

丹酚酸 B 对肝损伤小鼠肠道菌群和短链脂肪酸代谢的影响

周 喆, 胡诗安,
胡雨瞳, 谭 洋, 裴 刚*, 李 玲*

湖南中医药大学药学院 湖南省普通高等学校中药现代化重点实验室, 长沙 410208

摘要: 本研究旨在探讨丹酚酸 B (salvianolic acid B, Sal B) 对小鼠肝损伤的干预作用, 以及对肠道菌群和短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 代谢的影响。通过皮下注射 20% CCl_4 溶液建立小鼠肝损伤模型, 在造模的同时给予 Sal B 和阳性药 2-脱氧-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose) 灌胃干预, 干预结束后通过苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE)、Masson、天狼星红染色观察小鼠肝脏病理变化; 采用生化试剂盒检测血清谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平; 运用 16S rRNA 测序技术检测小鼠肠道菌群结构变化; 通过气相色谱法测定小鼠粪便中 SCFAs 的含量。结果显示, Sal B 可以显著降低 CCl_4 诱导的肝损伤小鼠血清 ALT、AST 水平 ($P < 0.001$), 并减轻肝组织病理损伤。测序结果显示, Sal B 可以部分恢复肝损伤小鼠的肠道菌群结构, 同时显著增加肠道中异丁酸、异戊酸、丙酸和戊酸的含量 ($P < 0.001$)。本实验揭示了 Sal B 可以减轻 CCl_4 所诱导的小鼠肝损伤, 机制可能与其对肠道菌群和 SCFAs 紊乱的调节有关。

关键词: 丹酚酸 B; 肝损伤; 肠道菌群; 短链脂肪酸

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)5-0748-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.5.002

Effect of salvianolic acid B on intestinal flora and short chain fatty acid metabolism in mice with liver injury

ZHOU Zhe, HU Shi-an, HU Yu-tong, TAN Yang, PEI Gang*, LI Ling*

Key Laboratory of Modern Research of TCM, Education Department of Hunan Province,
College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: The objective of this study was to examine the impact of salvianolic acid B (Sal B) on liver injury in mice, as well as its effects on intestinal flora and short-chain fatty acids (SCFAs). To establish a mouse liver injury model, a subcutaneous injection of 20% CCl_4 solution was administered. At the same time, mice in treatment groups were subjected to Sal B and the positive drug 2-deoxy-D-glucose gavage intervention, respectively. After the administration, the pathological changes of liver tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE), Masson, and Sirius red staining, and the levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected by biochemical kits. 16S rRNA sequencing technology was used to detect the changes of intestinal microbiota in mice. Additionally, the contents of SCFAs in mice feces were determined through gas chromatography. The results indicate that Sal B has a significant effect on reducing serum ALT and AST levels ($P < 0.001$) and mitigating liver pathological damage. Moreover, Sal B was revealed to partly restore the composition of intestinal flora in mice with liver injury, as evidenced by the sequencing data. Furthermore, the administration of Sal B resulted in a significant increase in the concentrations of isobutyric acid, isovaleric acid, propionate acid, and valeric acid in the feces from mice with liver injury ($P < 0.001$). Consequently, the above results could conclude that Sal B possesses the ability to alleviate liver injury induced by CCl_4 in mice. The mechanism is potentially related to its regulation of the balance of intestinal flora and the restoration of the contents of SCFAs.

Key words: salvianolic acid B; liver injury; intestinal flora; short-chain fatty acids

肝损伤是指由于各种因素引发的肝细胞损伤和肝功能异常,临床常见的致病因素包括药物刺激、病毒感染、酒精或化学毒物^[1]。研究表明,严重或持续的肝损伤最终会导致肝硬化和肝细胞癌^[2]。

丹参性微寒,味苦,入心、肝二经,是临床常用的活血化瘀药,历代医家将其广泛应用于肝脏疾病的治疗^[3]。丹酚酸 B (salvianolic acid B, Sal B) 是丹参水溶性提取物中的主要活性成分之一。研究显示,Sal B 可通过抑制氧化应激、TGF- β 信号通路等方式减轻肝损伤^[4,5],研究表明,Sal B 口服的生物利用度较低^[6],这提示对肠道菌群的调节可能是其发挥生物活性的重要靶标。

肠-肝循环的存在将肠道与肝联系,肠道和肝脏不仅在生理结构上相互关联,而且在生理功能上也密切相关。肠-肝轴的紊乱,包括肠道菌群组成和比例的失调,以及菌群代谢物短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs)、胆汁酸等的改变,与多种原因所致的肝损伤密切相关^[7]。近年来,文献报道了大量天然产物以肠道菌群为靶点并调控 SCFAs 水平从而减轻肝损伤^[8]。本研究揭示了 Sal B 通过调节肠道菌群及 SCFAs 紊乱,发挥抗肝损伤的作用,为 Sal B 抗肝损伤的机制研究提供新的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 ICR 小鼠,体质量 (20 \pm 2) g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:SCXK(湘 2019-0004)。所有小鼠均自由饮食饮水,环境温度 20 ~ 25 $^{\circ}$ C,相对湿度 60%,每日光照 12 h/黑暗 12 h。所有实验均遵循湖南中医药大学实验动物管理和使用指南的规定,经湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准,编号:LL20230222214。

1.2 试剂与仪器

Sal B (批号:PS000279,纯度 > 98%,成都普思生物科技股份有限公司);2-脱氧-D-葡萄糖 (批号:G2205112,纯度 > 98%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);四氯化碳 (批号:C1515268,上海麦克林生化科技有限公司);谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 比色法试剂盒 (批号:KL002BZ82630、GY00ZRDD1966,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸、己酸、内标 4-甲基戊酸 (批号:MKCM7198、SH-BC7498V、STBF8413V、STBJ4764、STBG4549V、P2123816、MKCK8826、MKCC8342,纯度 > 99%,美

国 Sigma 公司)。

酶标仪 (Epoch, 美国 BioTek 公司);高速冷冻离心机、气相色谱仪、质谱仪 (Fresco 17、Trace 1310、ISQ LT, 美国 ThermoFisher Scientific 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组及给药

24 只实验小鼠经适应性喂养一周后,随机分为 4 组:空白对照组 (control, Con)、模型对照组 (model, Mod)、丹酚酸 B 干预组 (Sal B) 和阳性对照 2-脱氧-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose, 2-DG) 组,每组 6 只。除 Con 组外其余各组小鼠按 2 mL/kg 皮下注射 20% CCl₄ 花生油溶液,每周 3 次,持续 6 周。Con 组小鼠于相同时间点以相同方式注射同样体积的花生油。从造模第 1 天起,Sal B 组和 2-DG 组小鼠分别给予 Sal B (40 mg/kg) 和 2-DG (100 mg/kg) 灌胃干预,灌胃体积为 0.01 mL/(g \cdot d)。Con 和 Mod 组小鼠于相同时间点给予相同体积药物溶剂进行灌胃。末次给药后,所有小鼠均禁食不禁水 24 h,摘眼球取血后使用戊巴比妥钠使其深度麻醉,采用颈椎脱臼法处死,收集肠道内容物、肝脏组织等用于后续研究。

1.3.2 行为学观察

小鼠一般情况观察和记录:每日观察小鼠一般行为学表现,包括进食量、毛发质地、精神状态、行为活动等。

1.3.3 病理观察

肝组织经 4% 多聚甲醛溶液固定、乙醇脱水、石蜡包埋后切片,按照 HE、Masson 及天狼星红染色的常规方法进行相应处理后显微镜下观察肝组织切片病理变化。

1.3.4 生化指标检测

小鼠血液样本室温下静置 4 h 后,3 000 r/min 离心 15 min,取上层血清,按照相应的试剂盒说明书检测其中 ALT、AST 的水平。

1.3.5 肠道菌群 16S rRNA 测序

取 Con 组、Mod 组和 Sal B 组的肠内容物经 DNA 提取,对 rRNA 基因可变区或特定基因片段进行 PCR 扩增,将扩增产物用磁珠纯化回收后进行荧光定量。采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库后上机进行测序。

1.3.6 SCFAs 含量测定

参照文献中的方法^[9],称取乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、己酸、戊酸和异戊酸标准品适量,加入乙醚混合配制成 100 mg/mL 的储备液,并用乙醚稀释储备液得到系列工作标准溶液。取小鼠肠道内容物

0.2 g,置于1.5 mL离心管中,加500 μ L超纯水匀浆1 min,于4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min离心10 min,取200 μ L上清,加100 μ L 15%磷酸、375 μ g/mL的内标4-甲基戊酸溶液20 μ L和乙醚280 μ L匀浆1 min,于4 $^{\circ}$ C 12 000 rpm离心10 min,取乙醚层上机测试。

色谱条件:Thermo Trace 1310 (Thermo Fisher Scientific, USA)气相系统,色谱柱为Agilent HP-INNOWAX毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);分流进样,进样量1 μ L,分流比10:1。进样口温度250 $^{\circ}$ C;离子源温度300 $^{\circ}$ C;传输线温度250 $^{\circ}$ C。程序升温起始温度90 $^{\circ}$ C;以10 $^{\circ}$ C/min升温至120 $^{\circ}$ C;再以5 $^{\circ}$ C/min升温至150 $^{\circ}$ C;最后以25 $^{\circ}$ C/min升温至250 $^{\circ}$ C,维持2 min。载气为氦气,载气流速1.0 mL/min。

质谱条件:Thermo ISQ LT质谱仪(Thermo Fisher Scientific, USA),电子轰击电离(EI)源,SIM扫描方式,电子能量70 eV。

1.3.7 统计学处理

使用Graph Pad Prism 8进行统计分析,生化指标和SCFAs含量采用均数 \pm 标准误(Mean \pm SEM)表示,肠道菌群结果采用中位数及四分位数间距表示。多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;肠道菌群统计采用单因素方差分析与Bonferroni校正的多重检验,以调整后的 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Sal B对CCl₄诱导的肝损伤小鼠一般情况的影响

实验期间各组小鼠均无死亡,Con组小鼠毛色正常带有光泽,行动自如;随实验进展Mod组小鼠逐渐出现毛发粗糙毛色暗淡,活动逐渐减少,进食频

率降低等变化;而Sal B组及2-DG组小鼠的毛色、精神、进食情况较好于Mod组。

2.2 Sal B对CCl₄诱导的肝损伤小鼠血清ALT、AST的影响

与Con组相比,Mod组小鼠血清ALT、AST升高($P < 0.001$);与Mod组相比,Sal B以及阳性药2-DG干预后ALT、AST明显降低($P < 0.001$ 或 $P < 0.01$)(见表1)。

表1 Sal B对CCl₄诱导的肝损伤小鼠血清ALT、AST的影响(Mean \pm SEM, $n = 6$)

Table 1 Effect of Sal B on the on the serum levels of ALT and AST in CCl₄-induced liver injury mice (Mean \pm SEM, $n = 6$)

组别 Group	ALT(IU/L)	AST(IU/L)
Con	6.721 \pm 0.96	14.46 \pm 2.17
Mod	126.3 \pm 6.17 ^{###}	95.84 \pm 4.37 ^{###}
Sal B	46.95 \pm 6.81 ^{***}	35.83 \pm 3.22 ^{***}
2-DG	34.08 \pm 7.31 ^{***}	73.05 \pm 6.70 ^{**}

注:与Con组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$;与Mod组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$,下同。

Note:Compared with Con,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$; Compared with Mod,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$,the same blow.

2.3 Sal B对CCl₄诱导的肝损伤小鼠肝脏病理变化的影响

如图1所示,在HE染色中,与Con组相比,Mod组小鼠可见肝细胞排列紊乱,肝细胞坏死,炎性细胞浸润的现象并伴随着大量脂肪空泡的出现;与Mod组相比,Sal B组与2-DG组肝细胞坏死和空泡明显减少,炎性细胞浸润情况改善。Masson染色结果表明,Mod组小鼠可见汇管区周围有大量胶原纤维增生且形成了纤维桥接相连;与Mod组相比,Sal B组和2-DG组肝组织胶原纤维相连和纤维桥接情况有

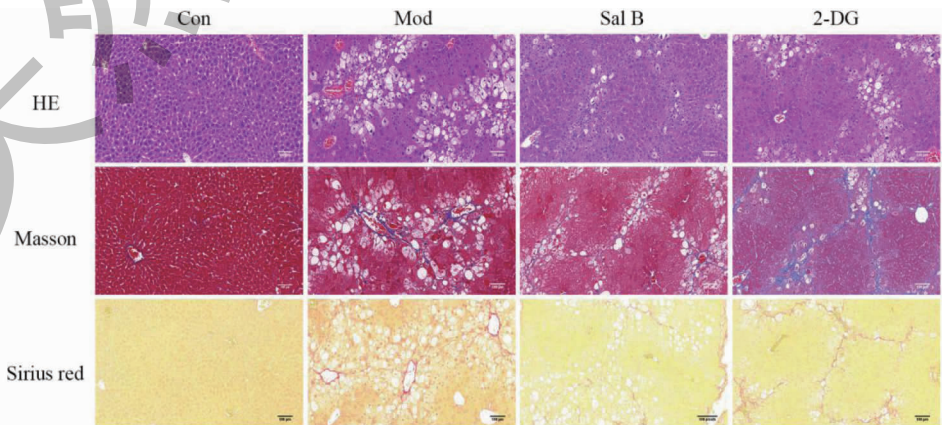


图1 各组小鼠肝脏组织的病理改变(200 \times)

Fig. 1 Histologic examination of liver tissue of mice in each group (200 \times)

所改善。天狼星红染色显示,与 Con 组比较,Mod 组小鼠肝组织可见大量胶原纤维沉积,呈团簇状分布于汇管区周围;与 Mod 组比较,Sal B 以及 2-DG 组小鼠肝组织胶原沉积减少。Sal B 的干预可显著抑制 CCl_4 诱导的肝损伤小鼠组织损伤和转氨酶的升高。

2.4 Sal B 对 CCl_4 诱导的肝损伤小鼠肠道菌群的影响

通过 Chao1、Shannon 和 Simpson 指数对肠道微生物的丰富度、多样性和均匀度进行分析。如图 2A~2C 所示,Mod 组的 Chao1 指数显著高于 Con 组($P < 0.001$);而 Sal B 组与 Mod 组相比,Chao1 指数无

显著变化($P > 0.05$);与 Con 组比较,Mod 组的 Simpson 指数显著降低,而 Sal B 干预组的 Simpson 指数升高($P < 0.001$),说明 Sal B 组小鼠肠道菌群有着更高的优势度。主成分分析(principal component analysis,PCA)(见图 2D)中第一主成分和第二主成分对模型的解释率均为 80.2%,提示该模型有着良好的解释能力和预测能力。PCA 结果显示,Con 组、Mod 组和 Sal B 组之间整体肠道微生物群发生了显著变化,且 Sal B 组的散点位于 Con 组和 Mod 组之间,表明 Sal B 的干预纠正了 CCl_4 所导致的小鼠肠道菌群组成的偏移。

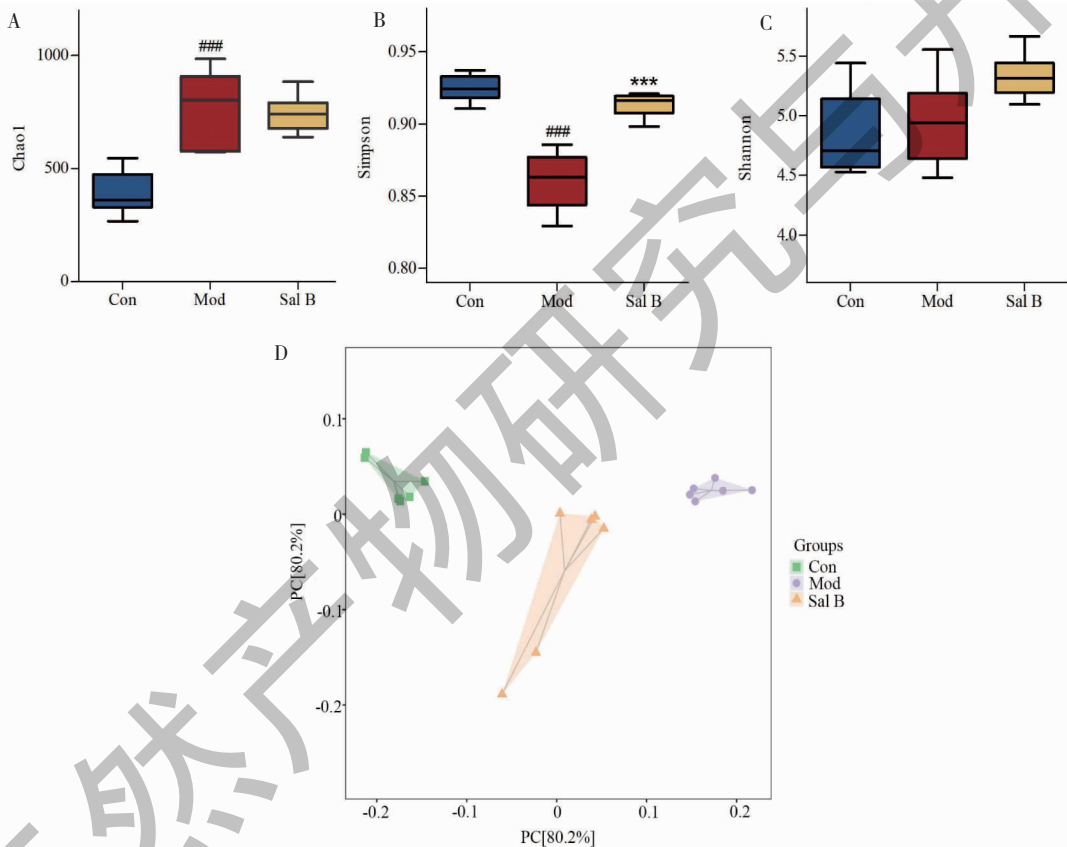


图 2 各组小鼠肠道菌群的 Chao1、Shannon 和 Simpson 指数的比较以及 PCA

Fig. 2 Comparison of Chao1, Shannon and Simpson richness and PCA based on intestinal flora

进一步的分析表明,在门水平上(见图 3),与 Con 组相比,Mod 组的厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度显著降低($P < 0.001$),拟杆菌门(Bacteroidota)的相对丰度显著增加($P < 0.001$);而 Sal B 的干预显著减弱了这些变化趋势($P < 0.001$)。在属水平上,各样品组中相对丰度较高的菌属为粪杆菌属(*Faecalibaculum*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、卟啉菌属(*Porphyromonas*)

等。如图 4 所示,与 Con 组相比,Mod 组小鼠肠道中乳杆菌属的相对丰度显著降低($P < 0.05$),粪杆菌属和双歧杆菌属的相对丰度显著升高($P < 0.001$)。Sal B 的干预能够在降低小鼠肠道中粪杆菌属相对丰度的同时($P < 0.001$),升高乳杆菌属的相对丰度($P < 0.001$)。上述结果表明,Sal B 能够部分恢复肝损伤小鼠的肠道菌群紊乱。

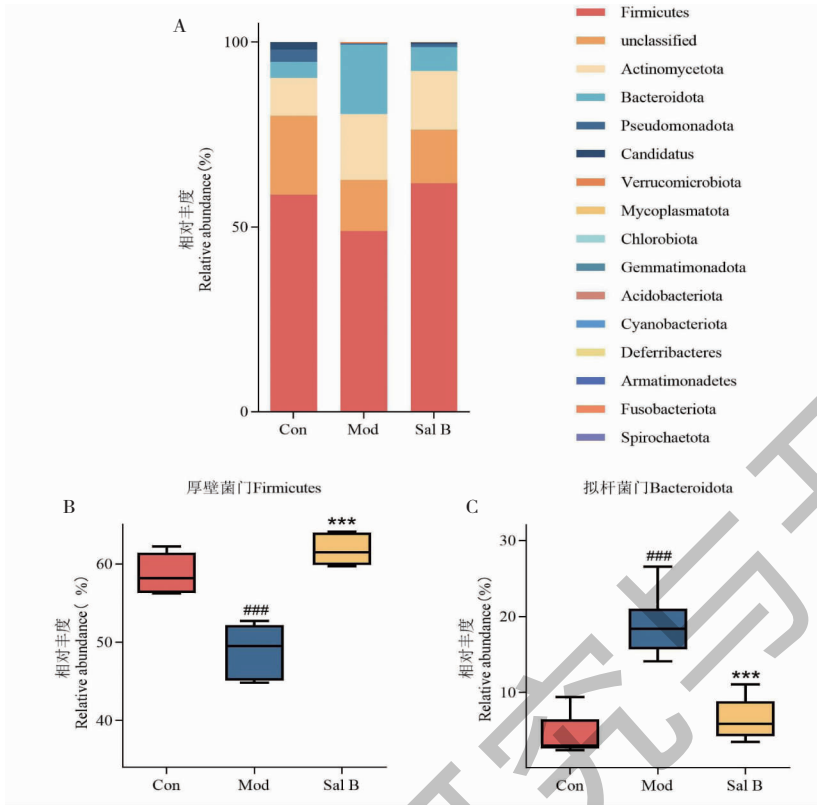


图3 各组小鼠肠道菌群门分类水平的肠道菌群分布(A)及差异比较(B、C)

Fig. 3 Composition (A) and differences (B,C) of intestinal flora at phylum level in each group

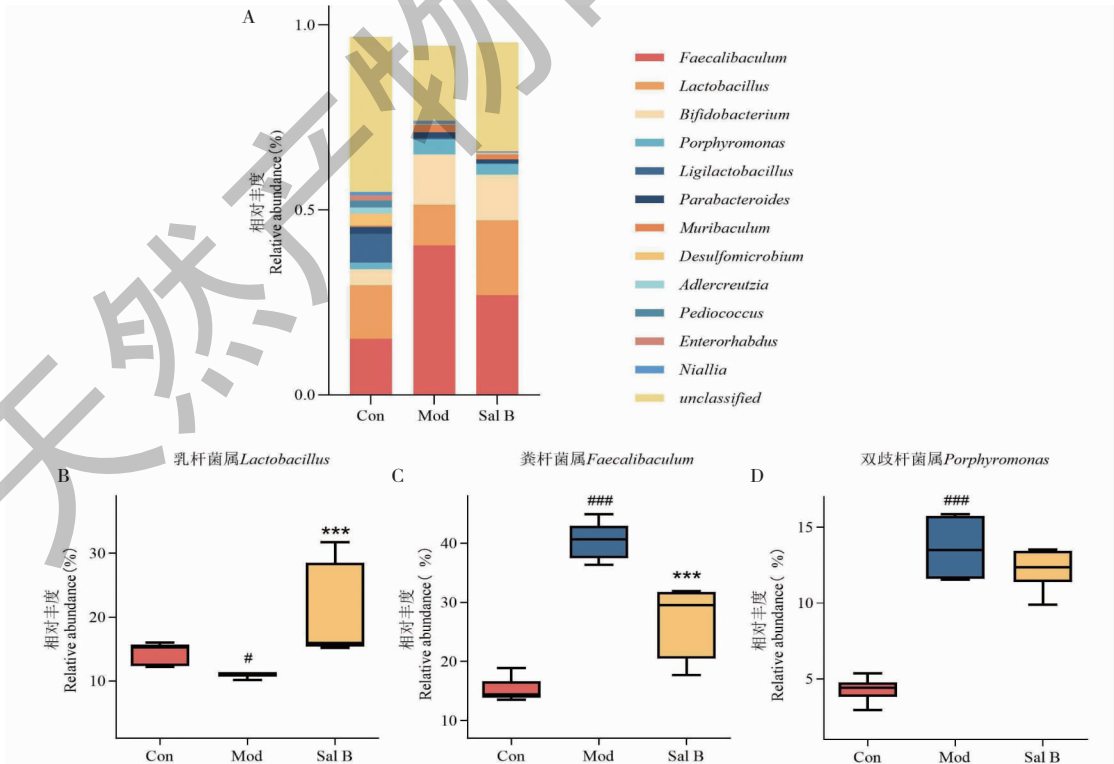


图4 各组小鼠肠道菌群属分类水平的肠道菌群分布(A)及差异比较(B、C、D)

Fig. 4 Composition (A) and differences (B,C,D) of intestinal flora at genus level in each group

2.5 Sal B 对 CCl₄ 诱导的肝损伤小鼠 SCFAs 的影响

根据 GC-MS 结果,各组间肠道中 SCFAs 的含量存在显著差异。按照 Euclidean 聚类算法, Ward. D2 聚类方式对 SCFAs 进行聚类,得到的热图结果如图 5 所示。表 2 的结果表明,与 Con 组相比,Mod 组中

小鼠肠道中乙酸、己酸、异丁酸、异戊酸、丙酸和戊酸的含量均显著降低($P < 0.001$);给予 Sal B 干预,小鼠肠道中异丁酸、异戊酸、丙酸和戊酸的含量能够得到部分恢复($P < 0.001$)。上述结果表明,肝损伤小鼠肠道中存在 SCFAs 含量的降低,而 Sal B 可提高部分 SCFAs 含量。

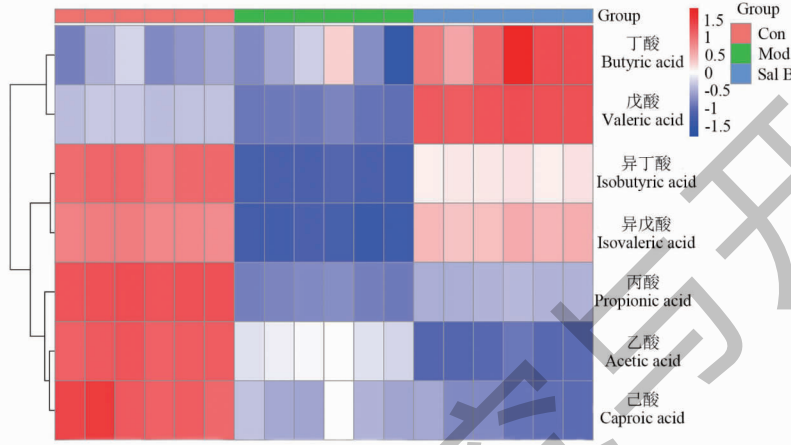


图 5 各组小鼠肠道短链脂肪酸热图

Fig. 5 Heat map of intestinal short-chain fatty acids in each group of mice

表 2 各组小鼠短链脂肪酸含量的比较 (Mean ± SEM, n = 6)

Table 2 Comparison of the contents of short-chain fatty acids in each group (Mean ± SEM, n = 6)

SCFAs	含量 Content (μg/g)		
	Con	Mod	Sal B
异丁酸 Isobutyric acid	23.76 ± 0.16	12.63 ± 0.07 ^{###}	18.29 ± 0.08 ^{**}
异戊酸 Isovaleric acid	17.24 ± 0.06	11.45 ± 0.06 ^{###}	15.95 ± 0.08 ^{***}
丙酸 Propionic acid	285.1 ± 0.66	168.10 ± 0.83 ^{###}	184 ± 0.69 ^{***}
乙酸 Acetic acid	1083 ± 3.33	866.1 ± 4.44 ^{###}	739.5 ± 3.44 ^{***}
己酸 Caproic acid	0.6441 ± 0.02	0.3149 ± 0.01 ^{###}	0.2612 ± 0.01 [*]
丁酸 Butyric acid	163.11 ± 0.32	163.085 ± 0.82	169.22 ± 0.62
戊酸 Valeric acid	23.08 ± 0.05	20.61 ± 0.10 ^{###}	31.77 ± 0.12 ^{***}

3 讨论与结论

肝损伤是各种肝脏疾病的常见病理基础,了解抗急性肝损伤药物的潜在机制可能有助于肝损伤的临床治疗。近年来,肠道菌群的改变被认为在诱导和促进肝功能损伤的过程中发挥了重要的作用,肠道微生物失调、肠壁屏障损伤,以及由肠通透性增加引起的肠源性内毒素血症等会破坏肠道与肝脏之间的平衡关系,进而通过肠-肝轴影响多种肝脏疾病^[10,11]。

Sal B 是临床常用于治疗肝损伤中药丹参的主

要活性成分之一。目前已有研究报道,Sal B 可对 CCl₄、高脂饮食、硫代乙酰胺等诱导的肝损伤有明显的抑制作用,相关的机制研究多集中在抑制肝星状细胞的活化和增殖、肝脏炎症、氧化应激等^[12-14]。本研究通过体内实验在进一步明确 Sal B 对四氯化碳所致肝损伤的干预作用的同时,发现其活性与 Sal B 对肠道微生物群和 SCFAs 的调控有关。本研究的 16S rRNA 测序结果显示,Sal B 的肠道菌群分布位于 Con 组与 Mod 组之间。肝损伤过程中,厚壁菌门与拟杆菌门的比例通常发生变化,前者减少,后者升

高^[15]。本研究中的 Mod 组正是发生了这种失调,而在 Sal B 干预后,这种菌群比例失调得到了显著的恢复。在属水平上,Sal B 干预后显著增加了乳杆菌属的相对丰度,降低了粪杆菌属和双歧杆菌的相对丰度。其中,乳杆菌属被报道具备保护肝脏的能力,可以减轻受损肝脏的炎症和纤维化^[16],这些结果都证明了 Sal B 可以通过调节肠道菌群来减轻肝损伤。

SCFAs 是结肠细胞主要的能量来源,减少局部炎症,并促进细胞产生抗菌肽,这有助于维持肠道屏障,降低肠道通透性。SCFAs 的补充可以通过减少包括细菌内毒素在内的病原相关分子模式的门静脉传播,延缓肝损伤的进展^[17]。本研究通过对小鼠肠道 SCFAs 进行定量分析后发现,Mod 组乙酸、己酸、异丁酸、异戊酸、丙酸和戊酸的含量均显著降低,而 Sal B 的干预使得异丁酸、异戊酸、丙酸和戊酸的水平得到恢复,这可能与前面得出的 Sal B 组肠道菌群中升高的厚壁菌门丰度有关。有研究报道,厚壁菌门占肠道细菌的 60% 左右,其与 SCFAs 的产生密切相关^[18,19]。在 Mod 组和 Sal B 组中均下降的乙酸,我们推测与 *Parabacteroides* 属等能够分泌乙酸的菌群相对丰度降低有关^[20]。除了通过改善肠道屏障缓解肝损伤外,近年来也有文献表明,SCFAs 可通过抑制在肝组织中巨噬细胞促炎性激活,减轻炎症反应,从而改善 NASH 等肝脏疾病^[21,22]。课题组前期研究未观察到 Sal B 对肝损伤小鼠肠道屏障的影响,因此我们推测 SCFAs 改善肝损伤可能与其通过门静脉进入肝脏后直接对肝组织中细胞的作用有关。

综上所述,Sal B 可通过恢复肠道菌群的平衡来抑制 CCl₄ 诱导的小鼠肝损伤。同时,Sal B 能部分恢复肝损伤小鼠肠道 SCFAs 的含量,但这些得以恢复的 SCFAs 如何参与 Sal B 抗肝损伤的过程还需要进一步的研究。

参考文献

- 1 Ingawale DK, Mandlik SK, Naik SR. Models of hepatotoxicity and the underlying cellular, biochemical and immunological mechanism(s): a critical discussion [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37: 118-133.
- 2 Luedde T, Schwabe RF. NF- κ B in the liver-linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 8: 108-118.
- 3 Yin AW, Gao PF. Research progress in application and mechanism of Danshen in the prevention and treatment of liv-

- er disease [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2021, 33: 1057-1062.
- 4 Tao XM, Li D, Zhang C, et al. Salvianolic acid B protects against acute and chronic liver injury by inhibiting Smad2C/L phosphorylation [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21: 341.
- 5 Tao YY, Wang QL, Shen L, et al. Salvianolic acid B inhibits hepatic stellate cell activation through transforming growth factor beta-1 signal transduction pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2013, 238: 1284-1296.
- 6 Xiao Z, Liu W, Mu YP, et al. Pharmacological effects of salvianolic acid B against oxidative damage [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 572373.
- 7 Zheng ZP, Wang BH. The gut-liver axis in health and disease: the role of gut microbiota-derived signals in liver injury and regeneration [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 775526.
- 8 Zhu LR, Li SS, Zheng WQ, et al. Targeted modulation of gut microbiota by traditional Chinese medicine and natural products for liver disease therapy [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1086078.
- 9 Han X, Guo JL, You YL, et al. A fast and accurate way to determine short chain fatty acids in mouse feces based on GC-MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1099: 73-82.
- 10 Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy [J]. *J Hepatol*, 2020, 72: 558-577.
- 11 Ding YF, Yanagi K, Cheng C, et al. Interactions between gut microbiota and non-alcoholic liver disease: the role of microbiota-derived metabolites [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 141: 521-529.
- 12 Liu FB, Li SN, Chen PP, et al. Salvianolic acid B inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis by targeting PDGFR β [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 122: 110550.
- 13 Wang YC, Kong WZ, Jin QM, et al. Effects of salvianolic acid B on liver mitochondria of rats with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21: 10104-10112.
- 14 Tsai MK, Lin YL, Huang YT. Effects of salvianolic acids on oxidative stress and hepatic fibrosis in rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 242: 155-164.
- 15 Acharya C, Bajaj JS. Gut microbiota and complications of liver disease [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2017, 46: 155-169.
- 16 Jantarussamee C, Rodniem S, Taweechotipatr M, et al. Hepatoprotective effect of probiotic lactic acid bacteria on thioacetamide-induced liver fibrosis in rats [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2021, 13: 40-50.