞添加基础培养基)。将细胞与 4 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[14] 阿霉素共同孵育 24 h 后，弃去培养基，用 PBS 清洗细胞 2 次，随后每孔中加入 100 μL 的 10% CCK-8 溶液，置于 37 °C 恒温培养箱孵育 2 h。采用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度 (A) 值。

细胞存活率 = $(A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$

2.9.2 Western blotting 法检测关键蛋白表达 将处于对数生长期的 H9C2 细胞以每孔 2×10^5 个接种于 6 cm 细胞培养板中，设置对照组、模型组、柚皮素组 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、甘草查尔酮 A 组 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。除对照组外，其余各组均采用 4 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 阿霉素构建心律失常模型，共同培养 24 h 后收集各组细胞，RIPA 裂解并提取总蛋白。取 20 μg 样品上样，经 SDS-PAGE 分离后转移到 PVDF 膜上，5% 脱脂牛奶封闭，加入一抗 PI3K (1:1000)、AKT1 (1:1000)、Bcl-2 (1:2000)、BAX (1:20000)、cleaved Caspase 3/P17/P19 (1:5000) 4 °C 孵育过夜，再加入对应种属的二抗 (1:20000) 孵育 1 h，最后使用天能 Tanon 5200 发光成像系统采集图像。

2.10 数据统计方法

采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行数据统计分析，所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)，并应用 Tukey's 检验进行显著性比较。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 生甘草、炒甘草、炙甘草中黄酮类共有成分分析

总离子流色谱图如图 1 所示。使用 Thermo Xcalibur 4.1 软件对 3 种甘草提取物在正离子和负离子模式下的质谱原始数据进行处理，最终鉴定出 51 种黄酮类成分，结果见表 1。

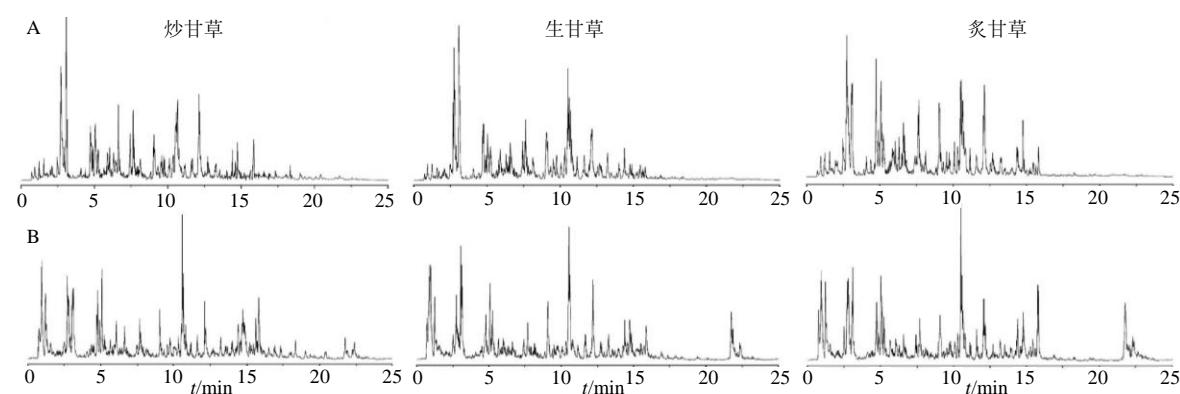


图 1 甘草总黄酮提取物正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current diagram in positive ion (A) and negative ion (B) modes of flavonoids from *G. uralensis*

表 1 生、炙、炒甘草总黄酮中的共有成分

Table 1 Common components in total flavonoids of raw, honey-fried, and stir-fried *G. uralensis*

序号	t/min	化合物	分子式	离子模式	理论值	误差($\times 10^{-6}$)	离子碎片
1	1.32	山柰酚-3-O-芸香糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.151 2	-2.35	503.119 2、473.107 8、353.065 8
2	1.43	夏佛塔苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	[M-H] ⁻	563.140 6	-2.35	503.118 6、473.108 2、433.096 2
3	2.19	大豆苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M+H] ⁺	417.118 0	-4.03	255.064 0、227.070 3、119.048 8、137.022 9
4	2.64	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.128 6	-5.09	253.048 0、213.053 4、197.060 0、225.053 6、137.023 2
5	2.72	异牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.112 9	-4.58	323.090 1、271.058 7、283.059 8
6	2.83	芹糖甘草苷	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	549.161 4	-2.35	417.116 7、255.065 5、135.007 3、119.048 6
7	2.83	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	273.075 6	-4.74	255.063 2、171.028 2、153.017 7、147.043 6、119.048 9
8	3.05	甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M-H] ⁻	417.119 1	-2.35	255.065 5、135.007 3、119.048 6、91.017 3
9	3.53	染料木苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.112 9	-4.96	271.058 8、215.069 5、153.017 5
10	4.48	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	301.035 4	-4.42	229.047 5、153.017 4、137.021 3
11	4.60	四羟基查耳酮4'-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	433.114 0	-2.35	271.060 6、177.018 0、151.002 2
12	4.68	橙皮素	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	301.071 8	-4.03	269.044 7、164.010 1、150.030 7
13	4.69	甘草苷元-7-O- β -D-芹糖-4'-O- β -D-葡萄糖苷	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	549.161 4	-2.35	417.116 7、255.065 5、135.007 3、119.048 6
14	4.71	芹糖异甘草苷	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	[M-H] ⁻	549.161 4	-2.35	417.116 7、255.065 5、135.007 3、119.048 6
15	4.82	6'-O-乙酰基芹糖异甘草苷	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	591.171 9	-2.35	549.160 9、255.065 4、135.007 3、119.048 6
16	5.09	异甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M-H] ⁻	417.119 1	-2.35	255.065 5、135.007 3、119.048 6、91.017 3
17	5.21	甘草苷D ₂ /D ₁	C ₃₅ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	695.198 1	-2.35	549.160 1、399.107 2、255.065 4、135.007 2
18	5.22	芒柄花苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	431.133 7	-4.81	269.079 6、254.055 1、137.022 8
19	5.65	甘草查尔酮B	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	[M-H] ⁻	285.076 8	-2.35	191.033 8、150.030 7
20	5.74	大豆素	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	255.065 2	-3.62	199.074 9、181.063 9、137.023 1
21	5.99	甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	257.080 8	-5.59	147.043 5、137.022 9、119.048 9、91.054 3
22	6.10	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M+H] ⁺	287.055 0	-2.25	121.064 5、153.017 5、241.048 4、213.053 8

表 1 (续)

序号	t/min	化合物	分子式	离子模式	理论值	误差/($\times 10^{-6}$)	离子碎片
23	6.26	汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.075 8	-4.65	270.050 7
24	6.30	甘草昔 A	C ₃₆ H ₃₈ O ₁₆	[M-H] ⁻	725.208 7	-2.35	695.195 5、549.161 7、255.065 4、135.007 3
25	6.37	美迪紫檀素	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	271.096 5	-4.38	161.059 2、137.059 3、123.043 8
26	6.73	美迪紫檀素	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M-H] ⁻	271.096 5	-4.03	161.059 2、137.059 3、123.043 8
27	7.70	刺甘草查尔酮	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	271.096 5	-4.64	121.028 1、229.085 0、107.049 0、177.054 0
28	7.98	去甲汉黄芩素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M+H] ⁺	271.060 1	-4.67	253.048 3、169.065 0、123.043 4
29	8.21	异樱黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.075 8	-4.31	197.059 3、121.064 6
30	8.36	毛蕊异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.075 8	-4.00	270.051 1、225.053 7、137.023 0
31	8.93	香叶木素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M+H] ⁺	301.070 7	-3.54	286.045 3、229.048 6、153.017 6
32	9.68	异甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	257.080 8	-4.06	147.043 5、137.022 9、119.048 8、81.033 8
33	9.80	乔松素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	257.080 8	-4.03	147.043 5、137.022 9、119.048 9、91.054 3
34	10.02	刺芒柄花素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	269.080 8	-5.48	213.090 5、118.041 1
35	13.53	Xanthogalenol	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	[M-H] ⁻	353.139 4	-2.35	338.115 2、177.018 0、150.030 7
36	14.37	甘草查尔酮 D 或 其同分异构体	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	[M-H] ⁻	353.103 1	-2.35	323.092 2、283.025 3、218.094 2、203.071 5
37	14.39	甘草香豆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	[M-H] ⁻	367.118 7	-2.35	309.039 9、225.055 0
38	14.40	淫羊藿素	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	[M-H] ⁻	367.118 7	-4.03	309.039 9、225.055 0
39	14.46	甘草黄酮醇 A	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	[M-H] ⁻	353.103 1	-4.03	323.092 2、283.025 3、218.094 2、203.071 5
40	14.84	粗毛甘草素 C	C ₂₁ H ₂₄ O ₅	[M-H] ⁻	355.155 1	-4.03	323.128 1、283.060 5、203.070 3、135.043 6
41	14.85	黄羽扇豆魏特酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	[M-H] ⁻	337.108 1	-4.03	305.117 5、268.072 9、243.102 4
42	15.15	甘草黄酮醇	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	[M-H] ⁻	353.103 1	-4.03	323.092 2、283.025 3、218.094 2、203.071 5
43	15.27	半甘草异黄酮 B	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	355.102 4	-4.38	299.053 9、287.053 7
44	15.50	樱黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.075 8	4.51	147.043 6、229.084 8
45	15.63	黄腐酚	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	[M+H] ⁺	355.154 0	-4.09	299.054 3、179.033 3
46	15.83	甘草查尔酮 A	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	[M-H] ⁻	337.144 5	-2.35	268.073 2、229.086 1、201.091 0
47	15.83	甘草查尔酮 A	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	[M+H] ⁺	339.159 1	3.50	297.147 5、271.094 2、121.028 1
48	16.21	甘草酚	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	[M-H] ⁻	365.103 1	-2.35	307.024 1、295.024 1
49	16.59	光甘草宁	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	323.128 9	-4.03	322.120 0
50	18.01	光甘草酚	C ₂₅ H ₂₈ O ₄	[M-H] ⁻	391.191 5	-4.03	187.111 6、203.070 2
51	19.10	甘草宁 E	C ₂₅ H ₂₈ O ₆	[M-H] ⁻	423.181 3	-4.03	229.086 1、193.085 9

3.2 生甘草、炒甘草、炙甘草中黄酮类成分差异性分析

3.2.1 主成分分析(PCA) 使用 SIMCA 14.1 软件进行 PCA, 如图 2 所示, 3 组炮制品分离趋势明显, PC1=51.4%, PC2=15.3%, 置信区间在 95% 以上, 表明 3 组甘草的黄酮类成分具有明显差异。

3.2.2 偏最小二乘判别分析(PLS-DA) 采用 PLS-DA 进一步明确不同甘草炮制品黄酮类成分的差异, 结果见图 3, 不同炮制方法的甘草黄酮类成分能较好地被区分为 3 类, 与 PCA 结果一致。200 次的置换检验验证结果显示, 模型拟合参数 $R_x^2=0.772$ 、 $R_y^2=0.991$ 与 $Q^2=0.966$ 值均接近 1, 表明模

型具有较高的解释能力与预测稳定性。以 VIP ≥ 1 且 $P\leq 0.05$ 为标准筛选差异性化合物, 结果见表 2。炮制后黄酮类成分含量均有不同程度的变化, 炙甘草中甘草查尔酮 A、刺甘草查尔酮等查尔酮类含量上升; 炒甘草中大豆苷、甘草宁 E 等异黄酮类成分上升, 而甘草昔、甘草黄酮醇等含量有所下降。可能由于高温使黄酮分子内的化学键发生断裂和重新组合, 进而促进查耳酮在高温下进一步异构化, 双键迁移和环化形成异黄酮。而炙甘草由于蜂蜜的保护作用, 多数转化成为查尔酮。

3.3 斑马鱼对甘草黄酮提取物耐受性的考察

由图 4 可知, 当甘草黄酮提取物的质量浓度≤

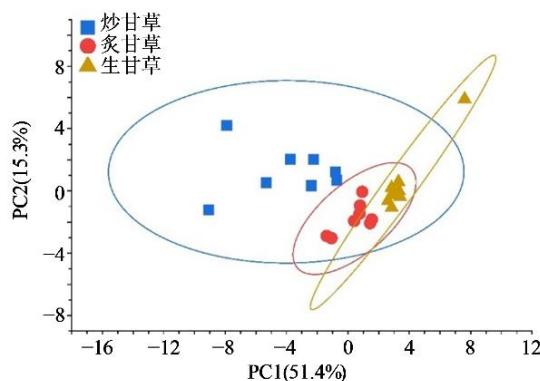


图 2 PCA 得分图

Fig. 2 PCA plot

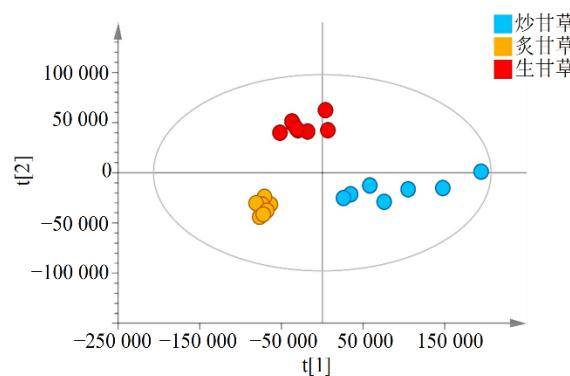


图 3 PLS-DA 图

Fig. 3 PLS-DA plot

表 2 生、炙、炒甘草总黄酮中的差异成分

Table 2 Differential components in total flavonoids of raw, honey-fried, and stir-fried *G. uralensis*

序号	t/min	成分	炮制后含量变化		P	VIP
			炙甘草	炒甘草		
1	2.83	柚皮素	↑	—	2.29×10^{-5}	1.99
2	3.05	甘草昔	↓	↓	2.20×10^{-2}	10.22
3	4.71	芹糖异甘草昔	↓	↓	4.50×10^{-5}	4.22
4	5.09	异甘草昔	↑	↓	2.78×10^{-4}	14.84
5	5.22	芒柄花昔	↑	↓	9.47×10^{-6}	5.62
6	5.74	大豆素	↓	↓	1.31×10^{-4}	1.03
7	5.99	甘草素	↑	↑	7.92×10^{-7}	4.63
8	7.70	刺甘草查尔酮	↑	↑	6.47×10^{-8}	1.36
9	7.73	美迪紫檀素	↑	↓	3.30×10^{-8}	6.00
10	8.21	异樱黄素	↓	↑	2.14×10^{-11}	2.09
11	8.36	毛蕊异黄酮	↑	↓	2.14×10^{-11}	2.09
12	9.68	异甘草素	↑	↓	4.15×10^{-5}	2.75
13	9.80	乔松素	↑	↓	1.99×10^{-7}	3.76
14	10.02	刺芒柄花素	↑	↓	2.26×10^{-8}	3.26
15	14.85	黄羽扇豆魏特酮	↑	↑	4.77×10^{-3}	2.22
16	15.15	甘草黄酮醇	↓	↓	3.54×10^{-3}	11.56
17	15.15	甘草黄酮醇 A	↑	↑	3.54×10^{-3}	7.89
18	15.50	樱黄素	↓	↓	6.23×10^{-4}	1.38
19	15.83	甘草查尔酮 A	↑	↓	1.57×10^{-3}	7.26
20	18.01	光甘草酚	↑	↓	1.14×10^{-13}	10.48
21	19.10	甘草宁 E	↑	↑	2.25×10^{-18}	11.43

↑增加; ↓减少。

↑increase; ↓decrease.

40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 对各组斑马鱼的存活率无影响; 当甘草黄酮提取物的质量浓度 $\geq 60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 各组斑马鱼出现不同程度的死亡。生、炙、炒甘草黄酮提取物的 LC_{50} 分别为 85.8、94.2、80.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.4 对斑马鱼心律失常的作用效果比较

3.4.1 最佳质量浓度甘草总黄酮药的确定 结果

见图 5, 各总黄酮提取物质量浓度在 1/3 LC_{50} 时治疗效果最佳, 后续动物实验均在此质量浓度下进行评价。

3.4.2 生、炒、炙甘草黄酮提取物对氯化钡诱导的心律失常表型的保护作用 结果见图 6、表 3, 与对照组相比, 模型组 SV-BA 间距和心包水肿面积显著

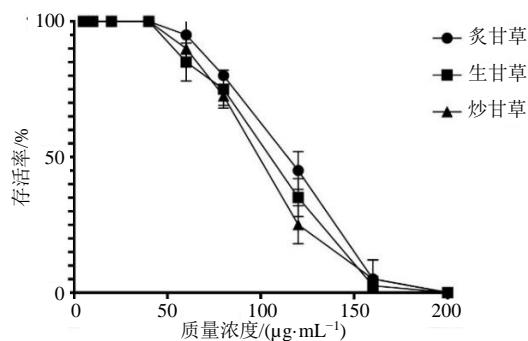


图4 不同质量浓度的甘草总黄酮对斑马鱼存活率的影响
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effects of different concentrations of total flavonoids from *G. uralensis* on survival rate of zebrafish
($\bar{x} \pm s, n=3$)

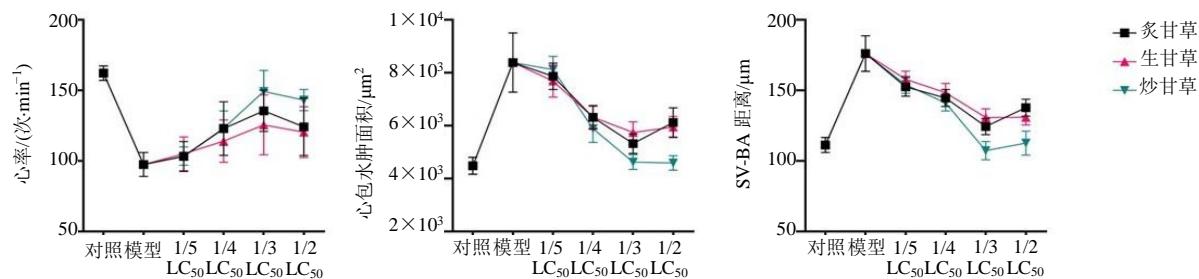


图5 不同质量浓度甘草总黄酮对斑马鱼心率、心包水肿面积、SV-BA 距离的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 5 Effects of total flavonoids from *G. uralensis* at different mass concentrations on heart rate, area of pericardial edema and SV-BA distance in zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=8$)

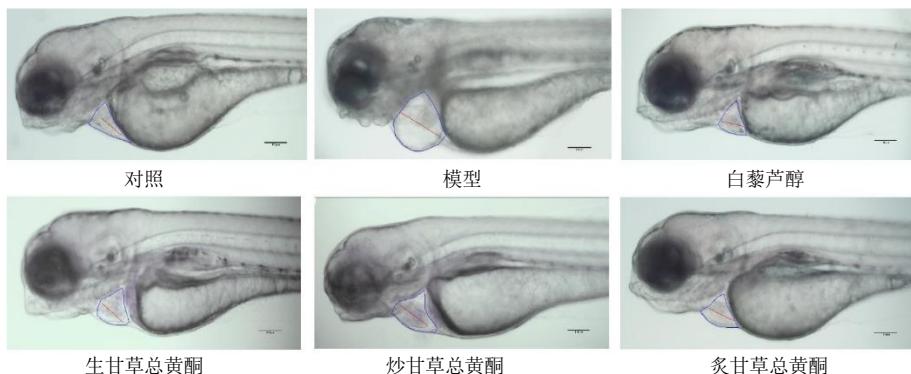


图6 甘草总黄酮对氯化钡处理后斑马鱼胚胎心脏发育的影响 ($\times 40$)

Fig. 6 Effect of total flavonoids from *G. uralensis* on cardiac development of zebrafish embryos treated with barium chloride ($\times 40$)

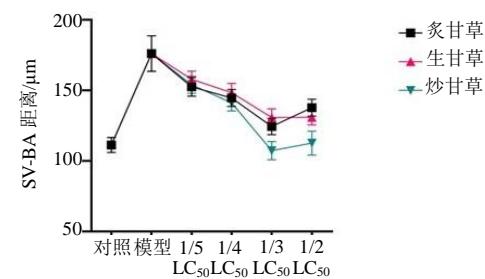
组荧光密度降低率分别为 58.72%、51.12%、90.86%，其中蜜炙甘草总黄酮组展现出最强的荧光密度降低率，与白藜芦醇组 (91.65%) 干预效果相当，提示该组的心肌保护作用最为显著。

3.5 网络药理学分析

3.5.1 潜在活性成分分析及靶点预测 经过 Swiss ADME 筛选共得到 17 个潜在活性成分，结合

增加，心率明显降低 ($P<0.01$)。与模型组相比，3 种甘草总黄酮干预后，心率均得到显著改善 ($P<0.01$)，3 组 SV-BA 间距修复率分别为 74.86%、74.36%、97.40%，心包水肿面积修复率分别为 82.57%、75.11%、90.70%。综合上述指标可见，炙甘草总黄酮的改善作用最为突出。

3.4.3 心肌细胞凋亡观察 AO 染色荧光成像结果如图 7、表 4 所示。与对照组相比，模型组斑马鱼心脏区域的平均荧光密度显著升高 ($P<0.01$)，表明氯化钡成功诱导了心肌细胞凋亡；与模型组相比，经 3 种不同炮制规格甘草总黄酮干预后，斑马鱼心脏区域的平均荧光密度均呈降低趋势，生、炒、炙总黄酮



PubChem 与 Swiss Target Prediction 数据库得到 398 个活性成分靶点。

3.5.2 药物靶点获取及韦恩图绘制 将 disgent、GeneCard、OMIM 数据库中筛选得到的疾病靶点合并去重后得到疾病靶点 1 624 个。使用 Venny 2.1.0 绘制“药物-疾病”韦恩图，共得交集靶点 88 个，结果见图 8。

表 3 斑马鱼心脏损伤及修复情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 3 Situation of cardiac injury and repair in zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	心率/(次·min ⁻¹)	SV-AB/ μm	SV-AB 修复率/%	水肿面积/ μm^2	水肿面积修复率/%
对照	—	158.89±13.42	107.28±6.27	—	4 592.72±546.88	—
模型	4.2	100.91±13.90 ^{##}	174.57±8.91 ^{##}	—	8 415.76±849.42 ^{##}	—
白藜芦醇	30.0	153.60±9.09 ^{**}	110.52±6.64 ^{**}	95.19	4 772.79±680.37 ^{**}	95.29
生甘草总黄酮	28.6	137.38±7.15 ^{**}	124.20±7.27 [*]	74.86	5 259.12±408.77 ^{**}	82.57
炒甘草总黄酮	26.7	124.75±5.01 ^{**}	124.53±9.75 [*]	74.36	5 544.12±612.05 ^{**}	75.11
炙甘草总黄酮	31.4	159.00±15.38 ^{**}	109.03±11.44 ^{**}	97.40	4 948.37±395.20 ^{**}	90.70

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ 。

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group.

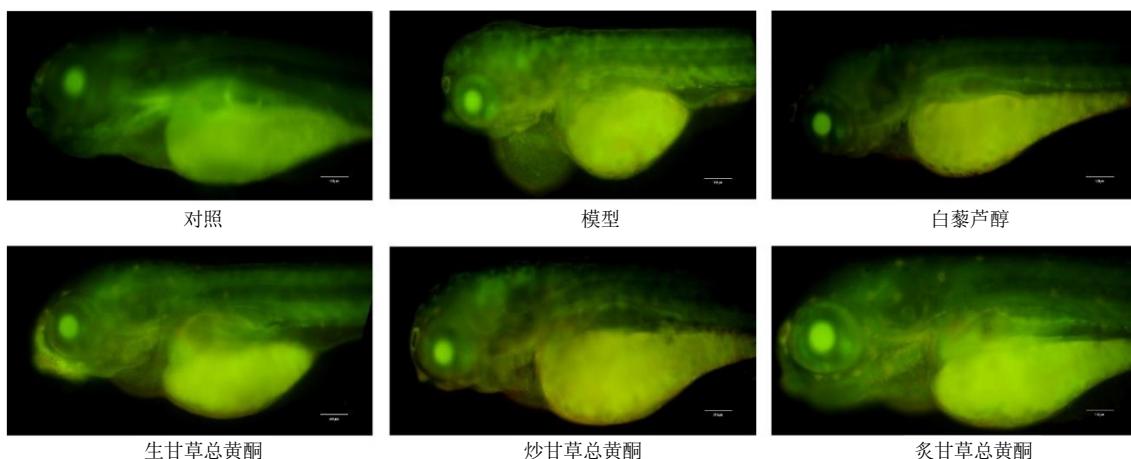


图 7 AO 染色后斑马鱼胚胎心脏平均荧光密度 ($\times 40$)

Fig. 7 Average fluorescence density of zebrafish embryo hearts after AO staining ($\times 40$)

表 4 斑马鱼心脏荧光密度 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Fluorescence intensity of zebrafish heart
($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	荧光密度	荧光密度降 低率/%
对照	—	28.42±2.71	—
模型	4.2	58.55±17.00 ^{##}	—
白藜芦醇	30.0	30.93±3.13 ^{**}	91.65
生甘草总黄酮	28.6	40.86±3.18 [*]	58.72
炒甘草总黄酮	26.7	43.14±4.52	51.12
炙甘草总黄酮	31.4	31.17±4.58 ^{**}	90.86

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ 。

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group.

3.5.3 PPI 网络构建 PPI 网络图由 87 个靶点, 743 条边组成, 采用 Cytoscape 3.7.2 软件可视化分析和 CentiScaPe 插件拓扑分析对核心靶点进行筛选, 结果见图 9, 根据度值、介数中心性、接近中心性值筛选, 共得到 15 个核心靶点: 蛋白激酶 B (AKT1)、肿瘤坏死因子 (TNF)、Src 酪氨酸激酶 (SRC)、缺

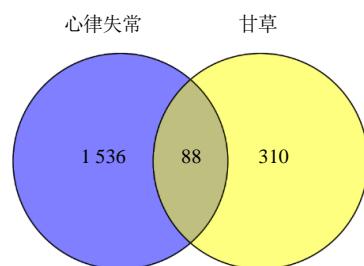


图 8 交集靶点韦恩图

Fig. 8 Venn diagram of intersecting targets

氧诱导因子 1 (HIF1A)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPARG)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、趋化因子 (C-X-C 基元) 受体 4 (CXCR4)、钙调蛋白 1 (CALM1)、丝氨酸蛋白酶抑制剂 E1 (SERPINE1)、 α -突触核蛋白 (SNCA)、 β 2 肾上腺素受体 (ADRB2)、细胞色素 P450 (CYP3A4)、丁酰胆碱酯酶 (BCHE)。图中节点大小和颜色深浅与度值成正比。

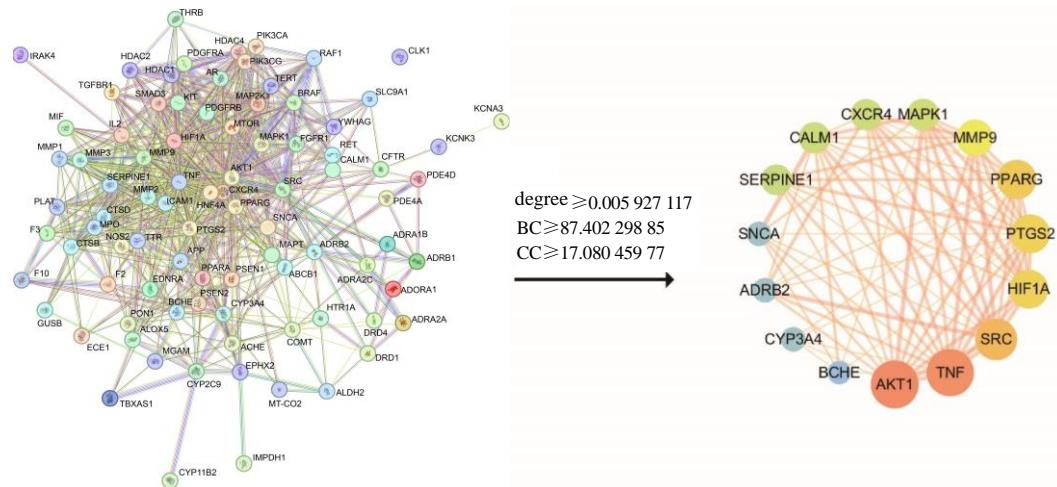


图9 PPI网络图

Fig. 9 PPI network diagram

3.5.4 富集分析 GO分析得到1831个条目($P<0.05$),其中生物学过程(BP)271个,包括凋亡过程的负调节、对缺氧的反应、心肌收缩等;细胞组成(CC)56个,包括质膜、膜筏、细胞表面等;分子功能(MF)71个,包括信号受体结合、血红素装订、转录共激活因子结合等。KEGG分析得到80条

通路($P<0.05$),将 P 值排名前15的通路可视化,见图10。cAMP信号通路、PI3K-Akt信号通路和凋亡信号通路在甘草黄酮治疗心律失常过程中高度富集。这些信号通路在心脏电生理和心肌细胞功能调节中扮演重要角色,甘草黄酮可能通过对这3条关键信号通路的调节发挥治疗心律失常的作用。

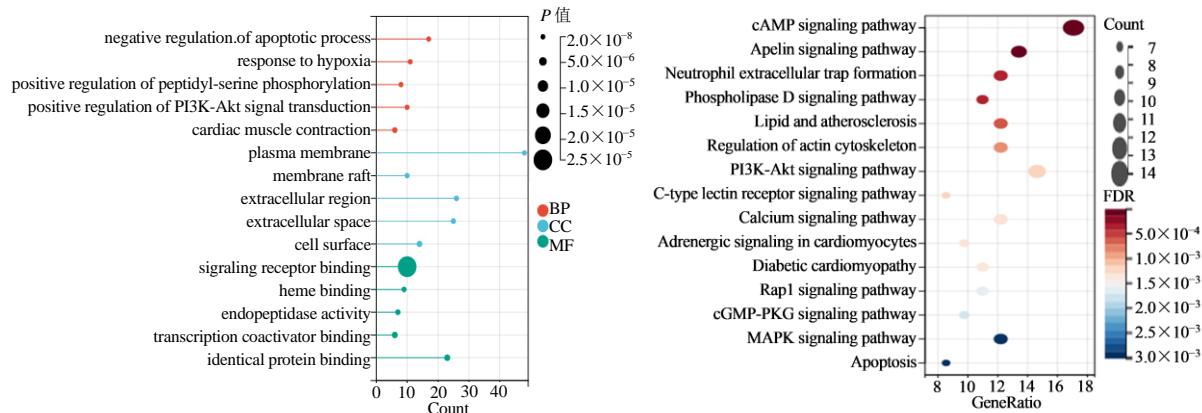


图10 GO和KEGG信号通路富集分析

Fig. 10 GO and KEGG signaling pathway enrichment analysis

3.5.5 基于“差异成分-靶点-通路”网络的核心成分筛选 借助NetworkAnalyzer工具开展网络拓扑分析,筛选得到柚皮素、甘草查尔酮A、美迪紫檀素、乔松素、甘草黄酮醇、甘草素、刺甘草查尔酮7种核心成分,各成分对应的拓扑参数详见表5。上述7种成分在“差异成分-靶点-通路”网络中占据关键节点,可发挥核心治疗效应,其含量差异或为造成3种甘草炮制品药效不同的主要因素。7种核心成分的质谱离子响应强度如图11所示,各核心成分在炙甘草总黄酮中的离子响应强度均显著升高($P<0.01$ 、 0.001),

提示其在炙甘草总黄酮中相对含量较高。“差异成分-靶点-通路”网络分析结果表明(图12),这些核心成分可能通过调控AKT1、PPAR γ 、PTGS2等关键靶点,进而干预cAMP信号通路、PI3K-Akt信号通路等通路,最终发挥抗心律失常作用。

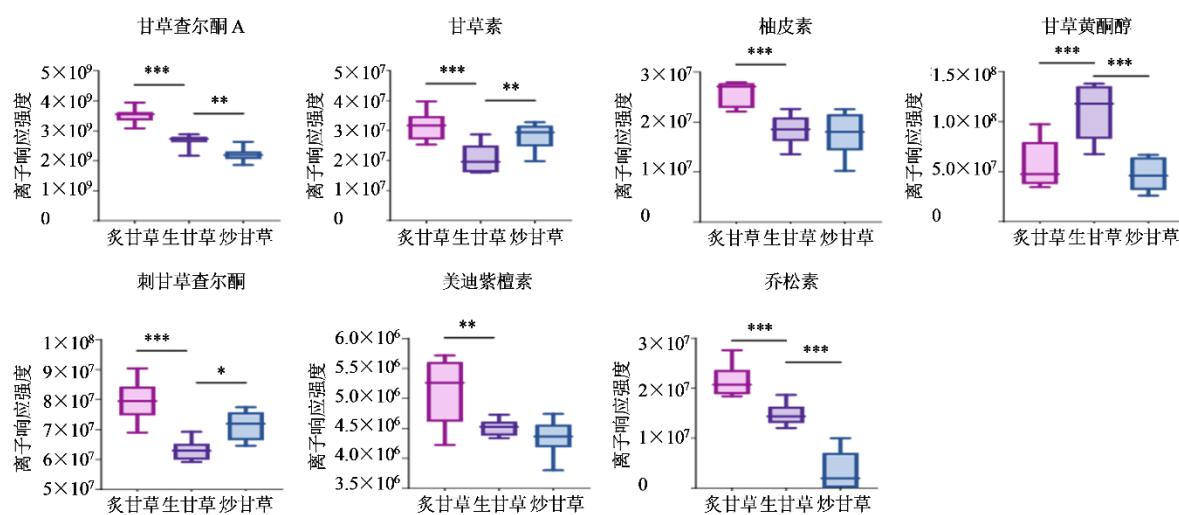
3.6 分子对接

对筛选得到的7个潜在核心成分与PPI网络中排名前7的核心靶点进行了分子对接。结果显示(表6),所有核心成分均与心律失常相关靶点表现出显著良好的结合活性,其结合能均低于 $-21\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,

表 5 核心成分拓扑参数

Table 5 Topological parameters of core components

化合物名称	介数中心性	接近中心性	度中心性
柚皮素	1 357.927 912	0.004 201 681	21
美迪紫檀素	1 698.155 835	0.004 347 826	20
甘草黄酮醇	1 022.339 895	0.004 065 041	32
甘草查尔酮 A	2 403.378 712	0.004 587 156	28
乔松素	1 328.525 099	0.004 201 681	21
甘草素	838.037 277	0.004 132 231	18
刺甘草查尔酮	1 625.529 819	0.004 504 505	24



*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001。

图 11 核心成分的离子响应强度

Fig. 11 Core component ion response intensity

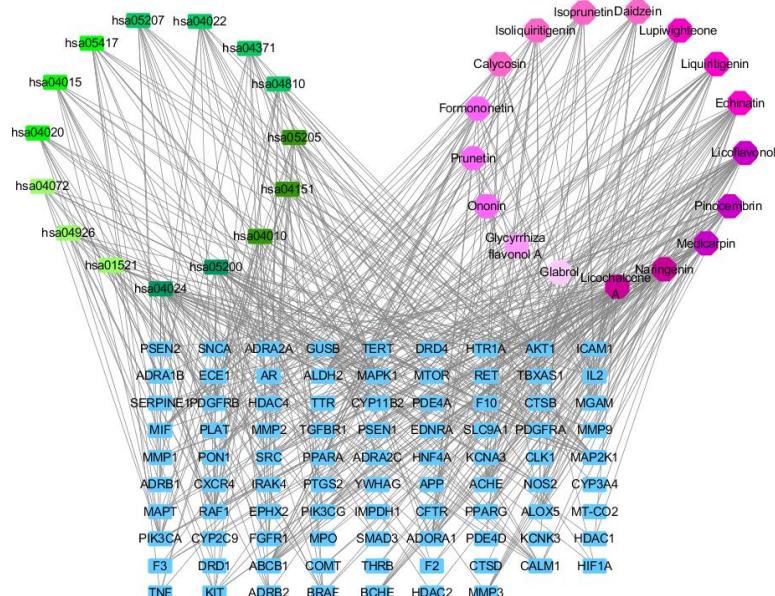


图 12 差异成分-靶点-通路网络

Fig. 12 Differential component-target-pathway network

表 6 分子对接结合能
Table 6 Molecular docking binding energy

靶点	结合能/(kJ·mol ⁻¹)						
	甘草黄酮醇	乔松素	美迪紫檀素	甘草查尔酮 A	柚皮素	甘草素	刺甘草查尔酮
PTGS2	-41.421 6	-34.308 8	-33.472 0	-31.380 0	-40.584 8	-32.635 2	-31.798 4
HIF1A	-33.053 6	-28.032 8	-26.359 2	-27.614 4	-32.216 8	-26.359 2	-25.104 0
SRC	-32.635 2	-32.635 2	-27.196 0	-28.032 8	-41.003 2	-27.614 4	-27.196 0
PPARG	-38.911 2	-29.288 0	-31.798 4	-30.124 8	-46.442 4	-30.543 2	-28.032 8
TNF	-29.706 4	-27.614 4	-28.032 8	-28.451 2	-39.329 6	-34.308 8	-25.522 4
AKT1	-32.635 2	-31.798 4	-28.451 2	-28.869 6	-39.329 6	-29.288 0	-24.685 6
MMP9	-29.706 4	-32.635 2	-28.869 6	-30.543 2	-34.727 2	-29.706 4	-28.451 2

表明结合作用稳定。其中, 柚皮素与所有核心靶点均能有效结合, 提示它可能是发挥抗心律失常作用的关键成分。如图 13 所示, 分子对接模型进一步证实了柚皮素在靶点活性位点中的稳定结合状态。

3.7 实验验证

3.7.1 柚皮素及甘草查尔酮 A 处理对阿霉素诱导的细胞模型的影响 由网络药理学及分子对接可知, 柚皮素与核心靶点结合力最强, 而甘草查尔酮 A 具有最高的拓扑参数, 提示二者可能为发挥药效的关键

键化合物。为此, 本研究进一步应用 H9C2 细胞模型对其细胞水平的生物学活性进行了深入评估。由图 14 可知, 柚皮素浓度在 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时对细胞活力无明显影响, 在高于 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对细胞存活率存在一定影响; 甘草查尔酮 A 在 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时对细胞活力无明显影响, 在高于 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对细胞存活率有一定抑制作用。由图 15 可知, 与对照组相比, 阿霉素给药能够显著降低细胞存活率 ($P < 0.001$), 与模型组比较, 两种药物在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能够显著逆转阿霉素诱导的细胞活力降低。

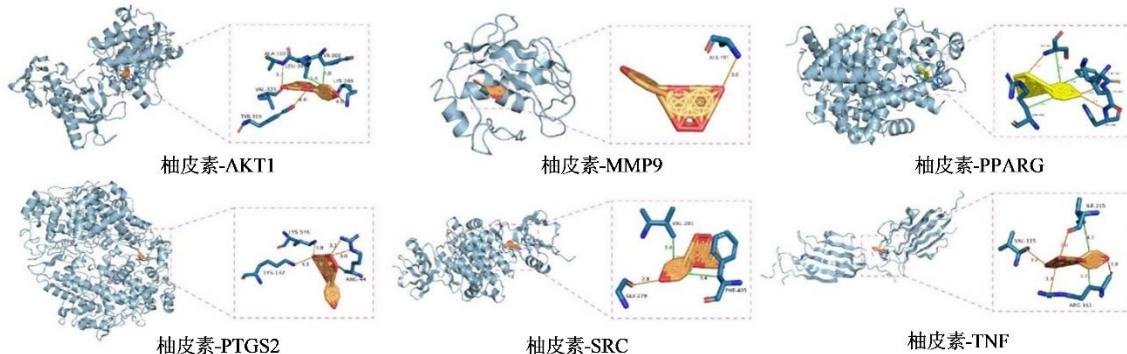
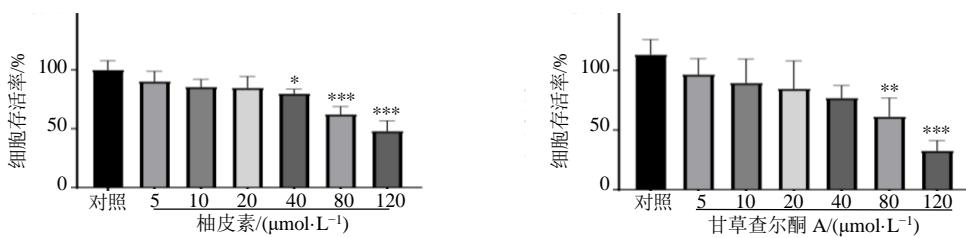


图 13 分子对接结果可视化
Fig. 13 Visualization of molecular docking

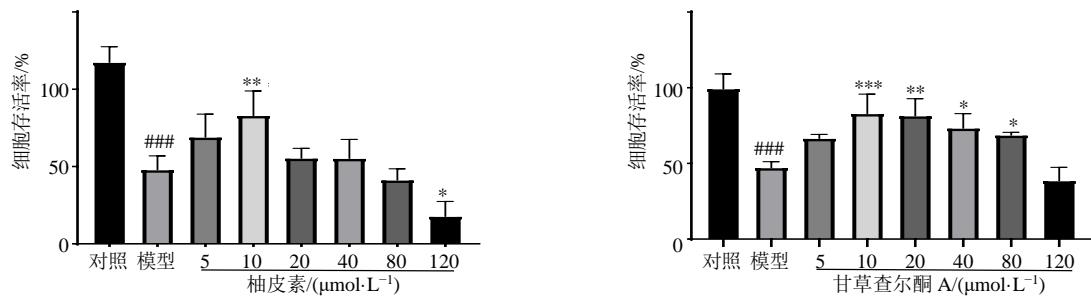


与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 14 柚皮素及甘草查尔酮 A 对 H9C2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 14 Effect of naringenin and licochalcone A on survival rate of H9C2 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)



与对照组比较: $^{###}P < 0.01$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ 。

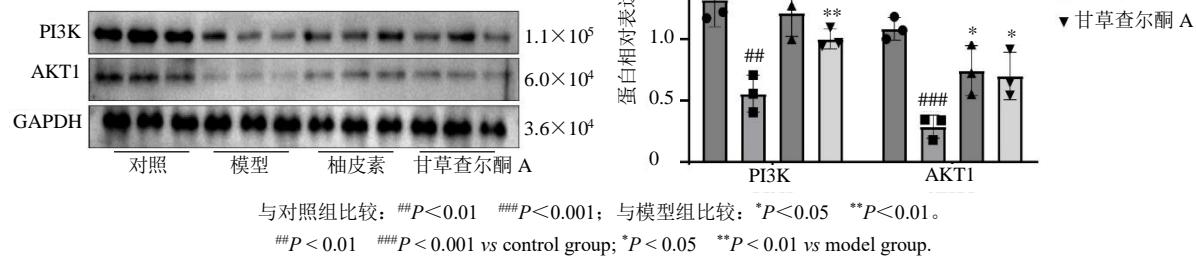
$^{###}P < 0.01$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ vs model group.

图 15 柚皮素及甘草查尔酮 A 对阿霉素诱导的细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 15 Effect of naringenin and licochalcone A on cell viability induced by doxorubicin ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.7.2 柚皮素及甘草查尔酮 A 对阿霉素诱导的 PI3K-Akt 通路及凋亡相关蛋白表达的调控作用 结果见图 16、17, PI3K 与 AKT1 作为 PI3K-Akt 信号通路的核心效应分子, 其蛋白相对表达水平在阿霉素干预后被显著抑制 ($P < 0.01$ 、 0.001)。与此同时, 阿霉素处理可上调促凋亡相关蛋白 Bax 与 cleaved Caspase-3 的表达水平, 下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 导致 Bcl-2/Bax 值显著降低 ($P < 0.001$),

提示细胞凋亡程序被激活。与模型组相比, 柚皮素与甘草查尔酮 A 干预后, PI3K 与 AKT1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表明二者可有效激活 PI3K-Akt 信号通路; 同时, Bcl-2/Bax 值显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且柚皮素组 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 提示柚皮素与甘草查尔酮 A 可通过调控上述凋亡相关蛋白的表达, 逆转阿霉素诱导的细胞凋亡效应。

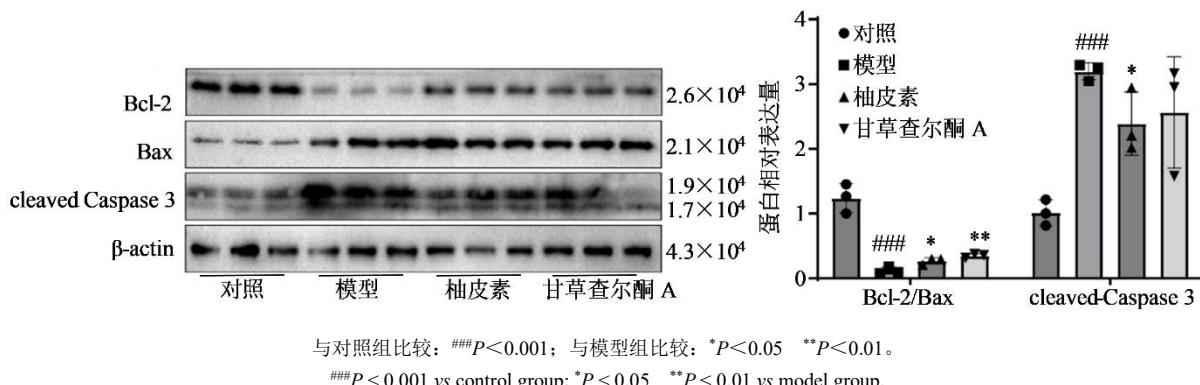


与对照组比较: $^{##}P < 0.01$ $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ 。

$^{##}P < 0.01$ $^{###}P < 0.001$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs model group.

图 16 柚皮素及甘草查尔酮 A 对 H9C2 细胞 PI3K/AKT1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 16 Effect of naringenin and licochalcone A on expression of PI3K/AKT1 protein in H9C2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)



与对照组比较: $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ 。

$^{###}P < 0.001$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs model group.

图 17 柚皮素及甘草查尔酮 A 对 H9C2 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 17 Effects of naringenin and licochalcone A on expression of apoptosis-related proteins in H9C2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

本研究整合斑马鱼模型药效评价、化学成分表征及细胞分子实验等多维度技术手段, 系统阐明甘草不同炮制品总黄酮抗心律失常的药效差异, 并揭示其潜在物质基础与作用机制。研究首先通过氯化钡诱导的斑马鱼心律失常模型验证, 在 3 种甘草炮制品中, 炙甘草总黄酮展现出最优干预效果, 提示传统炮制工艺可能通过调控化学成分组成, 显著增强甘草的抗心律失常活性。基于此, 本研究借助液质联用技术识别出不同炮制品的特征差异成分, 结合网络药理学分析, 将药效核心锁定于柚皮素与甘草查尔酮 A 2 个关键活性成分, 并预测其可能通过调控 PI3K-Akt 信号通路及细胞凋亡过程发挥作用。在阿霉素损伤的 H9C2 心肌细胞模型中, 进一步验证了上述成分可显著提升细胞活力, 且 Western blotting 实验初步证实其对预测通路的调控效应。

炮制过程中, 辅料种类及温度、时间等工艺参数会显著改变黄酮类成分的理化性质^[15-16]。已有研究证实, 适度加热可促进黄酮苷类成分的糖苷键断裂并释放游离苷元, 同时抑制热敏性成分的过度降解^[17]; 但高温或长时间处理易引发氧化、异构化及美拉德反应, 导致活性成分流失^[18]。本研究中, 氯化钡诱导的斑马鱼心律失常模型显示, 炙甘草黄酮提取物组的 SV-BA 间距修复率及心包水肿改善率均达最高水平, 表明蜜炙工艺可通过调控特定黄酮类成分的含量分布, 显著增强其抗心律失常活性。相较而言, 炒制工艺因高温导致部分热敏性成分分解转化, 整体活性有所削弱。机制上, 甘草炮制的热效应可促进黄酮苷类成分糖苷键断裂生成游离苷元^[19], 而蜂蜜中还原糖与黄酮羟基发生的美拉德反应, 能有效抑制热加工过程中黄酮成分的进一步异构化^[20]。

通过“差异成分-靶点-通路”网络分析, 本研究筛选出 7 种药效关联活性成分及 15 个核心靶点, 确明其主要通过调控 cAMP 信号通路、PI3K/Akt 通路等发挥抗心律失常作用。其中, cAMP 可通过激活蛋白激酶 A (PKA) 促进肌浆网钙离子释放, 增强心肌收缩力与心输出量, 同时调控心率^[20]; 还能通过调节钙离子通道及线粒体功能, 维持细胞内钙稳态, 促进钙离子重摄取, 减少舒张期钙泄漏及钙瞬变异常, 从而预防钙依赖性早搏及触发性心律失常^[21]。此外, cAMP 可经环腺苷酸交换蛋白 1 (Epac1)-Ras 相关蛋白 1 (Rap1) 通路间接激活 PI3K-

Akt 通路, 该通路在抑制心肌细胞凋亡、调节能量代谢中发挥核心作用^[22]。作为该通路的关键靶点, AKT1 可调控钙离子流动、增强心肌收缩力, 参与心脏对生理及病理刺激的适应性反应^[23], 但其异常激活可能诱发心肌肥厚、纤维化等病理改变, 增加心律失常易感性^[24]。

氯化钡作为钾通道阻滞剂, 主要通过抑制心肌细胞复极过程诱发快速性室性心律失常^[25]。研究证实, 心律失常会导致大量能量耗竭及活性氧 (ROS) 蓄积, 通过氧化应激途径诱发细胞凋亡^[26]; 同时, 心肌细胞离子通道功能异常与心律失常直接相关, 其中钙稳态失衡是触发细胞凋亡的关键环节^[27], 而凋亡细胞可通过氧化激活钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMKII) 干扰心肌离子通道功能, 进一步加剧心律失常^[28]。阿霉素诱导的心脏毒性则以 ROS 大量生成、氧化应激、DNA 损伤及最终心肌细胞凋亡为核心机制^[29], 本研究在 H9C2 细胞模型中证实, 柚皮素与甘草查尔酮 A 可显著缓解阿霉素引起的细胞活力下降及凋亡现象。

作为甘草炮制品中的核心差异成分, 柚皮素与甘草查尔酮 A 在抑制氧化应激、调节钙离子通道以发挥抗心律失常作用方面具有协同意义。研究表明, 柚皮素可通过激活线粒体 BK 钾通道 (mitoBK) 增强电压门控 K⁺通道电流, 缩短动作电位时程, 同时抑制电压门控 Ca²⁺通道 (ICaL) 及 Na⁺电流 (INa), 稳定心肌细胞电活动^[30]; ROS 过度积累导致心肌细胞膜脂质过氧化、线粒体功能受损, 进而诱发电活动异常^[31]。而甘草查尔酮 A 能显著减轻心肌细胞氧化应激损伤, 保护线粒体结构与功能, 维持正常能量代谢以间接稳定电活动^[32]。其具体机制包括: 通过促进 PI3K/Akt/鼠双微粒体蛋白 2 (MDM2) 磷酸化减少 p53 积累, 缓解阿霉素诱导的心脏毒性^[33]; 通过恢复谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 蛋白水平及调控核因子红细胞 2 相关因子 2 (NRF2)/血红素加氧酶 (HO-1) 信号通路, 降低氯合 [N, N'-二水杨叉-1, 2-苯二胺] 铁 (III) (Fe-SP) 诱导的心肌细胞铁死亡, 减少 ROS 蓄积及脂质过氧化反应^[34]。

需注意的是, 甘草的药理活性源于多成分协同作用的复杂体系。除黄酮类成分外, 其富含的三萜皂苷类成分 (如甘草酸、甘草次酸) 亦具有明确心血管保护作用: 甘草酸可通过抑制肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、白细胞介素 (IL)-6 等炎症因子释放减轻心肌炎症损伤^[35]; 甘草次酸则能调控心肌细胞 L

型钙通道, 影响钙离子内流^[36], 这对维持心肌电活动稳定性至关重要。

综上所述, 本研究通过整合化学成分表征、斑马鱼药效评价、网络药理学及分子实验技术, 系统阐述甘草不同炮制品中黄酮类成分抗心律失常的物质基础与作用机制, 证实蜜炙工艺可通过促进关键活性成分的转化与富集, 显著提升抗心律失常作用。但本研究仍存在局限性: 斑马鱼虽与人类基因高度同源, 但其心脏结构及调节机制与人类存在差异, 且有效成分在靶器官的暴露浓度及代谢规律尚不明确, 难以精准评估体内真实效应^[37]。后续研究拟构建哺乳动物模型, 进一步验证炙甘草抗心律失常的实际疗效与安全性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张登峰, 薛艳梅, 闫志锋, 等. 中医药防治缓慢性心律失常的研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2025, 52(10): 215-220.
Zhang D F, Xue Y M, Yan Z F, et al. Research progress of traditional Chinese medicine against bradyarrhythmia [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2025, 52(10): 215-220.
- [2] Larson J, Rich L, Deshmukh A, et al. Pharmacologic management for ventricular arrhythmias: Overview of anti-arrhythmic drugs [J]. J Clin Med, 2022, 11(11): 3233.
- [3] Cai M, Xu Y C, Deng B, et al. *Radix Glycyrrhizae* extract and licochalcone a exert an anti-inflammatory action by direct suppression of toll like receptor 4 [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 302(Pt A): 115869.
- [4] 黄蓉, 李晴霞, 何秀娟, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 探究生、炙甘草黄酮类成分及其抗氧化活性差异 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(12): 2471-2478.
Huang R, Li Q X, He X J, et al. Differences of flavonoids and antioxidant activities in raw and processed *Glycyrrhiza uralensis* fisch. based on UPLC-LTQ-orbitrap MS [J]. Mod Chin Med, 2023, 25(12): 2471-2478.
- [5] 贾世亮, 武雪玲, 李筱筱, 等. 甘草中黄酮类物质的功能研究进展 [J]. 北京联合大学学报, 2016, 30(4): 67-73.
Jia S L, Wu X L, Li X X, et al. Research progress of the functions of licorice flavonoids [J]. J Beijing Union Univ, 2016, 30(4): 67-73.
- [6] Thu V T, Yen N T H, Ly N T H. Liquiritin from *Radix glycyrrhizae* protects cardiac mitochondria from hypoxia/reoxygenation damage [J]. J Anal Methods Chem, 2021, 2021: 1857464.
- [7] 钟凌云, 崔美娜, 杨明, 等. 炮制影响中药药性的现代研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5109-5113.
Zhong L Y, Cui M N, Yang M, et al. Modern researches on effect of processing of Chinese herb medicine on Chinese medical properties [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(23): 5109-5113.
- [8] 周晶晶, 周洁, 窦霞, 等. 不同炮制方法对甘草化学成分及药理作用的影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(5): 244-249.
Zhou J J, Zhou J, Dou X, et al. Effects of different processing methods on chemical constituents and pharmacological action of Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(5): 244-249.
- [9] Giardogliou P, Beis D. On zebrafish disease models and matters of the heart [J]. Biomedicines, 2019, 7(1): 15.
- [10] 孙玉振. 甘草、清炒甘草和炙甘草的差异性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2023.
Sun Y Z. Study on the difference of licorice, roasted licorice and炙甘草 [D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [11] 中国药典 [S]. 四部, 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume IV, 2020.
- [12] 孟珈同, 邱智东, 李军鸽, 等. 炒甘草炮制工艺及质量标准研究 [J]. 人参研究, 2022, 34(5): 13-16.
Meng J T, Qiu Z D, Li J G, et al. Study on processing technology and quality standard of fried licorice [J]. Ginseng Res, 2022, 34(5): 13-16.
- [13] Yang H, Liu Y R, Song Z X, et al. Study on the underlying mechanism of *Poria* in intervention of arrhythmia zebrafish by integrating metabolomics and network pharmacology [J]. Phytomedicine, 2024, 122: 155143.
- [14] Tian J, Tang M J, Geng Y, et al. Mechanism validation of the saponins from American ginseng in antagonizing chronic heart failure [J]. Food Biosci, 2025, 71: 107170.
- [15] Zhao C, Xu J, Liu Y, et al. Extraction and purification of flavonoids and antiviral and antioxidant activities of *Polygonum perfoliatum* L [J]. Molecules, 2024, 30(1): 29.
- [16] 周添慧, 周佳, 吕思霖, 等. 基于“黑如漆、甘如饴”的地黄炮制过程质量评价研究 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2344-2355.
Zhou T H, Zhou J, Lyu S L, et al. Quality evaluation in processing of *Rehmanniae Radix* based on “black as paint and sweet as maltose” [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(7): 2344-2355.
- [17] 韩慧, 张加玲. 热处理与大豆异黄酮苷元的转化分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(3): 250-253.
Han H, Zhang J L. Heat treated soybean and the

- transformation of soy isoflavone aglycone [J]. Chin J Food Hyg, 2010, 22(3): 250-253.
- [18] 王野. 甘草之“炙” 古今不同炮制方法及饮片质量的比较研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- Wang Y. A comparative study on different processing methods and quality of *Radix Glycyrrhizae* in ancient and modern times [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2020.
- [19] 孔沙沙. 基于蜂蜜“天然低共熔溶液”特征研究“蜜炙”和“清炒”甘草的差异及蜜炙机理 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- Kong S S. Study on the differences between “honey-fried” and “fried” licorice and the honey frying mechanism based on the “natural deep eutectic solvent” characteristic of honey [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2022.
- [20] Chen S, Knight W E, Yan C. Roles of PDE1 in pathological cardiac remodeling and dysfunction [J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2018, 5(2): 22.
- [21] Niu Y, Yip C Y, Pan K W, et al. Effect of electronic cigarette vapour exposure on Ca^{2+} - and cAMP-dependent ion transport in human airway epithelial cells [J]. Lung, 2025, 203(1): 48.
- [22] Korayem A H, Mujica P E, Aramoto H, et al. Endothelial cAMP deactivates ischemia-reperfusion-induced microvascular hyperpermeability via Rap1-mediated mechanisms [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017, 313(1): H179-H189.
- [23] Sussman M A, Völkers M, Fischer K, et al. Myocardial Akt: The omnipresent nexus [J]. Physiol Rev, 2011, 91(3): 1023-1070.
- [24] Liu S Y, Chen H Y. Mechanism of *Nardostachyos Radix et Rhizoma-Salidroside* in the treatment of premature ventricular beats based on network pharmacology and molecular docking [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 20741.
- [25] 梁嘉钰, 陈金红, 邓芳隽, 等. 心律失常动物模型研究现状 [J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(5): 216-220, 226.
- Liang J Y, Chen J H, Deng F J, et al. Research progress of arrhythmia animal models [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2022, 49(5): 216-220, 226.
- [26] Gilotra N A, Bhonsale A, James C A, et al. Heart failure is common and under-recognized in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia [J]. Circ Heart Fail, 2017, 10(9): e003819.
- [27] Jinarat D, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn S C, et al. Particulate matter and cardiac arrhythmias: From clinical observation to mechanistic insights at cardiac ion channels [J]. Environ Pollut, 2025, 373: 126168.
- [28] Li T, Liu T, Wang Y, et al. P21-activated kinase 2 as a novel target for ventricular tachyarrhythmias associated with cardiac adrenergic stress and hypertrophy [J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12(17): e2411987.
- [29] Rawat P S, Jaiswal A, Khurana A, et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 139: 111708.
- [30] Flori L, Albanese L, Calderone V, et al. Cardioprotective effects of grapefruit IntegroPectin extracted via hydrodynamic cavitation from by-products of Citrus fruits industry: Role of mitochondrial potassium channels [J]. Foods, 2022, 11(18): 2799.
- [31] Mahapatra C, Thakkar R, Kumar R. Modulatory impact of oxidative stress on action potentials in pathophysiological states: A comprehensive review [J]. Antioxidants (Basel), 2024, 13(10): 1172.
- [32] 王雪. 甘草查尔酮 A 对小鼠心肌梗死的保护效应及其作用机制 [D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- Wang X. Protective effect of Licochalcone A on myocardial infarction in mice and its mechanism [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022.
- [33] Chen G X, Luo S X, Guo H D, et al. Licochalcone A alleviates ferroptosis in doxorubicin-induced cardiotoxicity via the PI3K/Akt/MDM2/p53 pathway [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2024, 397(6): 4247-4262.
- [34] Liu M H, Du Y, Gao D J. Licochalcone A: A review of its pharmacology activities and molecular mechanisms [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1453426.
- [35] Zhu K Y, Fan R, Cao Y C, et al. Glycyrrhizin attenuates myocardial ischemia reperfusion injury by suppressing Inflammation, oxidative stress, and ferroptosis via the HMGB1-TLR4-GPX4 pathway [J]. Exp Cell Res, 2024, 435(1): 113912.
- [36] Chang N W, Hou C Y, Zhai Y, et al. Detoxification and benefits on acute heart failure in mice- of fuziline using glycyrrhetic acid: An integrated biochemical analysis [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1419663.
- [37] Angom R S, Singh M, Muhammad H, et al. Zebrafish as a versatile model for cardiovascular research: Peering into the heart of the matter [J]. Cells, 2025, 14(7): 531.

[责任编辑 孙英杰]