

丹酚酸 B 抗氧化应激损伤机制的研究进展

安丽平¹, 于琨¹, 耿海波², 王伟^{1*}

(1. 河北中医学院 基础医学院, 河北省心脑血管病中医药防治研究重点实验室, 石家庄 050200;
2. 石家庄职业技术学院 食品与药品工程系, 石家庄 050081)

〔摘要〕 丹参始载于《神农本草经》,丹参具有活血祛瘀、凉血消痈的功效,近代药理学研究发现丹参具有强心、改善微循环、抗血栓等作用。临床当中常用丹参的水煎剂,丹参的水煎剂的溶解成分主要为丹酚酸类物质,其中丹酚酸类物质当中的丹酚酸 B 是丹参水溶性成分之一,具有很强的生理学活性,丹酚酸 B 是丹酚酸类物质当中抗氧化作用最强的。丹酚酸 B 在体内具有调节烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶,脱偶联型内皮一氧化氮合酶(eNOS),并通过调节 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导子和转录激活子 3/血管内皮生长因子(JAK2/STAT3/VEGF)和肿瘤抑制蛋白(p53),B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)抗凋亡通路,抑制细胞外信号调节激酶/有丝分裂原活化蛋白激酶(ERK/MAPK),c-Jun 氨基末端激酶/有丝分裂原活化蛋白激酶(JNK/MAPK),丝裂原活化蛋白激酶 p38(p38 MAPK)和雌激素受体 α /磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶/核转录因子- κ B(ER α /PI3K/Akt/NF- κ B)抗炎通路,沉默信息调节因子 2 相关酶 1/核因子 E2 相关因子 2/Kelch 样 ECH 联合蛋白 1-抗氧化反应元件(SIRT1/Nrf2/Keap1-ARE)和 NAD 依赖性脱乙酰酶 sirtuin-3/ β 细胞上的叉头转录因子 1/超氧化物歧化酶(SIRT3/FOXO1/SOD2)抗氧化通路和促自噬通路抑制氧化应激,保护组织器官免受氧化损伤。本文从丹酚酸 B 抗氧化应激损伤的通路研究出发,综述近五年发表在国内外期刊的相关研究,为扩大丹酚酸 B 临床应用范围提供新的思路。

〔关键词〕 丹酚酸 B; 氧化应激; 信号通路; 研究进展
〔中图分类号〕 R2-0;R22;R285. 5;R284 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2019)22-0227-08
〔doi〕 10. 13422/j. cnki. syfx. 20192005
〔网络出版地址〕 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190701.1648.005.html>
〔网络出版时间〕 2019-07-04 09:12

Advances in Research on Mechanism of Salvianolic Acid B Against Oxidative Stress

AN Li-ping¹, YU Kun¹, GENG Hai-bo², WANG Wei^{1*}

(1. Basic Medical College, Hebei University of Chinese Medicine, Hebei Key Laboratory of Chinese Medicine Research on Cardio-Cerebrovascular Disease, Shijiazhuang 050200, China;
2. Department of Food and Pharmaceutical Engineering, Shijiazhuang Vocational and Technical College, Shijiazhuang 050081, China)

〔Abstract〕 Salvia miltiorrhiza Bge was first published in *Shennong Bencaojing*. Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma has the effect of promoting blood circulation, cooling blood and eliminating phlegm. Modern pharmacological studies have found that Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma has strong heart, improve microcirculation and antithrombotic effects. The decoction of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma is commonly used in clinical practice. The dissolved component of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma is mainly salvianolic acid. Among them, salvianolic acid B is one of the water-soluble components of Salviae Miltiorrhizae Radix et

〔收稿日期〕 20190315(019)
〔基金项目〕 河北省卫生厅科研基金项目(ZL20140249);河北省教育厅青年基金项目(QN2016137);河北省中医药管理局科研计划项目(2016003);河北中医学院青年科研基金项目(QNZ2014030,QNZ2014034)
〔第一作者〕 安丽平,硕士,讲师,从事心血管病的医药防治,Tel:0311-89926235,E-mail:anan08@126.com
〔通信作者〕 *王伟,硕士,讲师,从事心血管病的医药防治,Tel:0311-89926235,E-mail:weiweiw1975@126.com

Rhizoma. It has strong physiology. Activity, salvianolic acid B is the strongest antioxidant activity of salvianolic acids. Salvianolic acid B regulates nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase, decoupled endothelial nitric oxide synthase (eNOS) *in vivo*, and regulates Janus protein tyrosine kinase 2/signal transducer and transcriptional activation 3/vascular endothelial growth factor (JAK2/STAT3/VEGF) and tumor suppressor (p53), B cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-related X protein (Bax), Caspase-3 anti-apoptotic pathway, inhibition of extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase (ERK/MAPK), c-Jun N-terminal kinase/mitogen-activated protein kinase (JNK/MAPK), mitogen-activated protein kinase p38 (p38MAPK) and estrogen receptor alpha/phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine protein kinase/nuclear transcription factor kappa B (ER α /PI3K/Akt/NF- κ B) anti-inflammatory pathway, silencing information regulator 2 related enzyme 1/nuclear factor E2 related factor 2/Kelch-like ECH combined protein 1-antioxidant response element (SIRT1/Nrf2/Keap1-ARE) and NAD-dependent deacetylase sirtuin Forkhead transcription factor 1/superoxide dismutase on-3/ β cells (NAD-dependent deace tylase sirtuin-3, SIRT3/FOXO1/SOD2) antioxidant pathway and autophagy pathway inhibit oxidative stress and protect tissues and organs from oxidative damage. Based on the study of the pathway of salvianolic acid B against oxidative stress injury, this paper reviews the related research published in domestic and foreign journals in the past five years, and provides new ideas for expanding the clinical application range of salvianolic acid B.

[**Key words**] salvianolic acid B; oxidative stress; signaling pathway; research progress

丹参为唇形科植物丹参的干燥根及根茎,具有活血祛瘀,清心除烦的功效。目前,丹参类制剂已经广泛应用于血管相关性疾病的治疗^[1]。丹酚酸类物质是丹参水溶性成分的主要成分,丹酚酸 B 又是丹酚酸类物质活性最强、含量最高的成分^[2],其抗氧化能力优于丹参素,大量研究已证实丹酚酸 B 抑制心肌细胞肥大、保护血管内皮细胞、心肌细胞、神经细胞、肺细胞、肾小管上皮细胞^[3]等对多种由氧化应激造成的疾病均具有较好疗效。近年来,发现丹酚酸 B 具有调节细胞氧化应激,改善组织细胞损伤作用。将从丹酚酸 B 抗氧化应激作用和相关调控通路两方面来阐述丹酚酸 B 抗氧化应激的机制。

1 丹酚酸 B 促进内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 的磷酸化

eNOS 是内皮细胞中表达最丰富的异构体^[4], eNOS 催化产生的一氧化氮 (NO) 是血管稳态的关键决定因素。然而,在特殊情况下,如所催化底物 (和)或辅因子数量不足,eNOS 催化产生的是超氧化物而不是 NO,这种情况称为“解偶联”^[5]。反应生成的超氧化物与 NO 反应生成氧化性更强的过氧亚硝酸根离子 (ONOO⁻),ONOO⁻ 氧化 L-精氨酸载体,使得该载体转移 L-精氨酸的效率下降,造成内皮细胞的 L-精氨酸水平下降,加重 eNOS 解偶联。另外在活性氧簇介导的内皮功能障碍中,辅因子 BH₄ 被氧化成 BH₂,不能再作为 eNOS 的辅助因子,从而导致 eNOS 解偶联。研究发现丹酚酸 B 可以通

过磷酸腺苷激活的蛋白激酶/磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (AMPK/PI3K/Akt) 途径激活 eNOS 的磷酸化,增加 NO 的产生。REN 等^[6]研究发现在丹酚酸处理的糖尿病大鼠血管内皮中,eNOS 的磷酸化 (Ser 1177) 显著恢复,NO 的产生明显增加。

2 丹酚酸 B 抑制烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 氧化酶的蛋白质水平

NADPH 氧化酶是与膜结合的酶复合物。体内活性氧的重要来源是利用 NADPH 氧化酶作为电子供体催化分子氧还原为超氧阴离子自由基,NADPH 氧化酶主要功能是产生活性氧簇^[7],占到内皮内源 ROS 的近 10%^[8],其唯一功能即为产生活性氧 (ROS)^[9]。NADPH 氧化酶 (NOX) 的亚型有 5 种 (NOX1,NOX2,NOX3,NOX4 和 NOX5),其中 NOX4 在内皮细胞中含量最高。在生理条件下,在非吞噬细胞中,促分裂素原活化蛋白激酶和蛋白激酶 B 通过活性氧簇介导 NOX2 和 NOX4 活化。激活的 NOX2 和 NOX4 诱导内皮细胞的增殖和存活^[10]。基因沉默 NOX4 降低了活性氧簇的表达水平,抑制了血管形成及血管内皮细胞的愈合^[11]。因此,NADPH 氧化酶在介导血管生成和内皮细胞增殖发挥重要作用。REN 等^[6]研究显示丹酚酸 B 可明显改善血糖波动糖尿病大鼠氧化应激状态,在丹酚酸 B 处理组可显著降低 NOX2 和 NOX4 的两种主要同种型 NADPH 氧化酶的蛋白质水平。YANG 等^[12]研

究丹酚酸 B 抑制氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 导致的内皮细胞凋亡,显著下调瘦素样氧化型低密度脂蛋白受体 (LOX-1) 和 NOX4 的表达水平,降低氧化应激水平,保护内皮细胞。

3 丹酚酸 B 抑制氧化应激,改善细胞凋亡

3.1 丹酚酸 B 抑制氧化应激,提高信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 磷酸化水平 研究表明,氧化应激是细胞凋亡的重要影响因素,预防内皮细胞凋亡可改善内皮功能,血管内皮生长因子 (VEGF) 除了促进内皮细胞增殖外,还可以抑制细胞的凋亡^[13],STAT3 是 STAT 家族的重要成员,在脑血管疾病发生后,受损伤的脑组织释放活性氧以及炎症因子,活性氧和炎症因子通过共同受体糖蛋白激活 STAT3,改变 STAT3 的磷酸化水平^[14],导致磷酸化转导和转录激活因子 3 (p-STAT3) 和内皮生长因子 (VEGF) 水平显著下降^[15],VEGF 是 STAT3 的重要下游效应分子,WANG 等^[15]和陈雪等^[16]研究发现明显抑制脑小血管疾病模型大鼠的丙二醛 (MDA) 和超氧化物歧化酶 (SOD),过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽 (GSH) 水平,提高 p-STAT3 和 VEGF 水平,降低 B-淋巴细胞瘤-2-相关 X 蛋白 (Bax) 和半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3 (Caspase-3) 表达量。Dhapare 等^[17]研究丹酚酸 B 激活 Janus 激酶 2 (JAK2),活化 STAT3 和提高 VEGF 表达量,刺激肺细胞增殖和迁移,并防止肺细胞死亡。并证明丹酚酸 B 通过 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2 (JAK2)/STAT3/VEGF 通路参与细胞增殖和迁移。表皮生长因子受体 (EGFR) 已被作为主要信号传导受体,JAK2/STAT3 途径实际上是 EGFR 信号级联的下游,但丹酚酸 B 与 EGFR 是否有联系以及是否丹酚酸 B 通过改善氧化应激状态导致 STAT3 的磷酸化水平改变,需要进一步探讨。

3.2 丹酚酸 B 调节肿瘤阻抑蛋白 (p53),B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2),Bax,Caspase-3 的凋亡相关蛋白表达 p53 是多种转录因子之一,活性氧可损伤 DNA,DNA 损伤后可激活 p53,然后启动 p53 依赖性细胞凋亡在细胞凋亡过程中,Bcl-2 是一种主要存在于线粒体外膜上的完整膜蛋白,Bcl-2 的过表达可以抑制细胞凋亡。Bax 是定位于细胞外膜上的促凋亡蛋白,可通过作用于线粒体诱导细胞凋亡,p53 可调节其他细胞凋亡因子的表达,细胞中的 p53 可活化 p53 上调细胞凋亡调节剂 (PUMA),PUMB 可通过和 Bcl-2 家族蛋白中的 Bax 相结合形成抑制性复合物来激活 Bax 和 Bcl-2 拮抗基因 (Bak) 蛋白。CHEN

等^[18]研究表明,丹酚酸 B 对 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 损伤和细胞凋亡有抑制作用,丹酚酸 B 增加了 Bcl-2 的表达,降低了 p53, Bax 和 Bak 表达。

线粒体损伤后,导致线粒体膜通透性增加和随后线粒体膜电位 (MMP) 去极化,线粒体膜电位是线粒体内膜的电位。MMP 的缺失可以触发线粒体细胞凋亡诱导因子 (AIF) 的释放,已被认为是内源性凋亡途径的早期事件。TAO 等^[19]利用丹酚酸 B 预孵育 INS-1 细胞,显著降低 Caspase-9, Caspase-3 活性,切割的聚 ADP-核糖聚合酶 (PARP) 以及有效逆转 MMP 去极化。Caspase-3 是氧化应激触发细胞凋亡所必需的^[20]。研究还发现高剂量的丹酚酸 B 通过调节 Caspase-3 的表达来抑制细胞的凋亡^[18]。细胞色素-C (cyto-C) 是一种可溶性蛋白,在细胞凋亡中发挥着重要的作用,Bcl-2 和 Bax 两者协同调控线粒体膜对 cyto-C 等因子的通透性^[21],大量研究表明活性氧可诱导 Bcl-2 蛋白表达下调,Bax 蛋白表达上调,Bcl-2/Bax 比例失调,致使线粒体膜通透性增加,细胞色素 c 从线粒体释放到细胞质,并结合凋亡酶激活因子 (Apaf-1),启动 Caspase 级联反应,诱导细胞凋亡的发生。QIAO 等^[21]在研究丹酚酸 B 治疗心肌缺血再灌注心肌损伤中发现,丹酚酸 B 改善心脏功能,减少心肌梗死面积,降低 Bax 和 Caspase-3,提高 Bcl-2 和 Bcl-2/Bax。REN 等^[22]研究也发现丹酚酸能够抑制间歇性高糖诱导的人脐静脉内皮细胞的损伤和凋亡,调节 Bcl-2/Bax 蛋白的表达以及随后的抑制 Caspase-3 的活性。

4 丹酚酸 B 激活自噬,减少氧化应激

自噬可以通过激活内皮细胞中的 Akt 磷酸化来促进血管生成^[23]。自噬也会降解多泛素化蛋白质从而阻止内质网应激诱导的线粒体损伤,导致线粒体介导的细胞凋亡。此外,自噬需要维持健康的线粒体以防止活性氧簇 (ROS) 从受损的线粒体中释放。LIN 等^[24]研究发现 Sal B 通过调高微管相关蛋白轻链 3 II (LC3B II),组织蛋白酶 D (CTSD),Beclin1 基因 (Beclin1) 和 III 型磷脂酰肌醇激酶 (VPS34),调低 p62,增加自噬通量,进而减少氧化应激,促进脑血管疾病的功能恢复,Beclin1, VPS34 和 LC3 II 为自噬体的标志物^[25],CTSD 为自溶酶体的标志物^[26],p62 作为自噬降解的标志物^[27],应用自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3MA) 显著降低了丹酚酸 B 改善的皮瓣中 SOD, SOD1, eNOS, 血红素加氧酶 (HO1) 和 GSH 水平,并且增加了 MDA 的水平。

刘晓龙等^[28]也研究发现丹酚酸 B 通过调节自噬相关蛋白,降低脓毒症大鼠心肌炎症反应和氧化应激,抑制心肌细胞凋亡,减轻脓毒症大鼠心肌的损伤。GAO 等^[29]研究丹酚酸 B 通过增加 AMPK 的磷酸化以及降低哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的磷酸化促进自噬,保护人皮静脉内皮细胞免受氧化应激的损伤。因此,丹酚酸 B 通过激活自噬来减少氧化应激的发生。

5 丹酚酸 B 与抗炎通路

5.1 丹酚酸 B 抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶的磷酸化水平,改善氧化应激导致的炎症反应 氧化应激发生,过量的活性氧会对血管内皮细胞造成损伤^[30],增加微血管的通透性,造成炎症细胞迁移和组织损伤。微血管的通透性由紧密连接的蛋白复合物所决定,有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路包括细胞外信号调节激酶(ERK)/MAPK, c-Jun 氨基末端激酶(JNK)/MAPK, p38 MAPK 和转化生长因子 β /Smad 蛋白(TGF- β /Smad)^[31]参与氧化应激导致的内皮细胞通透性改变。研究发现通过丹酚酸 B 预处理人脐静脉细胞融合细胞 EA. hy926 细胞显著降低过氧化氢(H₂O₂)诱导的磷酸化细胞外信号调节激酶(p-ERK)和磷酸化细胞外信号调节激酶(p-JNK)的上调,但是不影响 p38 和 Smad3 蛋白的磷酸化水平及 ERK, JNK, p38 和 Smad3 的表达总量^[32],但 YANG 等^[12]和 LIU 等^[33]研究丹酚酸 B 可以抑制 p38 MAPK 的磷酸化,抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)的激活,降低炎症因子水平以及抑制转化生长因子(TGF- β_1)的表达增加和其下游靶 Smad3 的磷酸化。张旭等^[34]在研究糖尿病大鼠肾纤维化也发现,丹酚酸 B 可明显减轻糖尿病大鼠肾纤维化,其机制与改善氧化应激状态、调控 TGF- β_1 /Smad 信号通路有关。因此,丹酚酸 B 通过抑制 MAPK 通路,防止氧化应激导致的内皮细胞通透性改变。在氧化应激刺激的 EA. hy 926 细胞中。前期研究报道 MAPK 和 NF- κ B 信号通路之间存在串扰^[32]。在人脐静脉内皮细胞中,在绝对应激条件下 NF- κ B 的激活可能通过激活 MAPK 途径。在牙周韧带干细胞中,NF- κ B 通路可以激活 MAPK 以响应 TLR 配体结合^[35]MAPK 和 NF- κ B 信号通路在丹酚酸 B 的抗氧化作用中发挥重要作用,同时可进一步研究以探讨丹酚酸 B 处理的 EA. hy 926 细胞中 MAPK 和 NF- κ B 信号通路之间的特异关系。

5.2 丹酚酸 B 调节雌激素受体 α (ER α)/PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路,改善氧化应激 丹酚酸 B 可

通过雌激素受体(ERs)介导的 PI3K/Akt 途径调节氧化应激和炎症的信号通路^[12],MA 等^[36]研究丹酚酸 B 对肾脏保护作用,发现 PI3K 蛋白表达和磷酸化丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(p-Akt)/Akt 显著上调。前期研究 PI3K/Akt 途径可以调节多种抗氧化酶^[37],PI3K 是 PI3K/Akt 途径的关键基因,另外 PI3K/Akt 途径也可以抑制 NF- κ B 激活。NF- κ B 途径是炎症细胞因子的产生的一个重要途径。正常情况下,NF- κ B 与核转录因子 κ B 抑制蛋白(I κ B)结合的无活性形式存在于细胞质中。当受到活性氧刺激后,I κ B 激酶 α 将 I κ B- α 磷酸化变为磷酸化核转录因子- κ B 抑制蛋白 α (p-I κ B- α)。p-I κ B- α 经蛋白酶体降解后切割 NF- κ B 的主要亚基(p50 和 p65),激活 NF- κ B^[38]。游离 NF- κ B p50 和 p65 易位至细胞核并与编码炎症酶趋化因子和促炎细胞因子靶基因的启动子区域结合,启动和调节促炎细胞因子的表达。XIA 等^[39]研究应用丹酚酸 B 治疗类风湿关节炎大鼠,显著降低 pI κ B- α 和 NF- κ Bp65 蛋白表达水平并且增加了 I κ B- α 的表达水平。丹酚酸 B 通过减弱 H₂O₂ 诱导的 NF- κ Bp65 磷酸化^[32],抑制 H₂O₂ 诱导的内皮细胞促炎基因的上调表达,赵梦秋等^[40]研究发现丹酚酸 B 可显著抑制糖尿病大鼠主动脉 NF- κ B p65 亚基核转位,从而降低炎症因子的表达。以上研究丹酚酸 B 通过抑制 NF- κ B 降低炎症水平,NF- κ B 既受到 PI3K/Akt 通路的调节,也受到活性氧的调节,前期的研究发现丹酚酸 B 可以改善大鼠的 MDA 和 SOD, CAT 和 GSH 水平,丹酚酸 B 是直接通过 PI3K/Akt 通路调节 NF- κ B 水平,还是间接通过抗氧化酶调节 NF- κ B,需要进一步的探讨^[15,41-42]。

6 丹酚酸 B 与抗氧化通路

6.1 丹酚酸 B 促进沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)高表达,增强核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)的表达和转录活性 Nrf2/Kelch 样 ECH 联合蛋白 1-抗氧化反应元件(Keap1-ARE)通路是目前已知的最重要的内源性抗氧化应激和平衡氧化还原的通路^[43]。Nrf2 是一种对氧化应激非常敏感的转录因子,可引起细胞对应激源的敏感性变化,并诱导启动多种抗氧化酶类的基因表达^[44]。正常情况下,Keap1 结合存在于细胞质内,使 Nrf2 无法进入细胞核,从而保持 Nrf2 生理状态下的低转录活性。过量的活性氧簇刺激可诱导 Nrf2 与 Keap1 发生解离。Nrf2 转位至胞核^[45],与小 Maf 蛋白形成异源二聚体,并且与抗氧化反应元件(ARE)结合在一起。随

后,ARE 启动下游多种抗氧化基因的表达^[46-47]。有越来越多的研究表明,丹酚酸 B 可以下调 Keap1^[48],诱导 Nrf2 发生核转位^[49],上调 Nrf2 蛋白质和 mRNA 水平^[50],提高抗氧化酶的表达。研究发现 SIRT1 可以增强 Nrf2 的表达和转录活性,促进抗氧化成分的表,SIRT1 调节多种细胞生物化学反应,例如氧化应激、凋亡、衰老等^[51],ZHANG 等^[49]研究发现丹酚酸 B 促进 SIRT1 的高表达同时抑制 β 细胞上的叉头转录因子 1(FOXO1)和 p53 的乙酰化。但是既往也有报道 SIRT1 去乙酰化肝激酶 B1(LKB1),可以继发影响 MAPK,前期已有报道丹酚酸 B 可以直接影响 MAPK 和 PI3K^[52]。丹酚酸 B 是否会通过 MAPK 和 PI3K 通路激活 Nrf2 值得进一步研究。也有研究表明丹酚酸 B 在治疗人皮质近曲小管上皮细胞 HK-2 过程中通过 PI3K/Akt/Nrf2 途径降低过氧化氢诱导的氧化应激水平^[53]。

6.2 丹酚酸 B 调节 NAD 依赖性脱乙酰酶(sirtuin)-3(SIRT3),提高抗氧化酶 SOD2 的表达 SIRT3 是哺乳动物 sirtuin 蛋白家族的成员,是一种位于线粒体基质中的可溶性蛋白,可通过调节多种蛋白质的乙酰化水平调节氧化代谢和氧化应激,最近研究发现,丹酚酸 B 可以调节 sirtuins 家族成员 SIRT3^[54]和 SIRT1^[2]的表达。FOXO1/SOD2 信号通路在增强氧化应激耐受和减少氧化应激损伤中起重要作用,而

FOXO1 与 DNA 的结合能力受乙酰化/去乙酰化调节,在二倍体成纤维细胞中 SIRT3 调节 FOXO1 的乙酰化水平,使 FOXO1 脱乙酰化,增加 FOXO1 活性,并刺激过氧化氢酶和 SOD2 等抗氧化基因的表达。WANG 等^[55]和陈小青等^[56]研究发现丹酚酸 B 可通过调节 SIRT3/FOXO1 信号通路,直接上调线粒体源性抗氧化酶 SOD2 的表达和活性,促进 ROS 的代谢。也有研究发现 SIRT3 可直接导致 SOD2 脱去乙酰基而活化,可通过敲出 FOXO1 基因,观察丹酚酸 B 对 SOD2 的作用^[57]。

6.3 丹酚酸 B 调节热休克蛋白家族,改善氧化应激 ZHANG 等^[58]研究丹酚酸 B 恢复热休克蛋白 90(Hsp90)的水平,Hsp90 已被证明具有重要的抗氧化功能,调控氧化应激诱导热休克转录因子 A2(HsfA2)表达。Mortalin(mtHsp70/Hsp75/Grp75/PBP74)是一种热不可诱导蛋白,热休克蛋白 7(heat shock protein70,Hsp70)家族成员。Mortalin 主要位于线粒体中,其功能是维持线粒体稳态和拮抗氧化应激损伤。LIU 等^[59]研究发现丹酚酸 B 显著上调 Mortalin 蛋白的表达,通过调节线粒体形态和功能来预防 H₂O₂ 诱导的氧化应激,这可能与线粒体融合蛋白因子 Mfn1 增加和线粒体裂解因子 hFis1 减少有关。

综上所述,丹酚酸 B 抗氧化应激作用机制见表 1。

表 1 丹酚酸 B 抗氧化应激作用机制
Table 1 Article topic of mechanism of anti-oxidative stress of salvianolic acid B

信号通路	年号	作用环节	参考文献
抗凋亡通路	2018	通过 STAT3/VEGF 信号传导途径恢复认知缺陷和血管生成	[15]
	2018	STAT3 激活和 VEGF 升高	[17]
	2017	抑制氧化应激,p53 和 Caspase-3 通路	[18]
	2017	调节 Bcl-2 蛋白和线粒体膜电位	[19]
自噬通路	2018	增强自噬通量,Beclin1,LC3 II 和 VPS34 表达	[24]
	2019	增加 AMP 激酶(AMPK)的磷酸化以及降低哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的磷酸化	[28]
抗炎通路	2018	介导 Nrf2/Nox4 氧化还原平衡和 TGF- β ₁ /Smad3 信号传导	[12,32]
	2017	通过 PI3K/Akt 信号通路抑制氧化应激和炎症	[35]
	2018	通过下调 NF- κ B 抑制炎症介质水平	[38-39]
抗氧化通路	2018	上调 Nrf2 和 SIRT1	[48-49]
	2018	通过 PI3K/Akt/Nrf2 和 MAPK 途径	[51-52]
	2017	调节 SIRT3/FOXO1 信号通路	[54-56]
	2017	通过上调 mortalin 抑制线粒体功能障碍	[58]

7 展望

氧化应激是导致多种疾病发生的原因,氧化应激可直接对细胞造成损伤^[60],影响细胞功能。近年来血管内皮细胞的氧化应激损伤是研究的热点。心脑血管疾病近年来已经处于一个高发的状态,多种病因导致内皮细胞损伤,加速了动脉粥样硬化的形成,最终导致心脑血管意外的发生。多种病因病理改变,都可以因氧化应激而导致。研究者的目光转向了抗氧化应激的治疗方向。丹酚酸 B 在丹参水溶性成分当中具有非常强的抗氧化作用,因此丹酚酸 B 也成为了研究的热点,丹酚酸 B 既可以直接降低活性氧水平,可以通过多种途径发挥抗氧化作用。丹酚酸 B 可以通过调节抗氧化通路,促进抗氧化酶表达,降低氧化应激造成的细胞凋亡通路和抗炎通路的改变,也可以通过改善细胞凋亡和抗炎通路,调节抗氧化通路。氧化应激在多种血管疾病中抑制自噬水平,丹酚酸 B 可以通过促进自噬改善细胞氧化应激状态。氧化应激发生时,不仅参与调控同生物学功能的信号通路之间存在“交谈”,而且,调控不同生物学功能的信号通路之间也存在“交谈”。丹酚酸 B 存在多途径、多靶点的作用特点,丹酚酸 B 在调控氧化应激反应方面存在较好的优势。因此,本课题组将结合现代网络药理学,进一步深入探讨丹酚酸 B 调控相关信号通路发挥抗氧化应激损伤的效应及其机制。

[参考文献]

[1] 范雅雯,梁丽嫦,张天奉,等. 复方丹参滴丸通过 miR-200b 调控 VEGF/TGF- β_1 影响糖尿病心肌病大鼠心脏的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019,doi: 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20191606.

[2] ZHAI J, TAO L, ZHANG Y, et al. Salvianolic acid B attenuates apoptosis of HUVEC cells treated with high glucose or high fat via Sirt1 activation[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 21(9846325):1-11.

[3] 韩聪,姜月华,李伟. 黄芪-丹参药对改善高血压肾损害的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(12):214-220.

[4] Balligand J L, Feron O, Dessy C. eNOS activation by physical forces: from short-term regulation of contraction to chronic remodeling of cardiovascular tissues [J]. Physiol Rev,2009, 89(2):481-534.

[5] 曾静,李丹丹,赵弘轶,等. eNOS 解偶联对大鼠中动脉栓塞后大鼠神经血管单元的作用及机制[J]. 中风与神经疾病杂志,2017, 34(6):500-503.

[6] REN Y, TAO S, ZHENG S, et al. Salvianolic acid B

improves vascular endothelial function in diabetic rats with blood glucose fluctuations via suppression of endothelial cell apoptosis [J]. Eur J Pharmacol,2016, 791:308-315.

[7] 霍魁媛,常宏,王勇,等. 槲皮素保护 H₂O₂ 诱导的 H9C2 心肌细胞氧化损伤的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2016, 22(15):122-127.

[8] 陈波,陆燕蓉,陈又南,等. 血管内皮衰老和氧化应激[J]. 生理科学进展,2015,46(1):23-27.

[9] Panday A, Sahoo M K, Osorio D, et al. NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies[J]. Cell Mol Immunol,2015,12(1):5-23.

[10] Kim Y W, Byzova T V. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease [J]. Blood, 2014, 123 (5): 625-631.

[11] Datla S R, Peshavariya H, Dusting G J, et al. Important role of Nox4 type NADPH oxidase in angiogenic responses in human microvascular endothelial cells *in vitro* [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(11):2319-2324.

[12] YANG K, LUO Y, LU S, et al. Salvianolic acid B and ginsenoside re synergistically protect against ox-LDL-induced endothelial apoptosis through the antioxidative and antiinflammatory mechanisms [J]. Front Pharmacol,2018,doi: 10. 3389/fphar. 2018. 00662.

[13] Platt S R. Angiogenesis and cerebral neoplasia[J]. Vet Comp Oncol,2005, 3(3):123-138.

[14] HOU Y C, Liou K T, Chern C M, et al. Preventive effect of silymarin in cerebral ischemia-reperfusion-induced brain injury in rats possibly through impairing NF-kappaB and STAT-1 activation[J]. Phytomedicine, 2010,17(12):963-973.

[15] WANG W, HU W. Salvianolic acid B recovers cognitive deficits and angiogenesis in a cerebral small vessel disease rat model via the STAT3/VEGF signaling pathway[J]. Mol Med Rep,2018, 17(2):3146-3151.

[16] 陈雪,沈楠,安英,等. 丹酚酸 B 对氧化应激损伤大鼠心肌细胞的保护作用及其机制[J]. 吉林大学学报:医学版,2018, 44(5):974-978.

[17] Dhapare S, Sakagami M. Salvianolic acid B as an anti-emphysema agent I: *in vitro* stimulation of lung cell proliferation and migration, and protection against lung cell death, and *in vivo* lung STAT3 activation and VEGF elevation [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2018, 53: 107-115.

[18] CHEN H M, LUO H, ZENG W B, et al. Salvianolic acid B attenuates oxidized low-density lipoprotein-

induced endothelial cell apoptosis through inhibition of oxidative stress, p53, and caspase-3 pathways [J]. Chin J Integr Med,2017, 24(10) :016-2645.

[19] TAO S, REN Y, ZHENG H, et al. Salvianolic acid B inhibits intermittent high glucose-induced INS-1 cell apoptosis through regulation of Bcl-2 proteins and mitochondrial membrane potential [J]. Eur J Pharmacol,2017,814:56-62.

[20] 甘彩玉,郑作文,梁冰洁,等. PI3K/Akt/p53 通路探讨藤茶总黄酮抗肝癌的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2019, 25(12) :90-96.

[21] QIAO Z, XU Y. Salvianolic acid B alleviating myocardium injury in ischemia reperfusion rats[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2016, 13 (4) : 157-161.

[22] REN Y N, TAO S J, ZHAO M Q, et al. The effect of salvianolic acid B on the apoptosis of HUVECs induced by intermittent high glucose [J]. Chin Tradit Herb Drugs,2016, 39(8) :1843-1848.

[23] Perez-Alvarez M J, Villa Gonzalez M, Benito-Cuesta I, et al. Role of mTORC1 controlling proteostasis after brain ischemia [J]. Front Neurosci, 2018, doi: 10. 3389/fnins. 2018. 00060.

[24] LIN J, LIN R, LI S, et al. Salvianolic acid B promotes the survival of random-pattern skin flaps in rats by inducing autophagy [J]. Front Pharmacol,2018, doi: 10. 3389/fphar. 2018. 01178.

[25] YANG G, WANG N, Seto S W, et al. Hydroxysafflor yellow a protects brain microvascular endothelial cells against oxygen glucose deprivation/reoxygenation injury: involvement of inhibiting autophagy via class I PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Brain Res Bull, 2018,140:243-257.

[26] WU P, YUAN X, LI F, et al. Myocardial upregulation of cathepsin d by ischemic heart disease promotes autophagic flux and protects against cardiac remodeling and heart failure [J]. Circ Heart Fail, 2017, 10 (7) :10.

[27] Zaffagnini G, Savova A, Danieli A, et al. p62 filaments capture and present ubiquitinated cargos for autophagy [J]. Embo J,2018, doi: 10. 15252/embj. 201798308.

[28] 刘晓龙,崔子林,李阳,等. 丹酚酸 B 对脓毒症大鼠心肌损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2019, 25(14) :112-118.

[29] GAO S, LI S, LI Q, et al. Protective effects of salvianolic acid B against hydrogen peroxideinduced apoptosis of human umbilical vein endothelial cells and underlying mechanisms[J]. Int J Mol Med,2019, doi:

10. 3892/ijmm. 2019. 4227.

[30] 苏成福,龚曼,韩永光,等. 葛根总黄酮对氧化应激损伤人脐静脉内皮细胞的保护作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2018, 24(23) :159-164.

[31] MA Y, LI W, YIN Y. AST IV inhibits H (2) O (2) - induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis by suppressing Nox4 expression through the TGF-beta1/ Smad2 pathway [J]. Int J Mol Med, 2015, 35 (6) : 1667-1674.

[32] LIU Q, SHI X, TANG L, et al. Salvianolic acid B attenuates experimental pulmonary inflammation by protecting endothelial cells against oxidative stress injury [J]. Eur J Pharmacol, 2018, doi: 10. 1016/j. ejphar. 2018. 09. 030.

[33] LIU B, CAO B, ZHANG D, et al. Salvianolic acid B protects against paraquat-induced pulmonary injury by mediating Nrf2/Nox4 redox balance and TGF-beta1/ Smad3 signaling [J]. Toxicol Appl Pharmacol,2016, 309:111-120.

[34] 张旭,朱元美,唐保露,等. 丹酚酸 B 对糖尿病大鼠肾纤维化的改善作用及其机制[J]. 中国药理学通报, 2019,35(1) :51-55.

[35] Diomede F, Zingariello M, Cavalcanti M, et al. MyD88/ERK/NFkB pathways and pro-inflammatory cytokines release in periodontment stem cells stimulated by Porphyromonas gingivalis [J]. Eur J Histochem, 2017, 61(2) :2791.

[36] MA Z G, XIA H Q, CUI S L, et al. Attenuation of renal ischemic reperfusion injury by salvianolic acid B via suppressing oxidative stress and inflammation through PI3K/Akt signaling pathway[J]. Braz J Med Biol Res, 2017,50(6) :e5954.

[37] YANG K, ZHANG H, LUO Y, et al. Gypenoside XVII prevents atherosclerosis by attenuating endothelial apoptosis and oxidative stress: insight into the eralpha-mediated PI3K/Akt pathway[J]. Int J Mol Sci,2017, 18(2) :E77.

[38] Carlson C G, Dole E, Stefanski C, et al. The effect of specific IKKbeta inhibitors on the cytosolic expression of IkappaB-alpha and the nuclear expression of p65 in dystrophic (MDX) muscle[J]. Am J Transl Res,2015, 7(4) :670-682.

[39] XIA Z B, YUAN Y J, ZHANG Q H, et al. Salvianolic acid B suppresses inflammatory mediator levels by downregulating NF-kappaB in a rat model of rheumatoid arthritis[J]. Med Sci Monit, 2018, doi: 10. 12659/ MSM. 907084.

[40] 赵梦秋,任尤楠,陶善珺,等. 丹酚酸 B 对糖尿病大鼠

血管舒张功能、NF-κB 活化及炎症因子表达的影响

[J]. 中国病理生理杂志,2018, 34(3):481-487.

[41]

WANG S X, HU L M, GAO X M, et al. Anti-inflammatory activity of salvianolic acid B in microglia contributes to its neuroprotective effect[J]. Neurochem Res,2010,35(7):1029-1037.

[42]

XU S, ZHONG A, BU X, et al. Salvianolic acid B inhibits platelets-mediated inflammatory response in vascular endothelial cells [J]. Thromb Res,2015,135(1):137-145.

[43]

Stepkowski T M, Kruszewski M K. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis [J]. Free Radic Biol Med, 2011,50(9):1186-1195.

[44]

张敏,许成辰,徐婷贞,等. 基于 Nrf2/Keap1/p62 信号通路探讨百合固金汤对 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(15):77-82.

[45]

DENG C, SUN Z, TONG G, et al. Alpha-lipoic acid reduces infarct size and preserves cardiac function in rat myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of PI3K/Akt/Nrf2 pathway [J]. PLoS One, 2013,8(3):e58371.

[46]

Suh J H, Shenvi S V, Dixon B M, et al. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004,101(10):3381-3386.

[47]

Smith A R, Hagen T M. Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (*R*)-alpha-lipoic acid[J]. Biochem Soc Trans,2003,31(6):1447-1449.

[48]

CHEN L, LI Y, YIN W, et al. Combination of chlorogenic acid and salvianolic acid B protects against polychlorinated biphenyls-induced oxidative stress through Nrf2 [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2016, doi: 10.1016/j.etap.2016.08.004.

[49]

ZHANG X, WU Q, LU Y, et al. Cerebroprotection by salvianolic acid B after experimental subarachnoid hemorrhage occurs via Nrf2-and SIRT1-dependent pathways [J]. Free Radic Biol Med, 2018, 124: 504-516.

[50]

LIU M, XU H, ZHANG L, et al. Salvianolic acid B

inhibits myofibroblast transdifferentiation in experimental pulmonary fibrosis via the up-regulation of Nrf2 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(1): 325-331.

[51]

ZHANG X S, WU Q, WU L Y, et al. Sirtuin 1 activation protects against early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Cell Death Dis,2016, 7(10):292.

[52]

HUANG M Q, ZHOU C J, ZHANG Y P, et al. Salvianolic acid B ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in db/db mice through the AMPK pathway [J]. Cell Physiol Biochem,2016, 40(5):933-943.

[53]

LIU T Q, LIU S P, YU X F, et al. Salvianolic acid B prevents iodinated contrast media-induced acute renal injury in rats via the PI3K/Akt/Nrf2 pathway[J]. Oxid Med Cell Longev,2016,doi: 10.1155/2016/7079487.

[54]

LV H, WANG L, SHEN J, et al. Salvianolic acid B attenuates apoptosis and inflammation via SIRT1 activation in experimental stroke rats [J]. Brain Res Bull,2015,115:30-36.

[55]

WANG Y, CHEN J, KONG W, et al. Regulation of SIRT3/FOXO1 signaling pathway in rats with non-alcoholic steatohepatitis by salvianolic acid B[J]. Arch Med Res,2017,48(6):506-512.

[56]

陈小青,任翥霏,孔维宗,等. 丹酚酸 B 对非酒精性脂肪性肝病细胞模型氧化应激的影响 [J]. 临床肝胆病杂志,2018,34(10):2175-2181.

[57]

Kleiner D E, Brunt E M, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology,2005, 41(6):1313-1321.

[58]

ZHANG Y F, XU L W, LIANG K, et al. Protective effect of salvianolic acid B against oxidative injury associated with cystine stone formation[J]. Urolithiasis, 2019, 18(10):019-01114.

[59]

LIU Y, HU Y, E Q, et al. Salvianolic acid B inhibits mitochondrial dysfunction by up-regulating mortalin[J]. Sci Rep,2017,doi: 10.1038/srep43097.

[60]

Tibullo D, Li Volti G, Giallongo C, et al. Biochemical and clinical relevance of alpha lipoic acid: antioxidant and anti-inflammatory activity, molecular pathways and therapeutic potential[J]. Inflamm Res,2017,66(11): 947-959.

[责任编辑 周冰冰]

• 234 •