

环黄芪醇抗衰老药理作用的研究进展

张阳焕 袁洋 孙曼婷 刘静*

(昆明理工大学医学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500)

摘要 中国已经进入老龄化社会, 延缓衰老、防治衰老相关疾病成为人们的迫切需求, 因此寻求高效的抗衰老药物成为了热点。目前, 衰老机制中较有影响力的是端粒学说, 该学说认为激活端粒酶延长端粒, 可以延长寿命。而环黄芪醇是近年来发现的一种可以激活端粒酶的天然药物, 并且环黄芪醇对骨质疏松、心血管疾病、阿尔茨海默病、脑卒中等衰老相关疾病进程具有一定延缓作用。因此, 该文将对环黄芪醇的抗衰老作用的研究进展进行综述, 为进一步研究环黄芪醇抗衰老作用的药理机制提供参考。

关键词 环黄芪醇; 抗衰老; 药理作用; 衰老相关疾病

Research Progress of Anti-Aging Pharmacological Effect of Cycloastragalol

ZHANG Yanghuan, YUAN Yang, SUN Manting, LIU Jing*

(Laboratory of Molecular Genetics of Aging and Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract Owing to aging of population, people hope to delay and prevent senility and other related diseases. Therefore, the development of efficient anti-aging drugs has become a hot spot. Telomerase theory, the most influential mechanism of senility, believes that activating telomerase can lengthen telomeres and prolong life. Cycloastragalol is a natural drug that can activate telomerase, and has a certain delayed effect on the progression of osteoporosis, cardiovascular disease, Alzheimer's disease, stroke and other age-related diseases. Therefore, this paper will review the research progress of the anti-aging effect of Cycloastragalol, hoping to provide reference for the further study of the pharmacological mechanism of the anti-aging effect of Cycloastragalol.

Keywords Cycloastragalol; anti-aging; pharmacologic effect; aging-related diseases

随着社会的发展以及人们的生活水平的提高, 我国的人口平均寿命延长, 并已经开始迈入人口老龄化阶段。当机体逐渐衰老且各种生理功能发生紊乱时, 许多慢性疾病就会成为机体健康的危险因素。疾病的发生会给人们的家庭及社会带来极大的负担。因此, 预防衰老相关疾病、健康的“衰老”成为人们关注的焦点。

端粒学说是目前衰老机制中较有影响力的学说

之一^[1-2], 而环黄芪醇(Cycloastragenol, CAG)是一种从黄芪甲苷中提取的可激活端粒酶的天然药物^[3-4]。因而CAG成为抗衰老药物研究的热点。尤其近年来对CAG药理作用更加深入的研究发现, CAG的药理作用包括激活端粒酶、抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肺纤维化、抗缺血缺氧损伤、抗脂质蓄积、促进伤口愈合等^[5-12]。CAG广泛的药理作用引发了人们对CAG药理机制的深入研究。本文将就衰老和衰老相

收稿日期: 2021-03-13

接受日期: 2021-06-30

国家自然科学基金地区项目(批准号: 82060660)和云南省基础研究计划面上项目(批准号: 202101AT070086)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65920753, E-mail: jingliu1437@163.com

Received: March 13, 2021

Accepted: June 30, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82060660) and the Yunnan Fundamental Research Project (Grant No.202101AT070086)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65920753, E-mail: jingliu1437@163.com

关疾病为切入点,对CAG抗衰老作用机制和其在衰老相关疾病中应用的研究近况进行综述。

1 衰老和衰老相关疾病

1.1 衰老的定义和九大标志

人类机体衰老目前被定义为一个动态的过程,包括从出生到死亡的过程中身体内外部损伤的持续积累及适应刺激的过程。这个过程伴随着组织和器官功能的逐渐下降,并最终导致死亡^[13]。衰老理论一般分为程序化理论和损伤理论。程序化理论认为,衰老是一种“故意”恶化的过程,因为有限的生命可以带来更优的基因^[14]。1882年,WEISMANN提出了最早的衰老“损伤”理论^[15]。他猜测机体衰老的主要原因是环境压力等外部因素造成累积损伤,随后引起器官和细胞的功能衰竭。此外,他还认为机体自身对“损伤或衰竭”具有一定的恢复能力,但这种能力随着年龄的增长会逐渐下降甚至消失。

机体损伤导致衰老的一个常见观点是端粒缩短使DNA损伤进而引起衰老。1986年,COOKE和SMITH^[16]在衰老的人体细胞中发现性染色体的末端由重复的“TTAGGG”核苷酸序列组成,这个末端序列即为“端粒”;最重要的是发现端粒序列随着细胞衰老而变短,从而解释了HAYFLICK^[17]提出的细胞在体外发生的复制衰老现象。端粒长度与衰老的关系表明端粒长度可作为衰老的遗传证据,因此端粒又被称为“生物钟”或“衰老的门票”。损伤理论中还包括自由基学说、线粒体损伤学说^[18]。这些学说在解释衰老的动态过程是如何发生方面起着重要的作用。

近年来,关于衰老的研究取得了前所未有的进展,特别是发现了指示衰老共同特征的九大指标。这些指标包括:基因组不稳定、端粒缩短、表观遗传改变、蛋白内稳态丧失、营养感应失调、线粒体功能障碍、细胞衰老、干细胞耗竭和细胞间通讯改变^[19-24],它们可被用来评价衰老。

1.2 衰老相关疾病

衰老是一种在进化过程中发挥基本功能及有益功能的应激反应。在衰老这个复杂的过程中与其相关的分子、细胞和生理变化数不胜数,其中包括细胞衰老、炎症发生、表观遗传学改变等^[25]。衰老过程中发生的这些变化可损害机体组织、器官的生理功能,并增加衰老相关疾病的发病率。虽然在“健康”衰老中,组织功能障碍在所有的个体中都

会发生,而特定的与年龄相关的疾病往往只发生在某些个体中。并且疾病“刺激”引发的衰老所持续的时间会更长,机体反应会更强烈,衰老细胞的积累速率也会更快速^[26]。虽然这些与年龄相关的分子变化导致衰老相关疾病风险增加的具体机制尚不完全清楚,但这些现象足以表明衰老与疾病之间是相互影响的。

另一种认为衰老与疾病之间存在联系的观点是:机体内各种生理功能之间需要保持平衡,而保持平衡的过程中不可避免地会导致损伤。这些损伤的不断积累会导致免疫系统功能性紊乱,或者使衰老的机体不能及时产生相应的信号分子以清除损伤的细胞。总的来说,由多种机制引起的持续衰老会使老化组织功能减弱,同时使其在面临其他压力时更容易进一步恶化。当有额外的“压力”挑战脆弱的衰老器官时,机体的生理功能会发生紊乱并导致疾病的发生,这些疾病为包括骨骼功能障碍、神经退行性疾病、心脏功能障碍、癌症在内的几大疾病。但衰老相关疾病与年轻机体中发生的疾病之间存在着差异,在衰老的过程中生理功能发生紊乱导致身体易患各种疾病,当组织或器官中的衰老细胞过多积累时也会导致组织或器官病理学发生改变。因为衰老细胞是组织在维持正常生理功能的过程中发生磨损所产生的。

2 CAG的性质及制备方式

黄芪(*Astragalus membranaceus*)是豆科中最大的属,在土耳其植物区系中有380个种^[27]。黄芪是一种用作中药的植物,据《中草药》记载,它具有“补气”的作用。黄芪被用作中药已有2000多年的历史,至今仍被用于各种草药制剂中。黄芪能增强免疫功能,保护肝脏,充当利尿剂,并且具有抗衰老、抗应激、抗高血压和抗菌等药理作用。黄芪甲苷是黄芪中的主要成分^[4]。而CAG是黄芪甲苷中主要皂苷的苷元,是从黄芪甲苷(Astragaloside IV, AS IV)水解产物中获得的三萜皂苷化合物^[28]。

2.1 CAG的性质

CAG的相对分子质量为490.71,分子式为 $C_{30}H_{50}O_5$ 。CAG属于环菠萝烷型四环三萜类化合物,为四环三萜类中环阿屯烷型^[29]。CAG在水中难溶,但溶于甲醇,微溶于乙醇、正丁醇等有机溶剂。CAG的耐酸性较差,在酸性条件下可转化为黄芪醇^[30]。

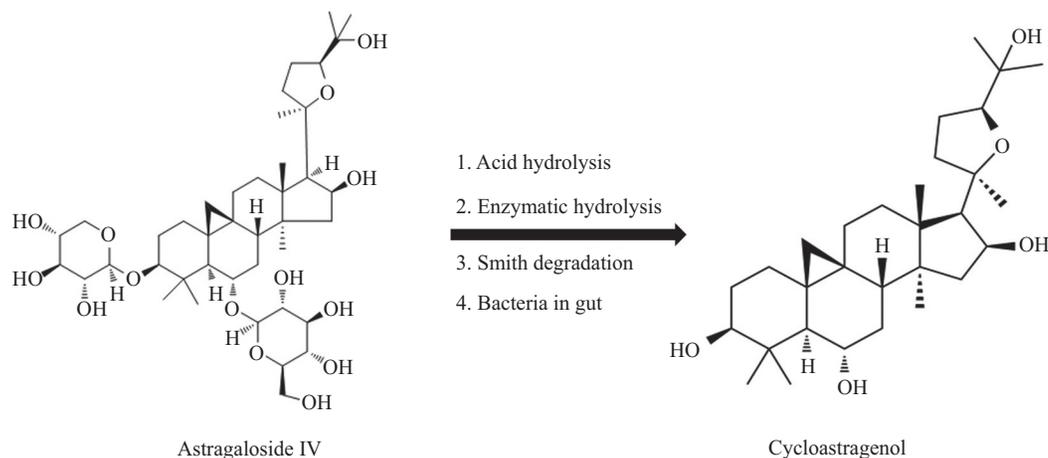


图1 环黄芪醇合成示意图(根据参考文献[35]修改)

Fig.1 A schematic diagram for Cycloastragenol synthesis (modified from the reference [35])

2.2 CAG的制备方法

CAG属于苷元, 因此其制备的关键在于糖苷键的断裂。按水解方法的不同, 可将糖苷键的裂解形式分为均相水解和双相水解, 其中双相水解可以避免苷元过度接触酸、碱等, 从而获得较高浓度的苷元。按照所用催化剂的不同, 可将双相水解分为酸水解、碱水解、酶解、过碘酸裂解等。CAG的制备方法主要有酸水解、酶解及过碘酸裂解等^[31-34]。图1展示了将AS IV制备成CAG的方法^[35]。

3 CAG抗衰老作用的机制和其在衰老相关疾病中的应用

3.1 CAG激活端粒酶

端粒是一段存在于染色体末端的重复的“TTAGGG”核苷酸序列, 随着细胞分裂次数增加而变短。端粒通过端粒酶来维持一定的长度。端粒酶是一种依赖于核糖核酸的脱氧核糖核酸聚合酶复合物, 基本上由端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)和端粒酶RNA成分(telomerase RNA component, TERC)组成, 可为端粒增加特定的DNA序列^[36]。那么CAG是如何激活端粒酶, 并延长端粒的呢?

TERT利用端粒酶RNA作为模板在染色体末端合成端粒重复序列, 这对防止端粒缩短诱导的衰老至关重要。有研究表明, CAG在内皮细胞中通过提高TERT、 β -连环蛋白(β -catenin)、c-Myc的表达水平来影响端粒酶^[11]。而在人新生角质形成细胞和大鼠神经细胞中, CAG通过诱导cAMP反应元件相关结合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)活化, 继而诱导TERT和Bcl2的表达来影响

端粒酶的活性^[3]。KL(klotho)是一种抗衰老蛋白, 它的过度表达使经CAG治疗后的动物模型寿命延长。KL缺陷改变端粒重复结合因子1(telomeric repeat binding factor 1, TERF1)和TERT的表达, 从而降低端粒酶活性, 导致干细胞分化潜能、多能性、凋亡受损以及细胞衰老。用CAG处理KL缺乏的脂肪干细胞群后, 发现KL的表达提高了并进而促进了TERF1和TERT的表达^[37]。以上结果提示, CAG可通过 β -连环蛋白、CREB、KL、TERT来影响端粒酶活性。

端粒酶活性可由多种信号通路调节, 这些级联反应通常与其他信号通路整合, 以调节转录因子和复杂的细胞反应。人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)的表达是由细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)激活Ets(E-twenty six)转录因子如Ets2和ER81而诱导的。CAG已被证明能刺激人淋巴细胞的ERK磷酸化^[38], 并且在CAG处理的HEK293细胞中观察到依赖于Src、ERK激酶(ERK kinase, MEK)和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的ERK磷酸化的激活以及端粒酶活性增加的现象^[6]。一些研究还表明, CAG诱导Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)和信号转导子和转录激活子5b(signal transducer and activator of transcription 5b, STAT5b)的表达, 并随着TERT表达的增加而增强STAT5b的磷酸化。此外, JAK/STAT信号通路下游分子的表达也增加了, 表明CAG可通过JAK/STAT信号通路激活端粒酶^[39]。上述对CAG相关机制的初步研究表明, 它可激活端粒酶。

3.2 CAG激活per2调控衰老小鼠生物钟

哺乳动物的衰老过程与长时间的昼夜节律行为有关, 时钟基因的突变或缺失导致体内平衡的破坏, 并导致代谢综合征、癌症和心血管疾病的发生。在之前的研究中我们使用CAG处理D-半乳糖诱导的衰老小鼠, 观测小鼠的昼夜节律并分析时钟基因的表达情况, 发现CAG不仅显著改善了衰老小鼠的生物节律, 而且增加了衰老小鼠生物钟基因的表达, 例如衰老小鼠肝脏合肾脏重组周期昼夜节律蛋白2(period circadian protein 2, *per2*)和芳香烃受体核转运体样1(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1, *bmal1*)基因的表达。由此可说明, CAG能恢复D-半乳糖诱导的衰老小鼠的昼夜节律行为。此外, 我们还发现人和小鼠TERT的表达随昼夜节律发生改变, 并受CLOCK-*bmal1*异二聚体的控制。因此, CAG的昼夜节律调节作用是否与端粒酶活性有关还需要进一步论证^[40]。

3.3 CAG在衰老相关疾病中的应用

3.3.1 骨骼功能障碍 骨质疏松症的症状是老年人肌肉质量和功能的丧失, 它降低了机体活动的的能力, 降低了生活质量, 而且可能导致跌倒甚至更严重的伤害。骨质疏松症的特征是总骨量减少, 同时骨折的风险增加。在衰老过程中, 骨丢失源于骨形成减少和骨髓脂肪形成增加。在骨质疏松、骨丢失的衰老模型中进行CAG治疗后, 发现CAG可以使得骨钙素、骨桥蛋白的表达量增加, 促进成骨细胞的分化、骨活性蛋白的表达以减轻骨丢失, 并改善骨损伤中的骨矿化^[41-42]。因此, CAG可以作为治疗老年性骨质疏松症的潜在治疗药物。

骨关节炎是非常常见的由多种因素引起的一种严重退行性关节软骨疾病, 但衰老是导致其发展的最突出的危险因素^[43]。骨关节炎是由于软骨逐渐丧失和底层软骨下骨重塑所导致的^[44]。骨关节炎会使患者严重疼痛和残疾。而CAG可以作为治疗这一疾病的候选药物。因为MARTA等^[8]的结果显示, CAG能促进软骨细胞的增殖、软骨细胞向成骨细胞的转化, 以及增强软骨细胞产生细胞外基质的能力; 并且使体外培养的软骨细胞表型在28天内保持稳定。这表明, CAG可能对软骨再生途径有有益的影响。

3.3.2 神经退行性疾病 阿尔茨海默病是一种认知、行为、情感和精神发生退化的神经退行性疾病^[45]。阿尔茨海默病的主要危险因素是衰老, 可导

致进行性痴呆^[46]。β淀粉样蛋白(amyloid-beta peptide, Aβ)的过量产生和积累是阿尔茨海默病的一个标志性病理特征。因此, 从大脑中清除或减少Aβ被认为是治疗阿尔茨海默病的关键。而有研究发现, CAG对寡聚体Aβ导致的体外血脑屏障损伤具有改善作用, 进一步发现CAG可以减少模型中细胞的凋亡, 增加紧密连接支架蛋白的表达^[47-48]。还发现CAG可通过上调P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和下调晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)表达来增加可溶性Aβ在血脑屏障模型中的流出; 减少Aβ由外周血液循环转运至脑内, 减轻Aβ引起的阿尔茨海默病的病症。此外还有研究表明, CAG通过降低基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)活性, 防止紧密连接的连接点退化, 上调缺血脑中SIRT1的表达, 从而改善血脑屏障的破坏^[10]。综上, 可将CAG作为治疗神经退行性疾病的备选药物。

3.3.3 心脏功能障碍与心血管疾病 心脏老化会导致心脏结构和功能失常, 从而导致心力衰竭。许多心脏疾病的病理特点是心脏纤维化, 引起心脏纤维化的原因是细胞外基质的过度沉积导致心脏功能不全, 进而导致心脏疾病的发生^[49]。WAN等^[50]的研究结果表明, CAG能显著抑制异丙肾上腺素诱导的心肌纤维化, 且它是通过下调小鼠心脏组织中NLRP3、caspase-1、IL-18和IL-6的表达来改善心肌纤维化的。此外还有研究表明, 在异丙肾上腺素诱导的心力衰竭大鼠的模型中, CAG通过抑制大鼠心脏MMP-2和MMP-9的表达, 进而抑制AKT1-RP-S6KB1信号通路来增加心肌细胞的自噬以改善心脏功能障碍和重构^[51]。而在急性心肌梗死患者外周血单核细胞中, CAG通过抑制TNF-α、IFN-γ和IL-17的产生, 进而促进IL-10和IL-4的表达来改善体内心肌功能^[52]。这些研究结果表明, CAG可以用于治疗心脏功能障碍相关疾病。

3.3.4 癌症 在进化的旅程中长寿物种通过抑制端粒酶的表达和保持一定的端粒长度, 进化出了强大的抗癌保护机制, 且大多数癌症的发病时间在生育年龄之后^[53]。事实上, 端粒酶在大多数分化的人类细胞中是不表达的, 这主要是由于其催化成分TERT基因的转录抑制。TERT表达的缺失导致人类细胞分裂过程中端粒的缩短, 而严重缩短的端粒长度会导致永久的细胞生长停滞, 称为复制型衰老。

TERT的激活可以稳定端粒长度和消除衰老,但这也导致细胞向永生化和恶性方向转化,即导致癌症的发生。有数据表明,在多达90%的人类原发癌症中可以检测到TERT的表达^[54]。WANG等^[55]的研究表明,CAG通过增加PIF1解旋酶的表达进而上调TERT的表达,促进宫颈癌细胞增殖,提高G₂/M期在细胞周期中所占比率,并抑制宫颈癌细胞凋亡。此研究表明,CAG通过激活TERT的表达促进肿瘤的发生。

此外,CAG又可通过其他通路抑制肿瘤的发生。最近,全基因组表观遗传学研究揭示了衰老和癌症之间共有的特殊表观遗传学特征^[56-57]。衰老的过程可能会通过影响干细胞的增殖潜力、削弱免疫监视和改变癌基因和肿瘤抑制基因的表达,从而诱导与年龄相关的组织衰退并增加疾病风险。在长期的研究过程中发现,癌症发病率与年龄直接相关,高龄是癌症最重要的危险因素之一^[58-59]。因此,研究人员提出了一个治疗肿瘤的全新思路,即将肿瘤与衰老相联系,使用药物改善衰老进而治疗肿瘤,或将抗癌药物与抗衰老药物联用,以增强抗癌药物的药物敏感性或靶向性进而降低药物毒性。

在SUN等^[60]治疗胃癌的研究中发现,CAG可通过降低Src和JAK1/2的表达导致对STAT3蛋白磷酸化的负调节。CAG减弱STAT3蛋白与DNA的结合能力,降低癌细胞的增殖能力,并可通过诱导大量的癌细胞凋亡而发挥抗癌作用。在该研究中还发现,CAG增强了紫杉醇对胃癌细胞的抗癌作用。在弹性蛋白酶诱导的腹主动脉瘤小鼠模型中,CAG能够抑制TNF- α 刺激引起的平滑肌细胞炎症、氧化、表型转换和凋亡,抑制弹性蛋白的降解,抑制ERK/JNK信号通路,从而改善腹主动脉瘤^[5]。

3.4 免疫系统

免疫系统在衰老过程中逐渐老化。免疫系统的衰退会导致感染的易感性增加,这可进一步加快衰老的进程。免疫系统由免疫器官、免疫细胞和活性免疫物质组成,并与衰老有关^[61]。CAG已被证明能增强细胞的抗病毒能力,并具有改善获得性免疫缺陷综合征(艾滋病)的潜力。经CAG处理的人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染的人类供体中CD8⁺ T淋巴细胞显示出端粒酶活性增加,端粒磨损适度延迟,细胞增殖潜力增强,细胞因子、趋化因子表达增加,从而增强其供体的抗病毒潜力^[62]。因此,

CAG增强人类的抗病毒功能是通过ERK/MAPK途径介导的^[38]。除了促进HIV感染的供体中淋巴细胞增殖外,CAG还能增强正常人的淋巴细胞增殖。因此,CAG可以增强免疫系统的防御功能。

4 小结

本文详细阐述了CAG治疗衰老相关疾病的研究现状,CAG能够改善某些与年龄相关的疾病,以及人类和动物的某些健康寿命指标。近几年的研究发现,特异性清除体内衰老细胞有助于减轻衰老所带来的病痛,恢复器官及组织功能,重塑身体机能等。因此,研究者们致力于寻找能够特异性清除衰老细胞的药物(senolytics)。而CAG就是一个有望能够特异清除衰老细胞的药物,为药物治疗衰老相关疾病带来了新的希望。作为药物,CAG的多种药理作用以及安全性得到肯定。其药理作用包括激活端粒酶、改善脂质代谢、抗氧化和抗炎等。临床试验已经证实了CAG的安全性。在一定剂量范围内,CAG无严重不良反应。然而CAG作为端粒激活剂有激活癌症的可能性,这可能成为阻碍CAG在临床应用的主要因素。

作为一个新的天然药物,CAG还存在着许多问题值得我们去研究。如需要进一步研究来评估CAG是否有潜在的不良反应,并研究其详细的药理机制,还需要对脂肪性肝炎、艾滋病、肺纤维化、伤口愈合等特殊疾病进行进一步的多中心临床研究。同时,充分研究CAG的药理机制,为将CAG用作一个安全有效的药物奠定基础。尽管对CAG的抗衰老作用机制还存在一些疑问,但不可否认CAG是一个很有药用价值的单体成分。

对于抗衰老以及治疗衰老相关疾病,特异性清除衰老细胞是现阶段特有的思路,衰老细胞的清除可以靶向衰老表型,从而预防或减轻与衰老相关的疾病。而CAG是否具有这一特定的功能需要更深入的研究。希望本文能够为更多的研究者提供一些信息,以评估CAG疗效和不良反应,并使其了解如何合理使用CAG来增强其效果和减少不良反应,以治疗衰老相关疾病。

参考文献 (References)

- [1] MENSÀ E, LATINI S, RAMINI D, et al. The telomere world and aging: analytical challenges and future perspectives [J]. Ageing

- Res Rev, 2019, 50: 27-42.
- [2] MEYER T D, NAWROT T, BEKAERT S, et al. Telomere length as cardiovascular aging biomarker: JACC review topic of the week [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 72(7): 805-13.
- [3] IP F C F, NG Y P, AN H J, et al. Cycloastragenol is a potent telomerase activator in neuronal cells: implications for depression management [J]. Neurosignals, 2014, 22(1): 52-63.
- [4] SHEN C Y, JIANG J G, YANG L, et al. Anti-ageing active ingredients from herbs and nutraceuticals used in traditional Chinese medicine: pharmacological mechanisms and implications for drug discovery [J]. Br J Pharmacol, 2017, 174(11): 1395-425.
- [5] WANG Y, CHEN C, WANG Q, et al. Inhibitory effects of cycloastragenol on abdominal aortic aneurysm and its related mechanisms [J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(2): 282-96.
- [6] YUNG L Y, LAM W S, HO M K, et al. Astragaloside IV and cycloastragenol stimulate the phosphorylation of extracellular signal-regulated protein kinase in multiple cell types [J]. Planta Med, 2012, 78(2): 115-21.
- [7] ZHAO Y, LI Q, ZHAO W, et al. Astragaloside IV and cycloastragenol are equally effective in inhibition of endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in the endothelium [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 169: 210-8.
- [8] SZYCHLINSKA M A, CALABRESE G, RAVALLI S, et al. Cycloastragenol as an exogenous enhancer of chondrogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells. A morphological study [J]. Cells, 2020, doi: 10.3390/cells9020347.
- [9] WANG S, ZHAI C, LIU Q, et al. Cycloastragenol, a triterpene aglycone derived from Radix astragali, suppresses the accumulation of cytoplasmic lipid droplet in 3T3-L1 adipocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 450(1): 306-11.
- [10] LI M, LI S C, DOU B K, et al. Cycloastragenol upregulates SIRT1 expression, attenuates apoptosis and suppresses neuroinflammation after brain ischemia [J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, 41(8): 1025-32.
- [11] CAO Y, XU L, YANG X, et al. The potential role of cycloastragenol in promoting diabetic wound repair *in vitro* [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 7023950.
- [12] DENG G, CHEN W, WANG P, et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in macrophage by cycloastragenol contributes to amelioration of imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 74: 105682.
- [13] LÓPEZ-OTÍN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, et al. The hallmarks of aging [J]. Cell, 2013, 153(6): 1194-217.
- [14] GOLDSMITH J, CRAINICEANU C, CAFFO B, et al. Longitudinal penalized functional regression for cognitive outcomes on neuronal tract measurements [J]. J R Stat Soc Ser C Appl Stat, 2012, 61(3): 453-69.
- [15] KIRKWOOD T B, CREMER T. Cytogerontology since 1881: a reappraisal of August Weismann and a review of modern progress [J]. Hum Genet, 1982, 60(2): 101-21.
- [16] COOKE H J, SMITH B A. Variability at the telomeres of the human X/Y pseudoautosomal region [J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1986, 51(1): 213.
- [17] HAYFLICK L. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains [J]. Exp Cell Res, 1965, 37: 614-36.
- [18] ARTAL-SANZ M, TAVERNARAKIS N. Prohibitin couples diapause signalling to mitochondrial metabolism during ageing in *C. elegans* [J]. Nature, 2009, 461(7265): 793-7.
- [19] GREIDER C W, BLACKBURN E H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts [J]. Cell, 1985, 43(2 Pt 1): 405-13.
- [20] SHAY J W, WRIGHT W E. Telomeres and telomerase: three decades of progress [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(5): 299-309.
- [21] CRIMMINS E M. Social hallmarks of aging: suggestions for geroscience research [J]. Ageing Res Rev, 2020, 63: 101136.
- [22] KAMEDA M, MIKAWA T, YOKODE M, et al. Senescence research from historical theory to future clinical application [J]. Geriatr Gerontol Int, 2020, 21(2): 125-30.
- [23] KOGA H, KAUSHIK S, CUERVO A M. Protein homeostasis and aging: the importance of exquisite quality control [J]. Ageing Res Rev, 2011, 10(2): 205-15.
- [24] POWERS E, MORIMOTO R, DILLIN A, et al. Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency [J]. Annu Rev Biochem, 2009, 78: 959-91.
- [25] KANASI E, AYILAVARAPU S, JONES J. The aging population: demographics and the biology of aging [J]. Periodontol 2000, 2016, 72(1): 13-8.
- [26] CHILDS B, DURIK M, BAKER D, et al. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy [J]. Nat Med, 2015, 21(12): 1424-35.
- [27] SEVIMLI-GUR C, ONBASILAR I, ATILLA P, et al. *In vitro* growth stimulatory and *in vivo* wound healing studies on cycloartane-type saponins of Astragalus genus [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(3): 844-50.
- [28] 章诗迪. 环黄芪醇提取物的制备及其抗衰老活性研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2016.
- [29] 楚治良, 高春芳, 刘欣, 等. 环黄芪醇的应用及结构修饰的研究进展[J]. 实用医药杂志(CHU Z L, GAO C F, LIU X, et al. Research progress on application and the chemical structural modification of cycloastragenol [J]. Prac J Med & Pharm), 2019, 36(10): 941-6.
- [30] 刘晓亚. 黄芪甲苷和环黄芪醇的体内外代谢研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [31] 曹正中, 俞家华, 甘立宪, 等. 膜荚黄芪苷元的结构[J]. 化学学报(CAO Z Z, YU J H, GAN L X, et al. Structure of astragaloside capsule [J]. Journal of Chemistry), 1983(12): 1137-45.
- [32] 李先华. 人参多糖的分离、纯化及结构研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2007.
- [33] 潘弘哲. 环黄芪醇的生物法制备[D]. 北京: 北京化工大学, 2019.
- [34] FENG L, LIN X, HUANG F, et al. Smith degradation, an efficient method for the preparation of cycloastragenol from astragaloside IV [J]. Fitoterapia, 2014, 95: 42-50.
- [35] YU Y, ZHOU L, YANG Y, et al. Cycloastragenol: an exciting novel candidate for age-associated diseases [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3): 2175-82.
- [36] MEYNE J, RATLIFF R L, MOYZIS R K. Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)_n among vertebrates [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(18): 7049-53.
- [37] ULLAH M, SUN Z. Klotho deficiency accelerates stem cells aging by impairing telomerase activity [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2019, 74(9): 1396-407.

- [38] FAUCE S, JAMIESON B, CHIN A, et al. Telomerase-based pharmacologic enhancement of antiviral function of human CD8⁺ T lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2008, 181(10): 7400-6.
- [39] 李近. 黄芪甲苷和环黄芪醇抑制氧化应激引起的成骨细胞损伤和衰老的作用研究[D]. 湛江: 广东医科大学, 2017.
- [40] LIU J, GAO D, DAN J, et al. The protective effect of cycloastragenol on aging mouse circadian rhythmic disorder induced by d-galactose [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10): 16408-15.
- [41] WU J, ZENG Z, LI Y, et al. Cycloastragenol protects against glucocorticoid-induced osteogenic differentiation inhibition by activating telomerase [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(4): 2034-44.
- [42] YU Y, WU J, LI J, et al. Cycloastragenol prevents age-related bone loss: evidence in d-galactose-treated and aged rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128: 110304.
- [43] KUSZEL L, TRZECIAK T, RICHTER M, et al. Osteoarthritis and telomere shortening [J]. *J Appl Genet*, 2015, 56(2): 169-76.
- [44] GLYN-JONES S, PALMER A, AGRICOLA R, et al. Osteoarthritis [J]. *Acta Med Port*, 2015, 386(9991): 376-87.
- [45] SAEZ-ATIENZAR S, MASLIAH E. Cellular senescence and Alzheimer disease: the egg and the chicken scenario [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(8): 433-44.
- [46] GUERREIRO R, BRAS J. The age factor in Alzheimer's disease [J]. *Genome Med*, 2015, 7: 106.
- [47] 黄敏焯. 环黄芪醇对A β_{1-42} 介导的体外血脑屏障损伤具有保护作用及补肾益气方药治疗阿尔茨海默病疗效的Meta分析[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [48] HUANG M Y, YU G R. Cycloastragenol inhibits A β_{1-42} -induced blood-brain barrier disruption and enhances soluble A β efflux *in vitro* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2020, doi: 10.1080/10286020.2020.1786372.
- [49] FRANGOIANNIS N G, KONG P, CHRISTIA P, et al. The pathogenesis of cardiac fibrosis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(4): 549-74.
- [50] WAN Y, XU L, WANG Y, et al. Preventive effects of astragaloside IV and its active sapogenin cycloastragenol on cardiac fibrosis of mice by inhibiting the NLRP3 inflammasome [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 833: 545-54.
- [51] WANG J, WU M L, CAO S P, et al. Cycloastragenol ameliorates experimental heart damage in rats by promoting myocardial autophagy via inhibition of AKT1-RPS6KB1 signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1074-81.
- [52] REN Y S, LI H H, YAO J C, et al. Application quantitative proteomics approach to identify differentially expressed proteins associated with cardiac protection mediated by cycloastragenol in acute myocardial infarction rats [J]. *J Proteomics*, 2020, 222: 103691.
- [53] YUAN X, LARSSON C, XU D. Mechanisms underlying the activation of TERT transcription and telomerase activity in human cancer: old actors and new players [J]. *Oncogene*, 2019, 38(34): 6172-83.
- [54] MCKELVEY B A, UMBRICHT C B, ZEIGER M A. Telomerase reverse transcriptase (TERT) regulation in thyroid cancer: a review [J]. *Front Endocrinol*, 2020, 11: 485.
- [55] WANG J, ZHU X, YING P, et al. PIF1 affects the proliferation and apoptosis of cervical cancer cells by influencing TERT [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 7827-35.
- [56] KIM Y, BYUN H, JEE B, et al. Implications of time-series gene expression profiles of replicative senescence [J]. *Aging Cell*, 2013, 12(4): 622-34.
- [57] DEMARIA M, O'LEARY M, CHANG J, et al. Cellular senescence promotes adverse effects of chemotherapy and cancer relapse [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(2): 165-76.
- [58] YU M, HAZELTON W D, LUEBECK G E, et al. Epigenetic aging: more than just a clock when it comes to cancer [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(3): 367-74.
- [59] CHATSIRISUPACHAI K, PALMER D, FERREIRA S, et al. A human tissue-specific transcriptomic analysis reveals a complex relationship between aging, cancer, and cellular senescence [J]. *Aging Cell*, 2019, 18(6): e13041.
- [60] HWANG S, KIM C, LEE J, et al. Cycloastragenol can negate constitutive STAT3 activation and promote paclitaxel-induced apoptosis in human gastric cancer cells [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152907.
- [61] BEKTAS A, SCHURMAN S, SEN R, et al. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(4): 977-88.
- [62] VEROTTA L, GUERRINI M, EL-SEBAKH Y N, et al. Cycloartane and oleanane saponins from egyptian astragalus spp. as modulators of lymphocyte proliferation [J]. *Planta Med*, 2002, 68(11): 986-94.