

丹参乙酸镁的心脑血管保护作用及机制研究进展

娄 峥, 综述, 彭 军 审校

(中南大学药学院药理学系, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 丹参乙酸镁; 动脉粥样硬化; 心肌缺血; 脑缺血

[摘 要] 丹参乙酸镁是中药丹参的水溶性提取物中的主要成分, 具有广泛的药理学活性, 包括保护血管内皮、抑制血管平滑肌细胞增殖与迁移、减轻心肌和脑缺血损伤等, 对动脉粥样硬化、心肌缺血和脑缺血等心脑血管疾病具有良好的疗效。丹参乙酸镁的心脑血管保护作用与其抗氧化、抗炎症等药理学作用密切相关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Advance in Research on the Cardiovascular Protective Effects of Magnesium Lithospermate B and the Underlying Mechanisms

LOU Zheng, and PENG Jun

(Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Science, Central South University, Changsha 410078, China)

[KEY WORDS] Magnesium Lithospermate B (Magnesium tanshinolate B or Salvianolic acid B); Atherosclerosis; Myocardial Ischemia; Cerebral Ischemia

[ABSTRACT] Magnesium lithospermate B is the major water-soluble components of *Salvia miltiorrhiza*, a traditional Chinese medicine known as Danshen. Magnesium lithospermate B possesses extensive pharmacological activities, including protective effects on endothelium, inhibition of the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells, reduction of myocardial and cerebral ischemia injury, et al. It has been shown that magnesium lithospermate B exerts satisfactory therapeutic effects on atherosclerosis, myocardial or cerebral ischemia. The beneficial effects of magnesium lithospermate B on cardiovascular system are closely related to its pharmacological actions of anti-oxidation, anti-inflammation and anti-apoptosis.

丹参(*salvia miltiorrhiza*) 为唇形科鼠尾草属植物, 其根入药。在中药理论中常用于祛瘀止痛, 活血通经, 清心除烦, 扩张血管等作用。中药丹参的主要水溶性提取物有丹参乙酸镁(magnesium lithospermate B, salvianolic acid B)、紫草酸(lithospermic acid)、迷迭香酸(rosmarinic acid)及其同系物, 其中丹参乙酸镁占总含量的 80% 以上, 是其主要的药理活性成分之一(图 1)。除了活血、化瘀、通脉等功效外, 丹参乙酸镁还有良好的抗氧化特性。研究表明, 丹参乙酸镁对心血管系统具有良好的保护作用, 如抑制动脉粥样硬化的发生发展、减轻心肌缺血和脑缺血损伤等。

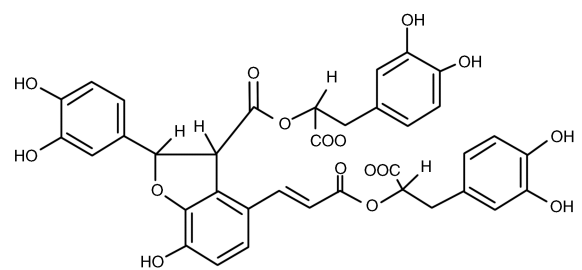


图 1. 丹参乙酸镁的化学结构

Figure 1. The chemical structure of magnesium lithospermate B

1 丹参乙酸镁抗动脉粥样硬化作用

动脉粥样硬化血管病变的特征表现为动脉内膜

[收稿日期] 2013-05-13

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30971194)

[作者简介] 娄峥, 硕士研究生, 主要从事心血管药理学研究, E-mail 为 louzheng_123@163.com。通讯作者彭军, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心脑血管药理学研究, E-mail 为 junpeng@csu.edu.cn or junpeng168@yahoo.com。

的脂质沉积和粥样斑块形成。丹参乙酸镁能够保护高脂饮食、糖尿病、载脂蛋白 E 基因敲除小鼠所引起动脉血管粥样硬化病变,如减少斑块面积、降低胆固醇和脂质沉积等,这些作用涉及抗内皮损伤、抑制血管平滑肌细胞增值与迁移等多种机制^[1, 2]。

1.1 丹参乙酸镁对内皮细胞的保护作用

内皮细胞形态结构和功能完整对维持正常的血管通透性、张力和免疫防御等具有重要生理和病理学意义。多种因素(如高血脂、高血糖、高血压等)可促进血管内皮细胞衰老、凋亡、脱落等,导致血管内皮功能紊乱,促进了动脉粥样硬化的发生发展^[3]。丹参乙酸镁可通过保护血管内皮细胞,发挥抗动脉粥样硬化作用。在不同的病理条件下,丹参乙酸镁可通过不同机制抑制内皮细胞的炎症损伤。在培养的内皮细胞,丹参乙酸镁能抑制 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ) 诱导的炎症反应,其机制与抑制酪氨酸激酶-信号传导及转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT) 信号通路,进而促进 STAT 激动蛋白抑制剂 1 (protein inhibitor of activated STAT-1, PIAS-1) 和细胞因子信号抑制剂 1 (suppressors of cytokine signaling-1, SOCS-1) 的释放有关^[4]; 在脂多糖诱导内皮细胞炎症模型中,丹参乙酸镁可以通过调节血红素加氧酶-1 和精氨酸酶活性进而抑制可诱导型 NO 合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的表达而产生了抗炎作用^[5]; 在低氧诱导的内皮细胞损伤模型,丹参乙酸镁可以抑制细胞内钙离子内流,下调 iNOS 表达,减轻细胞炎症损伤;在人主动脉内皮细胞中,预先给予丹参乙酸镁处理可以有效的降低肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达以及单核细胞黏附,该作用与抑制核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 信号的抗炎作用有关^[6]。

病理条件下,血管内皮通透性升高,是内皮功能紊乱的重要表现。丹参乙酸镁可以通过各种机制降低血管内皮通透性。TNF- α 可以增加内皮通透率,伴随一系列细胞黏附功能的丧失。丹参乙酸镁可以减轻 TNF- α 所诱导的血管内皮钙黏附细胞和 β -连环蛋白等连接蛋白中酪氨酸磷酸化,保护人脐静脉内皮细胞骨架与 β -连环蛋白分离。丹参乙酸镁通过调节促分裂原活化蛋白激酶-细胞外调节蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase-extracellular

regulated protein kinase, MAPK/ERK) 通路来减少血管内皮生长因子蛋白的表达,从而抑制 TNF- α (诱导的内皮细胞通透性和血管内皮钙粘蛋白的分解,此过程还涉及抑制 NF- κ B 和激活蛋白 1 (activator protein-1, ERK/AP-1) 通路,降低纤溶酶原激活物抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) mRNA 和蛋白表达。

丹参乙酸镁具有良好的抗氧化活性,可以减轻内皮细胞的氧化损伤。在高脂动物模型中,丹参乙酸镁能竞争性抑制黄嘌呤氧化酶活性,降低血浆中活性氧(如超氧阴离子,过氧化氢等)水平,抑制低密度脂蛋白氧化,减轻内皮细胞氧化损伤,从而改善动脉粥样硬化症状;在培养的内皮细胞,给予丹参乙酸镁能显著降低活性氧的产生,减轻氧化性低密度脂蛋白诱导的氧化损伤^[7, 8]。

1.2 丹参乙酸镁抑制平滑肌细胞增殖和迁移作用

血管内皮受损将使得血管平滑肌细胞失去内皮的保护作用,在多种因素(如炎症因子、细胞因子、血流剪切力等)的刺激下发生增值与迁移,导致动脉管壁增厚变硬、失去弹性和管腔缩小^[9]。动物和细胞实验均证明,丹参乙酸镁具有抑制平滑肌细胞增殖和迁移作用。在高脂血症动物模型,内皮受损后血管平滑肌细胞的增生可导致血管内膜增生,这一现象可被丹参乙酸镁减轻;在培养的血管平滑肌细胞,丹参乙酸镁可分别抑制血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF-BB)、基质细胞衍生因子(stromal cell -derived factor-1, SDF-1) 和高糖诱导的细胞增殖与迁移,但机制有差别。对于 PDGF-BB 的作用主要通过抑制信号分子磷脂酰肌醇(-3) 激酶(Phosphatidylinositol (-3) kinase, PI3K/Akt) 和 ERK 磷酸化实现,对于 SDF-1 的作用主要与抑制细胞表面趋化因子受体 4 (CXCR4) 的表达及其下游分子有关,而对于高糖的作用则通过诱导核因子红细胞 2 相关因子 2-抗氧化反应元件-NADPH 醌氧化还原酶 1 (Nrf2-ARE-NQO1) 通路来完成^[10, 11]。利用异硫氰酸荧光素标记丹参乙酸镁跟踪其定位,进一步发现丹参乙酸镁可以结合到非肌肉肌球蛋白重链上,进而抑制 PDGF 诱导的平滑肌细胞增殖^[12]。除了直接抑制平滑肌细胞增殖和迁移作用外,丹参乙酸镁的抗氧化和抗炎活性也是其抗平滑肌细胞增殖和迁移的机制之一。例如,在脂多糖诱导的平滑肌迁移,丹参乙酸镁可通过减少前列腺素 E2 产生和 ICAM-1 表达发挥抑制作用,而丹参乙酸镁对抗 TNF- α 促平滑肌细胞的增殖作用则与抑制 NADPH 氧化酶活性,降低活性氧水平有关。

2 丹参乙酸镁抗心肌缺血作用

丹参乙酸镁对缺血心肌的保护作用在不同的动物模型中得到证实:在猪缺血/再灌注损伤模型,给予丹参乙酸镁处理能增加毛细血管的密度和降低心肌梗死面积^[13];在小鼠心肌梗死模型,给予丹参乙酸镁处理,4 周后与对照组比较,心肌肥厚和心功能症状均得到显著改善^[14];在大鼠心肌缺血模型,丹参乙酸镁能明显降低再灌注损伤区域,改善心肌微血管血流量,加强左心室收缩功能。

丹参乙酸镁对缺血心肌的保护作用可通过多条途径实现。死肌梗塞对保护作为传统中药丹参的主要水溶性提取物,丹参乙酸镁不仅保留了活血化瘀的功效,而且还具有良好的抗氧化、抗炎症等特性。因此,丹参多酚酸盐用于抗心肌缺血具有明显的优势。一方面,其活血化瘀功效有助于恢复心肌供血,另一方面,其抗氧化、抗炎症特性则有利于减轻心肌再灌注引起的氧化和炎症损伤。

丹参乙酸镁对缺血心肌的保护作用可通过影响细胞外基质的生成实现。细胞外基质的合成与退化参与了左心室重构常伴有的心脏结构和功能的改变,而细胞外基质的转化受基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)的调节。近年来大量研究表明,丹参乙酸镁可以降低 MMP-9 的活性抑制心肌梗死所致的心肌重构。在心肌梗塞模型中,丹参乙酸镁抑制 MMP-9 mRNA 的表达水平,竞争性的下调 MMP-9 的活性以及降低丙二醛水平,减小梗死面积,增强左心室以及心肌功能,抑制心肌细胞肥大和纤维化^[15,16];在培养的心肌成纤维细胞模型中,丹参乙酸镁可以有效减轻 MMP9 所致的心肌成纤维细胞的增值、迁移,胶原生成,细胞因子(如 ICAM、TNF- α 、IL-6 等)分泌和心肌成纤维细胞与成纤维母细胞之间的转变^[17]。

丹参乙酸镁对缺血心肌的保护作用涉及以下机制:①抗氧化作用。丹参乙酸镁可以降低缺血心肌中丙二醛浓度,增加谷胱甘肽浓度以及超氧化物歧化酶和硫氧还蛋白活性;②抗炎症作用。丹参乙酸镁可以通过抑制炎症因子上游的 TAB1/p38 信号通路,保护心肌缺血所引起的心肌细胞凋亡^[18];③钙拮抗作用。丹参乙酸镁能可逆地抑制心室肌细胞中 L 型钙离子电流,有效降低缺氧所致的环磷酸腺苷相关蛋白激酶活性和钙离子浓度,减轻由于钙超载所致的心肌损伤^[19];④抗凋亡和自噬作用。丹参乙酸镁通过抑制由氧化应激诱导的应激-激活蛋白激酶活性,降低心肌细胞凋亡,也可通过抑制自

噬体的生成降低心肌细胞的自噬作用^[20];⑤抗血小板聚集作用。丹参乙酸镁可以明显降低全血与血浆粘度,增强血液流动性,保护血管痉挛和血小板聚集,增加冠状动脉血流,减低缺血损伤。丹参乙酸的这一作用与抑制血小板胶原蛋白受体 $\alpha 2\beta 1$,进而阻碍血小板与胶原蛋白黏附有关。作为丹参乙酸的靶蛋白, $\alpha 2\beta 1$ 与丹参乙酸镁结合后还可以影响其下游信号通路包括细胞内钙离子水平、细胞骨架关联蛋白(例如冠蛋白 1B)以及血小板骨架结构^[21, 22]。除了上述机制外,丹参乙酸镁还可以通过影响主动脉血管平滑肌细胞、内皮细胞中钙离子浓度,降低血管收缩力,减轻心脏后负荷,对缺血心肌产生间接的保护作用,这种作用涉及钾离子通道、膜稳定性以及 NO 的水平^[23-25]。

3 丹参乙酸镁对脑缺血的保护作用

虽然丹参乙酸镁为丹参的水溶性提取物,有研究表明丹参乙酸镁能通过血脑屏障,降低缺血引起的脑梗死面积和神经元细胞凋亡率,减轻血脑屏障损伤,对脑产生保护作用,从而改善学习、记忆以及运动功能。

丹参乙酸镁对脑的保护作用涉及以下机制:①抗氧化作用。在脑缺血损伤大鼠模型中,给予静脉注射丹参乙酸镁能降低脂质过氧化,清除自由基,改善能量代谢,从而减轻脑缺血/再灌注损伤;②改善局部血液供应。丹参乙酸镁通过与细胞内钠钾 ATP 酶 α 亚单位结合抑制钠钾 ATP 酶,从而促进脑局部血液循环^[26];③抗脑血管内皮损伤。丹参乙酸镁能减轻高剪切应力诱导的脑血管内皮损伤。丹参乙酸镁还具有抗脑部微血管内皮细胞凋亡作用,其机制涉及 PI3K/Akt/Raf/MEK/ERK 途径^[27, 28]。

4 结 语

目前,以丹参乙酸镁为主要成分的注射用丹参多酚酸盐已用于临床,与传统中药丹参相比,丹参多酚酸盐具有成分明确、质量易控、疗效稳定、毒副作用小等优点。丹参多酚酸盐现阶段主要用于治疗心肌缺血。理论上,丹参多酚酸盐也可以用于治疗脑缺血疾病如中风。但是目前对于丹参多酚酸盐透过血脑屏障的机制、透过率等尚缺乏系统的研究,其抗氧化机制也缺乏合理的解释,解决这些问题对于丹参多酚酸盐的推广应用具有重要临床意义。

[参考文献]

- [1] 贾燕珺, 李建军. 小檗碱的抗动脉粥样硬化作用及其机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(4): 364-368.
- [2] 郑 纺, 郭茂娟, 顾立彦, 等. 丹酚酸 B 对高脂高糖联合介导的载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(11): 885-890.
- [3] 吉绍葵, 马琦琳, 罗秀菊, 等. 胰岛素样生长因子-1 对高胆固醇血症患者内皮的保护作用及机制[J]. 中南大学学报医学版, 2013, 38(1): 36-42.
- [4] Chen SC, Lin YL, Huang B, et al. Salvianolic acid B suppresses IFN-gamma-induced JAK/STAT1 activation in endothelial cells[J]. Thromb Res, 2011, 128(6): 560-564.
- [5] Joe Y, Zheng M, Kim HJ, et al. Salvianolic acid B exerts vasoprotective effects through the modulation of heme Oxygenase-1 and arginase activities [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012, 341(3): 850-858.
- [6] Xie LX, Durairajan SS, Lu JH, et al. The effect of salvianolic acid B combined with laminar shear stress on TNF-alpha-stimulated adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2010, 44(4): 245-258.
- [7] Liu X, Chen R, Shang Y, et al. Superoxide radicals scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity of magnesium lithospermate B from *Salvia miltiorrhiza* [J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2009, 24(3): 663-668.
- [8] Yang TL, Lin FY, Chen YH, et al. Salvianolic acid B inhibits low-density lipoprotein oxidation and neointimal hyperplasia in endothelium-denuded hypercholesterolaemic rabbits[J]. J Sci Food Agric, 2011, 91(1): 134-141.
- [9] 张毕奎, 牛盼盼, 李焕德, 等. 内皮祖细胞—抗动脉粥样硬化药物的新靶点 [J]. 中南大学学报医学版, 2013, 38(3): 307-312.
- [10] Pan CH, Chen CW, Sheu MJ, et al. Salvianolic acid B inhibits SDF-1alpha-stimulated cell proliferation and migration of vascular smooth muscle cells by suppressing CXCR4 receptor[J]. Vascu Pharmacol, 2012, 56(1-2): 98-105.
- [11] Hur KY, Kim SH, Choi MA, et al. Protective effects of magnesium lithospermate B against diabetic atherosclerosis via Nrf2-ARE-NQO1 transcriptional pathway [J]. Atherosclerosis, 2010, 211(1): 69-76.
- [12] Cho YH, Lim EY, Kim JM, et al. Nonmuscle myosin heavy chain and histone H3 are intracellular binding partners of lithospermate B and mediate its antiproliferative effect on VSMCs[J]. Curr Med Chem, 2012, 19(11): 1731-737.
- [13] Han B, Zhang X, Zhang Q, et al. Protective effects of salvianolate on microvascular flow in a porcine model of myocardial ischaemia and reperfusion [J]. Arch Cardiovasc Dis, 2011, 104(5): 313-324.
- [14] Pan C, Lou L, Huo Y, et al. Salvianolic acid B and tanshinone IIA attenuate myocardial ischemia injury in mice by NO production through multiple pathways[J]. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2011, 5(2): 99-111.
- [15] Jiang B, Wu W, Li M, et al. Cardioprotection and matrix metalloproteinase-9 regulation of salvianolic acids on myocardial infarction in rats[J]. Planta Med, 2009; 75(12): 1286-292.
- [16] Jiang B, Chen J, Xu L, et al. Salvianolic acid B functioned as a competitive inhibitor of matrix metalloproteinase-9 and efficiently prevented cardiac remodeling [J]. BMC Pharmacol, 2010, 10: 10.
- [17] Wang Y, Xu F, Chen J, et al. Matrix metalloproteinase-9 induces cardiac fibroblast migration, collagen and cytokine secretion; inhibition by salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* [J]. Phytomedicine, 2011, 19(1): 13-19.
- [18] Chang-Sheng Du, Rui-Fang Yang et al. Magnesium Lithospermate B Protects Cardiomyocytes from Ischemic Injury Via Inhibition of TAB1-p38 Apoptosis Signaling [J]. Front Pharmacol, 2010, 1: 111.
- [19] Lu Y, Zheng Y, Liu X, et al. Metabolomic profiles of myocardial ischemia under treatment with salvianolic acid B [J]. Chin Med, 2012, 7(1): 6.
- [20] Han X, Liu JX, Li XZ. Salvianolic acid B inhibits autophagy and protects starving cardiac myocytes [J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(1): 38-44.
- [21] Yang Q, Wang S, Xie Y, et al. Effect of salvianolic Acid B and paeonol on blood lipid metabolism and hemorheology in myocardial ischemia rabbits induced by pituitrin [J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(10): 3696-704.
- [22] Ma C, Yao Y, Yue QX, et al. Differential proteomic analysis of platelets suggested possible signal cascades network in platelets treated with salvianolic acid B [J]. PLoS One, 2011, 6(2): e14692.
- [23] Chen L, Xuan LJ, Wang YP. Effects of magnesium lithospermate B and its analogues on Ca²⁺ homeostasis in cultured rat thoracic aorta vascular smooth muscle cells [J]. Planta Med, 2009, 75(15): 1573-579.
- [24] Zhang H, Zhang J, Zha R, et al. Magnesium lithospermate B decreases [Ca²⁺]_i in endothelial cells by inhibiting K⁺ currents [J]. Eur J Pharmacol, 2011, 650(1): 285-289.
- [25] Zhang HF, Chen XQ, Hu GY, et al. Magnesium lithospermate B dilates mesenteric arteries by activating BKCa currents and contracts arteries by inhibiting KV currents [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(6): 665-670.
- [26] Tzen JT, Jinn TR, Chen YC, et al. Magnesium lithospermate B possesses inhibitory activity on Na⁺, K⁺-ATPase and neuroprotective effects against ischemic stroke [J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 28(5): 609-615.
- [27] Li M, Zhao MQ, Kumar Durairajan SS, et al. Protective effect of tetramethylpyrazine and salvianolic acid B on apoptosis of rat cerebral microvascular endothelial cell under high shear stress [J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2008, 38(3): 177-187.
- [28] Liu CL, Xie LX, Li M, et al. Salvianolic acid B inhibits hydrogen peroxide-induced endothelial cell apoptosis through regulating PI3K/Akt signaling [J]. PLoS One, 2007, 2(12): e1321.

(此文编辑 李小玲)