

· 研究论文 ·

芪苈强心胶囊通过抗氧化应激减轻阿霉素诱导的 心肌损伤的作用及机制研究

黎平平¹ 齐婧² 袁瑞华² 吴少锋² 马海龙² 穆美玲² 李俊强² 马心怡² 王帅² 代引海^{2*}¹陕西中医药大学, 第二临床医学院, 咸阳 712000; ²陕西中医药大学第二附属医院, 咸阳 712000

摘要 阿霉素(DOX)作为一种高效广谱的抗癌化疗药物,其临床应用常因导致累积性、不可逆的心肌损伤而受限。中成药芪苈强心胶囊(QLQX),临床上用于慢性心肌病治疗,可能有助于缓解DOX诱导的心脏毒性,但其疗效与作用机制不明晰。因此,该研究旨在探讨QLQX通过抗氧化应激减轻DOX诱导的大鼠心肌损伤(DOX-MI)的作用及机制,并初步检测JNK/FOXO3a/MnSOD通路相关蛋白的表达变化。该研究通过腹腔注射DOX构建DOX-MI大鼠模型,将SD大鼠随机分为对照组,模型组,QLQX低、中、高剂量治疗组,右雷佐生阳性药组。每组8只,注射DOX的同时给予药物治疗,6周后,采用超声心动图评价各组大鼠心功能;对心脏进行苏木精-伊红病理染色;通过Masson染色分析大鼠心肌胶原沉积情况;同步采用比色法检测大鼠血清中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白I(cTn-I)和心肌肌钙蛋白T(cTn-T)水平;采用液质联用技术分析芪苈强心胶囊中的药物成分,通过网络药理学对其潜在作用靶点进行预测;ELISA检测心肌组织中SOD/MDA表达水平;Western blot检测相关蛋白的表达情况。该研究发现,与对照组相比,模型组大鼠心脏射血分数降低($P<0.01$),心肌细胞出现坏死破裂,心肌纤维排布紊乱,胶原沉积显著增加。大鼠血清内LDH、CK-MB、cTn-I/T表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组射血分数显著升高($P<0.05$)、心肌损伤程度及纤维化水平明显降低($P<0.05$)、血清学相关指标均显著改善($P<0.05$)。网络药理学结果表明,共筛选出芪苈强心胶囊中的11种药物活性成分及其41个治疗DOX-MI的核心作用靶点,PPI结果表明这些靶点可能与氧化应激、FOXO相关信号通路相关;QLQX可剂量依赖性升高心肌组织中SOD表达水平、降低MDA表达水平($P<0.05$),有效减轻DOX诱导的氧化应激损伤;Western blot结果表明与模型组比较,各QLQX治疗组心肌组织中JNK、p-JNK、FOXO3a、MnSOD的表达水平均升高($P<0.05$)。该研究得出QLQX可显著改善DOX-MI大鼠模型的心功能,减轻心肌损伤,并有效回调血清心肌酶谱水平,其作用机制可能是通过激活JNK/FOXO3a/MnSOD信号轴减轻心肌组织氧化损伤的。

关键词 阿霉素; 芪苈强心胶囊; 心肌损伤; 氧化应激

Effects and Mechanisms of Qili Qiangxin Capsule in Ameliorating Doxorubicin-Induced Myocardial Injury Through Anti-Oxidative Stress

收稿日期: 2025-12-30 接受日期: 2026-07-09

咸阳市中西医结合防治肿瘤重点实验室项目(批准号: L2023-CXNL-CXPT-ZDSYS-002)和咸阳市2024年度科学技术研究与发展计划(批准号: L2024-ZDYF-ZDYF-SF-0011)资助的课题

*通信作者。Tel: 13891488955, E-mail: jx2686@163.com

Received: December 30, 2025 Accepted: July 9, 2026

This work was supported by the Xianyang Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Cancer Prevention and Treatment (Grant No.L2023-CXNL-CXPT-ZDSYS-002), and the Xianyang Science and Technology Research and Development Plan for 2024 (Grant No.L2024-ZDYF-ZDYF-SF-0011)

*Corresponding author. Tel: +86-13891488955, E-mail: jx2686@163.com

LI Pingping¹, QI Jing², YUAN Ruihua², WU Shaofeng², MA Hailong², MU Meiling², LI Junqiang², MA Xinyi²,
WANG Shuai², DAI Yin Hai^{2*}

¹Second Clinical Medical College, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China;

²The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China)

Abstract DOX (doxorubicin), a highly effective and broad-spectrum anticancer chemotherapeutic agent, often has its clinical application limited by cumulative and irreversible myocardial injury. QLQX (Qili Qiangxin capsule), a Chinese patent medicine used clinically for chronic cardiomyopathy, may alleviate DOX-induced cardiotoxicity; however, its efficacy and mechanisms of action remain unclear. Therefore, this study aimed to investigate the effects and mechanisms of QLQX in ameliorating DOX-MI (DOX-induced myocardial injury) in rats through anti-oxidative stress, and to preliminarily examine the changes in the expression of proteins related to the JNK/FOXO3a/MnSOD pathway. A DOX-MI rat model was established by intraperitoneal injection of DOX. SD (Sprague-Dawley) rats were randomly divided into control, model, QLQX low-, medium-, and high-dose treatment groups, and a dexrazoxane positive control group, with eight rats per group. Drug administration was performed concurrently with DOX injection. After six weeks, cardiac function was evaluated by echocardiography; heart tissues were subjected to HE (hematoxylin-eosin) staining and Masson staining to assess myocardial collagen deposition. Serum levels of LDH (lactate dehydrogenase), CK-MB (creatinase-MB), cTn-I (cardiac troponin I), and cTn-T (cardiac troponin T) were measured by colorimetric assays. The chemical components of QLQX were analyzed by LC-MS (liquid chromatography-mass spectrometry), and potential targets were predicted by network pharmacology. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) was used to detect the expression levels of SOD (superoxide dismutase) and MDA (malondialdehyde) in myocardial tissue, and Western blot was performed to assess the expression of related proteins. Compared with the control group, the model group exhibited significantly decreased left ventricular ejection fraction ($P<0.01$), myocardial necrosis and rupture, disorganized myocardial fiber arrangement, and markedly increased collagen deposition. Serum LDH, CK-MB, cTn-I, and cTn-T levels were significantly elevated ($P<0.01$). Compared with the model group, all treatment groups showed significantly increased ejection fraction ($P<0.05$), reduced myocardial injury and fibrosis ($P<0.05$), and significantly improved serum markers ($P<0.05$). Network pharmacology identified 11 active components of QLQX and 41 core targets against DOX-MI; PPI (protein-protein interaction) analysis suggested that these targets may be associated with oxidative stress and FOXO-related signaling pathways. QLQX dose-dependently increased SOD activity and decreased MDA content in myocardial tissue ($P<0.05$), effectively ameliorating DOX-induced oxidative stress injury. Western blot results revealed that compared with the model group, the expression levels of JNK, p-JNK, FOXO3a, and MnSOD in myocardial tissue were elevated in the QLQX treatment groups ($P<0.05$). In conclusion, QLQX significantly improves cardiac function, alleviates myocardial injury, and effectively reverses the elevated serum cardiac enzyme levels in DOX-MI rats. Its mechanism of action may involve activation of the JNK/FOXO3a/MnSOD signaling axis, thereby reducing oxidative damage in myocardial tissue.

Keywords doxorubicin; Qili Qiangxin capsule; myocardial injury; oxidative stress

阿霉素 (doxorubicin, DOX) 是一种广谱的蒽环类抗癌化疗药物, 对多种实体瘤和血液系统恶性肿瘤有效, 常用于治疗乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌、急性白血病等^[1]。DOX 是一种细胞周期非特异性药物, 能作用于细胞周期的各个阶段, 其主要作用机制是

嵌入 DNA 双螺旋的碱基对之间, 形成稳定的共价复合物, 同时 DOX 可抑制拓扑异构酶 II 的活性, 从而干扰 DNA 的复制和转录过程^[2]。DOX 的分子结构中含有醌基和酚羟基等基团, 易与细胞内的 Fe^{2+} 螯合形成 DOX- Fe^{2+} 复合物, 诱发芬顿反应, 产生大量 ROS,

加剧细胞内的氧化损伤^[3]。DOX在线粒体中易被NADH脱氢酶(复合物I)和琥珀酸脱氢酶等还原为半醌自由基,这可导致线粒体电子传递链受损,并产生mtDNA,加剧细胞内的氧化应激反应^[4]。而心肌细胞高度依赖线粒体产能,因此,心肌细胞内的线粒体是DOX蓄积和ROS产生的主要场所^[5]。DOX诱导心脏毒性的主要原因在于心肌细胞线粒体是其介导氧化损伤的关键部位,过量ROS不仅直接攻击心肌细胞膜脂质、蛋白质和DNA,还可激活心肌纤维化相关信号通路,导致心肌细胞坏死、凋亡及间质纤维化,最终引发心功能下降^[6]。为减少心肌细胞内ROS的生成,临床上常使用DOX-Fe²⁺复合物阻断剂右雷佐生(dexrazoxane, DEX),来提高患者对DOX的剂量耐受性,并减轻其诱导的心肌损伤。右雷佐生会与DOX竞争性螯合Fe²⁺,形成更稳定的三价铁离子复合物,阻止芬顿反应的发生,这同时也导致了右雷佐生对骨髓的抑制作用,极大地限制了其临床应用^[7]。近年来,研究者将目光转向具有多靶点调控优势且安全性更优的中医药,芪茛强心胶囊(Qili Qiangxin capsule, QLQX)作为一种临床上治疗慢性心肌病的经典中药复方制剂,主要由黄芪、人参、附子、丹参、葶苈子等中药组成,具有益气温阳、活血化瘀、利水消肿的作用^[8]。近年来实验表明,QLQX具有良好的抗氧化、抗炎的作用,可以减轻DOX诱导的心肌损伤^[9]。然而其作用尚未明晰,故本研究通过网络药理学并结合体内实验来探讨QLQX减轻DOX-MI的作用机制,以期为QLQX的临床应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 阿霉素(货号: D107159)、右雷佐生(货号: D843789)购自山东思科捷生物技术有限公司。芪茛强心胶囊(货号: A2312050)购自石家庄以岭药业股份有限公司。异氟烷(批号: 2024102101)购自山东安特牧业科技有限公司。CY3标记山羊抗兔IgG(货号: GB21303)、5× SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(货号: G2075)、Protein Marker IV(货号: G2083)、Masson三色染色液(货号: G1006)购自武汉赛维尔生物科技有限公司。BCA蛋白浓度测定试剂盒(货号: AR0146)购自武汉博士德生物工程有限公司。Omni-Easy™一步法免染PAGE凝胶快速制备试剂盒(货

号: PG222)购自上海雅酶生物医药科技有限公司。大鼠乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH) ELISA检测试剂盒(货号: YX-120408R)、大鼠心肌肌钙蛋白T(cardiac troponin T, cTn-T) ELISA试剂盒(货号: YX-032034R)、大鼠心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTn-I) ELISA试剂盒(货号: YX-032023R)购自上海派森诺生物科技有限公司。大鼠肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)酶联免疫分析试剂盒(货号: MM-0625R1)购自江苏酶免实业有限公司。大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) ELISA试剂盒(货号: S0101M)、大鼠丙二醛(malondialdehyde, MDA) ELISA试剂盒(货号: S0131M)购自上海碧云天生物技术有限公司。FOXO3a Polyclonal Antibody(货号: 10849-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司。JNK1/2/3(PT0641R) PT Rabbit mAb(货号: YM8450)、JNK1/2/3(Phospho Thr183/Thr183/Thr221)(货号: YM8683)、SOD2(PT0085R) Rabbit mAb(货号: YM8048)、GAPDH Rabbit mAb(货号: YM8394)均购自ImmunoWay公司。

1.1.2 主要仪器 电泳槽(型号: Mini-PROTEAN® Tetra)、基础电泳仪电源(型号: Power PACTM)购自美国Bio-Rad公司; 高速冷冻离心机(型号: HC-3618R)购自安徽中科中佳科学仪器有限公司; 倒置显微镜(型号: IX73)购自日本Olympus公司; 专业化学发光成像系统(型号: GeneGnome XRQ)购自英国Syngene公司; 酶标仪(型号: Epoch)购自美国BioTek公司; 色谱仪(型号: UltiMate 3000 RS)、质谱仪(型号: Q Exactive)购自美国ThermoFisher Scientific公司。

1.1.3 实验动物 实验动物采用6周龄雄性SPF级SD大鼠48只, 体质量(220±15) g, 均购于陕西中医药大学实验动物中心[许可编号: SYXK(陕) 2022-008], 并饲养于SPF级屏障环境内。实验程序均经陕西中医药大学动物伦理委员会批准(伦理审批号: SUC-MDL20240508002)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物模型建立及其分组给药 采用随机数字法将48只大鼠(6周龄)随机分为对照组(CON)、模型组(DOX-MI)、芪茛强心低、中、高剂量治疗组(DOX+QLQX-L、DOX+QLQX-M、DOX+QLQX-H)和阳性药右雷佐生治疗组(DOX+DEX), 每组8只。QLQX低、中、高剂量依据成人临床等效剂量换算后的数值再乘以体表面积系

数来确定,并参照药理实验通用原则呈1:2:4等比梯度设计:低剂量0.18 g/(kg·d)、中剂量0.36 g/(kg·d)、高剂量0.72 g/(kg·d)^[10-11]。除对照组外,每组每只大鼠腹腔注射2.5 mg/kg的DOX,每周1次,连续6周,累积剂量15 mg/kg^[12];QLQX各组每天按相应浓度灌胃QLQX溶液,给予DOX当天于注射完DOX 2~3 h后给药;右雷佐生组于DOX给药前1 h腹腔注射25 mg/kg的右雷佐生溶液,对照组注射等量生理盐水。每两日称量1次大鼠体重,6周后取其组织、血清。

1.2.2 实验大鼠选取标准 在阿霉素造模过程中,部分大鼠出现腹水、严重消耗或死亡(模型组及低剂量组各有2只因腹水或状态过差无法完成后续检测)。为保证最终分析时各组大鼠造模程度的均一性及数据的可靠性,我们排除了上述状态异常或死亡的大鼠,最终每组保留6只造模相对均一、存活状态良好的大鼠用于心脏超声及血清心肌标志物检测。具体排除标准为:①出现明显腹水(腹部膨隆、叩诊浊音);②体质量持续下降且超过初始体质量的30%;③濒死状态或死亡。

1.2.3 网络药理学 采用高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用技术(LC-QTOF-MS/MS)对芪苈强心胶囊进行系统化学成分分析。样品经色谱分离后,在正/负离子模式下进行高分辨质谱扫描,获取各成分的精确分子量及二级质谱碎片信息。首先,通过与自建标准品库、公共质谱数据库mzCloud比对及文献数据解析,鉴定主要化学成分。随后,将鉴定所得化合物信息输入中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP),依据成药性关键参数筛选潜在活性成分:口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%且类药性(drug likeness, DL)≥0.18^[13]。符合标准的成分被认定为候选活性分子,其对应的潜在靶点信息从TCMSP中提取导出。最后,整合筛选获得的活性成分及其预测靶点,构建“成分-靶点”相互作用网络;利用STRING数据库构建蛋白质互作(protein-protein interaction, PPI)网络,并通过Cytoscape软件进行拓扑分析筛选核心靶点;应用DAVID数据库对核心靶点进行基因本体(Gene Ontology, GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)信号通路富集分析,以系统预测药物可能调控的关键生物学过程和通路。

1.2.4 大鼠超声心动图的检测 大鼠经异氟烷麻醉后仰卧固定,用脱毛膏对大鼠胸前区域进行脱毛处理,在超声探头上涂抹耦合剂,垂直置于大鼠胸骨左缘第3~4肋间区域。在B型超声模式下,轻微调整探头角度与位置,直至清晰获取标准胸骨旁左心室长轴切面(parasternal left ventricular long-axis view, PLAX)。确认图像清晰稳定后,将M型超声取样线精确垂直放置于二尖瓣腱索水平(非乳头肌水平)的室间隔与左室后壁之间,采集连续稳定的M型超声心动图。

1.2.5 大鼠心肌组织HE染色 大鼠心脏经生理盐水灌注后,取心尖及心室组织,放入4%多聚甲醛中室温固定24 h。依次浸入70%乙醇→80%乙醇→90%乙醇→无水乙醇II→无水乙醇I各30 s脱水、二甲苯透明、石蜡包埋。制备4 μm厚切片,60 °C烘片1 h。切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,室温下苏木精染色5 min,盐酸乙醇分化,流水返蓝;室温下伊红染色2 min。再次梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封固。于光镜下观察心肌结构、细胞形态及炎性浸润等病理变化。

1.2.6 大鼠心肌组织Masson染色 大鼠心脏经4%多聚甲醛室温固定24 h、石蜡包埋后,制成4 μm厚切片。切片常规脱蜡水化,Weigert铁苏木精染核5 min,流水冲洗;丽春红酸性品红液染色5 min,弱酸溶液分色;磷钼酸处理5 min后,苯胺蓝染胶原纤维3 min。依次浸入70%乙醇→80%乙醇→90%乙醇→无水乙醇II→无水乙醇I各30 s脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。光镜下以心肌纤维呈红色、胶原纤维呈蓝色为染色判据,经图像分析软件(ImageJ 1.54g)测算蓝色胶原面积占比,用以定量评估心肌纤维化程度。

1.2.7 大鼠心功能血清生化指标检测 大鼠经异氟烷麻醉后,心脏采血,4 °C静置过夜,随后以3 000 r/min、4 °C离心15 min分离血清。所有检测均使用相应商品化试剂盒并严格遵循其说明书进行操作。首先,采用动力学法(基于NAD⁺还原反应)检测乳酸脱氢酶(LDH)活性,在450 nm波长下监测吸光度(D)变化速率。随后,采用免疫抑制法检测肌酸激酶同工酶(CK-MB)活性,特异性抗体抑制CK-M亚基活性后,通过酶偶联反应检测剩余CK-B亚基活性并比色定量。最后,采用免疫比浊法或基于比色检测的化学发光法检测心肌肌钙蛋白I(cTn-I)和心肌肌钙蛋白T(cTn-T)水平,利用特异性抗体捕获血清中的目标

抗原形成免疫复合物,通过测量反应体系浊度或相关发光信号强度的变化,与标准曲线对比进行定量。采用酶标仪或自动生化分析仪读取结果,最终数据用于评估心肌损伤程度。

1.2.8 ELISA检测心肌组织中SOD、MDA水平 取大鼠心肌组织,按1:9比例加入预冷生理盐水(即每1 g组织对应9 mL生理盐水),匀浆后离心(4 °C、3 000 r/min、10 min),取上清液备用。采用超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)检测试剂盒[酶联免疫吸附法(ELISA)]进行测定。具体操作按试剂盒说明书进行:分别加入标准品或待测样品,依次加入相应酶标试剂、显色液,终止反应后使用酶标仪在450 nm波长处测定各孔吸光度(D)值。根据标准曲线计算样品中SOD活性和MDA含量。

1.2.9 Western blot检测心肌组织中相关蛋白的表达情况 心肌组织剪碎后,加入RIPA裂解缓冲液(含1% PMSF和蛋白酶抑制剂)于冰上充分裂解。裂解液4 °C、12 000 ×g离心15 min后,取上清采用BCA法测定总蛋白浓度。等量蛋白样品(30 μg)经10% SDS-PAGE凝胶电泳分离,随后湿转至PVDF膜。膜经5%脱脂牛奶室温封闭2 h,分别加入特异性一抗(1:1 000稀释)4 °C孵育过夜。TBST漂洗后,与对应HRP标记二抗(1:10 000)室温孵育1 h。最后使用ECL化学发光试剂显影,应用ImageJ软件分析目标条带灰度值,以

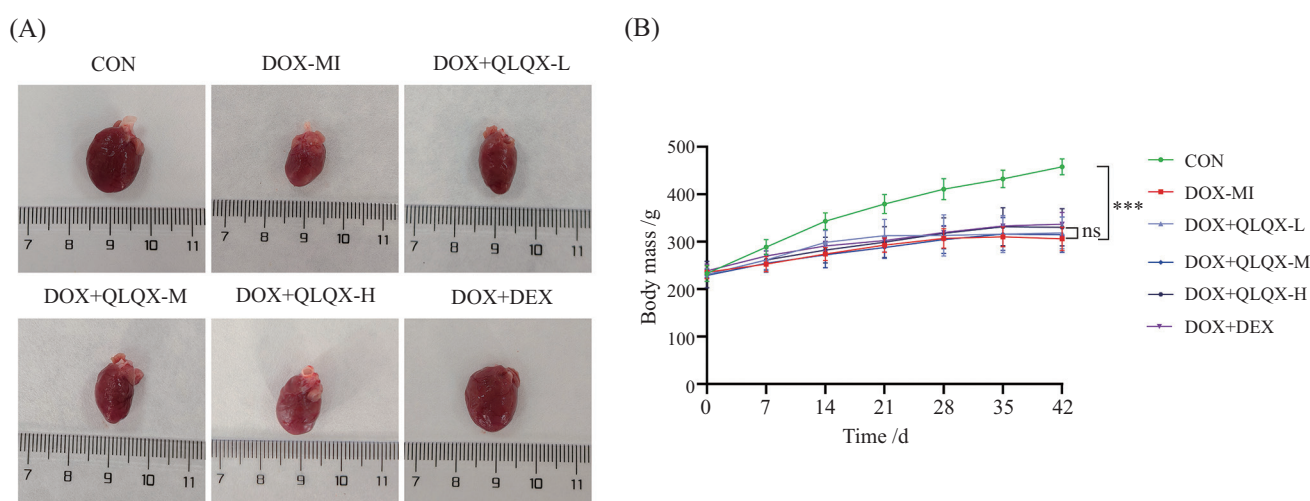
GAPDH为内参计算目的蛋白相对表达量。

1.2.10 统计学方法 本研究数据均采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计学处理,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示计量资料。多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),若方差齐性,组间两两比较采用LSD- t 检验;若方差不齐,采用Dunnett's T3检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义, $P < 0.01$ 表示差异具有显著统计学意义, $P < 0.001$ 表示差异具有极显著统计学意义。

2 实验结果

2.1 芪茛强心胶囊对DOX-MI大鼠心脏形态及体质量的影响

如图1A所示,模型组大鼠心肌体积缩小、色泽暗淡,提示DOX成功诱导了心肌损伤。随着QLQX剂量的增加,心肌外观逐渐改善,其中高剂量组与右雷佐生组的心肌形态接近对照组,表明QLQX改善心肌形态具有剂量依赖性。如图1B所示,对照组大鼠体质量在整个实验周期中呈稳定增长趋势;模型组经DOX干预后,体质量增长明显减缓,并于实验后期趋于平台期,两组间差异具有统计学意义($P < 0.001$)。与模型组相比,QLQX低、中、高剂量组及右雷佐生组大鼠体质量虽有不同程度增加,但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。



A: 各组大鼠心脏外观图像; B: 各组大鼠体质量变化统计图。*** $P < 0.001$, 与CON组相比; ns: 无统计学差异。所有数据均用均数±标准差表示, $n = 6$ 。

A: images of the hearts of rats in each group; B: statistical chart of body mass changes in each group of rats. *** $P < 0.001$ compared with CON group; ns: no significant difference. Data are shown as $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

图1 芪茛强心胶囊对DOX-MI大鼠心脏形态及体质量的影响

Fig.1 Effects of Qili Qiangxin capsule on heart shape and body mass in DOX-MI rats

2.2 芪茛强心胶囊对DOX-MI大鼠心脏功能的影响

超声心动图结果显示,与对照组相比,模型组大鼠左心室收缩末期内径(left ventricular internal diameter at end-systole, LVIDs)显著增大,左心室舒张末期内径(left ventricular internal diameter at end-diastole, LVIDd)显著减小,射血分数(ejection fraction, EF)和短轴缩短率(fractional shortening, FS)均显著降低(P 均 <0.01),提示DOX成功诱导了心功能损伤。与模型组相比,芪茛强心胶囊高剂量组LVIDd显著增大,EF和FS显著升高(P 均 <0.05);右雷佐生组LVIDs显著减小,LVIDd显著增大,EF和FS显著升高(P 均 <0.05)。以上结果表明,QLQX高剂量可减轻DOX诱导的大鼠心功能损伤,其减轻效果接近右雷佐生组。代表性超声图像见图2,统计学数

据详见表1。

2.3 芪茛强心胶囊对DOX-MI模型大鼠心脏组织病理损伤的作用(HE染色)

HE染色结果如图3所示:对照组心肌细胞形态规则,胞质红染均匀,间质结构正常,未见明显炎症细胞浸润及纤维组织增生。模型组心肌细胞胞质广泛淡染,可见空泡变性,细胞核数目增多、形态破碎,心肌细胞大量坏死,并伴有炎症细胞浸润。经QLQX各治疗组干预后,胞质淡染程度及间质水肿均明显减轻;其中高剂量组改善最为显著,效果与右雷佐生组接近。

2.4 芪茛强心胶囊对DOX-MI模型大鼠心脏组织纤维化的作用(Masson染色)

Masson染色结果如图4所示:对照组心肌组织

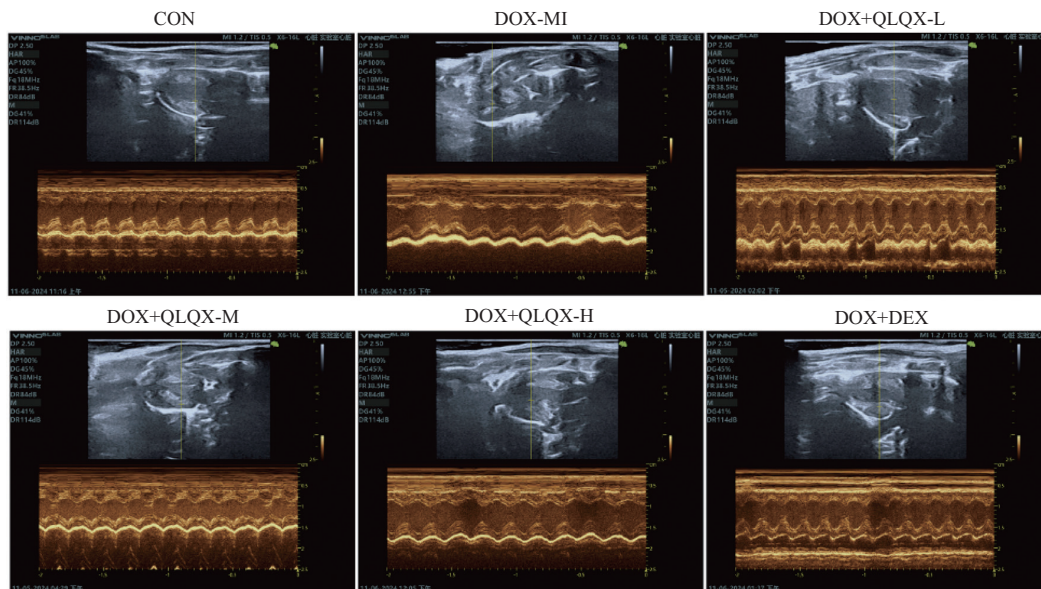


图2 各组大鼠超声心动图

Fig.2 Echocardiograms of rats in each group

表1 芪茛强心胶囊对DOX-MI大鼠心脏功能指标影响

Table 1 Effects of Qili Qiangxin capsule on cardiac function in DOX-MI rats

指标 Parameter	对照组 CON	模型组 DOX-MI	低剂量组 DOX+QLQX-L	中剂量组 DOX+QLQX-M	高剂量组 DOX+QLQX-H	右雷佐生组 DOX+DEX
LVIDs /mm	3.48±0.36	4.44±0.53**	4.19±0.42	4.09±0.29	3.97±0.32	3.82±0.55 [#]
LVIDd /mm	7.78±0.59	7.06±0.85**	7.23±0.79	6.92±0.73	7.61±0.58 [#]	7.37±0.59 [#]
EF /%	85.07±2.64	65.45±4.22**	70.98±1.87	69.15±3.29	77.72±0.59 [#]	78.45±4.63 [#]
FS /%	56.25±3.13	37.11±3.54**	41.71±1.86	39.86±2.85	48.10±0.46 [#]	48.61±4.72 [#]

LVIDs: 左心室收缩末期内径; LVIDd: 左心室舒张末期内径; EF: 射血分数; FS: 短轴缩短率。 ** $P<0.01$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, 与模型组比较。方差分析显示LVIDs: $F=5.343$, $P<0.001$; LVIDd: $F=0.948$, $P=0.464$; EF: $F=33.62$, $P<0.000$; FS: $F=26.66$, $P<0.000$ 。所有数据均用均数±标准差表示, $n=6$ 。

LVIDs: left ventricular internal diameter at end-systole; LVIDd: left ventricular internal diameter at end-diastole; EF: ejection fraction; FS: fractional shortening. ** $P<0.01$ compared with CON group; [#] $P<0.05$ compared with DOX-MI group. ANOVA results show that LVIDs: $F=5.343$, $P<0.001$; LVIDd: $F=0.948$, $P=0.464$; EF: $F=33.62$, $P<0.000$; FS: $F=26.66$, $P<0.000$. Data are shown as $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

中蓝色胶原纤维分布疏松, 仅少量见于血管周围等间质区域, 纤维化程度极低。模型组可见大量蓝色胶原纤维增生, 粗大且成束, 弥漫性浸润于心肌间质, 甚至分割心肌纤维; 同时红色心肌纤维排列紊乱、断裂溶解, 纤维化程度显著升高($P<0.001$)。经QLQX治疗后, 各治疗组蓝色胶原纤维较模型组均显著减少, 心肌结构得到不同程度的恢复, 且呈剂量依赖性抑制心肌纤维化(高剂量组 $P<0.001$)。右雷佐生组胶原分布与QLQX高剂量组相似, 心肌纤维排列较为规整。

2.5 芪茛强心胶囊对DOX-MI模型大鼠血清心肌损伤标志物的影响

血清心肌损伤标志物检测结果如图5所示。与对照组相比, 模型组大鼠血清中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白I(cTn-I)及心肌肌钙蛋白T(cTn-T)水平均显著升高(P 均 <0.001), 提示DOX诱导的心肌损伤导致心肌细胞结构与功能受损, 细胞内标志物大量释放入血。与模型组相比, QLQX中、高剂量组及右雷佐生组大鼠的LDH水平均显著降低($P<0.01$); CK-MB水平在QLQX中、高剂量组及右雷佐生组中亦显著降低($P<0.01$, $P<0.001$), 低剂量组虽有下降趋势但无统计学差异($P>0.05$); cTn-I和cTn-T水平仅在QLQX高

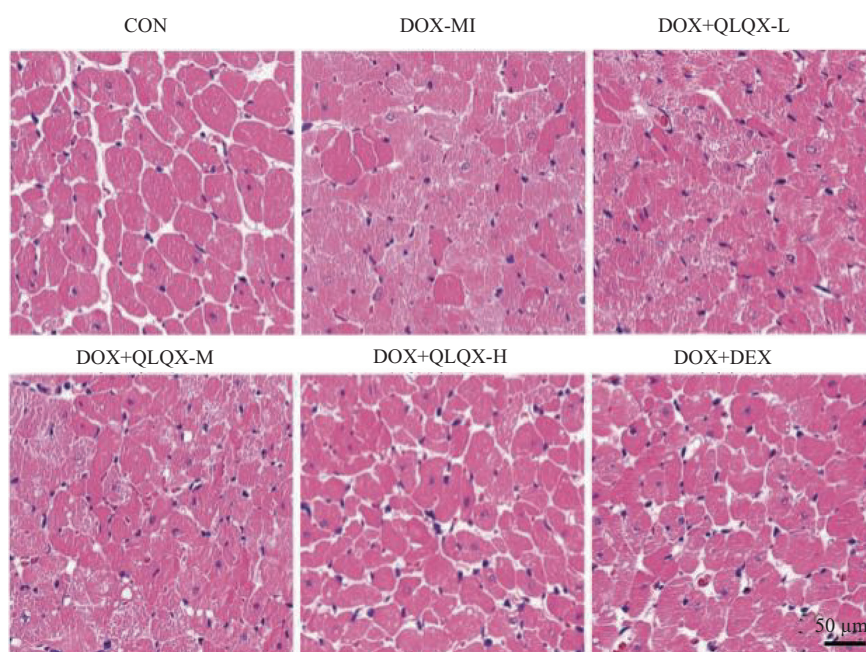
剂量组及右雷佐生组中显著降低($P<0.01$, $P<0.001$), 低剂量组改善不显著。整体而言, QLQX高剂量组在降低上述血清标志物水平方面的效果与右雷佐生组相当, 且呈现一定的剂量依赖性。以上结果表明, QLQX可有效减轻DOX诱导的心肌损伤, 尤其在中、高剂量时效果更为显著。

2.6 芪茛强心胶囊主要活性成分的液质联用分析

采用液质联用(LC-MS)技术对样品进行分析, 在0~30 min的分析周期内, 基于总离子流图及化合物特征参数, 从样品中共筛选并鉴定出24种化合物, 包括乙酰紫堇灵、甘草素等。通过理论分子量(calculated molecular weight)、质荷比(m/z)及保留时间(retention time, RT)等数据, 本研究明确了各化合物的质谱响应及出峰特征, 具体信息见图6与表2。

2.7 芪茛强心胶囊抗心肌损伤的潜在靶点预测(网络药理学)

通过网络药理学分析, 从芪茛强心胶囊(图中以“QLQX”标识)中筛选出乙酰紫堇灵(acetylcorynoline)、毛蕊异黄酮(calycosin)、芒柄花素(formononetin)等11种关键活性成分(以三角形节点表示)。这些成分通过多靶点作用模式, 与肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族等41个核心靶

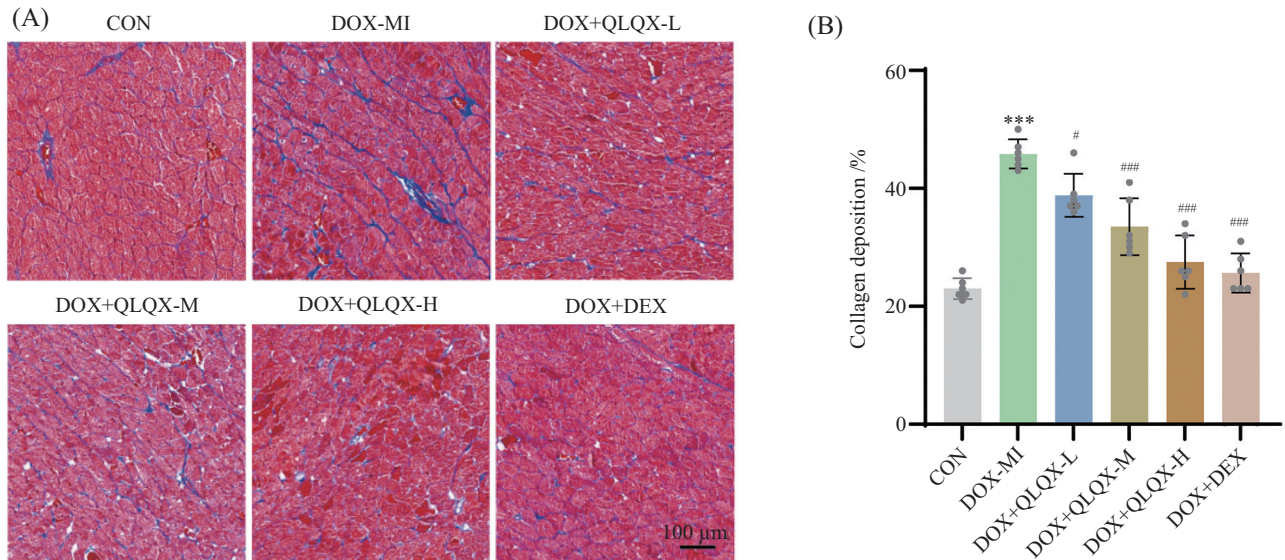


所有数据均用均数 $\pm$ 标准差表示, $n=6$ 。

Data are shown as $\bar{x}\pm s$, $n=6$.

图3 芪茛强心胶囊对DOX-MI模型大鼠心脏组织病理损伤的作用

Fig.3 Effects of Qili Qiangxin capsule on cardiac histopathological injury in DOX-MI rats



A: 大鼠心脏组织Masson染色图像; B: Masson染色胶原沉积面积统计图。*** $P < 0.001$, 与CON组比较; # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$, 与DOX-MI组比较。所有数据均用均数±标准差表示, $n=6$ 。

A: Masson's stain image of rat heart tissue; B: statistical graph of collagen deposition area in Masson's stain. *** $P < 0.001$ compared with CON group; # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ compared with DOX-MI group. Data are shown as $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

图4 芪苈强心胶囊对 DOX-MI模型大鼠心脏组织纤维化的作用
Fig.4 Effects of Qili Qiangxin capsule on myocardial fibrosis in DOX-MI model rats

点(以圆形节点表示,如MAPK8、BCL2、EGFR等)产生相互作用。基于靶点富集分析,共映射到HIF-1信号通路、FOXO信号通路等13条重要通路(以菱形节点表示)。其中,FOXO信号通路是QLQX干预心肌损伤的关键通路之一,在细胞凋亡调控及氧化应激防御中发挥核心作用。上述网络药理结果见图7。

2.8 芪苈强心胶囊对心肌组织中SOD/MDA水平的影响

如图8所示,与对照组相比,模型组超氧化物歧化酶(SOD)活性显著降低、丙二醛(MDA)含量显著升高(P 均 < 0.001),提示DOX诱导心肌氧化应激损伤。与模型组相比,QLQX各剂量组及DEX组均可逆转上述变化:QLQX呈剂量依赖性升高SOD活性(中、高剂量组 $P < 0.01$),并显著降低MDA含量(高剂量组 $P < 0.001$),右雷佐生组亦有显著作用。这表明QLQX可通过上调SOD蛋白表达、降低MDA水平,减轻DOX诱导的心肌氧化应激损伤。

2.9 芪苈强心胶囊对DOX-MI大鼠模型心脏组织JNK/FOXO3a/MnSOD信号通路相关蛋白的影响

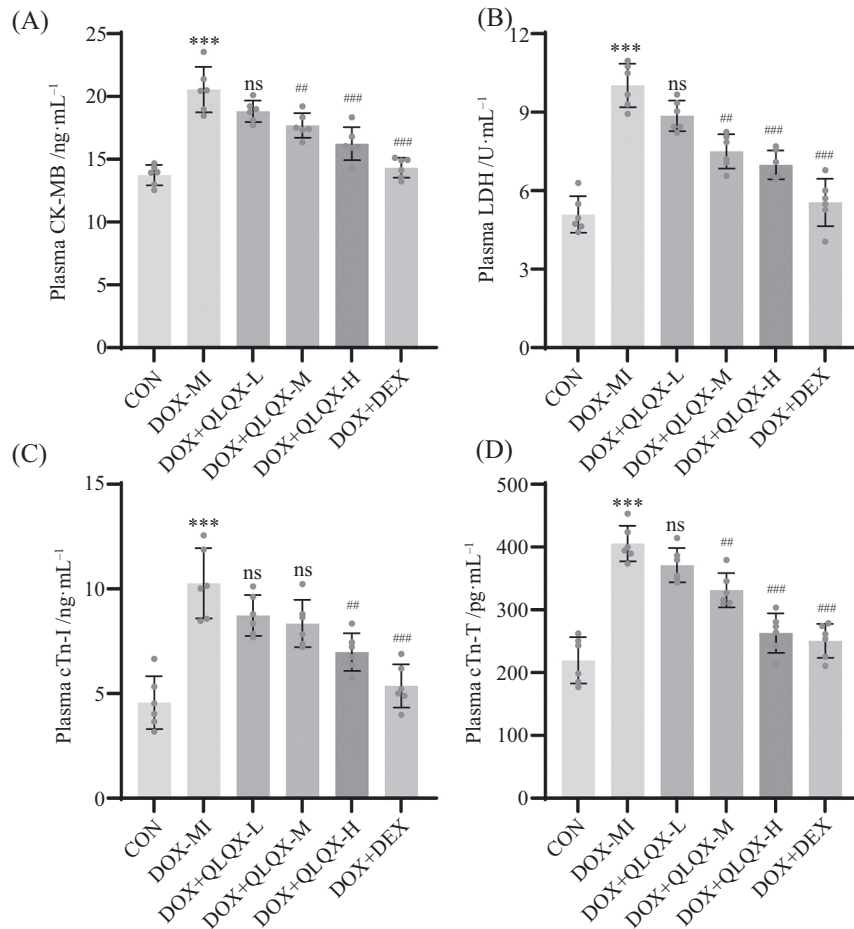
Western blot结果如图9所示(统计学数据详见表3)。与对照组相比,模型组大鼠心脏组织中JNK、p-JNK、FOXO3a及MnSOD蛋白相对表达量均显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,QLQX高剂量组及右雷

佐生组上述蛋白表达均呈不同程度的上调($P < 0.05$, $P < 0.01$),且右雷佐生组的改善效果优于高剂量组($P < 0.05$)。以上结果表明,芪苈强心胶囊高剂量及右雷佐生可上调DOX诱导的心肌损伤大鼠心脏组织中JNK通路及抗氧化相关蛋白的表达,可能参与心肌保护。

3 讨论

阿霉素(DOX)作为多种肿瘤治疗中的一线化疗药物,其高效广谱的抗肿瘤活性已获得临床广泛认可,但其临床应用常因导致累积性、不可逆的心肌损伤而受限,这一问题成为制约其疗效发挥的瓶颈^[14]。DOX可通过诱导心肌细胞氧化应激过载、线粒体功能损伤及心肌纤维化等多重途径触发不可逆心肌疾病,尽管临床已采用右雷佐生等药物缓解其毒性,但存在疗效有限及不良反应风险等问题^[15]。QLQX作为临床治疗慢性心力衰竭的中成药,其多成分、多靶点特性为复杂疾病干预提供了潜在优势,但其在DOX诱导心肌损伤中的作用及机制尚未明确^[16]。基于此,本研究结合动物实验与分子机制探讨,初步证实QLQX可能通过激活JNK/FOXO3a/MnSOD信号轴减轻DOX-MI,为其临床应用提供了实验依据。

网络药理学筛选显示,QLQX中的11种活性成



A: 血清CK-MB表达统计图; B: 血清LDH表达统计图; C: 血清cTn-I表达统计图; D: 血清cTn-T表达统计图。*** $P < 0.001$, 与CON组比较; ns: 无统计学差异; # $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, 与DOX-MI组比较。所有数据均用均值±标准差表示, $n=6$ 。

A: statistical graph of serum CK-MB levels; B: statistical graph of serum LDH levels; C: statistical graph of serum cTn-I levels; D: statistical graph of serum cTn-T levels. *** $P < 0.001$ compared with CON group; ns: no significant difference; # $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ compared with DOX-MI group. Data are shown as $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

图5 芪蒴强心胶囊对DOX-MI模型大鼠血清心肌损伤标志物的影响

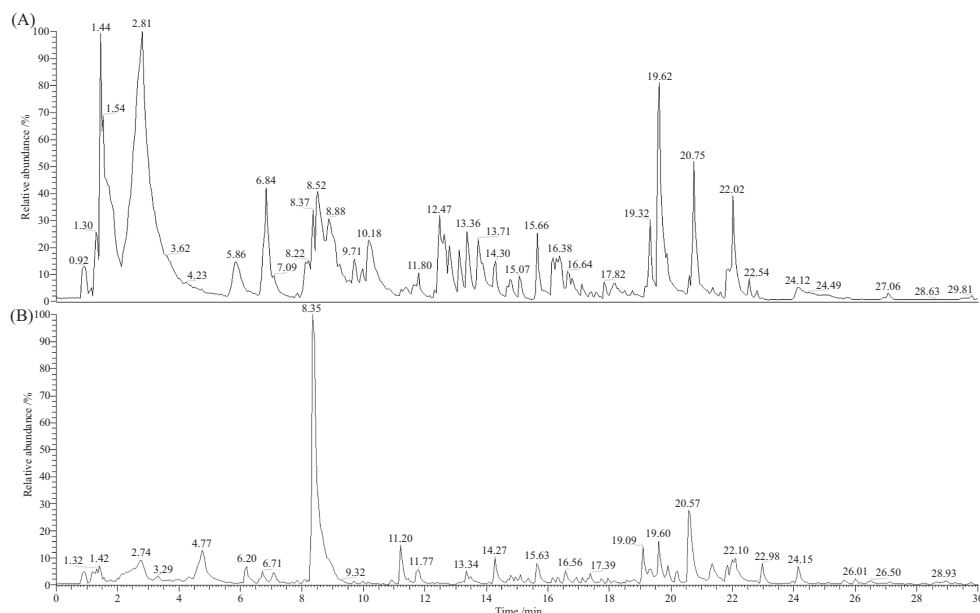
Fig.5 Effects of Qili Qiangxin capsule on serum cardiac injury markers in DOX-MI rats

分,如黄芪甲苷(astragaloside IV)、毛蕊异黄酮(calycosin)、黄芩素(baicalin)、杠柳苷元(periplogenin)、乙酰紫堇灵(acetylcorynoline)、泽泻醇(alisol)、黄芪皂苷II(astragaloside II)、芒柄花素(formononetin)、大黄素(emodin)、商陆皂苷元(phytolaccagenin)、慧花牡荆苷(agnuside)等,可能为QLQX胶囊的核心药效物质基础,这些成分可通过作用于多个靶点参与心肌保护过程。

SOD作为机体重要的抗氧化酶家族,主要包括三种亚型:胞质铜锌超氧化物歧化酶^[17](Cu/Zn-SOD, SOD1)、线粒体锰超氧化物歧化酶^[18](MnSOD, SOD2)和胞外超氧化物歧化酶^[19](EC-SOD, SOD3)。其中,心肌组织线粒体含量丰富,而MnSOD主要定位于线粒体,是清除线粒体来源ROS的关键酶,其表

达和活性的维持对减轻氧化应激所致心肌损伤至关重要^[20]。

FOXO家族是一类重要的转录因子^[21],包括FOXO1、FOXO3a、FOXO4和FOXO6等,其中FOXO3a在心肌细胞中高表达,且与氧化应激、细胞凋亡、心肌纤维化等病理过程密切相关^[22]。在生理状态下,FOXO3a在被磷酸化后与细胞质中的14-3-3ε蛋白结合,从而滞留于胞质,处于失活状态^[23];当受到氧化应激等刺激时,FOXO3a去磷酸化并从细胞质转移至细胞核,结合于靶基因启动子区域的特定序列,调控下游抗氧化基因[如SOD(尤其是SOD2),以及过氧化氢酶(catalase, CAT)等]和促凋亡基因(如Bim、Fas等)的表达^[25],从而在维持细胞氧化还原平衡、调控细胞存活与死亡中发挥核心作用。



A: 以负离子模式显示的总离子电流图; B: 以正离子模式显示的总离子电流图。

A: TIC (total ion current chromatogram) displayed in negative ion mode; B: TIC (total ion current chromatogram) displayed in positive ion mode.

图6 芪茛强心胶囊正负离子流图谱

Fig.6 Positive and negative ion current chromatograms of Qili Qiangxin capsule

表2 高分辨液质联用初步鉴定芪茛强心胶囊中24种化合物

Table 2 Preliminary identification of 24 compounds in Qili Qiangxin capsule by high-resolution LC-MS

名称 Name	分子式 Formula	注释质量偏差/Da Annotation delta mass /Da	计算分子量 Calculated molecular weight	质荷比 <i>m/z</i>	保留时间/min Retention time / min	参比离子 Reference ion
Acetylcorynoline	C ₂₃ H ₂₃ NO ₆	-0.004 35	409.148 19	410.155 46	4.822	[M+H] ⁺
Calycosin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	-0.000 61	284.067 86	285.075 01	11.799	[M+H] ⁺
Formononetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	-0.000 68	268.072 88	301.106 41	13.337	[M+H+MeOH] ⁺
Periplogenin	C ₂₃ H ₃₄ O ₅	-0.000 55	390.240 08	391.247 31	15.579	[M+H] ⁺
Alisol	C ₃₀ H ₅₀ O ₅	-0.000 41	490.365 41	535.363 53	19.614	[M+FA-H] ⁻
Baicalein	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	-0.003 21	270.047 12	271.054 38	9.378	[M+H] ⁺
Astragaloside IV	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₆	-0.001 78	834.475 23	835.482 47	12.563	[M+H] ⁺
Agnuside	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₃	-0.000 56	516.162 25	517.169 83	7.427	[M+H] ⁺
Astragaloside II	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	-0.001 23	802.476 45	803.483 79	12.236	[M+H] ⁺
Isomangiferin	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₅	-0.000 37	594.158 88	593.151 67	10.789	[M+H] ⁺
Phytolaccagenin	C ₃₁ H ₄₈ O ₇	0.000 42	532.340 42	531.332 95	17.875	[M-H] ⁻
Emodin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	-0.000 14	284.068 33	285.075 50	16.511	[M+H] ⁺
Mannitol	C ₆ H ₁₄ O ₆	-0.000 98	182.078 06	181.070 79	1.302	[M-H] ⁻
Quinic acid	C ₇ H ₁₂ O ₆	-0.000 86	192.062 53	191.055 24	1.527	[M-H] ⁻
Citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	-0.000 90	192.026 11	191.018 83	2.794	[M-H] ⁻
Vicenin II	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	0.000 41	594.158 88	593.151 67	4.243	[M-H] ⁻
Danshensu	C ₉ H ₁₀ O ₅	-0.000 47	198.052 35	197.044 82	6.841	[M-H] ⁻
1-caffeoylquinic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-0.000 01	354.095 09	353.087 83	8.163	[M-H] ⁻
Protocatechualdehyde	C ₇ H ₆ O ₃	-0.001 27	138.030 42	137.023 15	8.364	[M-H] ⁻
Caftaric acid	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	0.000 28	312.048 41	311.041 14	8.571	[M-H] ⁻
3,4-dihydroxyphenylethanol	C ₈ H ₁₀ O ₃	-0.001 09	154.061 90	153.054 63	8.821	[M-H] ⁻
Catalpol	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	-46.005 31	316.115 99	361.114 17	8.820	[M+FA-H] ⁻
p-hydroxybenzaldehyde	C ₇ H ₆ O ₂	-0.001 25	122.035 53	121.028 25	9.713	[M-H] ⁻
Caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	-0.000 33	180.041 93	239.055 80	10.195	[M-H+HAc] ⁻

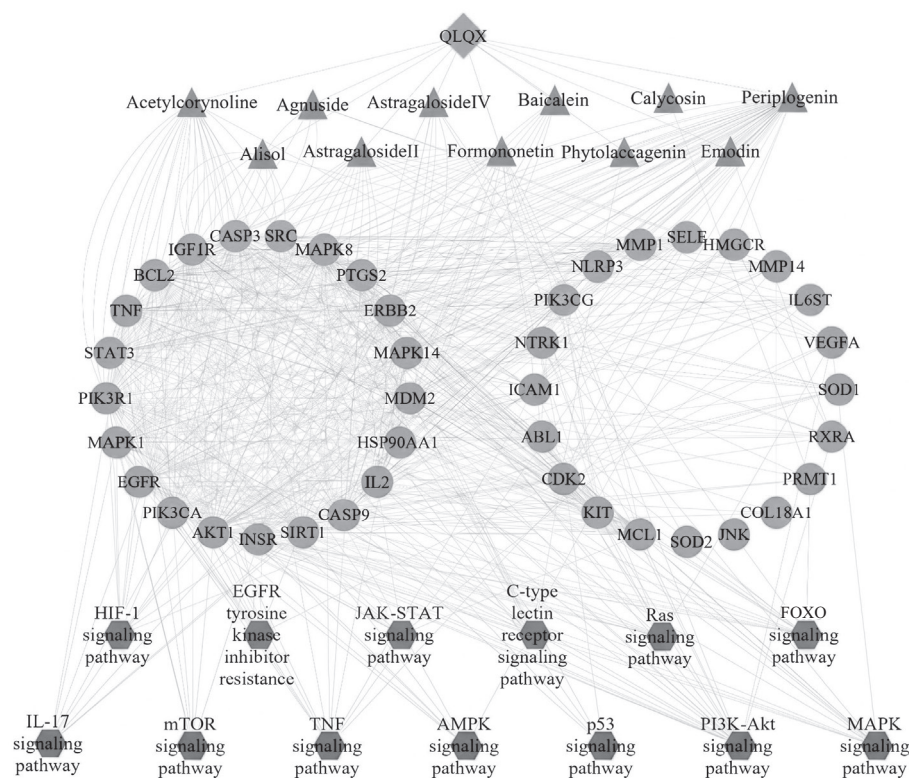


Fig.7 Network pharmacology component-target-pathway network

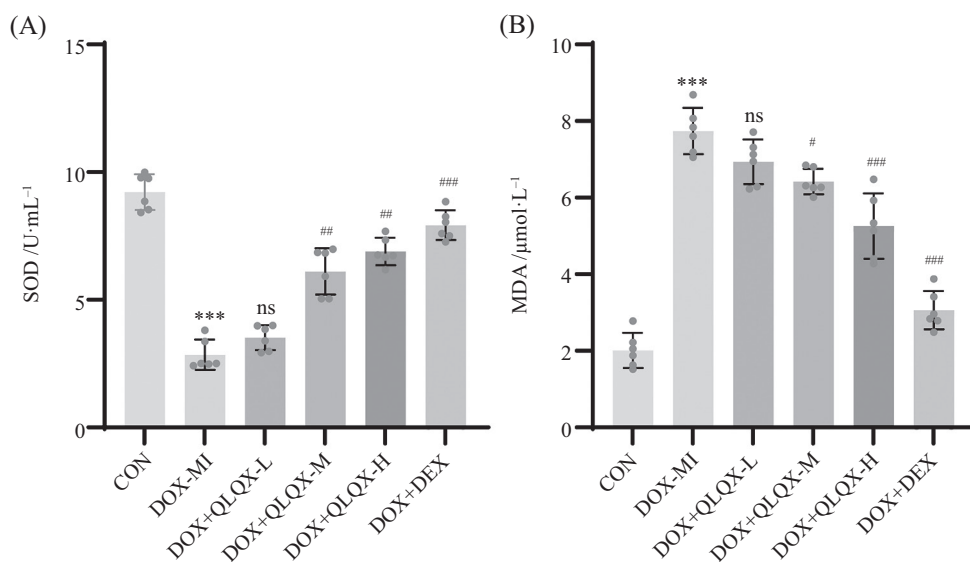


图8 芪茛强心胶囊对DOX-MI模型大鼠心肌组织中SOD/MDA的影响
Fig.8 Effects of Qili Qiangxin capsule on SOD/MDA in myocardial tissue of DOX-MI rats

既往研究发现,黄芩甲苷可通过抑制NADPH氧化酶活性减少ROS生成^[26],同时,它还能抑制JNK磷酸化并调控SIRT1/FOXO3a轴进而发挥抗氧化作用^[27];

大黄素可激活包括JNK在内的MAPK家族成员参与细胞应激保护^[28];在阿霉素心肌损伤模型中,黄芩素能够直接抑制JNK磷酸化,减轻线粒体氧化损伤^[29];

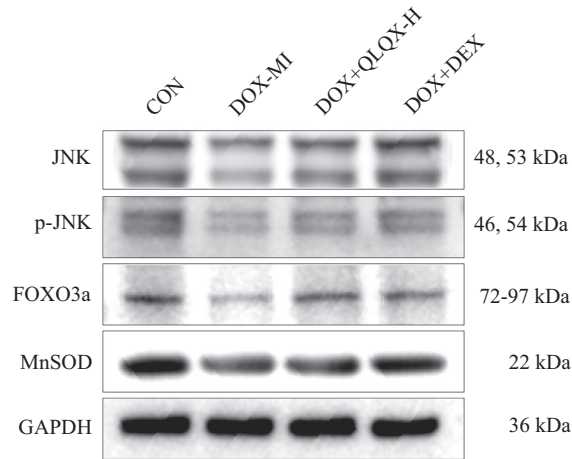


图9 各组大鼠JNK、p-JNK、FOXO3a、MnSOD蛋白条带图

Fig.9 Protein bands of JNK, p-JNK, FOXO3a, and MnSOD in each group of rats

表3 芪苈强心胶囊对DOX-MI大鼠模型心脏组织通路蛋白的影响

Table 3 Effects of Qili Qiangxin capsule on cardiac tissue transport proteins in DOX-MI rats

蛋白指标 Protein indicator	对照组 CON	模型组 DOX-MI	高剂量组 DOX+QLQX-H	右雷佐生组 DOX+DEX
JNK/GAPDH	1.00±0.08	0.45±0.05**	0.72±0.06 [#]	0.88±0.06 ^{##}
p-JNK/GAPDH	1.00±0.09	0.38±0.04**	0.65±0.05 [#]	0.83±0.06 ^{##}
FOXO3a/GAPDH	1.00±0.07	0.42±0.03**	0.66±0.04 [#]	0.81±0.05 ^{##}
MnSOD/GAPDH	1.00±0.06	0.35±0.03**	0.60±0.03 [#]	0.76±0.04 ^{##}

** $P<0.01$, 与对照组比较; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$, 与模型组比较。方差分析显示JNK/GAPDH: $F=66.63$, $P<0.0001$; p-JNK/GAPDH: $F=69.21$, $P<0.0001$; FOXO3a/GAPDH: $F=93.21$, $P<0.0001$; MnSOD/GAPDH: $F=142.7$, $P<0.0001$ 。所有数据均用均数±标准差表示, $n=3$ 。

** $P<0.01$ compared with CON group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ compared with DOX-MI group. ANOVA results show that JNK/GAPDH: $F=66.63$, $P<0.0001$; p-JNK/GAPDH: $F=69.21$, $P<0.0001$; FOXO3a/GAPDH: $F=93.21$, $P<0.0001$; MnSOD/GAPDH: $F=142.7$, $P<0.0001$. Data are shown as $\bar{x} \pm s$, $n=3$.

黄芩素还可直接结合并激活转录因子FOXO3a, 促进其转录活性, 进而上调抗氧化基因Catalase的表达以清除ROS, 并激活自噬相关基因FUNDC1以促进受损线粒体清除^[30]; 此外, 黄芩素还可通过激活Nrf2介导的MnSOD诱导来减轻线粒体氧化应激^[31]。上述成分的协同作用可能通过多靶点提升JNK激活效率、促进FOXO3a核转位及转录活性、上调MnSOD等抗氧化酶表达, 最终强化SOD介导的抗氧化防御, 为QLQX“多成分-多靶点”调控JNK/FOXO3a/MnSOD信号轴提供了坚实的物质基础。

基于上述预测, 本研究通过体内实验进一步验证: DOX暴露6周后, 模型组大鼠心功能显著下降(心肌体积缩小、射血分数降低), 心肌组织出现典型病理改变(心肌细胞坏死、纤维紊乱及胶原沉积增加), 血清中心肌损伤标志物(LDH、CK-MB、cTn-I/T)水平显著升高, 均符合DOX诱导心肌毒性的经典病理特征。而QLQX各剂量组(尤其是、高剂量)可显

著逆转上述改变, 效应与阳性药右雷佐生相近, 提示QLQX不仅能减轻DOX导致的心肌细胞结构损伤, 还可改善心脏泵血功能、延缓心肌纤维化进程, 这与QLQX在慢性心力衰竭中通过改善心肌重构、减轻炎症损伤的临床疗效相呼应, 为其拓展用于化疗性心肌损伤防治提供了实验支持。

另本研究结果显示, QLQX对部分药效指标仅高剂量组有显著作用, 而对另一些指标中、高剂量组均表现有效。分析认为, 该复方中药成分复杂, 不同活性成分在体内的吸收、分布及靶器官浓度存在差异^[32], 导致各指标对剂量的敏感性不同: 某些指标需较高剂量方能达到起效阈值, 而另一些指标中剂量即可触发保护效应。此外, SD大鼠作为封闭群, 存在一定的个体差异, 可能对组间统计学差异产生影响^[33]。尽管如此, 但从整体趋势来看, 各剂量组均呈现一定的保护作用, 且具有剂量-效应依赖性, 一切结果均以客观实验数据为准。同时, 高剂量未出

现明显毒副作用, 证明QLQX安全范围较宽, 上述发现为临床个体化剂量调整提供了安全性参考。

进一步机制解析显示, JNK/FOXO3a/MnSOD信号轴是QLQX发挥作用的核心通路: JNK在氧化应激刺激下被激活, 可通过磷酸化修饰下游转录因子FOXO3a, 促使其从细胞质释放并转入细胞核; 入核后的FOXO3a可特异性结合抗氧化基因MnSOD的启动子区域, 启动其转录表达, 而MnSOD作为关键内源性抗氧化酶, 能高效清除细胞内过量ROS, 维持REDOX平衡以减轻氧化应激损伤^[34]。本研究证实, QLQX可通过激活该信号轴增强心肌抗氧化能力, 从而减轻DOX诱导的心肌损伤。

综上, 本研究初步证实QLQX可能通过激活JNK/FOXO3a/MnSOD信号轴, 减轻DOX诱导的心肌氧化损伤、纤维化等心功能障碍, 为芪苈强心胶囊用于化疗患者心脏保护提供了实验依据。目前FDA唯一批准用于预防阿霉素心脏毒性的药物为右雷佐生, 但其存在增加继发性肿瘤风险等局限性^[35]。芪苈强心胶囊已在心力衰竭治疗中积累了大规模循证证据(QUEST试验, 3 110例)^[36], 安全性良好、可及性高。两者并非替代关系: 右雷佐生适用于高风险患者的针对性保护, 芪苈强心胶囊可作为预防性或辅助性用药, 未来需进一步开展临床研究验证。

此外, 本研究尚存在以下局限性: 首先, 网络药理学分析基于数据库预测, 研究仅检测了JNK/FOXO3a/MnSOD通路相关蛋白的表达变化, 鉴于中药复方的多靶点特性, 后续需采用特异性抑制剂或基因沉默/过表达技术对该通路关键节点进行功能获得与功能缺失实验, 以明确其在芪苈强心胶囊心肌保护中的确切作用; 其次, 动物实验仅观察了短期内的肌酶及氧化应激指标, 未评估长期给药对心功能及生存率的影响; 最后, QLQX作为中药复方, 其最佳给药剂量与临床等效剂量之间的换算仍需更多药代动力学研究支持。因此, 本研究结论向临床转化尚需开展更大规模、更长周期的动物实验及临床试验加以证实。

参考文献 (References)

- [1] D'Angelo N A, Noronha M A, Câmara M C C, et al. Doxorubicin nanoformulations on therapy against cancer: an overview from the last 10 years [J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 133: 112623.
- [2] Ghelli L D R A, Ghetti M, Ledda L, et al. Exploring the ATR-CHK1 pathway in the response of doxorubicin-induced DNA damages in acute lymphoblastic leukemia cells [J]. *Cell Biology and Toxicology*, 2023, 39(3): 795-811.
- [3] Cui J X, Chen Y J, Yang Q N, et al. Protosapannin A protects DOX-induced myocardial injury and cardiac dysfunction by targeting ACSL4/FTH1 axis-dependent ferroptosis [J]. *Advanced Science*, 2024, 11(34): e2310227.
- [4] Bi Y G, Xu H X, Wang X, et al. FUNDC1 protects against doxorubicin-induced cardiomyocyte PANoptosis through stabilizing mtDNA via interaction with TUFM [J]. *Cell Death & Disease*, 2022, 13(12): 1020.
- [5] Kciuk M, Gielecinska A, Mujwar S, et al. Doxorubicin: an agent with multiple mechanisms of anticancer activity [J]. *Cells*, 2023, 12(4): 659.
- [6] Xie T, Li N, Hu X, et al. Hydrogen nanobubbles inhibit oxidative stress and myocardial fibrosis to reverse chemotherapy-induced myocardial injury [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2026, 18(7): 10842-10859.
- [7] Krüger D N, Bosman M, van Craenenbroeck E M, et al. Dexrazoxane prevents vascular toxicity in doxorubicin-treated mice [J]. *Cardio-Oncology*, 2024, 10(1): 65.
- [8] Cheang I, Yao W M, Zhou Y L, et al. The traditional Chinese medicine Qiliqiangxin in heart failure with reduced ejection fraction: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Nature Medicine*, 2024, 30(8): 2295-2302.
- [9] Hao J M, Wang M Y, Wu Q L, et al. Deciphering the molecular mechanisms of QLQX capsules in heart failure: a multi-omics perspective [J]. *Phytomedicine*, 2025, 143: 156828.
- [10] Lu P P, Ma J, Liang X P, et al. Xinfuli improves cardiac function, histopathological changes and attenuates cardiomyocyte apoptosis in rats with doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Journal of Geriatric Cardiology*, 2016, 13(12): 968-972.
- [11] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理学实验方法学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [12] Wang T, Yuan C Q, Liu J, et al. Targeting energy protection as a novel strategy to disclose Di'ao Xinxuekang against the cardiotoxicity caused by doxorubicin [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(2): 897.
- [13] 郝佳梦, 常丽萍, 王璐, 等. 基于网络药理学及实验验证探究芪苈强心胶囊治疗射血分数保留型心衰的作用机制[J]. *中草药*, 2022, 53(14): 4365-4375.
Hao J M, Chang L P, Wang L, et al. Mechanism of Qili Qiangxin capsule in treatment of heart failure with preserved ejection fraction based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(14): 4365-4375.
- [14] Christidi E, Brunham L R. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(4): 339.
- [15] 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]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 139: 111708.
- [16] Wang T X, Hou B, Qin H R, et al. Qili Qiangxin (QLQX) capsule as a multi-functional traditional Chinese medicine in treating chronic heart failure (CHF): a review of ingredients, molecular, cellular, and pharmacological mechanisms [J]. *Heliyon*, 2023, 9(11): e21950.

- [17] Eleutherio E C A, Silva Magalhães R S, de Araújo Brasil A, et al. SOD1, more than just an antioxidant [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2021, 697: 108701.
- [18] Li Z, Chen M X, Wang W H, et al. Mn-SOD alleviates methotrexate-related hepatocellular injury via GSK-3 β affecting anti-oxidative stress of HO-1 and Drp1 [J]. Journal of Central South University (Medical Sciences), 2022, 47(9): 1191-1199.
- [19] Kalmari A, Colagar A H. Exploration of SOD3 from gene to therapeutic prospects: a brief review [J]. Molecular Biology Reports, 2024, 51(1): 980.
- [20] Rodriguez-Colman M J, Dansen T B, Burgering B M T. FOXO transcription factors as mediators of stress adaptation [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2024, 25(1): 46-64.
- [21] Orea-Soufi A, Paik J, Bragança J, et al. FOXO transcription factors as therapeutic targets in human diseases [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2022, 43(12): 1070-1084.
- [22] Santos B F, Grenho I, Martel P J, et al. FOXO family isoforms [J]. Cell Death & Disease, 2023, 14(10): 702.
- [23] Mathivanan S, Chunchagatta Lakshman P K, Singh M, et al. Structure of a 14-3-3 ϵ : FOXO3a^{S253} phosphopeptide complex reveals 14-3-3 isoform-specific binding of forkhead box class O transcription factor (FOXO) phosphoproteins [J]. ACS Omega, 2022, 7(28): 24344-24352.
- [24] Huang X T, Kou X X, Zhan T, et al. Apoptotic vesicles resist oxidative damage in noise-induced hearing loss through activation of FOXO3a-SOD2 pathway [J]. Stem Cell Research & Therapy, 2023, 14(1): 88.
- [25] Zheng C C, Yu X M, Liang Y Y, et al. Targeting PFKL with penfluridol inhibits glycolysis and suppresses esophageal cancer tumorigenesis in an AMPK/FOXO3a/BIM-dependent manner [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2022, 12(3): 1271-1287.
- [26] Su Y, Yin X, Huang X, et al. Astragaloside IV ameliorates sepsis-induced myocardial dysfunction by regulating NOX4/JNK/BAX pathway [J]. Life Sciences, 2022, 310: 121123.
- [27] Cao Y H, Duan Y X, Qin J Y, et al. Astragaloside IV attenuates heart failure by modulating SCAD/DJ-1/SIRT1/FOXO3a signaling axis [J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2026, 54(4): 1253-1279.
- [28] Thakral F, Prasad B, Sehgal R, et al. Role of emodin to prevent gastrointestinal cancers: recent trends and future prospective [J]. Discover Oncology, 2025, 16(1): 468.
- [29] Chang W T, Li J, Huang H H, et al. Baicalein protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by attenuation of mitochondrial oxidant injury and JNK activation [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2011, 112(10): 2873-2881.
- [30] Liu B Y, Li L, Liu G L, et al. Baicalein attenuates cardiac hypertrophy in mice via suppressing oxidative stress and activating autophagy in cardiomyocytes [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2021, 42(5): 701-714.
- [31] Lee I K, Kang K A, Zhang R, et al. Mitochondria protection of baicalein against oxidative damage via induction of manganese superoxide dismutase [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2011, 31(1): 233-241.
- [32] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6: 13.
- [33] Fitzpatrick C J, Gopalakrishnan S, Cogan E S, et al. Variation in the form of Pavlovian conditioned approach behavior among outbred male Sprague-Dawley rats from different vendors and colonies: sign-tracking vs. goal-tracking [J]. Public Library of Science ONE, 2013, 8(10): e75042.
- [34] Li W H, Xiang Z T Y, Lu A X, et al. Manganese-induced apoptosis through the ROS-activated JNK/FOXO3a signaling pathway in CTX cells, a model of rat astrocytes [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 262: 115326.
- [35] Hensley M L, Hagerty K L, Kewalramani T, et al. American Society of Clinical Oncology 2008 clinical practice guideline update: use of chemotherapy and radiation therapy protectants [J]. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27(1): 127-145.
- [36] Li X L, Zhang J, Huang J, et al. A multicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of the effects of qili qiangxin capsules in patients with chronic heart failure [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2013, 62(12): 1065-1072.