

【专论与综述】

注射用丹参多酚酸治疗缺血性脑卒中的药理作用及机制研究概述

张燕欣^{1, 2}, 梁佳威³, 万梅绪^{1, 2}, 李智^{1, 2}, 宋美珍^{1, 2}, 苏智刚⁴, 李德坤^{1, 2*}, 鞠爱春^{1, 2*}

1. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

2. 天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室, 天津 300410

3. 中国药科大学 基础医学与临床药学院, 江苏 南京 210009

4. 天津天士力医药商业有限公司, 天津 300410

摘要: 缺血性脑卒中是危害人类健康和生命安全的难治性疾病, 注射用丹参多酚酸主要用于缺血性脑卒中的治疗, 能显著改善神经功能缺损症状, 临床疗效显著且安全性高。近年来围绕注射用丹参多酚酸治疗缺血性脑卒中开展了大量研究, 对其改善脑部循环、保护神经、抗血栓形成、保护血脑屏障和改善脑功能障碍5方面的药理作用及作用机制进行归纳总结, 以期为该制剂的进一步深入研究与开发提供新的思路, 为临床治疗缺血性脑卒中提供理论依据。

关键词: 缺血性脑卒中; 注射用丹参多酚酸; 药理作用; 作用机制

中图分类号: R285.6, R286.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2020) 08-1469-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.08.001

Research outlines on pharmacology and pharmacological mechanism of Salvianolic Acids for Injection in treatment of ischemic stroke

ZHANG Yanxin^{1, 2}, LIANG Jiawei³, WAN Meixu^{1, 2}, LI Zhi^{1, 2}, SONG Meizhen^{1, 2}, SU Zhigang⁴, LI Dekun^{1, 2}, JU Aichun^{1, 2}

1. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

2. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300410, China

3. School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

4. Tianjin Tasly Pharmaceutical Commercial Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Ischemic stroke is a refractory disease that endangers human health and life safety, Salvianolic Acids for Injection (SAFI) was mainly used in ischemic stroke, which can significantly improve the symptoms of neurological deficits, and has significant clinical efficacy and high safety. In recent years, a large number of researches on the efficacy and mechanism of SAFI have been carried out. The pharmacology and pharmacological mechanism of SAFI, such as improving brain circulation, protecting nerves, preventing thrombosis, protecting blood brain barrier, and improving brain dysfunction were summarized, which aimed to provide new ideas for the research and development of SAFI and provide theoretical basis for the clinical treatment of ischemic stroke.

Key words: ischemic stroke; Salvianolic Acids for Injection; pharmacology; pharmacological mechanism

脑卒中是指由于脑部血管突然破裂或血管阻塞, 造成血液循环障碍, 引起脑组织损伤, 是世界范围内导致死亡和严重残疾的重要疾病之一, 分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中^[1]。缺血性脑卒中(又

称脑梗死)占卒中患者总数的60%~70%, 具有高发病率、高致残率、高死亡率和高复发率的特点^[2-3]。缺血性脑卒中是在动脉粥样硬化基础上发生的局部脑组织缺血性坏死, 由于脑动脉具有一定程度的

收稿日期: 2020-03-26

基金项目: 天津市科技重大专项与工程(18ZXXYSY00120)

第一作者: 张燕欣, 女, 工程师, 从事中药注射剂安全性评价、中药药理和药物警戒研究。E-mail: zhangyanxin2013@tasly.com

*通信作者: 李德坤, 男, 高级工程师, 主要从事中药工艺、质量控制、中药药理及药物警戒研究。E-mail: lidekun@tasly.com

鞠爱春, 男, 正高级工程师, 从事中药注射剂工艺及质量控制研究。E-mail: juach@tasly.com

自我代偿功能,因此在长期脑动脉粥样硬化斑块形成中,并无明显的临床表现^[4]。

组织纤溶酶原激活物(tPA)是目前唯一经美国食品药品监督管理局正式批准的用于治疗急性缺血性卒中的有效药物,但由于其仅用于发病后3~4.5 h的狭窄治疗时间窗内的患者,临床应用受到很大限制^[5]。中华医学会神经病学分会《中国急性期缺血性脑卒中诊治指南2018》对急性缺血性脑卒中治疗建议为应用溶栓、抗血小板、抗凝、降纤、扩容等多种措施改善脑循环^[6]。

注射用丹参多酚酸(Salvianolic Acids for Injection, SAFI)为天津天士力之骄药业有限公司于2011年获批的5类新药,是以丹参为原料,以丹参中水溶性酚酸类为有效成分,采用现代工艺制备而成的中药粉针注射剂^[7]。SAFI含有的主要化学成分为丹酚酸类、迷迭香酸、紫草酸、丹参素、原儿茶酸、咖啡酸等,其中酚酸类主要包括丹酚酸A、丹酚酸B、丹酚酸D、丹酚酸和丹酚酸Y等^[8]。相关研究表明丹酚酸B、丹酚酸D、迷迭香酸和紫草酸的含量占SAFI总量的70%以上^[9-10]。SAFI在临床上主要用于缺血性脑卒中,症见半身不遂,口舌歪斜,偏身麻木等症状^[11]。在缺血性脑卒中患者的治疗中能够改善患者神经功能评分,提高患者日常生活能力,极大提高患者的生活质量^[12]。本文对SAFI及其主要成分改善脑循环、保护神经、抗血栓、保护血脑屏障和改善脑功能障碍等5方面的药理作用及作用机制进行综述,为SAFI在临床中治疗缺血性脑卒中的提供理论依据。

1 改善脑部循环

脑局部供血障碍是造成脑梗死的主要原因,改善脑局部供血是防治脑梗死发生的根本,而改善脑局部微循环应是改善脑局部缺血的重要手段^[13]。缺血性脑血管病后脑循环功能与结构的重建、血管再生是脑部神经功能和网络结构重建的重要前提,缺血性脑血管病后的血管重建通过血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)增殖、迁移、分化形成新生血管,从而促进缺血脑组织的血管再生^[14-15]。新生血管增加了脑组织血液灌注,改善缺血区域局部代谢,为受损神经元提供充足的氧气和供血,从而促进神经修复。

SAFI及其有效成分可以增加急性脑梗死患者血管内皮祖细胞EPCs的动员,促进侧支循环的建立,进而改善缺血区供血,降低缺血体积,同时通过降低血管通透性等途径发挥其改善脑部微循环的

药效作用。

1.1 SAFI改善脑部循环

SAFI具有改善脑部微循环,促进血管内皮祖细胞存活及血管新生的作用。唐浩等^[16]采用正置微循环观察系统,观察SAFI给药后,大脑中动脉缺血再灌注模型大鼠软脑膜静脉中过氧化物产生,白细胞黏附及白蛋白渗出情况,结果显示SAFI可减轻大鼠大脑中动脉缺血再灌注引起的脑微循环障碍和神经元损伤。

Tang等^[17]应用大鼠局灶脑缺血-再灌注模型,再灌注前经股静脉注射SAFI 1.67 mg/kg,再灌注24 h后观察白细胞黏附及白细胞渗漏率,评估其神经功能评分、TTC染色和脑水肿等指标,通过蛋白质印迹法检测相关蛋白对其机制进行研究,结果表明SAFI改善脑微循环障碍和神经元损伤的作用机制可能与还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的失活和AMPK/Akt/PKC信号通路的调节相关。有关SAFI对人外周血EPCs的研究结果显示,SAFI孵育EPCs后,EPCs数量增加,24 h后最多为5 mg/L($P<0.01$)。认为SAFI主要通过调节EPCs的增殖、黏附和NO分泌活性,促进血管内皮祖细胞存活及血管新生^[18]。

同时有研究报道SAFI通过激活JAK2/STAT3信号通路调控缺血性脑卒中小鼠的脑血管再生及神经恢复作用^[19]。李耀汝^[20]应用小鼠大脑中动脉栓塞(MCAO)模型,连续给予SAFI治疗14 d,观察其脑缺血后的血管生成情况及作用机制,结果发现SAFI能够调节血管生长因子(VEGF),血管生成素-1(Ang-1)及Ang-2的表达从而调节新血管生成、重塑和成熟,其作用机制可能与JAK2/STAT3通路有关。

1.2 SAFI主要成分改善脑部循环

SAFI多种有效成分均具有改善缺血脑组织供血,降低血管通透性及促血管新生等作用。

有关丹酚酸B促进内皮祖细胞动员和黏附的作用研究表明,100 g/L丹酚酸B可以提高体内内皮祖细胞骨髓动员的效率,促进内皮祖细胞黏附于胶原表面,同时上调基质细胞衍生因子-1(SDF-1)和白细胞介素-8(IL-8)细胞活性因子水平,这些细胞因子可以帮助内皮祖细胞黏附于受损部位并改善组织供血,促进侧支循环的形成^[21]。潘春水等^[22]研究表明丹酚酸B通过抑制血管内皮细胞黏附分子(CAM)、小窝蛋白-1(caveollin-1)、血管内皮细胞钙黏连蛋白(VE-cadherin)的表达和小窝蛋白-1、钙

黏连蛋白的磷酸化等途径,改善脂多糖(LPS)引起的大鼠肠系膜静脉微血管通透性的变化。陈波等^[23]研究表明静脉滴注丹酚酸B 5 mg/(kg·h)前给药和后给药均可明显抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α)介导的软脑膜微静脉通透性升高和白细胞滚动增多。Chen等^[24]比较开颅模型和骨磨模型对脑微循环的影响,分别在肿瘤坏死因子- α (TNF- α)经肝给药前20 min和经肝给药后20 min iv 5 mg/(kg·h)丹酚酸B,结果表明丹酚酸B通过抑制TNF- α 诱导的白细胞的CD11b/CD18、CD62L和血管内皮细胞E-选择素(E-selectin)和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达,降低脑血管的通透性,减少血管源性水肿。

有关丹参众多活性成分研究表明,丹参酮_{IIA}、丹酚酸B、二氢丹参酮I、隐丹参酮均能促进或抑制血管新生。主要体现在在调节VEGF、碱性成纤维生长因子(bFGF)等促血管新生因子、低氧诱导因子- α (HIF- α)、MMPs和PI3K/AKT/eNOS通路等几方面,同时丹酚酸B和丹参酮_{IIA}对血管新生的调节具有双向性^[25]。

李玉娟等^[26]采用鸡胚绒毛尿囊膜模型,研究丹酚酸A对血管新生作用的影响,研究发现5.56、16.67、50 mg/L剂量组丹酚酸A对促进CAM血管生成有明显作用。Li等^[27]利用冠状动脉结扎心肌梗死模型,研究丹酚酸A 10、5、2.5 mg/(kg·d)能促进缺血大鼠心肌新生血管的形成和内皮祖细胞的功能,结果表明丹酚酸A可增强缺血诱导的新生血管形成,这可能与VEGF、血管内皮细胞生长因子受体-2(VEGFR-2)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的形成增加,以及EPCs数量的增加和功能的增强有关。

2 神经保护作用

目前缺血性脑血管疾病严重危害生命健康,其病理生理基础为缺血再灌注损伤。丹参多酚酸是丹参中的主要水溶性成分,包括丹酚酸A、丹酚酸B、丹酚酸D、丹酚酸Y、原儿茶酸、丹参素、咖啡酸、迷迭香酸等化合物^[28]。研究报道丹参水溶性成分具有保护脑组织神经细胞的作用。

2.1 抗炎、抗氧化作用

炎症级联反应是脑梗死缺血再灌注损伤的重要表现,炎症反应释放和聚集的多种炎性介质在缺血再灌注损伤动物模型的神经功能损伤及修复过程中发挥重要作用。脑组织缺血及再灌注过程会产生大量的氧自由基,能直接或间接引起蛋白质、脂质、核酸及生物膜等过氧化,破坏其正常结构和功能,从而引起一系列的病理变化^[29]。大量文献报

道显示SAFI及其有效成分通过抗炎、抗氧化途径发挥对神经细胞的保护作用。

2.1.1 SAFI 具有多种活性成分的SAFI能够明显提高机体中两种超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低丙二醛(MDA)含量,通过清除自由基损伤,提高机体抗氧化损伤的能力,从而发挥脑保护作用^[30-32]。Tang等^[17]研究发现SAFI 1.67 mg/kg治疗卒中的抗氧化活性很可能是通过抑制NADPH氧化酶活性来实现的,其信号通路涉及AMPK/Akt/PKC。史银铃^[33]建立大鼠MCAO模型,分别在术后2、24、48 h腹腔注射SAFI 30 mg/kg,结果发现SAFI对脑缺血的抗炎作用可能是通过上调免疫抑制因子IL-10的含量及下调炎性细胞因子TNF- α 的含量来实现的。

Zhuang等^[34]在体外LPS激活BV-2小胶质细胞损伤以及大鼠MCAO模型研究中发现,静脉注射SAFI 23 mg/kg或46 mg/kg能够抑制活化的小胶质细胞的炎性反应,SAFI通过抑制TLR4-NF- κ B信号通路以减少炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达。

2.1.2 SAFI主要成分 SAFI的多种有效成分均能通过抗炎、抗氧化途径发挥对神经细胞的保护作用。

丹酚酸B可以抑制活化的小胶质细胞介导的神经细胞炎性反应,发挥其对神经细胞的保护作用。有研究表明丹酚酸B 300 mg和丹参酮IIA混合物组与丹参酮IIA组、模型组比较,大鼠皮质区神经细胞坏死较轻,大鼠脑内损伤区周围脑组织炎性因子ICAM-1和MMP-9均显著降低($P < 0.01$),提示神经保护作用与减少炎症因子生成有关^[35]。

Lee等^[36]用小鼠右侧脑室注射 β 淀粉样肽的方法建立了阿尔茨海默病模型,模型建立后给予丹酚酸B连续1周,结果发现10 mg/kg给药组小鼠的记忆功能得到了显著改善,还明显减少了参与炎症反应的小胶质细胞及星形胶质细胞的数目;蛋白质印迹法证明丹酚酸B可以显著减少诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶-2(Cox-2)、硫代巴比妥酸反应物质的生成,促进胆碱乙酰转移酶、脑源性神经营养因子蛋白的生成。

Wang等^[37]用LPS刺激小胶质细胞,结果发现丹酚酸B可以抑制小胶质细胞iNOS mRNA、IL-1 β mRNA和TNF- α mRNA的表达,减少小胶质细胞NO的产生、IL-1 β 的释放和活性氧化物(ROS)的生成。因此,丹酚酸B是通过抗炎及抗氧化作用发挥了对神经细胞的保护作用。

内皮型一氧化氮合酶(eNOS)的解偶联会加重

氧化应激损伤, Mahmood等^[38]发现丹酚酸A能够抑制eNOS的解偶联并且能够抑制过氧亚硝基阴离子(ONOO^-)生成。 ONOO^- 的增加会促进核因子- κB (NF- κB)介导的促炎作用^[39]。Zhang等^[40]建立大鼠MCAO缺血再灌注模型,探讨丹酚酸A对大鼠缺血再灌注损伤的脑保护作用,丹酚酸A静脉注射剂量为5、10、20 mg/kg,结果表明丹酚酸A能够显著减少NF- κB p65的活化($P < 0.001$),降低炎症因子如IL-6、IL-1 β 和TNF- α 的水平,达到抗炎作用。Jiang等^[41]研究表明丹酚酸A可减少缺氧复氧处理后的新生大鼠脑微血管内皮细胞(BMEC)中细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达,减少粒细胞黏附作用,从而发挥脑保护作用。

张秀丽等^[42]通过腹腔注射鱼藤酮1 mg/(kg·d)建立小鼠帕金森模型,之后连续14 d注射原儿茶酸5 mg/(kg·d),研究其对帕金森小鼠脑组织中相关抗氧化酶活性的影响,结果表明原儿茶酸可提高鱼藤酮诱导的帕金森模型小鼠中脑和纹状体中SOD、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)等抗氧化酶的活力,降低MDA的含量,减少自由基的产生,从而起到神经保护作用。

淀粉样蛋白1-40(A β 1-40)是阿尔茨海默病患者脑内老年斑的主要组成部分之一,A β_{25-35} 是A β 1-40的主要有害片段。有研究表明0.25 mg/kg迷迭香酸能抑制A β_{25-35} 导致的海马体中蛋白质的硝化,0.25 mg/kg迷迭香酸能对A β_{25-35} 引起的神经损害有保护作用,这一作用是通过捕获 ONOO^- 而实现的^[43]。

2.2 对神经系统细胞的保护作用

神经系统细胞包括神经细胞(神经元)和神经胶质细胞。星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞均属于中枢神经系统,对神经元支持、营养和保护中发挥着重要作用。脑源性神经营养因子(BDNF)和胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)均属于神经营养因子家族,对神经元的生存、分化及生长起着重要的作用。SAFI及有效成分通过相关信号通路的调节,维持神经元和神经胶质细胞的正常结构,发挥其神经保护的作用。

2.2.1 SAFI 大量研究证实SAFI具有维持神经元和神经胶质细胞的正常结构的作用,并通过多种途径的调节发挥神经保护的作用。

袁庆等^[44]研究发现SAFI处理的小鼠脑胶质细胞C8-D1A培养液中BDNF和GDNF表达均有上升,且10 $\mu\text{g/mL}$ SAFI处理后的胶质细胞培养液可

以明显提高缺氧神经元Neuro-2A细胞的活力($P < 0.05$)。Zhang等^[45]发现C57小鼠通过MCAO卒中后,连续14 d注射SAFI,大脑功能得到显著改善,BDNF和神经生长因子(NGF)大量分泌,促进神经前体细胞(NPCs)增殖以及新生神经元在脑室下区(SVZ)的长期存活。这种神经保护作用可能与Sonic hedgehog(Shh)信号通路的激活有关。

缝隙连接实现了细胞群信息传递、代谢底物交换和离子平衡上的同步化,并且在神经元兴奋性、血管舒缩及内环境稳态的调节中发挥了重要作用。神经系统中占比最大星形胶质细胞也表达以Cx43为主的缝隙连接蛋白^[46]。侯帅^[47]用无糖DMEM/F12培养基、0.1% O_2 和5% CO_2 环境建立了糖氧剥夺的大鼠原代星形胶质细胞模型,8 $\mu\text{g/mL}$ SAFI能够有效起到细胞保护作用;同时,在MCAO大鼠脑梗模型中,10 mg/kg SAFI能够显著上调脑组织中线粒体Cx43的表达($P < 0.05$),证明SAFI对脑组织的保护作用有Cx43的参与。

2.2.2 SAFI主要成分 SAFI的有效成分丹酚酸B、丹酚酸A、原儿茶酸、迷迭香酸和丹参素等通过促进骨髓来源的神经干细胞(BM-NSCs)增殖、调节神经生长因子的释放和分泌以及调节ROS系统等机制,维持神经元和神经胶质细胞的正常结构,发挥神经保护的作用。

Zhang等^[48]采用BrdU免疫组化学法证实丹酚酸B可以促进BM-NSCs增殖,并且有浓度相关性;体外实验研究表明,BDNF可以促进骨髓间充质细胞分化成为神经元样细胞。郭国庆等^[49]研究表明20、40 $\mu\text{g/mL}$ 丹酚酸B对神经干细胞增殖均有促进作用,丹酚酸B促进神经干细胞增殖作用是通过促进Akt磷酸化实现的,P13K/Akt抑制剂(Iy294002)可以抑制这一作用^[50]。石少明等^[51]研究丹酚酸B对大鼠脑缺血再灌注后缺血侧纹状体氨基酸类神经递质的影响,造模第1天开始,分别ip丹酚酸B(1、10 mg/kg),1次/d,连续28 d,结果表明丹酚酸B(1、10 mg/kg)均能降低脑缺血后纹状体谷氨酸、 γ -氨基丁酸水平,保持兴奋-抑制的平衡,进而抑制脑缺血造成的神经元坏死,改善脑缺血损伤。

Zhang等^[40]发现与MCAO模型大鼠相比,丹酚酸A能够维持神经元的正常结构,增加神经元的数量。商洪才^[52]的研究表明丹酚酸A对星形胶质细胞具有明显的保护作用,且在2.5 mg/kg效果较好,说明丹酚酸A可促进神经生长因子的释放,抑制致炎因子的分泌,通过影响星形胶质细胞发挥其神经

保护的作用。

薛小燕^[53]、关水等^[54]研究表明 0.06 mmol/L 原儿茶酸与 1% 胎牛血清联合应用时,能够有效地提高神经元细胞的分化率,促进细胞成熟及轴突伸长;同时还能激活细胞内源性的抗氧化酶系统。李智勇等^[55]用原代培养的新生大鼠脑皮质神经元制备了缺血缺氧细胞模型,分别给予 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 的原儿茶酸干预,结果显示细胞的存活率均升高且呈现浓度相关(均 $P < 0.05$);细胞乳酸脱氢酶(LDH)的泄漏率减少,Notch1 及 NF- κB p65 的表达受到了抑制,这可能是其保护神经元作用的机制之一。

在鱼藤酮处理的 SH-SY5Y 细胞帕金森模型上,贾文婷^[56]研究发现 0.001、10 $\mu\text{mol/L}$ 迷迭香酸预处理可以明显降低鱼藤酮诱导的 ROS 生成,与模型组相比有显著性差异($P < 0.001$);在该预处理条件下,迷迭香酸还能够抑制鱼藤酮诱导的 SOD 表达下降,与模型组相比有统计学意义($P < 0.01$)。

孙超等^[57]用人工无糖培养基、1.5% O_2 和 5% CO_2 环境建立了低氧低糖损伤的人拟神经元细胞(SH-SY5Y)模型,用丹参素干预后,与模型组相比显著降低了细胞内 MDA 的含量以及 LDH 的漏出率,增加了 SOD 的活性,尤以终浓度为 20、10 $\mu\text{g/mL}$ 的丹参素作用最为显著,说明其对低氧低糖损伤 SH-SY5Y 有一定的保护作用。

2.3 抑制细胞凋亡

神经元坏死和凋亡可在脑组织局部缺血区同时并见,细胞凋亡可能出现在脑细胞坏死前,凋亡在整个缺血再灌注过程中有重要意义,涉及一系列基因的激活、表达及调控等作用^[29]。SAFI 及其主要成分均能通过相关信号通路调控细胞凋亡,发挥其神经保护作用。

SAFI 能够通过抑制细胞凋亡来保护缺血缺氧损伤的脑组织。Tang 等^[17]研究表明 SAFI 能显著抑制 Bcl-2/Bax 比值降低和半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)的升高,发挥抑制细胞凋亡的作用,从而减轻脑缺血再灌注造成的损伤。李蒙^[58]研究表明 SAFI 能够降低 MCAO 大鼠脑组织中凋亡相关蛋白 Caspase-2、t-BID、细胞色素 C、Caspase-3 的表达,这种脑损伤改善作用可能与抑制 PIDD 信号通路有关。

丹酚酸 B 可以减少损伤细胞 ROS 的生成;此外,丹酚酸 B 还可以显著降低损伤后神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)细胞膜电位水平,下调 Bax 的表

达,由于对照组、模型组、给药组 bcl-2 的表达均相同,最终使 Bax 与 Bcl-2 的比值减小,提高细胞的存活率;同时丹酚酸 B 还可以显著减少活化 Caspase-3 蛋白的表达,以及细胞色素 C 的释放,丹酚酸 B 通过以上途径对 1-甲基-4-苯基吡啶损伤后的 SH-SY5Y 细胞起到了保护作用^[59]。 β 淀粉样肽(A β)是阿尔梅茨海默病发生时神经元凋亡启动者,可以造成 DNA 损伤,产生凋亡小体,下调 Bcl-2 的表达上调 Bax 的表达,为 Caspase-3 提供了底物,激活 Caspase-3 酶级联反应的发生,产生促进细胞凋亡的作用^[60]。Durairajan 等^[61]用硫磺素 T 荧光免疫法及 A β 聚合免疫法证实,丹酚酸 B 可以抑制 SH-SY5Y 中 A β 1-40 蛋白纤维的聚集,并破坏已经形成的 A β 1-40 蛋白纤维。

Song 等^[62]用糖氧剥夺/复氧建立 SH-SY5Y 细胞缺血再灌注损伤模型,综合蛋白质印迹法、MTT 等实验结果,证明丹酚酸 A 能够通过 Akt 途径激活 FOXO3a 磷酸化,进而抑制 Bcl 样蛋白 11(BIM)和分解的 Caspase-3 表达,调控细胞凋亡,保护缺血再灌注后的神经细胞。

Zeng 等^[59]用 1-甲基-4-苯基吡啶建立细胞损伤模型后,用 MTT 法验证迷迭香酸可以减轻由 H_2O_2 诱导的 SH-SY5Y 的凋亡,其机制与调节 Bcl-x1 和 Bax 这两个基因的表达有关,还与上调血红素氧化酶-1(HO-1)的表达有关,HO-1 为 PKA/PI3K 信号途径相关酶^[63]。PC12 细胞为小鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤,其特点是具有典型的神经细胞特性,广泛用于神经元保护作用等的研究。颜涛等^[64]研究表明迷迭香酸可以抗谷氨酸诱导的 PC12 细胞损伤,100 $\mu\text{mol/L}$ 迷迭香酸预处理 1 h 后,PC12 细胞的凋亡率由 21.11% 降至 3.24%,迷迭香酸可有效改善 PC12 细胞的存活率,这一作用可能与调节 Bcl-x1 和 Bax 这两个与细胞凋亡相关基因的表达有关。李莲^[65]研究表明迷迭香酸具有抗谷氨酸诱导的 PC12 细胞凋亡作用,结果显示 30 $\mu\text{mol/L}$ 迷迭香酸组和 60 $\mu\text{mol/L}$ 迷迭香酸组细胞存活率随迷迭香酸浓度增加明显升高,同时迷迭香酸可以减少 I $\kappa\text{B}\alpha$ 降解,抑制 NF- κB p65 蛋白活化入细胞核,表明迷迭香酸也可能通过抑制 NF- κB 活化发挥神经细胞保护作用。

Lin 等^[66]在 1-甲基-4-苯基吡啶诱导神经毒性的 ICR 小鼠模型和小鼠多巴胺能神经元细胞系(CATH.a)模型上发现,紫草酸能够特异性抑制 1-甲基-4-苯基吡啶诱导的 Caspase-3 和聚腺苷二磷酸

核糖聚合酶(PARP)的活化,从而抑制神经元的凋亡。朱小琴等^[67]研究紫草酸对LPS诱导的H9C2心肌细胞损伤模型的保护作用,脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)染色结果显示紫草酸(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$)能够有效改善心肌细胞的凋亡,蛋白质印迹法结果显示紫草酸能够降低凋亡相关蛋白Caspase-3的表达。

2.4 维持细胞内钙离子稳态及稳定线粒体膜电位

大脑缺血缺氧发生时,细胞内ATP合成减少,尤其在再灌注发生时,大量ROS产生,破坏线粒体结构,加重细胞内ATP的缺乏。李富强等^[68-69]研究发现SAFI能够提高线粒体 Na^+/K^+ -ATP酶、 Ca^{2+} -ATP酶和 Mg^{2+} -ATP酶活性,通过维持线粒体离子平衡,维持线粒体膜稳态而发挥神经保护作用。

丹酚酸B对缺糖缺氧损伤的大鼠皮层神经元有保护作用,这一作用是通过维持细胞内钙离子稳态以及稳定线粒体膜电位而实现的。汪云^[70]研究了丹酚酸B对大鼠皮层神经元缺糖缺氧损伤的影响,结果显示在神经元缺氧缺糖4 h后,丹酚酸B组与模型组相比较细胞活性、存活率均增高;LDH漏出率下降;细胞内钙离子荧光强度、细胞凋亡率下降。

庞鹤等^[71]、张文生等^[72]研究表明丹参素可以抑制缺氧缺糖损伤SH-SY5Y细胞内钙超载的情况,稳定线粒体膜电位,从而抑制细胞凋亡的发生。郭国庆等^[49]研究表明丹参素可以促进胎鼠脑神经干细胞迁移,促进室管膜下神经干细胞向其他脑区迁移。

Zhang等^[73]研究表明丹酚酸A能够增加过氧化氢损伤SH-SY5Y细胞的线粒体膜电位,提高细胞内ATP水平,增强细胞的氧化应激耐受能力。

迷迭香酸对星形胶质细胞也有保护作用,其机制为增加线粒体膜势能和抑制Caspase-3活性^[74]。

3 抗血栓形成

临床上急性脑梗死的抗血栓治疗可以通过限制栓子向缺血半暗带扩展和维持这个区域血流而减少梗死体积,使预后改善,降低病死率和致残率。而血栓的形成与凝血、抗凝和纤溶系统功能有直接的关系,止血、凝血作用时,钙离子起着不可忽视的作用,钙离子是凝血系统中的重要离子,其对内源性、外源性凝血系统和血小板有激活作用,使纤维蛋白原转化为纤维蛋白,使血小板聚集。

3.1 SAFI抗血栓形成

王洁等^[75]通过大鼠右侧颈总动脉和左侧颈外静脉引管实验测定血栓湿质量,研究SAFI对血栓形

成的影响,结果表明SAFI ip给药25、12.5 mg/kg可明显抑制血栓形成。华晓东等^[76]采用生物标志物检测法评价SAFI对血小板活性的影响,结果表明在体内和体外模型中,SAFI可明显抑制血小板上由二磷酸腺苷(ADP)激活的P-选择素(CD62p)高表达,血小板的活化受到抑制。有关SAFI抗脑缺血与抗血栓的关系研究中,测定大鼠中脑动脉闭塞后血浆中6-酮-前列腺素1a(6-keto-PGF1a)、血栓素2(TXB2)和内皮素的含量,结果显示SAFI对6-keto-PGF1a无影响,但可降低TXB2水平,使PGI2/TXA2比值增大,降低血栓形成。SAFI 12.5~25 mg/kg可明显抑制脑缺血致血中内皮素含量的升高,降低血栓形成。上述结果表明SAFI通过抑制了TXA2合成酶和降低缺血后内皮素的升高,发挥抗血栓的功效^[75]。

3.2 丹酚酸A抗血栓形成

杜冠华等^[77]采用体外和体内实验研究丹酚酸A对胶原、ADP、花生四烯酸诱导的血小板聚集功能的影响。结果表明体外给予1 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸A可抑制胶原、ADP和花生四烯酸诱导的血小板聚集;体内给药6 mg/kg丹酚酸A可完全抑制胶原诱导的血小板聚集,10 mg/kg丹酚酸A可显著抑制ADP诱导的血小板聚集。

范华英^[78]体外实验研究表明丹酚酸A对ADP和凝血酶诱导的血小板聚集具有明显抑制作用,而对花生四烯酸诱导的血小板聚集抑制作用相对较弱;体内实验表明,丹酚酸A可在抑制ADP诱导的血小板聚集作用的同时,可显著增加血小板中环-磷酸腺苷(cAMP)含量,说明丹酚酸A抗血栓及抗血小板作用机制可能与升高cAMP含量有关。

丹酚酸A可以有效抑制3羧基磷脂酰肌醇激酶(PI3K)下游分子的磷酸化,而对类固醇受体共激活子家族(Src)和p48的激活却没有影响,说明丹酚酸A通过抑制PI3K途径降低血小板激活和体内动脉血栓的形成^[79]。Liu等^[80]研究结果表明丹酚酸B可通过体外抑制激动剂P2Y12受体和PDE抑制剂,从而抑制血小板激活。

4 血脑屏障保护作用

血脑屏障指在血管和脑之间有一种选择性地阻止某些物质由血进入脑的“屏障”,在维持脑的内环境稳定中发挥重要作用,其严格控制血与脑之间物质的交换,对血液中的物质进入脑内有一定的选择和限制。因此,药物通过血脑屏障进入脑脊液,对脑梗死的治疗将起到积极的作用^[81-82]。韩秀娟

等^[83]通过建立模拟体内血脑屏障模型,从丹酚酸组分中筛选出丹参素、原儿茶酸、咖啡酸、异阿魏酸、紫草酸、迷迭香酸等至少6个成分能够穿越血脑屏障。

4.1 SAFI

Wu等^[84]利用大鼠自发性高血压模型研究SAFI对血脑屏障通透性和大脑微血管周细胞凋亡的影响,结果显示SAFI能够降低大鼠自发高血压模型的血脑屏障通透性,可能与通过激活Ras/Raf/MEK/ERK通路抑制Ang-2诱导的周细胞凋亡相关。SAFI能够通过抗机体自由基氧化损伤,上调SOD的活性,减少MDA含量,从而减少MMP-9的表达,增加紧密连接蛋白和连接蛋白-5的表达量,而减少了紧密连接蛋白的降解,降低血脑屏障的通透性,保护血脑屏障,减轻脑水肿,保护脑组织^[32]。

4.2 丹酚酸B和丹酚酸A

丹酚酸B对脑缺血引起的血脑屏障损伤有保护作用,有关丹酚酸B对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障的影响的作用机制的研究表明,丹酚酸B(1、10 mg/kg)能够明显改善缺血再灌注引起的IgG渗出的增加,抑制MMP-9和(NOS2表达,同时丹酚酸B(1、10 mg/kg)可明显降低p-p38和p-ERK1/2蛋白的含量,因此丹酚酸B通过抑制MMP-9激活和抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路发挥血脑屏障的保护作用^[85]。

有关丹酚酸A减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的机制研究表明,丹酚酸A能够通过减少受损脑区MMP-9的表达和活化,抑制闭锁连接蛋白-1(ZO-1)、紧密连接蛋白和连接蛋白-5的降解,从而维持血脑屏障的完整性^[86]。

刘成娣等^[87]比较阿司匹和丹酚酸A预防给药对脑缺血模型血脑屏障的保护作用,连续5 d分别ig给予0.5%羧甲基纤维素钠,10 mg/kg丹酚酸A和100 mg/kg阿司匹林,结果显示10 mg/kg丹酚酸A能够显著增加紧密连接蛋白的表达,而100 mg/kg阿司匹林无明显作用,说明预防给药对于大鼠自身电凝血栓移位脑缺血模型血脑屏障具有保护作用,且优于阿司匹林预防给药。

Wen等^[40]研究丹酚酸A对大鼠MCAO模型的脑保护作用,采用脑中动脉闭塞法建立局灶性脑缺血再灌注模型于1.5 h再灌注,丹酚酸A静脉注射剂量为5、10和20 mg/kg,可显著降低梗死体积和神经缺陷评分;同时结果显示丹酚酸A通过下调基质金属蛋白酶MMP-9和上调金属蛋白酶抑制剂TIMP-1

的水平,减轻血脑屏障的损伤。

5 改善脑功能障碍

SAFI及主要成分能够促进脑缺血恢复期神经功能的恢复和神经再生,增加海马区域新生神经元数目,改善脑缺血学习记忆功能。

5.1 SAFI

张晔^[88]通过构建实验性缺血小鼠,研究SAFI对神经功能和神经再生的影响,各组小鼠分别于造模后24 h开始ip不同剂量的SAFI(15、30 mg/kg),连续14 d。相关研究表明结果表明延迟性SAFI治疗可显著改善脑缺血小鼠的神经功能,同时可促进梗死侧SVZ区神经前体细胞的增殖、分化、迁移及少突胶质前体细胞的增殖及分化,其机制是通过激活shh信号通路,上调BDNF、NGF的表达从而诱导神经再生。

李琦^[89]通过构建Micro RNA-30e海马过表达模型大鼠,研究SAFI对大鼠学习记忆功能的影响及作用机制,造模2周后SAFI高剂量组和SAFI低剂量组分别尾静脉iv浓度为2.1 mg/mL的SAFI 10 mL/kg,结果表明Micro RNA-30e过表达可能降低了海马局部一致性及与扣带回的功能连接,进而损伤大鼠认知功能,而SAFI可明显提高海马的局部一致性,增强海马与扣带回的功能连接,发挥改善大鼠认知功能的功效。

沈莉^[90]研究显示SAFI 30、60 mg/kg通过保护APP/PS1小鼠海马的组织结构,降低APP/PS1小鼠海马组织淀粉样蛋白的表达,降低炎细胞-小胶质细胞的密度,保护APP/PS1小鼠与记忆相关的海马CA1区神经元细胞,血管内皮细胞的超微结构,从而调节血浆及海马组织代谢物质,进而提高APP/PS1小鼠的学习和记忆能力。

5.2 丹酚酸A和丹酚酸B

丹酚酸对小鼠记忆获得功能障碍具有明显的改善作用,丹酚酸A和丹酚酸B可以提高小鼠的学习成绩,减少训练中的错误次数,延长潜伏期,改善记忆获得功能^[91]。

有关丹酚酸B鼻腔给药对脑缺血损伤大鼠学习记忆能力及神经再生的影响的研究表明,丹酚酸B鼻腔给药可在海马组织有一定的药物分布,可以明显改善脑缺血损伤导致的学习记忆能力,这种作用可能与直接促进海马神经干细胞增殖有关^[92]。丹酚酸B(每天ip丹酚酸B 22.5 mg/kg,连续6周)可能通过清除衰老过程中不断增加的自由基、降低脑组织mtDNA含量,抑制脑组织脂质过氧化反应,延缓

衰老引起的脑组织生理生化功能的改变,从而改善衰老所致学习记忆功能障碍^[93]。

杜冠华等^[94]体内实验表明 10 mg/kg 丹酚酸 A 可以减轻脑缺血再灌注导致的小鼠学习记忆功能障碍状态,并使小鼠脑缺血再灌注后脑组织中脂质过氧化产物 MDA 含量明显降低;体外实验表明 0.1、0.01 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸 A 可以抑制大鼠脑组织匀浆脂质过氧化反应和羟自由基的生成,因此说明丹酚酸 A 可有效清除脑缺血再灌注中的自由基,抑制脑组织脂质过氧化,减轻缺血再灌注引起的脑组织损伤,从而改善脑缺血后形成的学习记忆功能障碍。丹酚酸 A 改善记忆的机制可能与影响脑内单胺类递质和 Ca^{2+} 代谢,调控 cAMP 水平、PKC 活性及蛋白磷酸化,诱导 c-fos 基因的表达有关^[95]。

6 结语

目前针对脑缺血的复杂病理机制,研究开发了大量的化学合成新药,但这些药物的治疗效果并不理想或尚未得到临床循证验证,且部分产品毒副作用大。在缺血性脑卒中或脑梗死的治疗过程中,中医药补充了现代医药的不足,且取得了良好的疗效。中药具有多成分、多靶点的特点,通过多种机制发挥协同作用,在缺血性脑卒中或脑梗死的治疗过程中发挥了更好的疗效^[96]。

SAFI 是由丹参的水溶性酚酸类有效部位制成的冻干粉针,历时二十余年研发和十余年改进工艺倾力打造,根据脑梗死的全病理过程设计研发,应用均匀设计-高通量筛选方法筛选确认,符合抗中风药物的多种要件^[97]。同时 SAFI 的多种有效成分交织成一个网络系统,相互作用和影响,可快速改善脑缺血,全面保护脑神经,明显提升脑梗死患者的生存质量^[11]。

结合近年来的研究成果,本文对 SAFI 及主要成分改善脑部循环、保护神经、抗血栓形成、保护血脑屏障和改善脑功能障碍 5 个方面的药理作用及作用机制进行了归纳总结。其中围绕 SAFI 的保护神经和抑制细胞凋亡机制、抗血栓机制、保护血脑屏障方面均开展了大量实验,并分别明确了其药效和作用机制。但在改善脑部循环和改善脑功能障碍两方面的研究应开展进一步的探索:(1)在改善脑部循环方面,围绕微循环和血管新生开展了部分实验,但其改善侧枝循环的药效及作用机制的资料较少,改善侧枝循环是治疗心脑血管疾病发展的新方向,深入开展其药效及作用机制的研究将有助于 SAFI 的临床的推广;(2)在改善脑功能障碍方面,多

集中于动物实验,其动物模型的选择具有一定的局限性,应结合临床实际情况,选择与临床适应症契合度较高的模型进行机制的深入研究。

本文通过对 SAFI 的药效及作用机制进行综述,以期 SAFI 进一步深入研究开发提供参考,为临床治疗缺血性脑卒中提供理论依据。

参考文献

- [1] Randolph S A. Ischemic stroke [J]. Workplace Health Saf, 2016, 64(9): 444-446.
- [2] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China [J]. Circulation, 2017, 135(8): 759.
- [3] 梁旭玲, 邓莉, 梁泉燕, 等. 多肽类药物防治缺血性脑卒中的研究进展 [J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(3): 446-451.
- [4] Nozohouri S, Sifat A E, Vaidya B, et al. Novel approaches for the delivery of therapeutics in ischemic stroke [J]. Drug Discov Today, 2020, 25(3): 535-551.
- [5] 申青仙, 张赛, 涂悦, 等. 急性缺血性脑卒中的临床治疗研究进展 [J]. 中国医药, 2020, 15(4): 633-636.
- [6] 钟迪, 张舒婷, 吴波. «中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018» 解读 [J]. 中国现代神经疾病杂志, 2019, 19(11): 897-901.
- [7] 周鸿杰, 阎雪莹. 注射用丹参多酚酸研究进展 [J]. 黑龙江科技信息, 2017(11): 73.
- [8] 王雨华, 周学谦, 李德坤, 等. 丹参多酚酸类分析及制备工艺的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(7): 1013-1018.
- [9] 徐静瑶, 刘小琳, 佟玲, 等. 高效液相色谱法测定注射用丹参多酚酸中 6 种水溶性成分的含量 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(14): 1599-1603.
- [10] 薛静, 叶正良, 李德坤, 等. HPLC 同时测定丹参多酚酸中丹酚酸 D、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 70-73.
- [11] 李德坤, 苏志刚, 万梅绪, 等. 注射用丹参多酚酸药理作用及临床应用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(2): 353-361.
- [12] 冯治国, 吕振国, 侯玉立. 丹参多酚酸治疗缺血性脑卒中的系统评价 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(A4): 1-3.
- [13] 马霄, 方晓艳, 王力男, 等. 微循环改善在防治短暂性脑缺血中的地位 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(4): 734-736.
- [14] Hill J M, Zalos G, Halcox J P J, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk [J]. Obstet Gynecol Surv, 2003, 58(7): 467-468.
- [15] Fadini G P, Agostini C, Avogaro A. Endothelial

- progenitor cells in cerebrovascular disease [J]. *Stroke*, 2005, 36(6): 1112-1113.
- [16] 唐浩, 张双彦. 注射用丹参多酚酸对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究 [A]//第十五届中国中西医结合学会微循环专业委员会暨第二届中国微循环学会瘀瘀专业委员会学术会议资料汇编 [C]. 泸州: 2015.
- [17] Tang H, Pan C S, Mao X W, et al. Role of NADPH oxidase in total salvianolic acid injection attenuating ischemia-reperfusion impaired cerebral microcirculation and neurons: implication of AMPK/Akt/PKC [J]. *Microcirculation*, 2014, 21(7): 615-627.
- [18] Yan F D, He S H. GW25-e0544 Effects of salvianolic acid on proliferation, adhesion and NO secretion activity of human peripheral endothelial progenitor cells [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(16): C35.
- [19] Li Y, Zhang X, Cui L, et al. Salvianolic acids enhance cerebral angiogenesis and neurological recovery by activating JAK2/STAT3 signaling pathway after ischemic stroke in mice [J]. *J Neurochem*, 2017, 143(1): 87-99.
- [20] 李耀汝. 注射用丹参多酚酸通过 JAK2/STAT3 信号通路促进脑缺血小鼠血管生成及改善行为功能 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [21] 赵先锋, 徐予. 丹酚酸B促进内皮祖细胞动员和黏附的作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(21): 3352-3357.
- [22] 潘春水, 刘英华, 刘育英, 等. 丹酚酸B后给药对脂多糖引起的大鼠肠系膜静脉微血管通透性变化的作用及机制 [J]. *微循环学杂志*, 2011, 21(2): 85.
- [23] 陈波, 刘育英, 徐想顺, 等. 丹酚酸B对小鼠脑室内注射 TNF- α 导致脑微循环障碍的影响及作用机制 [A]//中国中西医结合学会微循环 2009 学术大会论文摘要 [C]. 杭州: 2009.
- [24] Chen B, Sun K, Liu Y Y, et al. Effect of salvianolic acid B on TNF- α induced cerebral microcirculatory changes in a micro-invasive mouse model [J]. *Chin J Traumatol*, 2016, 19(2): 85-93.
- [25] 庄钦, 毛威. 丹参多种活性成分调节血管新生机制的研究概述 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2014, 38(4): 506-510.
- [26] 李玉娟, 段昌令, 刘建勋, 等. 丹酚酸A对鸡胚绒毛尿囊膜血管新生作用的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(19): 2634-2636.
- [27] Li Y J, Duan C L, Liu J X. Salvianolic acid A promotes the acceleration of neovascularization in the ischemic rat myocardium and the functions of endothelial progenitor cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 218-227.
- [28] Zhou L, Zuo Z, Chow M. Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use [J]. *J Clin Pharmacol*, 2013, 53(8): 787-811.
- [29] 常慧敏, 李常新. 注射用丹参多酚酸治疗急性脑梗死的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2018, 16(2): 183-185.
- [30] 孙瑞坦, 朴翔宇, 蔡鸣, 等. 丹参多酚酸治疗局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠对神经行为及因子水平的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2019, 25(14): 1057-1060.
- [31] 闫莹莹, 王岐鸣, 徐长水. 丹参多酚酸对脑缺血大鼠氧化应激的影响 [J]. *河南医学研究*, 2019, 28(5): 773-776.
- [32] 祝杏园. 注射用丹参多酚酸对急性局灶性脑梗死小鼠血脑屏障的保护作用及机制研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [33] 史银玲. 丹参多酚酸对脑缺血大鼠 TNF- α 、IL-10 表达的影响 [D]. 郑州: 郑州大学, 2015.
- [34] Zhuang P, Wan Y, Geng S, et al. Salvianolic Acids for Injection (SAFI) suppresses inflammatory responses in activated microglia to attenuate brain damage in focal cerebral ischemia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 198: 194-204.
- [35] 赵军伟. 丹参酮IIA及丹参酮IIA/丹酚酸B不同配比对大鼠脑缺血再灌注后 ICAM-1 及 MMP-9 的影响 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [36] Lee Y W, Kim D H, Jeon S J, et al. Neuroprotective effects of salvianolic acid B on an A β_{25-35} peptide-induced mouse model of alzheimer's disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 704(1/3): 70-77.
- [37] 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.
- [38] Mahmood Q, Wang G F, Wu G, et al. Salvianolic acid A inhibits calpain activation and eNOS uncoupling during focal cerebral ischemia in mice [J]. *Phytomedicine*, 2017, 25: 8-14.
- [39] Suofu Y, Clark J, Broderick J, et al. Peroxynitrite decomposition catalyst prevents matrix metalloproteinase activation and neurovascular injury after prolonged cerebral ischemia in rats [J]. *J Neurochem*, 2010, 115(5): 1266-1276.
- [40] Zhang W, Song J, Zhang X, et al. Salvianolic acid A attenuates ischemia reperfusion induced rat brain damage by protecting the blood brain barrier through MMP-9 inhibition and anti-inflammation [J]. *Chin J Nat Med*, 2018, 16(3): 32-41.
- [41] Jiang M, Wang X Y, Zhou W Y, et al. Cerebral protection of salvianolic acid A by the inhibition of granulocyte adherence [J]. *Am J Chin Med*, 2011, 39(1): 111-120.
- [42] 张秀丽, 李亚晨, 牛新华, 等. 原儿茶酸对帕金森模型鼠脑组织抗氧化能力的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(17): 3248-3251.
- [43] Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, et al. A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects

- against impairment of memory induced by $A\beta_{25-35}$ [J]. Behav Brain Res, 2007, 180(2): 139-145.
- [44] 袁庆, 胡利民, 王少峡, 等. 注射用丹参多酚酸对胶质细胞神经营养因子及神经元的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(10): 893-896.
- [45] Zhang Y, Zhang X, Cui L, et al. Salvianolic Acids for Injection (SAFI) promotes functional recovery and neurogenesis via sonic hedgehog pathway after stroke in mice [J]. Neurochem Int, 2017, 110: 38-48.
- [46] Giaume C, Theis M. Pharmacological and genetic approaches to study connexin-mediated channels in glial cells of the central nervous system [J]. Brain Res Rev, 2010, 63(1/2): 160-176.
- [47] 侯帅. 脑缺血再灌注损伤中线粒体缝隙连接蛋白43对神经血管单元的保护作用及丹参多酚酸干预[D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [48] Zhang N, Kang T, Xia Y, et al. Effects of salvianolic acid B on survival, self-renewal and neuronal differentiation of bone marrow derived neural stem cells [J]. Eur J Pharmacology, 2012, 697(1/3): 32-39.
- [49] 郭国庆, 李斌, 王圆圆, 等. 丹酚酸B促进胎鼠大脑皮质神经干细胞增殖、突起生长和分化[J]. 中国科学: 生命科学, 2009, 39(8): 793-802.
- [50] Zhuang P, Zhang Y, Cui G, et al. Direct stimulation of adult neural stem/progenitor cells *in vitro* and neurogenesis *in vivo* by salvianolic acid B [J]. Plos One, 2012, 7(4): 35-36.
- [51] 石少明, 李泽慧, 田书林, 等. 丹酚酸B对脑缺血再灌注损伤大鼠纹状体氨基酸类神经递质的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(8): 535-538.
- [52] 商洪才. 丹酚酸A神经保护效应评价及机制[D]. 天津: 天津中医学院, 2005.
- [53] 薛小燕, 林炼峰, 肖飞, 等. 原儿茶酸对新生大鼠皮质神经元存活及突起生长的影响[J]. 中药材, 2011, 34(4): 567-572.
- [54] 关水, 李海华, 葛丹, 等. 原儿茶酸调节神经干/祖细胞分化的作用研究[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(9): 1218-1223.
- [55] 李智勇, 夏鹰, 陈晓东, 等. 原儿茶酸对缺血缺氧脑损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(15): 3655-3657.
- [56] 贾文婷. 迷迭香酸对鱼藤酮诱导的帕金森病模型的保护作用及机制研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2015.
- [57] 孙超, 甘露, 张梅, 等. 丹参素对低氧低糖损伤神经细胞的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 912-914.
- [58] 李蒙. 注射用丹参多酚酸介导PIDD通路改善大鼠缺血性脑损伤的机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2019.
- [59] Zeng G, Tang T, Wu H-J, et al. Salvianolic acid B protects SH-SY5Y neuroblastoma cells from 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptosis [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(8): 1337-1342.
- [60] 闫秀明, 单可人. $A\beta$ 在AD发病中的作用及中药有效成分对其神经保护作用的研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2010, 27(3): 286-288.
- [61] Durairajan S, Yuan Q, Xie L, et al. Salvianolic acid B inhibits $A\beta$ fibril formation and disaggregates preformed fibrils and protects against $A\beta$ -induced cytotoxicity [J]. Neurochem Int, 2008, 52(4): 741-750.
- [62] Song J, Zhang W, Wang J, et al. Inhibition of FOXO3a/BIM signaling pathway contributes to the protective effect of salvianolic acid A against cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Acta Pharm Sin B, 2019, 9(3): 505-515.
- [63] 周丹, 刘艾林, 杜冠华. 迷迭香酸的药理学研究进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(7): 594-598.
- [64] 颜涛, 严奉祥, 周家茂, 等. 迷迭香酸对谷氨酸诱导的PC12细胞损伤的效应[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(8): 955-959.
- [65] 李莲. 迷迭香酸通过抑制NF- κ B活化对抗谷氨酸诱导PC12细胞凋亡[D]. 衡阳: 南华大学, 2012.
- [66] Lin Y L, Tsay H J, Lai T H, et al. Lithospermic acid attenuates 1-methyl-4-phenylpyridine-induced neurotoxicity by blocking neuronal apoptotic and neuroinflammatory pathways [J]. J Biomed Sci, 2015, 22(1): 37.
- [67] 朱小琴, 华晓芳, 李磊, 等. 紫草酸通过抑制凋亡及磷酸化P65改善脂多糖对H9c2细胞的损伤[J]. 医学研究杂志, 2016, 45(1): 143-146.
- [68] 李富强, 王伟, 冯涛, 等. 注射用丹参多酚酸对大鼠脑缺血再灌注线粒体ATP酶活性的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20(9): 23-26.
- [69] 李富强, 王伟, 尹金鹏, 等. 大鼠脑缺血再灌注后线粒体ATP酶活性、形态学变化及丹参多酚酸的保护作用[J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(3): 238-241.
- [70] 汪芸, 蒋玉凤, 黄启福, 等. 丹酚酸B对大鼠皮层神经元缺糖缺氧损伤的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(3): 180-183.
- [71] 庞鹤, 朱陵群, 张文生, 等. 丹参素对缺氧/缺糖损伤的神经细胞线粒体膜电位和凋亡的影响[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(6): 329-332.
- [72] 张文生, 朱陵群, 张丽慧, 等. 丹参素对缺氧/缺糖损伤神经细胞线粒体的保护作用[J]. 北京中医药大学学报, 2004, 27(3): 53-56.
- [73] Zhang H A, Gao M, Zhang L, et al. Salvianolic acid A protects human SH-SY5Y neuroblastoma cells against H₂O₂-induced injury by increasing stress tolerance ability [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 421(3): 479-483.
- [74] Li W, Pi R, Chan H H N, et al. Novel dimeric acetylcholinesterase inhibitor Bis(7)-tacrine, but not

- donepezil, prevents glutamate-induced neuronal apoptosis by blocking N-methyl-D-aspartate receptors [J]. J Biol Chem, 2005, 280(18): 18179-18188.
- [75] 王洁, 张均田. 总丹酚酸抗脑缺血与抗血栓的关系 [J]. 中国药理学通报, 1999(3): 48-50.
- [76] 华晓东, 税凤春, 徐琳, 等. 生物标志物检测法评价注射用丹参多酚酸对血小板活性的影响 [J]. 中国药品标准, 2019, 20(2): 110-114.
- [77] 杜冠华, 王海港, 宋俊科, 等. 心脑血管的防治策略与丹参及丹酚酸A的作用与机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 648-649.
- [78] 范华英. 丹酚酸A抗血小板及抗血栓作用的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [79] 黄张森. 丹酚酸A通过抑制3-羧基磷脂酰肌醇激酶(PI3K)途径降低血小板激活和动脉血栓形成 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [80] Liu L, Li J, Zhang Y, et al. Salvianolic acid B inhibits platelets as a P2Y₁₂ antagonist and PDE inhibitor: Evidence from clinic to laboratory [J]. Thromb Res, 2014, 134(4): 866-876.
- [81] Pardridge W M. Blood-barrier drug targeting: the future of brain drug development [J]. Mol Interv, 2003, 3(2): 90-105.
- [82] Liu X, Tu M, Kelly R S, et al. Development of a computational approach to predict blood-brain barrier permeability [J]. Drug Metab Disp, 2004, 32(1): 132-139.
- [83] 韩秀娟, 顾俊菲, 刘丹, 等. 基于体外血脑屏障模型的丹酚酸组分活性成分的筛选分析 [J]. 中草药, 2016, 47(20): 3639-3646.
- [84] Wu Q, Yuan X, Li B, et al. Salvianolic acid alleviated blood-brain barrier permeability in spontaneously hypertensive rats by inhibiting apoptosis in pericytes via P53 and the Ras/Raf/MEK/ERK pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 1523-1534.
- [85] Li Q, Han L P, Li Z H, et al. Salvianolic acid B alleviate the disruption of blood-brain barrier in rats after cerebral ischemia-reperfusion by inhibiting MAPK pathway [J]. Acta Pharm Sin, 2010, 45(12): 1485-1490.
- [86] 宋俊科, 杜冠华. 丹酚酸A通过激活Nrf2抗氧化通路同时抑制MMP-9保护血脑屏障共同发挥抗脑缺血再灌注损伤作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(10): 868.
- [87] 刘成娣, 刘楠楠, 孔令雷, 等. 丹酚酸A与阿司匹林预防给药对血脑屏障保护作用的比较 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(10): 864.
- [88] 张晔. 注射用丹参多酚酸对实验性脑缺血小鼠神经功能改善和神经再生的影响及其作用机制的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [89] 李琦. 注射用丹参多酚酸对MicroRNA-30c海马过表达大鼠认知功能及脑功能网络改变的影响 [D]. 太原: 山西医科大学, 2017.
- [90] 沈莉. 丹参多酚酸改善APPswe/PS1dE9双转基因小鼠学习和记忆能力的机制研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- [91] 杜冠华. 丹酚酸药理作用及作用机制 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 1995.
- [92] 鞠爱春, 耿诗涵, 杨欣鹏, 等. 丹酚酸B鼻腔给药对脑缺血损伤大鼠学习记忆能力及神经再生的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2481-2485.
- [93] 高辉, 何玲, 李春艳, 等. 丹酚酸B对衰老小鼠学习、记忆的影响及作用机制研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(19): 294-296.
- [94] 杜冠华, 张均田. 丹酚酸A对小鼠脑缺血再灌注致学习记忆功能障碍的改善作用及作用机制 [J]. 药学报, 1995, 30(3): 184-190.
- [95] 刘雨. 丹酚酸A在抗氧化、细胞内钙调节、信使传递、记忆、c-fos基因表达和艾滋病感染中的作用 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 1993.
- [96] 张艾嘉, 王爽, 王萍, 等. 缺血性脑卒中的病理机制研究进展及中医药防治 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5): 227-240.
- [97] 陈小云. 丹酚酸组分整体药剂学性质的表征及其释药单元的构建 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.