

消痰降脂胶囊激活 Nrf2/ARE 通路保护过氧化氢诱导的心肌细胞损伤

王歆玮^{1,2}, 邢发萍^{1,2}, 陈中国^{1,2*}

1. 贵阳新天药业股份有限公司, 贵州 贵阳 550000

2. 上海海天医药科技开发有限公司, 上海 200030

摘要: 目的 探讨消痰降脂胶囊对过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤的保护作用及其作用机制。方法 采用 H₂O₂ 诱导 H9c2 细胞构建氧化损伤模型, 设置对照组、模型组和消痰降脂胶囊 (75、150、300 μg/mL) 组, 给予药物进行干预。通过 CCK-8 法检测细胞存活率; 检测氧化应激指标乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平; 流式细胞术测定细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平; Western blotting 检测核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase 1, HO-1)、磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (phosphorylated extracellular regulated protein kinases 1/2, p-ERK1/2)、磷酸化 p38 (phosphorylated p38, p-p38) 和磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶 (phosphorylated c-Jun N-terminal kinase, p-JNK) 蛋白表达。结果 与模型组比较, 消痰降脂胶囊呈剂量相关性提高 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞存活率 ($P < 0.05$ 、 0.01), 降低细胞内 ROS 蓄积 ($P < 0.001$), 显著抑制 LDH 活性及 MDA 水平 ($P < 0.001$), 显著提高 SOD 活性 ($P < 0.001$)。Western blotting 结果显示, 经消痰降脂胶囊干预后, Nrf2 及其下游 HO-1 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), p-ERK1/2 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 而 p-p38 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), p-JNK 水平无显著变化。结论 消痰降脂胶囊通过调控丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)-Nrf2/抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 信号通路重建氧化还原稳态, 从而减轻心肌细胞氧化损伤。

关键词: 消痰降脂胶囊; 心肌细胞; 氧化损伤; 核因子 E2 相关因子 2/抗氧化反应元件通路; 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)18-6667-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.18.016

Xiaoyu Jiangzhi Capsules protects hydrogen peroxide induced myocardial cell injury via Nrf2/ARE activation

WANG Xinwei^{1,2}, XING Faping^{1,2}, CHEN Zhongguo^{1,2}

1. Guiyang Xintian Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550000, China

2. Shanghai Haitian Pharmaceutical Technology Development Co., Ltd., Shanghai 200030, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect and mechanism of Xiaoyu Jiangzhi Capsules (消痰降脂胶囊) on hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced H9c2 cardiomyocytes injury. **Methods** The oxidative injury model was constructed using H₂O₂-treated H9c2 cardiomyocytes, control group, model group, Xiaoyu Jiangzhi Capsules (75, 150, 300 μg/mL) groups were set up, drugs were given for intervention. Cell survival rate was detected by CCK-8 assay. Oxidative stress indicators lactate dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD) activities and malondialdehyde (MDA) level were detected. Intracellular reactive oxygen species (ROS) level were measured by flow cytometry. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1), phosphorylated extracellular regulated protein kinases 1/2 (p-ERK1/2), phosphorylated p38 (p-p38) and phosphorylated c-Jun N-terminal kinase (p-JNK) protein expressions were detected by Western blotting. **Results** Compared with model group, Xiaoyu Jiangzhi Capsules showed a dose-dependent increase in H₂O₂-induced H9c2 cell survival rate ($P < 0.05$, 0.01), decreased intracellular ROS accumulation ($P < 0.001$), significantly inhibited LDH activity and MDA level ($P < 0.001$), and significantly increased SOD activity ($P < 0.001$). Western blotting results showed that after intervention with Xiaoyu Jiangzhi Capsules, the expression levels of Nrf2 and its downstream HO-1 protein were significantly increased ($P < 0.01$, 0.001), the level of p-ERK1/2 was significantly increased ($P < 0.05$, 0.01), while the

收稿日期: 2025-03-05

作者简介: 王歆玮, 硕士研究生, 从事药物临床研究。Tel: (021)64222293 E-mail: wangxinwei@xintianpharm.com

*通信作者: 陈中国, 博士, 从事药物临床研究。Tel: (021)64222293 E-mail: chenzhongguo@xintianpharm.com

level of p-p38 was significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$), and the level of p-JNK showed no significant change. **Conclusion** Xiaoyu Jiangzhi Capsules could reduce cardiomyocyte oxidative damage by regulating mitogen-activated protein kinase (MAPK)-Nrf2/antioxidant response element (ARE) signaling pathway to restore redox homeostasis.

Key words: Xiaoyu Jiangzhi Capsules; cardiomyocytes; oxidative damage; nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element pathway; mitogen-activated protein kinase

冠状动脉粥样硬化性心脏病是指冠状动脉粥样硬化使血管腔狭窄或阻塞, 导致心肌缺血、缺氧而引起心脏病, 简称冠心病 (coronary heart disease, CHD) [1]。随着社会的发展, 生活水平的提高, 生活习惯的多样化, 肥胖和吸烟人群比例的增加, 高血压病、糖尿病、高脂血症发病人群越来越多, 冠心病发病率逐年攀升且趋于年轻化。动脉粥样硬化性心血管疾病为主的心血管疾病是我国城乡居民第 1 位死亡原因, 占死因构成的 40% 以上 [2]。

氧化应激损伤被认为是冠心病的重要发病机制之一。机体细胞内氧自由基的过量和抗氧化防御系统受损, 或者外源性氧化物质摄入过量, 导致活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 过量蓄积, 引起细胞损伤。核因子 E2 相关因子 2/抗氧化反应元件 (nuclear factor E2 related factor 2/antioxidant response element, Nrf2/ARE) 信号通路是细胞内关键的抗氧化防御系统, 通过调控下游抗氧化酶的表达来清除过量 ROS, 维持细胞内氧化还原稳态, 从而减轻氧化应激损伤 [3]。丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 家族包括细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2)、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和 p38 [4], 在多种细胞系中介导 Nrf2/ARE 通路的激活 [5-7], 并在氧化应激反应中扮演重要角色。

消痰降脂胶囊是由丹参和山楂提取物组成的中药复方制剂, 具有调节血脂代谢、抑制动脉粥样硬化形成的作用 [8]。前期研究证实其通过抑制胆固醇合成和吸收, 减少泡沫细胞增生, 显著调控血脂水平并减少动脉斑块面积 [9-10], 但其对心肌细胞的直接保护作用及其机制尚未明确。本研究采用体外培养的大鼠 H9c2 心肌细胞, 建立过氧化氢 (hydrogenperoxide, H_2O_2) 诱导的氧化损伤模型, 探讨消痰降脂胶囊对心肌细胞的保护作用及潜在机制。

1 材料

1.1 细胞

H9c2 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委

员会细胞库。

1.2 药品与试剂

消痰降脂胶囊 (国药准字 Z20060427, 批号 20040901, 0.25 g/粒, 含丹参总酚酸提取物 39%;) 由贵阳新天药业股份有限公司提供; DCFH-DA 探针 (批号 D6883)、 H_2O_2 (批号 216763) 购自美国 Sigma 公司; 胎牛血清 (批号 12483020)、DMEM 培养基 (批号 C12430500BT)、胰蛋白酶 (批号 15400054)、青霉素/链霉素 (批号 6124218) 购自美国 Gibco 公司; 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测定试剂盒 (批号 A003-1-2)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测定试剂盒 (批号 A001-3-2)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 测定试剂盒 (批号 A020-2-2) 购自南京建成生物有限公司; p-ERK1/2 (Thr202/Tyr204) 抗体 (批号 4370)、p-p38 (Thr180/Tyr182) 抗体 (批号 4511)、p-JNK (Thr183/Tyr185) 抗体 (批号 9257)、 β -actin 抗体 (批号 4970)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase 1, HO-1) 抗体 (批号 86806)、Nrf2 抗体 (批号 12721) 购自美国 CST 公司; HRP 标记的兔 IgG 二抗 (批号 ab6721)、HRP 标记的鼠 IgG 二抗 (批号 ab6789) 购自英国 Abcam 公司; CCK-8 试剂盒 (批号 CK04) 购自日本同仁化学研究所。

1.3 仪器

NovoCyte 2060R 型流式细胞仪 [艾森生物 (杭州) 有限公司]; PowerPac HC 型电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); Spectra MAX190 型全波长酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

H9c2 细胞用含 10% 胎牛血清、100 U/ μ L 青霉素和 100 μ g/ μ L 链霉素的 DMEM 培养基, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 的培养箱中培养。待细胞生长到培养皿的 80%~90%, 用 0.25% 胰酶消化 1 min, 加入含胎牛血清的培养基终止消化, 轻轻吹打培养皿底部制成细胞悬液, 每 2 天更换新鲜培养基, 以 1:3 比例传代, 保持细胞融合度在 80%~90%。

2.2 H₂O₂ 诱导的氧化损伤模型的建立

取对数生长的细胞,以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,培养过夜。加入不同浓度(50、100、150、200、250、300 μ mol/L)的 H₂O₂ 处理 1 h,另设置对照组(加入不含药物的培养基)和空白组(不接种细胞不含药物),每组设置 6 个复孔。弃去培养基,加入含 10% CCK-8 的培养基,培养 1~3 h,采用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度(A)值,计算细胞存活率。

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

2.3 消痰降脂胶囊对 H9c2 细胞存活率的影响

精确称量 300 mg 消痰降脂胶囊粉末(内容物)溶于 1 mL 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)制成储备液,临用前以细胞培养基稀释成不同质量浓度的给药溶液(DMSO 终体积分数 $\leq 0.1\%$)。取对数生长的 H9c2 细胞,以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,培养过夜。加入不同质量浓度(50、100、200、300、400、500 μ g/mL)的消痰降脂胶囊处理 24 h,另设置对照组(加入不含药物的培养基)和空白组(不接种细胞不含药物),每组设置 6 个复孔。弃去培养基,采用 CCK-8 法测定各组 A 值,计算细胞存活率。

2.4 消痰降脂胶囊对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞存活率的影响

取对数生长的 H9c2 细胞,以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,培养过夜。设置对照组、模型组、模型+消痰降脂胶囊(75、150、300 μ g/mL)组和消痰降脂胶囊(75、150、300 μ g/mL)单独给药组,另设置空白孔(不接种细胞不加入药物处理),每组设置 6 个复孔。对照组加入不含药物的培养基;模型组加入 300 μ mol/L H₂O₂ 处理 1 h;模型+消痰降脂胶囊组加入不同质量浓度的消痰降脂胶囊预处理 24 h,再加入 300 μ mol/L H₂O₂ 处理 1 h;消痰降脂胶囊单独给药组加入不同质量浓度的消痰降脂胶囊预处理 24 h。弃去培养基。采用 CCK-8 法测定各组 A 值,计算细胞存活率。

2.5 消痰降脂胶囊对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞 LDH、SOD 活性及 MDA 水平的影响

设置对照组、模型组和消痰降脂胶囊(75、150、300 μ g/mL)组,按“2.4”项下方法进行处理,收集细胞,按照试剂盒说明书检测细胞内 SOD 活性和 MDA 水平。收集细胞上清液,按照试剂盒说明书检测上清液中 LDH 活性。

2.6 流式细胞仪检测 ROS 水平

取对数生长的细胞,以 1×10^5 个/mL 接种于 6 孔板中,设置对照组、模型组和消痰降脂胶囊(75、150、300 μ g/mL)组,按“2.4”项下方法进行处理, PBS 润洗细胞,加入用无血清的 DMEM 培养基配制的 10 μ mol/L DCFH-DA 探针, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, PBS 洗涤 2 次,用 0.25%胰蛋白酶消化并收集细胞,用流式细胞仪检测细胞内平均荧光强度。

2.7 Western blotting 检测相关蛋白表达

设置对照组、模型组和消痰降脂胶囊(75、150、300 μ g/mL)组,按“2.4”项下方法进行处理,弃去培养基,用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,每孔加入 100 μ L 细胞裂解液(含 1%蛋白酶抑制剂),冰上裂解 5 min, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,于封闭液中封闭 1 h, TBST 洗涤 3 次,加入一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 洗涤 3 次,加入二抗,室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次,化学发光法显色,使用 Image J 软件分析条带的灰度值。

2.8 统计学分析

所有实验均重复 3 次以上,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据采用 SPSS 25.0 统计软件进行分析,计量资料先进行正态性检验,正态分布资料采用单因素方差分析,非正态分布资料转为正态分布后再采用单因素方差分析,计数资料采用非参数秩和检验。

3 结果

3.1 不同浓度的 H₂O₂ 对 H9c2 细胞存活率的影响

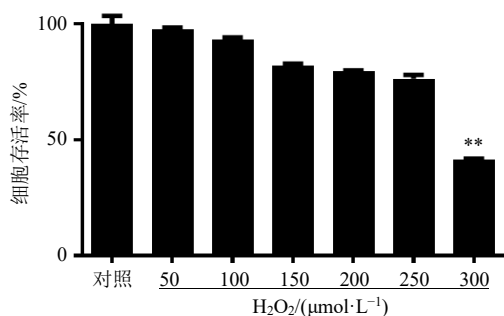
如图 1 所示,采用不同浓度 H₂O₂ 处理 H9c2 细胞 1 h, CCK-8 结果显示, 300 μ mol/L H₂O₂ 显著抑制细胞存活($P < 0.01$),因此,选用 300 μ mol/L H₂O₂ 处理 H9c2 细胞 1 h 建立氧化损伤模型。

3.2 不同质量浓度的消痰降脂胶囊对 H9c2 细胞存活率的影响

如图 2 所示,采用不同质量浓度的消痰降脂胶囊处理 H9c2 细胞 24 h, CCK-8 结果显示, 50~300 μ g/mL 的消痰降脂胶囊对 H9c2 细胞活力没有明显影响,而 400、500 μ g/mL 的消痰降脂胶囊显著抑制细胞存活($P < 0.001$)。因此,选取 75、150、300 μ g/mL 的消痰降脂胶囊进行后续实验。

3.3 消痰降脂胶囊对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞存活率的影响

如图 3 所示,与对照组比较,模型组细胞存活



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 图 2 同。

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group, same as Fig. 2.

图 1 不同浓度的 H_2O_2 对 H9c2 细胞存活率的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of different concentrations of H_2O_2 on survival rate of H9c2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

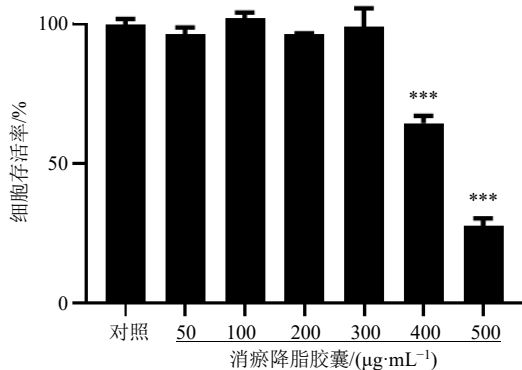


图 2 不同质量浓度的消痰降脂胶囊对 H9c2 细胞存活率的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of different concentrations of Xiaoyu Jiangzhi Capsules on survival rate of H9c2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 1 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 LDH、SOD 活性及 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of Xiaoyu Jiangzhi Capsules on activities of LDH, SOD and level of MDA in H_2O_2 -induced H9c2 cells
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

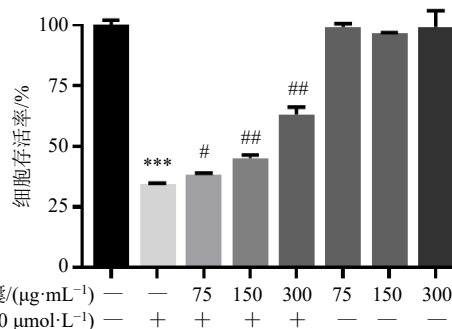
组别	剂量/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LDH/($\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)	MDA/($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$)	SOD/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)
对照	—	168.68 ± 1.61	8.59 ± 0.45	131.95 ± 0.97
模型	—	$313.26 \pm 2.98^{***}$	$16.46 \pm 1.96^{***}$	$73.11 \pm 2.11^{***}$
消痰降脂胶囊	75	$275.83 \pm 2.63^{###}$	$11.55 \pm 0.70^{###}$	$83.16 \pm 1.07^{###}$
	150	$219.43 \pm 2.09^{###}$	$10.40 \pm 0.48^{###}$	$108.23 \pm 0.86^{###}$
	300	$164.74 \pm 1.59^{###}$	$8.53 \pm 0.26^{###}$	$130.82 \pm 1.83^{###}$

与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs model group.

3.5 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 ROS 水平的影响

使用 DCFH-DA 探针检测细胞内 ROS 水平, 结果如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组细胞内 ROS



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P <$

0.05 ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$, 下图同。

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

$P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 3 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞存活率的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of Xiaoyu Jiangzhi Capsules on survival rate of H_2O_2 -induced H9c2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

率显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 75、150、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 消痰降脂胶囊对正常 H9c2 细胞无明显影响, 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞损伤表现出一定的保护作用 ($P < 0.05$ 、0.01), 且呈剂量相关性。

3.4 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 LDH、SOD 活性及 MDA 水平的影响

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组 LDH 活性及 MDA 水平显著升高 ($P < 0.001$), SOD 活性显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 消痰降脂胶囊各给药组 LDH 活性及 MDA 水平显著降低 ($P < 0.001$), SOD 活性显著升高 ($P < 0.001$)。

水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组细胞内 ROS 水平显著降低 ($P < 0.001$), 表明消痰降脂胶囊可以抑制 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞内 ROS 的积聚。

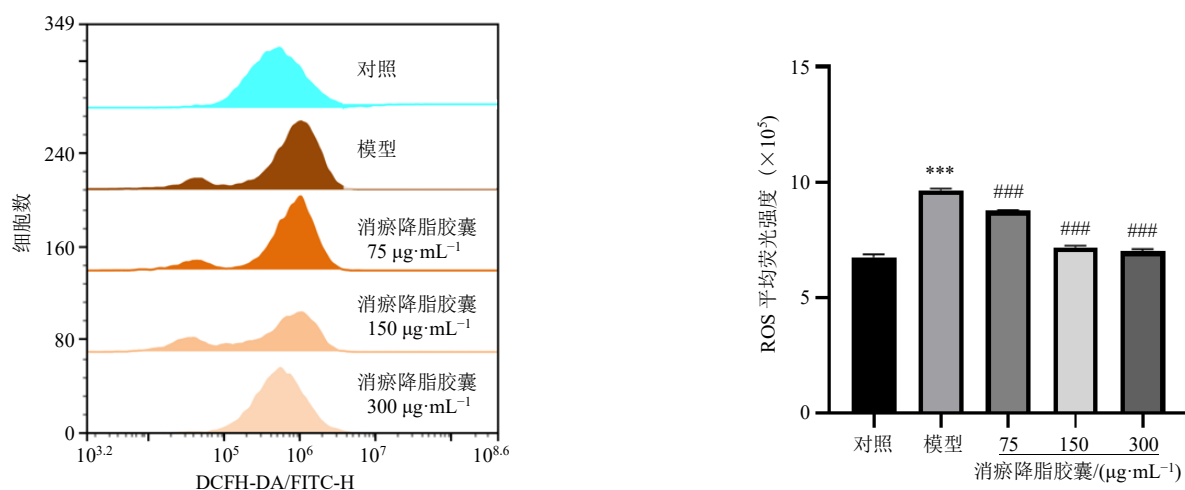


图 4 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 ROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of Xiaoyu Jiangzhi Capsules on ROS level in H_2O_2 -induced H9c2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.6 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 HO-1、Nrf2 蛋白表达的影响

Nrf2/ARE 信号通路是体内重要的抗氧化通路, 采用 Western blotting 检测消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 HO-1、Nrf2 蛋白表达的影响, 结果如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组 HO-1、Nrf2 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001); 与模型组比较, 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 消痰降脂胶囊显著上调 HO-1 蛋白表达 ($P < 0.001$), 各给药组 Nrf2 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 表明消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞的保护作用与 Nrf2/ARE 信

号通路激活有关。

3.7 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 p-ERK1/2、p-p38、p-JNK 蛋白表达的影响

如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组 p-ERK1/2 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), p-p38 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 150、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 消痰降脂胶囊显著上调 p-ERK1/2 蛋白表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 各给药组 p-p38 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。各组 p-JNK 蛋白表达水平无明显差异。表明消痰降脂胶囊可能通过促进 ERK1/2 并抑制 p38 的磷酸化发挥作用。

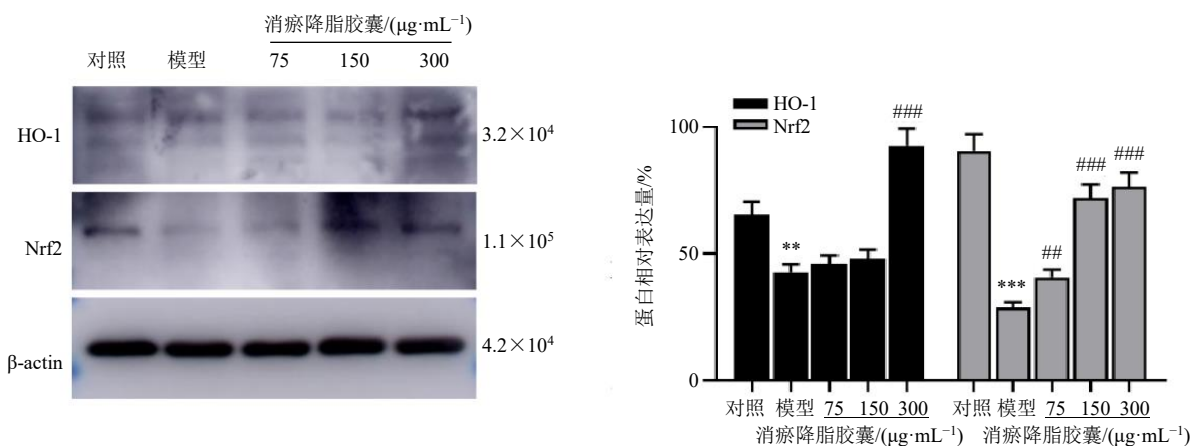


图 5 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 HO-1、Nrf2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 5 Effect of Xiaoyu Jiangzhi Capsules on expressions of HO-1 and Nrf2 proteins in H_2O_2 -induced H9c2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

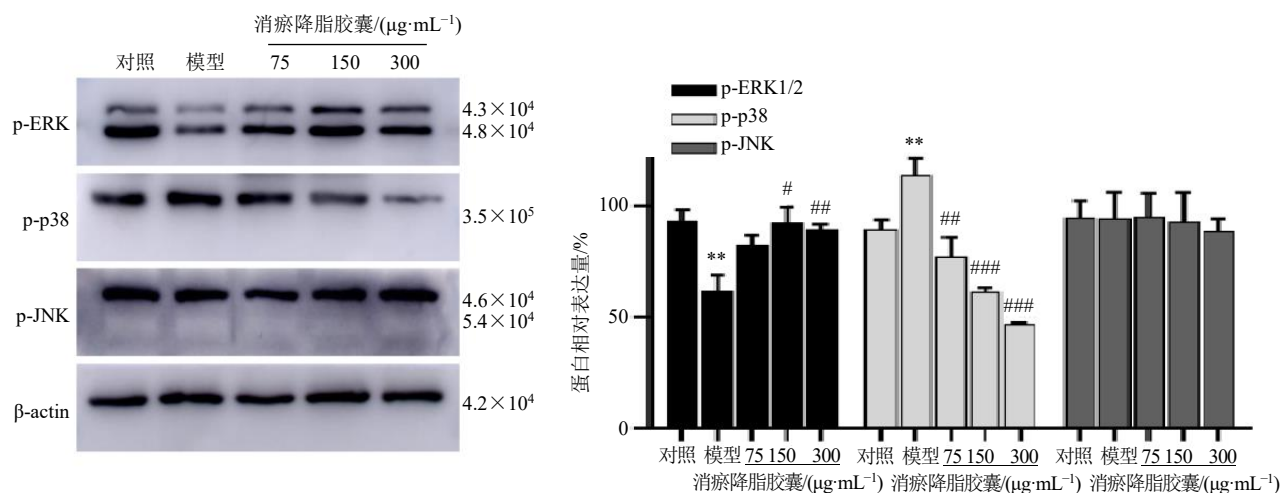


图 6 消痰降脂胶囊对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞 p-ERK1/2、p-p38、p-JNK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 6 Effect of Xiaoyu Jiangzhi Capsules on expressions of p-ERK1/2, p-p38 and p-JNK proteins in H_2O_2 -induced H9c2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

4 讨论

冠心病及其引发的急性心肌梗死是心内科最常见的疾病。尽管通过溶栓或直接经皮冠状动脉介入术 (percutaneous coronary intervention, PCI) 能够重建血运, 恢复心肌血供, 显著缓解缺血症状, 但在再灌注过程中, 大量氧自由基的产生超出了机体的清除能力, 导致机体心肌细胞发生氧化应激损伤, 这是引发心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI) 的重要原因之一^[2]。因此, 积极开发减轻心肌细胞氧化损伤的药物, 对预防和治疗 MIRI 具有重要的临床价值。

消痰降脂胶囊是国家“十五”重大科技专项转化的 2 类中药新药, 由丹参总酚酸提取物和山楂总三萜酸提取物组成, 具有活血化瘀、祛痰泄浊、消积调脂的功效。研究发现消痰降脂胶囊可通过抑制 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase, HMGCR) 及 NPC1 样细胞内胆固醇转运蛋白 1 (Niemann-Pick C1 like 1, NPC1L1) 表达, 显著降低血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 水平, 同时靶向调控核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB) /p38 炎症通路, 减少泡沫细胞形成及斑块脂质沉积, 发挥抗动脉粥样硬化的作用^[11-13]。Zhai 等^[11]通过超高效液相色谱串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass

spectrometry, UHPLC-MS) 分析证实, 消痰降脂胶囊的核心活性成分包括丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹参素等酚酸类物质以及熊果酸、齐墩果酸等三萜酸类物质, 这些组分通过协同机制发挥心肌保护作用。丹酚酸 A 通过 Trx/JNK 信号通路抑制细胞凋亡和炎症反应, 保护心肌细胞^[14]; 丹酚酸 B 上调 SOD 活性并抑制钙超载, 减轻心肌损伤^[15]; 丹参素通过抑制 L 型钙电流 (L-type calcium current, $\text{I}_{\text{Ca-L}}$) 和降低心肌收缩力, 缓解心肌缺血损伤^[16]; 熊果酸调控 B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)/Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、微小 RNA-21 (microRNA-21, miR-21) /ERK、调节磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 等通路减少心肌细胞凋亡, 并通过改善线粒体功能缓解缺血再灌注损伤^[17]。为验证消痰降脂胶囊的心肌保护作用, 本研究建立 H_2O_2 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤模型。结果显示, 75 $\mu\text{g/mL}$ 消痰降脂预处理即可显著提高损伤细胞存活率, 且保护效应随药物质量浓度升高而增强。当细胞遭受氧化应激时, 模型组 LDH 和 MDA 释放量显著升高, SOD 活性降低; 经消痰降脂胶囊干预后, 上述损伤指标均得到逆转。流式细胞术证实, 消痰降脂胶囊能清除细胞内过量 ROS, 且对损伤细胞的保护作用呈剂量相关性增强, 当质量浓度达到 300 $\mu\text{g/mL}$ 时, 其抗氧化保护效应最强。以上结果表明, 消痰降脂胶囊可能通过

增强抗氧化防御能力减轻心肌细胞损伤。

Nrf2/ARE 信号通路是细胞抗氧化防御的核心调控途径,其通过 Nrf2 转录因子与 ARE 结合,激活 HO-1 等 II 相解毒酶表达^[18]。当细胞处于氧化应激状态时,如血管老化或心肌损伤,Nrf2 信号失活,不能对 ROS 做出反应,可加剧心脏氧化损伤^[19]。本研究显示,消痰降脂胶囊呈剂量相关性地上调 Nrf2 与 HO-1 蛋白表达,推测其可能通过激活 Nrf2/ARE 信号通路增强内源性抗氧化能力。MAPK 家族为 Nrf2/ARE 通路的上游调控者,其中 ERK1/2 和 p38 激酶发挥关键作用^[20]。ERK1/2 磷酸化可促进细胞增殖并抑制凋亡,而 p38 磷酸化则触发凋亡级联反应^[21]。杨莉等^[22]发现促进 ERK1/2 磷酸化可导致细胞内 Nrf2 的蛋白表达量增加。本研究中,模型组 p-ERK1/2 表达量较对照组显著降低,而 p-p38 表达升高;消痰降脂胶囊预处理组 p-ERK1/2 的表达量较模型组显著增加,同时 p-p38 表达显著降低。表明消痰降脂胶囊可能通过激活 ERK/Nrf2/ARE 信号通路,同时抑制 p38 促凋亡通路,协同减轻心肌细胞氧化损伤并提高细胞存活率。

综上,消痰降脂胶囊对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞损伤具有显著保护作用,其机制可能经由 MAPK (ERK/p38) 调控 Nrf2/ARE 抗氧化信号通路,协调改善细胞内氧化还原稳态而实现。本研究不仅深化了对复方中药心肌保护机制的理解,更为临床应用消痰降脂胶囊防治冠心病及相关缺血再灌注损伤提供了实验依据。本研究尚存在以下局限:研究模型主要基于大鼠 H9c2 心肌细胞系,缺乏原代心肌细胞及动物实验验证;研究未设置阳性药物对照可能影响效应强度的横向评估;机制研究聚焦于 MAPK/Nrf2 通路,可能存在其他通路的潜在贡献;未来需通过基因干预实验进一步验证通路必要性,以及通过多模型整合及多组学分析深化机制探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 葛均波,徐永健,王辰.内科学[M].第9版.北京:人民卫生出版社,2018:213-218.
- [2] 王增武,刘静,李建军,等.中国血脂管理指南(2023年)[J].中国循环杂志,2023,38(3):237-271.
- [3] Lee J H, Khor T O, Shu L M, et al. Dietary phytochemicals and cancer prevention: Nrf2 signaling, epigenetics, and cell death mechanisms in blocking cancer initiation and progression[J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 137(2): 153-171.
- [4] Runchel C, Matsuzawa A, Ichijo H. Mitogen-activated protein kinases in mammalian oxidative stress responses[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(1): 205-218.
- [5] Zimmermann K, Baldinger J, Mayerhofer B, et al. Activated AMPK boosts the Nrf2/HO-1 signaling axis: A role for the unfolded protein response[J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 88(Pt B): 417-426.
- [6] Mo C F, Wang L, Zhang J, et al. The crosstalk between Nrf2 and AMPK signal pathways is important for the anti-inflammatory effect of berberine in LPS-stimulated macrophages and endotoxin-shocked mice[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(4): 574-588.
- [7] Kim J K, Jang H D. Nrf2-mediated HO-1 induction coupled with the ERK signaling pathway contributes to indirect antioxidant capacity of caffeic acid phenethyl ester in HepG2 cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(7): 12149-12165.
- [8] Zhang J Y, Liang R X, Wang L, et al. Effects and mechanisms of Danshen-Shanzha herb-pair for atherosclerosis treatment using network pharmacology and experimental pharmacology[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 229: 104-114.
- [9] 龙俊科,赵水平.消痰降脂胶囊预防给药对高脂血症模型兔血脂及相关蛋白酶含量的影响[J].中医杂志,2019,60(6):527-531.
- [10] 龙俊科,赵水平.消痰降脂胶囊对高脂饮食诱导的高脂血症兔模型的降脂作用及相关机制研究[J].中国中医药现代远程教育,2018,16(24):85-89.
- [11] Zhai Q, Shang S X, Zhang Z H, et al. Mechanism of salvianolic phenolic acids and hawthorn triterpenic acids combination in intervening atherosclerosis: Network pharmacology, molecular docking, and experimental validation[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1501846.
- [12] 石晓路,翟取,武乾,等.消痰降脂胶囊对载脂蛋白 E 基因敲除小鼠颈动脉粥样硬化的干预作用[J].国际中医中药杂志,2021,43(1):43-47.
- [13] 龙俊科,赵水平.消痰降脂胶囊对兔动脉粥样硬化的干预作用[J].浙江临床医学,2018,20(7):1208-1210.
- [14] Zhou R, Gao J H, Xiang C P, et al. Salvianolic acid A attenuated myocardial infarction-induced apoptosis and inflammation by activating Trx[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2020, 393(6): 991-1002.
- [15] He G N, Chen G F, Liu W D, et al. Salvianolic acid B: A review of pharmacological effects, safety, combination therapy, new dosage forms, and novel drug delivery routes[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(9): 2235.
- [16] Song Q T, Chu X, Zhang X, et al. Mechanisms underlying the cardioprotective effect of salvianic acid A against isoproterenol-induced myocardial ischemia injury in rats:

- Possible involvement of L-type calcium channels and myocardial contractility [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 157-164.
- [17] Roudi H S, Safaei R, Dabbaghi M M, *et al.* Mechanistic insights on cardioprotective properties of ursolic acid: Regulation of mitochondrial and non-mitochondrial pathways [J]. *Curr Pharm Des*, 2025, 31(13): 1037-1056.
- [18] Kansanen E, Kuosmanen S M, Leinonen H, *et al.* The Keap1-Nrf2 pathway: Mechanisms of activation and dysregulation in cancer [J]. *Redox Biol*, 2013, 1(1): 45-49.
- [19] Cho Y H, Cha M J, Song B W, *et al.* Enhancement of MSC adhesion and therapeutic efficiency in ischemic heart using lentivirus delivery with periostin [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(5): 1376-1385.
- [20] Kundu J, Kim D H, Kundu J K, *et al.* Thymoquinone induces heme oxygenase-1 expression in HaCaT cells via Nrf2/ARE activation: Akt and AMPK α as upstream targets [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 65: 18-26.
- [21] Junttila M R, Li S P, Westermarck J. Phosphatase-mediated crosstalk between MAPK signaling pathways in the regulation of cell survival [J]. *FASEB J*, 2008, 22(4): 954-965.
- [22] 杨莉, 袁丁, 李靳, 等. 竹节参总皂苷通过 ERK/Nrf2 通路对 H₂O₂ 致 SH-SY5Y 细胞氧化损伤的保护作用研究 [J]. *中药材*, 2015, 38(6): 1225-1229.

[责任编辑 李亚楠]