

## · 综述 ·

## 黄芩素调节心肌缺血/缺氧损伤相关信号通路的研究进展

何小燕, 郝春芝, 李逐波\*

西南大学药学院, 重庆 400715

**摘要:** 心肌缺血/缺氧通常会导致心脏结构和功能的损伤, 黄芩素是广泛分布的一种黄酮类物质, 近年研究发现黄芩素能够通过调节细胞信号通路, 干预信号通路中关键信号分子的磷酸化过程, 对缺血/缺氧心脏发挥保护作用。这些信号通路包括磷脂酰肌醇-3-激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶 (PI3K/Akt)、丝裂原活化蛋白激酶家族 (MAPKs) 和核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 等, 及其下游通路蛋白 HMGB1、MMP-2/-9、eNOS 和凋亡蛋白。现就黄芩素与心肌缺血/缺氧相关信号通路的相互作用机制进行综述。

**关键词:** 黄芩素; 心肌保护; 缺血/缺氧; 信号通路; 凋亡蛋白

**中图分类号:** R285      **文献标志码:** A      **文章编号:** 0253-2670(2015)11-1685-07

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.11.024

## Advances in study on baicalein for regulation of signaling pathways in myocardial ischemia/hypoxia

HE Xiao-yan, HAO Chun-zhi, LI Zhu-bo

College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

**Abstract:** Myocardial ischemia/hypoxia often results in damaging the structure and function of heart. Baicalein, a widely distributed flavonoid, has been shown to play an important role in the cardioprotection of ischemia/hypoxia in recent years. The cardioprotection of baicalein was mediated by regulating the cell signaling pathways and controlling the phosphorylation of key signaling molecules. These signaling pathways involved in phosphatidylinositol-3-kinase-serine/threonine kinase (PI3K/Akt), mitogen-activated protein kinase (MAPKs), and nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), and their down signaling proteins HMGB1, MMP-2/-9, and eNOS, and apoptosis proteins as well. The interaction mechanism of baicalein on signaling pathway in myocardial ischemia/hypoxia has been reviewed.

**Key words:** baicalein; cardioprotection; ischemia/hypoxia; signaling pathways; apoptosis proteins

近年来, 随着人们对细胞信号通路 (cell signaling pathways) 的认识逐渐深入, 为发展新的疾病诊断和治疗手段提供了更多的机会, 为新药的筛选和开发提供了靶标, 由此产生了信号转导药物、靶向治疗的概念, 信号转导分子的激动剂和抑制剂是信号转导药物的研究热点。受体将胞外信号 (激素、神经递质、药物、化学诱导剂、光子等) 变为胞内环磷酸腺苷 (cAMP)、环磷酸鸟苷 (cGMP)、 $\text{Ca}^{2+}$  等小分子第 2 信使或使信号转导蛋白分子的水平改变, 信号经胞内级联放大反应, 将信号转入核内或转给转录因子等, 调控细胞活动。这种信号转导的通路至少有 60 种, 各信号通路之间也可相互交

流信号, 相互沟通, 对多种信号汇集、整合、协调, 并在适当时间作出有利于生存的反应<sup>[1]</sup>。

研究表明, 心脏中主要的信号通路为磷脂酰肌醇-3-激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase-serine/threonine kinase, PI3K/Akt)、丝裂原活化蛋白激酶家族 (mitogen-activated protein kinase, MAPKs)、核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 和钙依赖磷酸酶等, 这些信号与心脏细胞的增殖、分化和凋亡, 还与相关细胞因子、炎症介质的表达密切相关。生理状态下, 心脏固有细胞具有多种结构、性质及传递物质各异的信号通路, 这些信号通路相互作用、相互制约、相互协调而构成

收稿日期: 2015-01-14

基金项目: 中央高校基本业务费专项资金资助 (XDJK2014C175)

作者简介: 何小燕 (1981—), 女, 研究方向为天然药物药理活性。Tel: (023)68251036 E-mail: hxy0626@163.com

\*通信作者 李逐波 (1963—), 男, 博士, 教授, 研究方向为天然药物药理活性。Tel: (023)68251036 E-mail: 469893476@qq.com

复杂的信号网络,保证了细胞形态、结构、功能的相对稳定。心肌缺血/缺氧时,外部信号使信号级联反应通路异常,对心肌产生危害,导致线粒体表现损伤、内膜磷脂退变,最终 ATP 耗尽导致心肌细胞死亡和信号凋亡或程序性细胞死亡。这些现象的发生均需通过相应的信号通路将其信号转导至细胞核内,调控核内相应靶基因的转录和表达,最终产生相应的生物学效应<sup>[2]</sup>。

黄芩素 (baicalein) 是从黄芩等中药中提取的天然活性物质,溶于甲醇、乙醇、丙酮、醋酸乙酯及热乙酸,微溶于氯仿,不溶于水,结构见图 1。研究表明黄芩素能够降低大鼠心肌缺血/再灌注损伤<sup>[3]</sup>,显著抑制由缺血/再灌注损伤引起的心律失常<sup>[4]</sup>。据国内外报道,在心肌缺血/缺氧时,黄芩素与相应受体结合后,通过调节细胞信号通路而影响心脏细胞的增殖、分化和凋亡,发挥心肌保护作用。

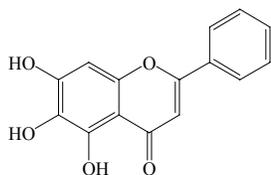


图 1 黄芩素化学结构

Fig. 1 Chemical structure of baicalein

## 1 黄芩素与阿片受体信号通路

阿片受体 (opioid receptors, OR) 为 G 蛋白耦联受体,介导内源性阿片肽及阿片类药物作用的受体,除参与镇痛等作用外,心肌阿片受体激活能产生早期时相和后期时相的心肌保护作用,阿片受体与配体结合激活钙离子流、酪氨酸蛋白激酶和 PI3K/Akt 等信号通路,调节线粒体 ATP 敏感钾通道 (mitoK<sub>ATP</sub>)<sup>[2]</sup>。OR 激动剂能够对抗心肌缺血/再灌注损伤,减少心肌梗死面积和心律失常发生率等<sup>[5-6]</sup>。OR 分为 6 种亚型,其中与心血管功能调节有关的是  $\delta$ 、 $\kappa$  和  $\mu$  3 种。在心脏及外周血管占主导地位的是  $\delta$  和  $\kappa$  亚型,研究显示, $\delta$  受体介导早期和晚期缺血预处理心肌保护,与 mitoK<sub>ATP</sub> 开放相关<sup>[5]</sup>。后处理是通过激活  $\delta$  阿片受体阻止再灌注损伤<sup>[7]</sup>。 $\kappa$  阿片受体选择性激动剂通过激活心脏 OR 能够明显抑制心肌缺血/再灌注导致的梗死和心律失常,而  $\delta$  受体介导梗死,增加心脏对急性缺血/再灌注致心律失常的耐受性<sup>[5,8-9]</sup>。 $\delta$  阿片受体对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的心肌

细胞损伤具有保护作用,机制可能与促抗氧化和细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 磷酸化有关<sup>[10]</sup>。一般认为  $\mu$  阿片受体在心肌细胞膜上并不存在<sup>[5]</sup>,故  $\mu$  阿片受体激动剂介导的预处理作用可能是通过外周及中枢阿片受体而发挥作用的。

Tu 等<sup>[11]</sup>以缺氧-复氧损伤鸡胚胎心肌细胞为体外模型,利用阿片受体拮抗剂、蛋白激酶 C 抑制剂和 mitoK<sub>ATP</sub> 阻滞剂推测信号传导途径。细胞 1 h 缺氧后,在灌注液中加入黄芩素和/或抑制剂,再进行 1 h 复氧,检测细胞存活率和凋亡率以及阿片受体 mRNA 在鸡胚胎心肌细胞中的表达。结果表明黄芩素可呈剂量依赖性减少缺氧/再灌注诱导的心肌细胞死亡和凋亡。非特异性阿片受体拮抗剂 (纳洛酮)、 $\mu$  阿片受体拮抗剂 ( $\beta$ -funaltrexamine)、 $\delta$  阿片受体拮抗剂 (7-benzylidenenaltrexone)、蛋白激酶 C 抑制剂 (H<sub>7</sub> 和 chelerythrine) 和 mitoK<sub>ATP</sub> 阻滞剂 (glibenclamide 和 5-hydroxydecanoate) 能阻止黄芩素 (1  $\mu$ mol/L) 的心肌保护作用。RT-PCR 分析显示在鸡胚胎心肌细胞中出现阿片受体 mRNA。推测  $\mu$ 、 $\delta$  阿片受体而非  $\kappa$  阿片受体以及相关的信号传导途径 (如蛋白激酶 C、mitoK<sub>ATP</sub>) 介导黄芩素心肌保护作用。一般情况下,胞外水溶性信号分子不能直接进入胞内,必须先结合质膜受体如 G 蛋白耦联受体、酶耦联受体等,引起胞内第 2 信使或信号转导分子水平、活性改变,把信号沿级联反应通路转入核内;胞外脂溶性信号分子可迅速、直接进入胞内,结合胞质、胞核受体<sup>[1]</sup>。而黄芩素为脂溶性物质为何还需要结合阿片受体进行信号传导还需要进一步研究探讨。

## 2 黄芩素对心肌缺血/缺氧损伤相关信号通路的作用

黄芩素能够通过调节细胞信号通路,干预信号通路中关键信号分子的磷酸化过程,对缺血/缺氧心脏发挥保护作用。这些信号通路包括 PI3K/Akt、MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 等,及其下游通路蛋白 HMGB1、MMP-2/-9、eNOS 蛋白和凋亡蛋白。

### 2.1 黄芩素与 PI3K/Akt 信号通路

PI3K/Akt 信号通路是心肌细胞内存在的自我保护机制,调节细胞的增殖、分化、凋亡等重要活动,在生命活动中起着重要的作用<sup>[12]</sup>。PI3K 的下游效应物常含 PH 域,能结合 IP<sub>3</sub>、PIP<sub>2</sub>、PDK1/PI3K/IP<sub>3</sub>,可引起 Akt/mTOR、Ras/Raf/MEK/MAPK、PLC $\gamma$ 、STATs、GRP1、Rho、PKC、p70S6K 等下游多种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、信号蛋白磷酸化<sup>[1]</sup>。Akt 是

一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 作为 PI3K 的关键调节蛋白能直接磷酸化多种转录因子, 通过调控这些转录因子可以抑制促凋亡基因表达和促进抗凋亡基因表达, 从而提高心肌细胞的存活率<sup>[13-14]</sup>。目前的研究肯定了这种信号传导通路在心肌缺血损伤中的保护作用<sup>[12,15]</sup>。

近年来, 大量研究证明黄芩素可通过激活 PI3K/Akt 信号通路减轻心肌损伤<sup>[16-18]</sup>。Song 等<sup>[18]</sup>利用大鼠急性缺血/再灌注(I/R)模型和细胞 I/R 模型, 在缺血处理前用不同浓度的黄芩素、黄芩素联合 PI3K 抑制剂(wortmannin)干预 30 min, 检测 caspase-3 活性以及磷酸化 Akt 蛋白的表达水平。结果显示, 与模型组相比, 单用黄芩素抑制细胞凋亡, 磷酸化 Akt 蛋白增加, 而黄芩素与 wortmannin 合用促进细胞凋亡。推测黄芩素心肌保护作用机制与激活 Akt 信号通路相关。Shao 等<sup>[16]</sup>以 I/R 损伤大鼠心肌细胞为模型, 发现黄芩素减轻心肌损伤与 Akt 信号通路相关。Huang 等<sup>[17]</sup>借助体外培养的鸡心肌细胞与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共培养 2 h, 再加入黄芩素共培养 2 h, 检测 Akt 信号通路。结果表明, 黄芩素增加心肌线粒体 Akt Thr308 和 GSK3 $\beta$  Ser9 磷酸化, 阻止线粒体细胞色素 C (Cyt C) 释放。推测黄芩素心肌保护机制与 Akt 信号通路及其下游的 GSK3 $\beta$  信号途径有关。这些研究结果表明 PI3K/Akt 信号通路是黄芩素发挥保护心肌缺血/缺氧损伤的途径之一。

## 2.2 黄芩素与 MAPKs 信号通路

MAPKs 是细胞内信号转导酶家族, 作为活性氧(ROS)的下游信号传导通路, 负责传递与细胞增殖和分化相关的信号<sup>[19]</sup>。MAPKs 中的细胞外信号调节激酶(extracellular-signal regulated protein kinase, ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun amino-terminal kinase, JNK)和 p38 MAPK 等亚族, 是缺血/缺氧损伤最主要的细胞内信号<sup>[18]</sup>。从 I/R 损伤动物模型或 I/R 损伤心肌细胞中分离的 MAPKs 家族, ERK 信号具有保护作用, 而 p38 MAPK 和 JNK 过度的激活不利于心肌保护<sup>[20-21]</sup>。ERK1/2 是主要的再灌注损伤补救酶(reperfusion injury salvage kinase, RISK)通路之一, 能够促进 I/R 心肌细胞的存活<sup>[22]</sup>, 细胞膜上特异性受体受刺激后而激活 ERK, 引起核转录因子、胞浆蛋白以及其他激酶的活化, 从而调控细胞增生和分化。JNK 通路又被称为应激活化蛋白激酶(stress activated protein kinase, SAPK)通路, 有 JNK1、JNK2 和 JNK3

3 个亚型, 主要与细胞分化、凋亡以及炎症反应有关。p38 MAPK 通路参与了细胞生长、分化、凋亡以及炎症反应等, 可被多种刺激所活化, 活化的 p38 MAPK 进入细胞核内, 使核转录调节因子-cAMP 效应元件连接蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)等磷酸化而调节基因转录。p38 MAPK 和 JNK 激活后引发的结果很复杂。有研究报告利用激酶特异性小分子抑制剂或显性负突变体揭示 p38 MAPK 和 JNK 激活促进心肌细胞死亡<sup>[23-25]</sup>。但另有报道显示, 在 I/R 心肌细胞中 JNK 基因激活阻止细胞死亡<sup>[26]</sup>, p38 MAPK 选择性抑制剂对 I/R 损伤大鼠有心肌保护作用, 对猪没有效果<sup>[27]</sup>。

Huang 等<sup>[17]</sup>借助体外培养的鸡心肌细胞, 探讨黄芩素对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞 JNK 通路的影响, 细胞与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共培养 2 h, 再加入黄芩素共培养 2 h, 检测 JNK 磷酸化水平, 结果表明黄芩素减少细胞 JNK 磷酸化水平。Song 等<sup>[18]</sup>利用在体大鼠急性 I/R 模型和细胞 I/R 模型, 在缺血处理前用黄芩素干预 30 min, 分别观察心肌细胞凋亡情况和 MAPKs 通路表达水平。结果显示, 与模型组相比, 黄芩素能抑制细胞凋亡, 降低磷酸化 p38 MAPK 和 JNK1/2 表达水平以及增加磷酸化 ERK1/2 表达水平。推测黄芩素能够通过多种信号途径阻止心肌 I/R 损伤, 其中包括 MAPKs 信号通路。Chen 等<sup>[19]</sup>运用溶血磷脂胆碱(lysophosphatidylcholine, lysoPC)刺激心肌细胞株 H9c2, 加入不同浓度的黄芩素干预 5 min, 研究发现, 黄芩素阻止 lysoPC 诱导的细胞死亡、ROS 的产生和增加细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度, 以及降低磷酸化 ERK1/2、JNK 和 p38 MAPK 表达水平。推测黄芩素保护心肌作用与抑制 MAPKs 信号通路有关。在 Song 等<sup>[18]</sup>和 Chen 等<sup>[19]</sup>的研究中, 黄芩素对 ERK1/2 磷酸化的影响是矛盾的, 可能是因为前者的研究是通过在体模型, 而后者的研究是基于体外模型。

## 2.3 黄芩素与 NF- $\kappa$ B/p65 信号通路

NF- $\kappa$ B 是细胞内重要的核转录因子。其参与机体的炎症反应、免疫应答、细胞凋亡及其应激反应等, NF- $\kappa$ B 信号通路的作用主要由 p65/p50 二聚体等引发。NF- $\kappa$ B/p65 信号通路是调节心脏炎症和损伤的主要途径之一<sup>[18]</sup>。非活化状态的 NF- $\kappa$ B 以与 I $\kappa$ B 聚合的三聚体形式或与前体蛋白聚合的二聚体形式存在于胞浆中。多种因素如炎症因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 (IL-1) 和佛波醇酯(PMA)等]、ROS、B 细胞激活因子等均是

NF- $\kappa$ B 活化的刺激信号, 激活 NF- $\kappa$ B 诱导激酶 (NIK) 或活化途径中的其他激酶, 使 I $\kappa$ B 磷酸化, 再在蛋白水解酶作用下发生降解, 从而使 NF- $\kappa$ B 得以活化而发挥其调控作用<sup>[1]</sup>。NF- $\kappa$ B 还参与了心机的缺血预适应<sup>[28]</sup>, 从而说明 NF- $\kappa$ B 与心肌 I/R 损伤关系密切。

Song 等<sup>[18]</sup>利用大鼠急性 I/R 模型和细胞 I/R 缺血模型, 检测细胞凋亡、磷酸化 NF- $\kappa$ B/p65, 结果发现与模型组相比, 黄芩素组细胞凋亡、p65 阳性细胞和 p65 磷酸化明显减少, 黄芩素组与 NF- $\kappa$ B 抑制剂组 (PDTC) 细胞凋亡情况无明显差异, 表明黄芩素可通过抑制 I/R 心肌细胞中 NF- $\kappa$ B/p65 的激活发挥心肌保护作用, 但缺乏对此信号通路的上下游蛋白表达的研究。

#### 2.4 黄芩素与其他信号通路

心肌缺血/缺氧产生大量的 ROS, 过量的 ROS 损伤线粒体, 过度激活信号通路, 促进心肌细胞凋亡<sup>[1]</sup>。通过直接清除第 2 信使 ROS, 可保护缺血/缺氧致心肌细胞损伤。体内外研究表明, 黄芩素可通过抗氧化作用, 直接清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和氧自由基, 抑制氧化应激诱导的细胞损伤, 减轻线粒体膜氧化损伤, 发挥心肌缺血/缺氧保护作用<sup>[29-32]</sup>。

心肌缺血/缺氧时, NO 可作为第 2 信使, 通过产生活性氮 (RNS) 等对 DNA、蛋白质产生损伤。内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) /诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 共同调节心血管内的 NO 水平, eNOS 产生的生理性 NO, 减轻 Ca<sup>2+</sup>超载及前负荷, 保护缺血的心脏。Tan 等<sup>[33]</sup>发现黄芩素能增加冠状动脉结扎缺血模型大鼠心肌中 eNOS 蛋白水平和 NO 的量, eNOS 抑制剂 (L-NAME) 能够抑制黄芩素的心肌保护活性, 表明黄芩素可能通过 eNOS 途径特异性保护心肌。黄芩素通过激活 eNOS 产生生理性 NO, 激活雷帕霉素 (mTOR) 及其下游的 p70S6K, 最终作用于线粒体和钾离子通道, 减少线粒体通透转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 开放和增加 mitoK<sub>ATP</sub> 开放, 进而发挥心肌保护作用<sup>[34-36]</sup>。Chang 等<sup>[37]</sup>用鸡心肌 I/R 模型研究黄芩素心肌保护作用, 证实了黄芩素减轻心肌损伤的作用是由 mitoK<sub>ATP</sub> 和阴离子通道介导。

心肌缺血/缺氧与凋亡信号通路密切相关, 目前凋亡信号通路至少有 5 种, 涉及的凋亡蛋白或抗凋亡蛋白主要有 caspase 家族、Bcl-2 家族和 Bax 等。研究表明, 黄芩素能够降低促凋亡蛋白 Bax 和增加

抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达, 减少 lysoPC-诱导的 caspase-3 和 caspase 9 表达<sup>[19]</sup>。PI3K/Akt 和 MAPKs 可传递凋亡信号, 诱导下游促凋亡因子或抗凋亡因子, 黄芩素通过哪些途径调节抗凋亡蛋白尚未清楚。

#### 2.5 黄芩素对信号通路间的 cross-talk

黄芩素对心肌缺血/缺氧损伤的保护涉及多种信号通路 (图 2), 主要包括 PI3K/Akt、MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 等。黄芩素通过调节心脏中这些细胞信号通路的转导途径, 尤其是干预信号通路中关键信号分子的磷酸化过程, 从而调控靶基因的转录、表达以及相应的生物学效应。黄芩素干预信号通路的大多数研究是针对单个信号通路的某个信号分子, 而围绕信号通路上、下游以及通路之间交叉和对话 (cross-talk) 研究非常欠缺。心脏中的信号通路并不是独立存在的 (图 3)<sup>[38]</sup>, 因此推测黄芩素对心肌缺血/缺氧损伤保护可能是各个信号通路共同作用的结果: 黄芩素与阿片受体结合后, 激活 PI3K/Akt, 磷酸化 Akt 促使 eNOS 活化释放少量生理性 NO 激活 ERK1/2, 促进 I/R 心肌细胞的存活, 同时 Akt 磷酸化还能够促使 I $\kappa$ B $\alpha$  (一种 NF- $\kappa$ B 的阻遏蛋白) 结合 NF- $\kappa$ B/p65 复合物减少, 减轻心肌损伤; 心肌细胞中下游信号通路蛋白 HMGB1、MMP-2/-9、eNOS 和凋亡蛋白表达受到黄芩素影响<sup>[19,33,39]</sup>, 这些蛋白信号与 PI3K/Akt、MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 等密切相关。

#### 3 黄芩素的药动学行为与心肌保护作用的关系

口服黄芩素在体内主要被转化为黄芩苷, 通过测定其主要代谢产物黄芩苷研究黄芩素的药动学行为。大鼠体内黄芩苷的血药浓度-时间曲线均存在双峰现象, 口服黄芩素后, 在肠内直接被吸收, 在小肠黏膜及肝脏被葡萄糖醛酸化, 形成代谢产物黄芩苷的第 1 个血药浓度高峰; 血中黄芩苷经肝肠循环, 在肠内被微生物酶解形成黄芩素后被吸收, 再次发生葡萄糖醛酸化, 形成黄芩苷的第 2 个血药浓度高峰。大鼠 ig 黄芩素 20 mg/kg 检测到黄芩苷的  $t_{max}$  为 1 和 9 h,  $C_{max, 1h} = 3.74 \mu\text{g/mL}$ ,  $C_{max, 9h} = 2.18 \mu\text{g/mL}$ ,  $AUC_{0-24h} = 30.44 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ; ig 黄芩素 100 mg/kg 检测到黄芩苷的  $t_{max}$  为 1 和 13 h,  $C_{max, 1h} = 15.32 \mu\text{g/mL}$ ,  $C_{max, 13h} = 6.76 \mu\text{g/mL}$ ,  $AUC_{0-24h} = 123.77 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ <sup>[40]</sup>。研究表明黄芩素代谢物黄芩苷也能够通过 MAPKs 途径发挥心肌损伤保护作用<sup>[41]</sup>。口服黄芩素比黄芩苷的达峰浓度高、生物利用度高<sup>[42]</sup>。

尾静脉注射黄芩素 (18 mg/kg) 在 1~3 min 内快速分配到各脏器组织中, 组织样品中未发现代谢

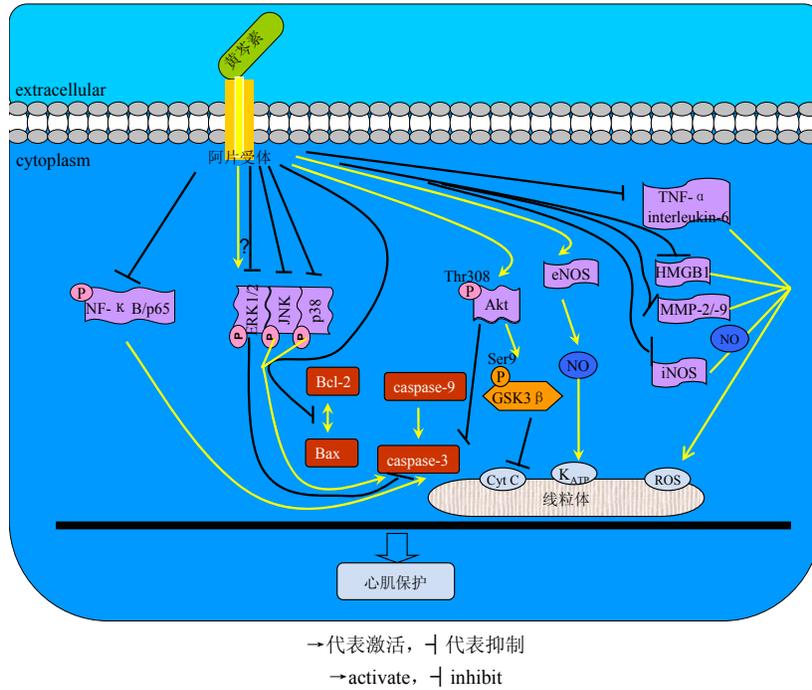


图 2 黄芩素对心肌缺血/缺氧保护的信号通路

Fig. 2 Signal pathways for protection of baicalein on cardiomyocytes with ischemia/hypoxia

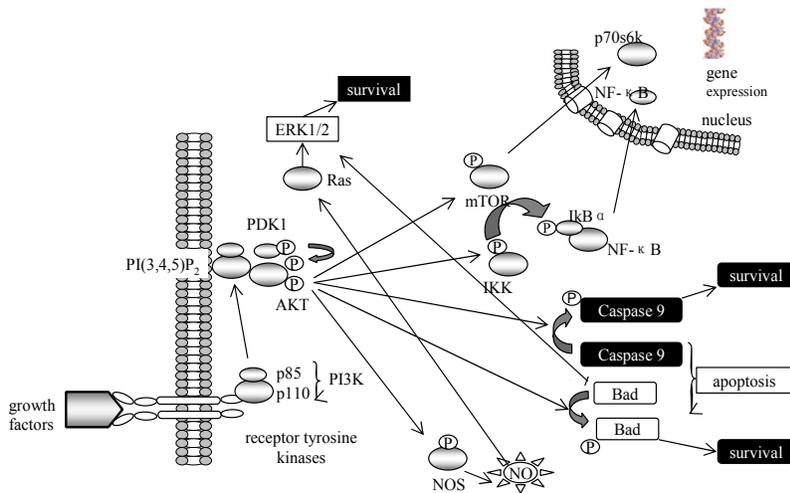


图 3 心肌细胞信号传导通路

Fig. 3 Signal transduction pathways in cardiomyocytes

物黄芩苷，黄芩素在心脏中的分布浓度仅次于肝脏和肺部， $C_{max}$  在  $2\sim 3\ \mu\text{g/g}$ <sup>[43]</sup>，表明黄芩素能够在心脏中发挥作用。在 I/R 手术结扎前 iv 黄芩素 30 mg/kg 能通过多种信号途径发挥心肌保护作用<sup>[18]</sup>，表明黄芩素在心肌中的  $C_{max}$  应大于  $2\sim 3\ \mu\text{g/g}$ 。

#### 4 展望

黄芩素对 OR、PI3K/Akt、MAPKs 和 NF-κB/p65 信号通路广泛存在于各种细胞内，证明黄芩素对心肌缺血/缺氧损伤保护的特异性，需进一步检测这些

信号通路蛋白与心肌缺血/缺氧损伤特异心肌标志物（如肌钙蛋白 I、肌钙蛋白 T、CK-MB 等）以及心肌损伤面积之间的线性关系和相关系数。

黄芩素是一种黄酮类化合物，长期服用黄酮类化合物能够通过释放生理性 NO 降低血压，以保持高血压动物血管内皮功能<sup>[44]</sup>，有利于减轻心肌缺血损伤。Psotova 等<sup>[45]</sup>研究黄酮类化合物对阿霉素诱导的大鼠心肌细胞氧化应激模型的抗脂质过氧化和细胞保护作用，结果显示黄芩素的心肌细胞保护作用

用最强。黄芩素对心肌缺血/缺氧损伤保护信号通路构效关系值得深入探讨。

黄芩素结构中含有3个羟基,羟基在体外容易被氧化破坏,在体内也很快被氧化代谢。可将羟基进行酯化修饰,即可保护羟基不被氧化,还可以改善其药动学性质,延长半衰期。黄芩素的水溶性较差,将其与无机酸(如磷酸)形成黄芩素单磷酸酯钠盐,或将黄芩素和二元羧酸(如琥珀酸)形成黄芩素单琥珀酯钠盐,从而增加其水溶性。本课题组曾对黄芩素的代谢物黄芩苷进行结构修饰,合成了黄芩苷的酮、铝配合物,证明了黄芩苷金属配合物比黄芩苷具有更强的抗肿瘤活性<sup>[46]</sup>。贾朝霞等<sup>[47]</sup>研究表明黄芩苷金属配合物有较强的超氧化物歧化酶(SOD)样作用,这与其保护心肌缺血/缺氧损伤密切相关。黄芩素结构中的羟基或羰基等基团与金属离子具有较强的螯合作用,可合成黄芩素金属配合物提高其生物活性。

#### 参考文献

- [1] 余元勋, 鲍远程, 王爱玲, 等. 中国疾病信号通路靶向治疗学 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2013.
- [2] Marin-Garcia J. *Cardioprotection and Signaling Pathways* [M]. New York: Springer, 2011.
- [3] Huang X H, Ye H Y, He F X, *et al.* Protective effect of baicalein against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Acta Pharm Sin*, 2013, 34(Suppl): 64.
- [4] Haworth R A, Potter K T, Russell D C. Role of arachidonic acid, lipoxygenase, and mitochondrial depolarization in reperfusion arrhythmias [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(1): 165-174.
- [5] Dragasis S, Bassiakou E, Iacovidou N, *et al.* The role of opioid receptor agonists in ischemic preconditioning [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 720(1/3): 401-408.
- [6] Shan Y, Sun S, Yang X, *et al.* Opioid receptor agonist reduces myocardial ischemic injury when administered during early phase of myocardial ischemia [J]. *Resuscitation*, 2010, 81(6): 761-765.
- [7] Jang Y G, Xi J K, Wang H H, *et al.* Postconditioning prevents reperfusion injury by activating delta-opioid receptors [J]. *Anesthesiology*, 2008, 108(2): 243-250.
- [8] Solenkova N V, Maslov L N, Budankova E V, *et al.* Comparative study of the antiarrhythmic activity of mu- and delta-opioid receptor agonists during acute cardiac ischemia and reperfusion models in rats [J]. *Eksp Klin Farmakol*, 2005, 68(6): 25-29.
- [9] Fan R, Zhang P, Ye M X, *et al.* Myocardial apoptosis and infarction after ischemia/reperfusion are attenuated by kappa-opioid receptor agonist [J]. *Arch Med Res*, 2009, 40(4): 227-234.
- [10] 李 炯, 王忠彦, 于 敏.  $\delta$  阿片受体激活对过氧化氢损伤的心肌细胞的保护作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2009, 23(6): 431-435.
- [11] Tu I H, Yen H T D, Cheng H W, *et al.* Baicalein protects chicken embryonic cardiomyocyte against hypoxia-reoxygenation injury via mu- and delta-but not kappa-opioid receptor signaling [J]. *Eur J Pharm*, 2008, 588(2/3): 251-258.
- [12] Wang Y, Zhang Z Z, Wu Y, *et al.* Quercetin postconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through the PI3K/Akt pathway [J]. *Brazilian J Med Biol Res*, 2013, 46(10): 861-867.
- [13] Armstrong S C. Protein kinase activation and myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 427-436.
- [14] Baines C P, Molkentin J D. Stress signaling pathways that modulate cardiac myocyte apoptosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 38(1): 47-62.
- [15] Mullonkal C J, Toledo-Pereyra L H. Akt in ischemia and reperfusion [J]. *J Invest Surg*, 2007, 20(3): 195-203.
- [16] Shao Z H, Li J, Sharp W W, *et al.* Baicalein preconditioning protects murine cardiomyocytes from ischemia/reperfusion injury via mitochondrial oxidant and Akt signaling [J]. *Circulation*, 2009, 120(18): 1468.
- [17] Huang H H, Shao Z H, Li C Q, *et al.* Baicalein protects cardiomyocytes against mitochondrial oxidant injury associated with JNK inhibition and mitochondrial Akt activation [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(1): 79-94.
- [18] Song L, Yang H, Wang H X, *et al.* Inhibition of 12/15 lipoxygenase by baicalein reduces myocardial ischemia/reperfusion injury via modulation of multiple signaling pathways [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(4): 567-580.
- [19] Chen H M, Hsu J H, Liou S F, *et al.* Baicalein, an active component of *Scutellaria baicalensis* Georgi, prevents lysophosphatidylcholine-induced cardiac injury by reducing reactive oxygen species production, calcium overload and apoptosis via MAPK pathways [J]. *Bmc Compl Alternat Med*, 2014, 14: 233.
- [20] Rose B A, Force T, Wang Y B. Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale [J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(4): 1507-1546.
- [21] Hausenloy D J, Yellon D M. Reperfusion injury salvage kinase signalling: Taking a RISK for cardioprotection [J]. *Heart Fail Rev*, 2007, 12(3/4): 217-234.
- [22] Kim S J, Li M, Jeong C W, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate, a green tea catechin, protects the heart against regional ischemia-reperfusion injuries through activation of RISK survival pathways in rats [J]. *Archiv Pharm Res*, 2014, 37(8): 1079-1085.
- [23] Ferrandi C, Ballerio R, Gaillard P, *et al.* Inhibition of c-Jun N-terminal kinase decreases cardiomyocyte

- apoptosis and infarct size after myocardial ischemia and reperfusion in anaesthetized rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2004, 142(6): 953-960.
- [24] Kwon S, Pimentel D, Remondino A, et al. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> regulates cardiac myocyte phenotype via concentration-dependent activation of distinct kinase pathways [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, 35(6): 615-621.
- [25] Ma X L, Kumar S, Gao F, et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase decreases cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function after myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Circulation*, 1999, 99(13): 1685-1691.
- [26] Kaiser R A, Liang Q, Bueno O, et al. Genetic inhibition or activation of JNK1/2 protects the myocardium from ischemia-reperfusion-induced cell death *in vivo* [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(38): 32602-32608.
- [27] Kaiser R A, Lyons J M, Duffy J Y, et al. Inhibition of p38 reduces myocardial infarction injury in the mouse but not pig after ischemia-reperfusion [J]. *Am J Physiol-Heart Circulat Physiol*, 2005, 289(6): 2747-2751.
- [28] Maulik N, Sato M, Price B D, et al. An essential role of NF kappa B in tyrosine kinase signaling of p38 MAP kinase regulation of myocardial adaptation to ischemia [J]. *Febs Lett*, 1998, 429(3): 365-369.
- [29] Kang K A, Zhang R, Piao M J, et al. Baicalein inhibits oxidative stress-induced cellular damage via antioxidant effects [J]. *Toxicol Ind Health*, 2012, 28(5): 412-421.
- [30] Peng J, Xu W J, He B X, et al. Effects of baicalein on rat myocardial ischemia and neonatal cardiomyocyte injury [J]. *Chin J Nat Med*, 2011, 9(2): 132-140.
- [31] Adhikari S, Tilak J C, Devasagayam T P A. Free radical reactions of a naturally occurring flavone baicalein and possible mechanisms towards its membrane protective properties [J]. *Indian J Biochem Biophysic*, 2011, 48(4): 275-282.
- [32] Shao Z H, Vanden Hoek T L, Qin Y M, et al. Baicalein attenuates oxidant stress in cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol-Heart Circulatory Physiol*, 2002, 282(3): 999-1006.
- [33] Tan S, Zhu S, Luo Y. Baicalein pretreatment confers cardioprotection against acute myocardial infarction by activating the endothelial nitric oxide synthase signaling pathway and inhibiting oxidative stress [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(6): 2429-2434.
- [34] Irie H, Gao J, Gaudette G R, et al. Both metabolic inhibition and mitochondrial KATP channel opening are myoprotective and initiate a compensatory sarcolemmal outward membrane current [J]. *Circulation*, 2003, 108(Suppl): 341-347.
- [35] Gao Q, Pan H Y, Qiu S, et al. Atractyloside and 5-hydroxydecanoate block the protective effect of puerarin in isolated rat heart [J]. *Life Sci*, 2006, 79(3): 217-224.
- [36] Xu T, Li D, Jiang D. Targeting cell signaling and apoptotic pathways by luteolin: cardioprotective role in rat cardiomyocytes following ischemia/reperfusion [J]. *Nutrients*, 2012, 4(12): 2008-2019.
- [37] Chang W T, Li J, Vanden Hoek M S, et al. Baicalein preconditioning protects cardiomyocytes from ischemia-reperfusion injury via mitochondrial oxidant signaling [J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(2): 315-331.
- [38] Lopez-Neblina F, Toledo-Pereyra L H. Phosphoregulation of signal transduction pathways in ischemia and reperfusion [J]. *J Surg Res*, 2006, 134(2): 292-299.
- [39] Chen H M, Liou S F, Hsu J H, et al. Baicalein inhibits HMGB1 release and MMP-2/-9 expression in lipopolysaccharide-induced cardiac hypertrophy [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(4): 785-797.
- [40] 车庆明, 杨琳, 陈颖, 等. 不同剂量黄芩素在大鼠体内的药动学差异 [J]. *中国新药杂志*, 2007, 16(8): 604-606.
- [41] Liu X, Gu J, Fan Y, et al. Baicalin attenuates acute myocardial infarction of rats via mediating the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(6): 988-994.
- [42] 郭晓宇, 杨琳, 陈颖, 等. 黄芩苷与黄芩素的大鼠体内药物动力学比较研究 [A] // 2006 第六届中国药学会学术年会论文集 [C]. 广州: 中国药学会, 2006.
- [43] 赵振宇, 董武军, 刘玉玲. 黄芩素在小鼠体内的药动学及其组织分布研究 [J]. *中国医药工业杂志*, 2009, 40(9): 687-690.
- [44] Machha A, Mustafa M R. Chronic treatment with flavonoids prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rat aorta [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46(1): 36-40.
- [45] Psotova J, Chlopickova S, Miketova P, et al. Chemoprotective effect of plant phenolics against anthracycline-induced toxicity on rat cardiomyocytes. Part III. Apigenin, baicalein, kaempferol, luteolin and quercetin [J]. *Phytother Res*, 2004, 18(7): 516-521.
- [46] 刘衍季, 何小燕, 刘晓华, 等. 黄芩苷铜和铝配合物的合成及其生物活性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(9): 1296-1302.
- [47] 贾朝霞, 吴祺. 铜(II)-黄芩甙配合物的合成及其对超氧负离子歧化活性研究 [J]. *无机化学学报*, 1990, 6(1): 106-108.