

熊果酸和齐墩果酸的血管药理作用研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

摘要: 熊果酸和齐墩果酸能对抗氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)、C-反应蛋白、非酶糖基化终产物、高糖、H₂O₂、脂多糖对血管内皮细胞的损伤, 其血管药理作用是多方面的。熊果酸和齐墩果酸能抑制血管平滑肌细胞增殖, 也能对抗血清、ox-LDL、高糖、瘦蛋白诱导血管平滑肌细胞增殖, 从而产生血管保护作用和改善血管功能; 减轻糖尿病大鼠的血管损伤, 减轻球囊导管损伤引起的血管狭窄, 抑制静脉桥移植后的血管壁炎症反应和血管外膜成纤维细胞增殖并防止血管狭窄, 以及防止多种实验性动脉粥样硬化模型动物的血管狭窄; 对血管内皮细胞有抑制增殖作用, 也有对抗伤害因子抑制增殖或促进增殖的双向作用, 因此对血管生成也有双向调控作用, 能抑制角膜、糖尿病动物视网膜及肿瘤组织内的血管新生; 还有扩张血管, 降低血管阻力, 对正常的和多种高血压动物有显著的降压作用。

关键词: 熊果酸; 齐墩果酸; 血管内皮细胞; 血管平滑肌细胞; 血管狭窄; 血管生成; 血管扩张

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 10- 1510 - 10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.10.031

Research progress on vascular pharmacologic effects of oleanolic and ursolic acids

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201422, China

Abstract: Ursolic and oleanolic acids antagonize ox-LDL-, C-reactive protein-, non-enzymatic glycation end products-, hyper-glucose-, H₂O₂-, lipopolysaccharide-induced endothelial cell injury, and their vascular pharmacologic effects are in many ways. Ursolic and oleanolic acids can inhibit the proliferation of vascular smooth muscle cells, and antagonize serum-, ox-LDL-, hyper-glucose-, leptin-induced vascular smooth muscle cell proliferation, thus produce vascular protection and improve vascular function; Ursolic and oleanolic acids can relieve diabetic vascular complication in diabetic mellitus rats, and vascular stenosis induced by carotid balloon catheter injury, and suppress the proliferation of vascular adventitial fibroblasts and prevent vascular stenosis induced by various experimental atherosclerosis models; they can also inhibit the proliferation of vascular endothelial cells, and have a dual action to antagonize inhibiting or promoting proliferation induced by various injurious factions. Thus they have a dual role of regulation in angiogenesis, and suppress angiogenesis of cornea, diabetic retina, and tumor tissues, have effects of vascular relaxation and resistance decrease, and have hypotensive effects in normal and various hypertensive animals.

Key words: ursolic acid; oleanolic acid; endothelial cells; vascular smooth muscle cells; vascular stenosis; angiogenesis; vascular relaxation

熊果酸(ursolic acid)和齐墩果酸(oleanolic acid)是一对广泛存在于蔬菜、水果和中草药里的同分异构体, 同属五环三萜酸类化合物, 化学结构的差异仅是齐墩果酸的C-20位上的1个甲基移位到C-19位上, 因此二者的生物活性基本相同。因为是植物中最常见的生物活性成分之一, 倍受关注而被大量研究。结果发现熊果酸和齐墩果酸具有广泛的生物活性, 如抗微生物^[1]、抗炎抗变态反应^[2]、

抗肿瘤、促进毛发生长、黑色素细胞增殖和黑色素生物合成^[3-9]、保护心^[10]、肝^[11]、肾^[9]、肺^[8]、抗糖尿病^[12-14]、调血脂抗肥胖^[15]、抗动脉粥样硬化^[16]、抗肝脂肪变和纤维化^[17]、镇痛、抗焦虑、抗抑郁、改善学习记忆等神经保护作用^[18]、促进骨、肌肉生长、调控免疫功能^[19]及抗骨质疏松^[20]等药理作用。本文综述熊果酸和齐墩果酸的血管药理作用, 为全方位开发熊果酸和齐墩果酸在医药领域的应用, 进

收稿日期: 2017-06-22

作者简介: 张明发, 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: 13816371915 E-mail: 13816371915@139.com

而为新药研发提供依据。

1 保护血管内皮细胞

血管内皮细胞具有多种重要生理功能,如调节血管张力、维持凝血和纤溶系统之间的平衡、调节炎性细胞的聚集、抑制血小板的聚集和活性等。内皮细胞损伤及功能异常是动脉粥样硬化病变形成的始动环节,与冠心病心肌缺血之间存在密切关系,因此保护血管内皮细胞是防治心血管疾病的重要的基本策略。

1.1 熊果酸

苏元镇等^[21-22]报道熊果酸 1.5~6 $\mu\text{mol/L}$ 可浓度相关地提高氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)下降的人脐静脉内皮细胞存活率,并认为是通过下调 Keap 1 基因表达,上调核因子-红细胞系-2-相关因子-2(Nrf2)、醌还原氧化酶-1 以及血红素氧化酶-1(HO-1)的基因和蛋白表达,对抗 ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞氧化应激损伤。郝冉冉等^[23-24]报道熊果酸 5~20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关地提高高浓度 ox-LDL(100 mg/L)下降的人脐静脉内皮细胞存活率,认为熊果酸是通过其抗氧化作用,上调一氧化氮合酶(NOS)、一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)水平,下调丙二醛、 H_2O_2 水平,对抗 ox-LDL 的氧化应激损伤。用电镜观察细胞超微结构时发现熊果酸在对抗 ox-LDL 损伤内皮细胞结构的同时,出现大量的自噬相关结构。Western blotting 试验发现熊果酸本身及熊果酸预保护的內皮细胞上调沉默信息调节因子(SIRT1)的蛋白表达、升高微管相关蛋白-1 轻链-3B II/I 比值和降低 p62 蛋白水平。深入研究发现熊果酸的抗氧化保护作用是通过上调 SIRT1/Atg5,进而激活自噬,保护内皮细胞免遭 ox-LDL 的氧化应激损伤。

而毕娟娟等^[25]报道熊果酸在 5~80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关地抑制人脐静脉内皮细胞增殖,半数抑制浓度(IC_{50})为 20 $\mu\text{mol/L}$ 。电镜下可见熊果酸使内皮细胞出现大量空泡状结构、包含部分胞浆成分形成双层结构的自噬体以及大量未降解完全细胞器的自噬溶酶体,也上调与自噬有关的蛋白微管相关蛋白-1 轻链-3 蛋白、微管相关蛋白-1 轻链-3B 和 beclin 1 基因表达,而 3-甲基腺嘌呤(自噬抑制剂)对抗熊果酸的这些上调作用,且增强熊果酸对内皮细胞的增殖抑制作用,即抑制熊果酸自噬作用明显增强熊果酸诱导人脐静脉内皮细胞死亡,也就是说熊果酸通过诱导自噬为细胞提供能量,维持细胞生存,

起到保护血管内皮细胞作用。孔德新^[26]经过研究后认为熊果酸通过其不饱和基团共价氧与 Rho 相关的卷曲蛋白激酶(ROCK)活性位点赖氨酸及酪氨酸残基以氢键形式相结合,抑制 ROCK 磷酸化,提高过氧化物酶体增殖子激活受体- γ (PPAR γ)基因和蛋白表达,降低趋化因子配体-16 及活性氧生成,对抗 ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞的氧化应激损伤。由于熊果酸对抗白介素-6(IL-6)促进肝细胞过度表达 C-反应蛋白,从而可以降低血浆 C-反应蛋白水平。熊果酸也能对抗 C-反应蛋白促进人脐静脉内皮细胞表达血管黏附分子-1 和凝集素样 ox-LDL 受体-1(LOX-1)并诱导其增殖^[27-28]。即熊果酸可通过对抗 C-反应蛋白,减少 ox-LDL 受体蛋白,降低 ox-LDL 对内皮细胞的损伤。另外熊果酸还能抑制体外 ox-LDL 形成^[29-30]。

吴佳蕾^[31]报道熊果酸在 0.5~10 $\mu\text{mol/L}$ 时通过提高内皮细胞中的 SOD、NO 水平,降低丙二醛、内皮素、血管紧张素 II、转化生长因子- β 、白介素-1 β (IL-1 β)和活性氧水平,对抗非酶糖基化终产物及其成分之一的甲基赖氨酸对人脐静脉内皮细胞增殖的抑制作用。熊果酸不仅能对抗非酶糖基化终产物对血管内皮细胞的损伤,而且能抑制非酶糖基化终产物形成。王建梅等^[32]和 Yin 等^[33]报道熊果酸在 10~40 $\mu\text{mol/L}$ 可浓度相关地抑制高浓度葡萄糖对蛋白质非酶糖基化反应,使糖化白蛋白形成呈浓度相关地减少。由于熊果酸对糖基化早期产物果糖胺生成无抑制作用,提示熊果酸是通过阻滞深度糖基化反应抑制非酶糖基化终产物形成,对抗高血糖对血管内皮细胞的损伤。熊果酸的降血糖作用可间接减少非酶糖基化终产物形成而保护血管内皮细胞^[13-14]。熊果酸还下调磷酸酶及张力蛋白同源蛋白(PTEN)水平和激活磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路,促进内皮型 NOS 表达和 NO 合成,降低活性氧水平,对抗 H_2O_2 降低人脐静脉内皮细胞存活率^[34]。熊果酸也能抑制内皮细胞还原型烟酰胺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX)亚单位-4(NOX4)表达,使活性氧生成减少而保护 NO 免遭活性氧灭活^[35],产生内皮细胞保护作用。

1.2 齐墩果酸

王道艳等^[36-37]报道齐墩果酸 5~20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关地对抗 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化应激损伤,即提高细胞存活率,抑制丙二醛和活性氧形成,提高 SOD 和还原型谷胱甘肽水平。作

用机制研究发现齐墩果酸通过抑制 LOX-1/NOS/活性氧 (ROS), 进一步激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 产生内皮细胞保护作用。王巧云等^[38-40]报道齐墩果酸 5~40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关地对抗 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化应激损伤, 即提高细胞存活率、细胞内过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、NOS 和 NO 水平, 降低线粒体的 NOS、NO、细胞色素-C 和活性氧水平, 并认为齐墩果酸是通过上调 TBX20、PPAR γ 、对氧磷酶-2 的基因和蛋白表达, 产生对抗 ox-LDL 对细胞的损伤作用。

而 Kong 等^[41]认为齐墩果酸是通过上调非偶联蛋白-2 表达, 抑制活性氧/细胞色素-C/凋亡诱导因子的线粒体凋亡通路, 保护人脐静脉内皮细胞免遭 ox-LDL 的细胞毒损伤。齐墩果酸在体外也能抑制 ox-LDL 形成^[29-30]。齐墩果酸在 0.5~10 $\mu\text{mol/L}$ 时通过提高内皮细胞中的 SOD、NO 水平, 降低丙二醛、内皮素、血管紧张素 II、转化生长因子- β 、IL-1 β 和活性氧水平, 对抗非酶糖基化终产物及其成分之一的甲基赖氨酸对人脐静脉内皮细胞增殖的抑制作用。齐墩果酸不仅能对抗非酶糖基化终产物对血管内皮细胞的损伤, 而且能抑制非酶糖基化终产物形成^[31]。Yin 等^[33]还报道齐墩果酸在体外也有抑制蛋白质非酶糖基化的作用。抗炎作用也是齐墩果酸保护血管内皮细胞的作用机制之一。Lee 等^[42]报道齐墩果酸能抑制乙酸提高毛细血管通透性和羧甲基纤维素诱导白细胞迁移, 也能抑制脂多糖诱导细胞黏附分子表达和单核细胞黏附/跨内皮迁移, 对抗脂多糖激活核因子- κB (NF- κB) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导人脐静脉内皮细胞的前炎症反应。Yang 等^[43]报道齐墩果酸是通过下调人脐静脉内皮细胞表达高移动性组盒-1 (HMGB1) 表达, 抑制脂多糖促进 HMGB-1 释放, 也抑制 HMGB-1 促进单核细胞迁移和黏附于被激活的人脐静脉内皮细胞, 从而抑制 NF- κB 和 TNF- α 生成的前炎症反应。

2 抑制血管平滑肌细胞增殖

2.1 齐墩果酸

王玄^[44]报道齐墩果酸在对大鼠血管平滑肌细胞无毒浓度 10、20、30 $\mu\text{mol/L}$ 时浓度相关地抑制血清诱导的血管平滑肌细胞增殖, 并认为齐墩果酸是通过上调 SIRT1 (哺乳动物中与酵母菌沉默信息调节因子 2 同源性最高的同系物) 表达, 下调早幼粒白血病基因 (PML)、原癌基因 (c-fos 和 c-jun) 表达, 抑制细胞增殖。而 Han 等^[45]报道齐墩果酸是

通过促进长链非编码 RNA-p21 表达, 抑制血管平滑肌细胞增殖。王玉^[46]报道齐墩果酸通过上调血管平滑肌细胞的非偶联蛋白-2 的表达, 促进其下游纤维生长因子-2, 从而抑制 p53/TSP-1 (凝血酶敏感蛋白-1) 信号通路, 抑制 ox-LDL 致血管平滑肌细胞大量增殖。

2.2 熊果酸

王建梅等^[47]报道熊果酸 10~40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关地抑制高浓度葡萄糖激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 磷酸化, 从而下调 fos 的表达, 对抗葡萄糖诱导大鼠血管平滑肌细胞增殖。王文隆等^[48]报道熊果酸浓度 10、25 $\mu\text{mol/L}$ 通过下调信号转导与转录激活因子-3 (STAT3) 磷酸化, 抑制大鼠血管平滑肌细胞增殖。而 Jiang 等^[49]报道熊果酸还可抑制微小 RNA-21 表达, 然后促进一种新的肿瘤抑制基因 PTEN 基因表达, 抑制 PI3K 表达的信号通路, 产生抗血管平滑肌细胞增殖作用。熊果酸本身能诱导大鼠血管平滑肌细胞凋亡, 也能抑制瘦蛋白诱导大鼠血管平滑肌细胞增殖^[50]。熊果酸也可通过抑制血管平滑肌细胞的趋化性, 抑制增殖细胞核抗原表达, 破坏 β -微管蛋白和波形蛋白等细胞支架蛋白, 抑制细胞增殖^[51]。

3 调控血管生成

以上资料显示熊果酸和齐墩果酸均能抑制血管平滑肌细胞增殖, 但对血管内皮细胞既有抑制增殖, 也有对抗伤害因子抑制增殖、提高细胞存活率或对抗伤害因子促进增殖的双向作用。

李伟等^[52]报道熊果酸浓度 (31.5~500 mg/L) 和时间相关地抑制人脐静脉内皮细胞增殖的作用机制, 可能是抑制了 ERK 信号转导通路中的 ERK1、原癌基因 (c-Jun 和 c-Myc)、细胞周期蛋白 D1 的基因和蛋白表达。熊果酸还可通过损伤内皮细胞的 DNA, 然后激活 p53、半胱天冬酶依赖性线粒体凋亡通路, 抑制内皮细胞增殖并诱导凋亡^[53], 但熊果酸似乎更是血管形成调节剂, 因为它可通过激活 PI3K-Akt 通路, 促进体外培养的人脐静脉内皮细胞表达黏附分子 (如 E-选择素、CD31 和细胞间黏附分子), 上调血管生长因子 [如成纤维细胞生长因子-2 和血管内皮生长因子 (VEGF)] 及它们的受体, 并引起 PGE2/PGD2 比值升高, 也能通过基质金属蛋白-2 和尿激酶降解细胞外基质, 促进血管形成。也可通过抑制内皮细胞增殖、迁移和分化, 抑制血管形成^[54-55]。Lee 等^[56]报道熊果酸也通过增加 eNOS

表达和 NO 生成,促进动脉内皮细胞表达同种移植炎症因子-1 (AIF-1),刺激内皮细胞迁移和管状形成,诱导缺血区血管再生,形成侧枝血液循环。熊果酸对 NO 的生成具有双向调节作用。提示熊果酸和齐墩果酸对血管生成可能也有双向调控作用。

3.1 抑制血管生成

王杰军等^[57]报道熊果酸浓度(31.3~500 mg/L)相关地抑制牛主动脉血管内皮细胞增殖、迁移和管状形成。Sohn 等^[58]报道熊果酸抑制牛主动脉血管内皮细胞增殖的 IC₅₀ 为 5 μmol/L,也能浓度相关地抑制鸡胚绒毛膜的血管形成。陈锡强等^[59]报道熊果酸 5、10 mg/L 可引起转基因斑马鱼胚胎背部节间荧光血管残缺或缺失,抑制率分别为 20.25%和 26.65%,也能浓度(5、10、15 mg/L)相关地抑制在斑马鱼中移植的人肠腺癌 HT-29 诱导肠下静脉血管生成。熊果酸可能是通过阻滞血管内皮生长因子受体-2 (VEGFR2) 表达,抑制斑马鱼生理性和移植癌引起的血管生成。熊果酸也能抑制低氧培养基诱导神经母细胞瘤血管形成^[60],抑制人肺腺癌 A549 移植瘤组织新生血管形成和 VEGF 表达^[61]。

齐墩果酸也抑制神经胶质瘤的血管形成^[62], Lin 等^[63]报道齐墩果酸和熊果酸在浓度 2、4 μmol/L 时显著抑制人肝癌 Hep3B、Huh7、HA22T 细胞表达缺氧诱导因子-1α、VEGF、IL-8、尿激酶型纤溶酶原激活子(uPA),并认为该作用与它们抗肝癌内血管形成有关。曾丽娜^[64]给大鼠缝线诱导角膜新生血管手术当天开始,每天 4 次点滴 0.2%、0.4%、0.6% 熊果酸滴眼液,结果呈浓度和时间相关地抑制大鼠角膜新生血管面积增大和炎性细胞浸润,并认为熊果酸是通过下调 VEGF、基质金属蛋白酶-2 的表达,起到抑制角膜新生血管生长的作用,0.6%熊果酸滴眼液的作用强度与 0.1%地塞米松磷酸钠滴眼液相当。

王博等^[65]报道给同种异体角膜移植大鼠手术当天 ip 熊果酸 20 mg/kg 连续 12 d,显著降低角膜移植后植片中的 IL-2、γ-干扰素、NF-κB、细胞间黏附分子-1 及 VEGF 的含量,抑制角膜新生血管形成与排斥反应(炎症反应),从而延长大鼠角膜植片的存活天数,较对照组的 9.67 d 延长约 2 倍(29.12 d)。Mitsuda 等^[66]报道熊果酸抑制 IL-1α 诱导人脐静脉内皮细胞和肿瘤细胞表面表达细胞间黏附分子-1,主要是通过诱导细胞间黏附分子-1 与高甘露糖型聚糖结合并集聚在内质网中,从而阻滞细胞内黏附分子蛋白转移,而下调细胞表面表达细胞间黏

附分子-1。

Skopinski 等^[67]报道熊果酸 200 mg/L 能强烈抑制前血管生成刺激剂(糖尿病并发非增殖性视网膜病患者血清)诱导小鼠血管新生。于爱忠^[68]报道给链脲霉素性糖尿病并视网膜病变小鼠 ig 熊果酸 50 mg/kg 连续 4 周,在对抗胰岛素抵抗的同时,降低视网膜内的糖和葡萄糖转运体-1、葡萄糖转运体-3、缺氧诱导因子-α、VEGF、VEGFR2、IKKβ、IκBα、NF-κB、TNF-α、细胞间黏附分子-1、E-选择素含量,即通过抑制视网膜组织中 HIF-α/VEGF/VEGFR2 通路和 IKKβ/IκBα/NF-κB 通路,抑制链脲霉素诱导的糖尿病小鼠视网膜组织中的血管新生和炎症反应。贺玲等^[69]报道给小鼠玻璃体内注射熊果酸 1.5、3.0、6.0 μg/L 各 3 μL,可剂量相关地减轻氧诱导小鼠视网膜病变。熊果酸通过下调视网膜组织中的 VEGF、环氧化酶-2 及基质金属蛋白酶-2 的表达,减少突破视网膜内界膜的新生血管内皮细胞核数和新生血管腔形成。

熊果酸抑制血管平滑肌细胞和血管内皮细胞增殖还可能与熊果酸减少内皮祖细胞数量和抑制内皮祖细胞增殖、迁移、黏附和分泌 VEGF、粒细胞集落刺激因子功能有关。糖皮质激素受体拮抗剂能对抗熊果酸的这些抑制作用,提示熊果酸可能通过糖皮质激素样作用抑制内皮祖细胞数量增多和功能发挥^[70]。

3.2 保护血管、抑制血管狭窄

王建梅等^[71]报道当链脲霉素诱导的糖尿病大鼠的血管损伤处在氧化应激早期阶段时,血清 NO 和丙二醛水平明显升高。给此种糖尿病大鼠 ig 熊果酸 25、50 mg/kg 8 周,可以明显抑制 NO 和丙二醛升高,而且显著改善糖尿病大鼠主动脉血管组织形态和降低血糖;并认为熊果酸是通过抗氧化,降低体内氧化应激水平,抑制 NF-κB 的过度激活,减轻糖尿病大鼠的血管损伤,而降低血清 NO 水平,提示熊果酸可能有抑制诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达作用,因为齐墩果酸抑制载脂蛋白 E 敲除小鼠的 iNOS 表达^[72]。进一步研究发现,熊果酸通过抑制氧化应激,阻滞晚期糖基化终产物-NADPH 氧化酶-NF-κB 信号通路,对抗链脲霉素诱导的糖尿病大鼠主动脉中晚期糖基化终产物、晚期糖基化终产物受体蛋白、核因子-κB p65 和 NADPH 氧化酶的 p22phox 亚基水平和 TNF-α、果糖胺、糖基化血红蛋白以及血糖水平升高,从而减轻糖尿病大鼠的血

管损伤^[73]。

朱保成等^[74]报道在给大鼠颈总动脉行球囊导管损伤前 2 d, ip 熊果酸 10、20 mg/kg 给药 7 d 或 21 d, 能减少受损颈动脉内膜增生面积及内膜与中膜面积比, 降低受损血管的增殖细胞核抗原和 NF- κ B 的表达, 但连续 21 d 给药的 2 个剂量组上述减轻血管狭窄作用显著。Pozo 等^[51]报道了相同实验方法和相同的实验结果: 但熊果酸剂量为 6 mg/kg 连续给药 10 d, 抑制血管表达增殖细胞核抗原和降低内膜与中膜面积比, 使血管狭窄程度下降 80%。

刘盛华等^[75-76]报道取大鼠自身颈外静脉作静脉桥移植到颈总动脉, 自手术第 1 天开始每天 ig 熊果酸 15、30 mg/kg 共 4 周, 发现从给药第 1 周开始, 2 个剂量组熊果酸能抑制静脉桥内膜和中膜的厚度逐渐增厚、内膜和中膜细胞增殖, 诱导内膜细胞凋亡; 30 mg/kg 剂量组的作用优于 15 mg/kg 剂量组, 但 2 个剂量组均不诱导中膜细胞凋亡; 并认为熊果酸是通过抑制静脉移植后的血管壁的炎症反应(抑制 NF- κ B 活化, 下调单核细胞趋化蛋白-1、IL-1 α 、IL-6、TNF- α 的基因表达), 有效防止静脉桥狭窄。最近刘盛华等^[77]采用体外实验发现熊果酸在 15、30、45 μ mol/L 浓度相关地抑制转化生长因子- β 1 诱导大鼠胸主动脉外模成纤维细胞增殖, 抑制率分别为 6.5%、14.4%、25.0%, 认为这也是熊果酸防止血管旁路移植术后桥血管再狭窄机制之一。Zeller 等^[50]报道熊果酸通过抑制 NF- κ B 下游的血管细胞黏附分子-1 表达, 减少 CD45 阳性细胞浸润静脉桥, 以及促进血管平滑肌细胞凋亡, 从而抑制内膜增生, 防止血管狭窄发生。

动脉粥样硬化也是一种血管狭窄, 早在 1979 年 Parfenteva 等首先报道熊果酸防止兔和大鼠实验性动脉粥样硬化形成^[78]。1991 年, 武继彪等^[79]报道给鹌鹑喂齐墩果酸 30、60 mg/kg, 共 8 周, 在调血脂同时显著预防高脂饲料致动脉粥样硬化斑块形成, 斑块形成率分别为 4/10 和 3/10, 明显低于高脂对照组的 9/10。光镜检查, 发现齐墩果酸组动脉中突出于内膜表面的脂质斑块、斑块处内皮细胞脱落数、内皮增厚、泡沫细胞数、中膜平滑肌细胞排列紊乱程度都明显低于高脂对照组, 并且防止动脉壁的总胆固醇、游离胆固醇、胆固醇酯含量和胆固醇酯/游离胆固醇、胆固醇酯/总胆固醇比值升高, 以及提高游离胆固醇/总胆固醇比值。Somova 等^[80]用盐敏感的、胰岛素抵抗的遗传性大鼠实验, 也发

现含齐墩果酸和熊果酸的洋橄榄叶提取物也能阻止模型大鼠出现严重高血压、动脉粥样硬化, 并改善胰岛素抵抗。Ullevig 等^[81]采用链脲霉素加高脂饲料制作的低密度脂蛋白缺乏的并患进行性动脉粥样硬化小鼠进行实验, 发现如在高脂饲料中添加 0.2% 熊果酸或白藜芦醇喂饲 11 周, 都能防护进行性动脉粥样硬化发生, 其中熊果酸的保护作用更好, 动脉损伤形成减少 53%, 而白藜芦醇组减少 31%。Buus 等^[72]给喂高胆固醇饲料的载脂蛋白 E 敲除的 ApoE^(-/-)小鼠 ig 齐墩果酸 100 mg/(kg·d) 或氟伐他汀 5 mg/kg, 8 周后虽不能明显降低血浆总胆固醇和三酰甘油浓度, 但减少主动脉弓动脉粥样硬化斑块形成面积, 齐墩果酸组斑块形成面积仅占 14%, 而氟伐他汀组和溶剂对照组分别占 19% 和 25%。可是, Messner 等^[53]报道给 ApoE^(-/-)小鼠 ig 熊果酸反而促进动脉粥样硬化斑块形成, 且降低对动脉粥样硬化有保护作用的细胞因子 IL-5 的血清水平。

杨晓龙等^[82]在给大鼠 ip 维生素 D3 加喂饲高脂饲料制作动脉粥样硬化模型过程同步开始 ig 熊果酸 10、20、40 mg/kg, 共 12 周, 可剂量相关地降低动脉粥样硬化大鼠主动脉病变分级, 即减轻内皮细胞受损、慢性炎症病变、泡沫细胞和斑块形成, 但只有 40 mg/kg 剂量组作用达到显著程度。由于熊果酸也剂量相关地降低模型大鼠升高的心脏指数, 降低血清升高的总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇、丙二醛、C-反应蛋白、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平, 升高血清高密度脂蛋白胆固醇、SOD、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、IL-10 水平, 且这些改善作用在 20 mg/kg 剂量组能达到显著程度, 说明熊果酸是通过调血脂、抑制炎症反应和对抗氧化应激损伤机制, 产生抗动脉粥样硬化作用。Lin 等^[83]报道熊果酸还可通过减少细胞内 ROS 生成, 抑制 NF- κ B 的核易位, 下调血管细胞黏附分子-1、细胞间黏附分子-1、E-选择素表达, 对抗肥胖因子抵抗素诱导单核细胞与内皮细胞黏附, 产生抗动脉粥样硬化作用。而 Feng 等^[84]报道齐墩果酸还可通过活化 Akt 和 ERK, 激活 Nrf2, 浓度和时间相关地诱导大鼠血管平滑肌细胞表达 HO-1, 并增强 HO-1 活性, 产生抗动脉粥样硬化。

4 松弛血管和抗高血压

熊果酸和齐墩果酸对多种实验性高血压动物有降压作用, 提示有松弛血管作用。Somova 等^[85-86]首先报道熊果酸和齐墩果酸有抗高血压作用: 给

Dahl 盐敏感性 (DSS) 高血压模型大鼠 ip 熊果酸或齐墩果酸 60 mg/kg, 共 6 周, 虽然无直接降压作用, 但能防止严重高血压发生, 并认为抗高血压作用与它们的抗氧化、降血糖、降高血脂、利尿及 β -肾上腺素受体拮抗作用有关。熊果酸与罗格列酮联用不仅能改善高脂饲料性肥胖小鼠的糖代谢、脂代谢, 而且能降低模型小鼠升高的收缩压和舒张压, 且这些作用较单独应用熊果酸或罗格列酮更强^[87]。

4.1 齐墩果酸

Mapanga 等^[88]报道给大鼠 ig 齐墩果酸 60 mg/kg, 2 次/d 共 5 周, 能降低非糖尿病大鼠和链脲霉素诱导的糖尿病大鼠的平均动脉压, 促进尿 Na^+ 排泄, 提高肌酐清除率, 降低血浆肌酐浓度。Bachhav 等^[89]报道预先 ip 齐墩果酸 60 mg/kg 连续 5 d, 通过其抗氧化和释放 NO 作用, 阻滞糖皮质激素地塞米松升高大鼠收缩压和心脏过氧化脂质水平。他们又采用左旋硝基精氨酸甲酯抑制 NO 合成制作的高血压大鼠模型, 在用左旋硝基精氨酸甲酯造模同时 ip 齐墩果酸 60 mg/kg 共 4 周, 可延迟模型大鼠血压升高, 因为仅轻度升高血清 NO 水平, 由于齐墩果酸能防止左旋硝基精氨酸甲酯升高血清肌酐水平和减少尿量、尿 Na^+ 、 K^+ 水平的作用发生, 认为齐墩果酸是通过利尿和肾脏保护作用降低 NO 缺乏性高血压^[90]。

Madlala 等^[91]对齐墩果酸及其衍生物保护遗传性高血压大鼠肾功能进行研究, 发现给正常大鼠静滴 1.5 h 齐墩果酸、齐墩果酸甲酯或溴化齐墩果酸 135 μg , 都能显著降低正常血压大鼠平均动脉压, 停药 1.5 h 血压不恢复到原来水平, 与此同时也增加尿 Na^+ 排泄率, 但不影响尿 K^+ 排泄率、尿流速和肾小球滤过率。其中溴化齐墩果酸的降压和尿 Na^+ 排泄作用较齐墩果酸更强。由于齐墩果酸及其衍生物还增加锂和钠的排泄率, 认为齐墩果酸是通过抑制近曲小管的钠重吸收, 产生利钠作用。他们又给正常血压大鼠和自发性高血压大鼠 (SHR)、DSS 高血压大鼠较长时间 (9 周) ig 齐墩果酸 30、60、120 mg/kg, 从给药第 3 周开始显著降低 3 种大鼠的平均动脉压直至 9 周实验结束, 但 3 个剂量组的降压作用非剂量相关。在高血压大鼠中降压作用更明显, 其中降 DSS 大鼠血压作用更强。在 9 周实验期间齐墩果酸都能增加 3 种大鼠的尿 Na^+ 排泄率、肾小球滤过率和降低血浆肌酐浓度, 但不影响尿流出率、水摄入量和体质量。尿 Na^+ 排泄率增加与平均

动脉压降低呈线性关系。在正常大鼠和 SHR 大鼠中齐墩果酸引起尿 Na^+ 排泄率增加不影响血浆 Na^+ 浓度, 但在 DSS 大鼠中齐墩果酸增加尿 Na^+ 排泄率与高血 Na^+ 基线相关, 治疗后高血 Na^+ 消除, 这可能是齐墩果酸增加 DSS 大鼠尿 Na^+ 排泄率作用最强, 导致降血压作用最强的原因。齐墩果酸还显著降低高血压大鼠的血浆醛固酮浓度, 不影响精氨酸加压素的分泌, 由于齐墩果酸显著降低 2 种高血压大鼠心、肝、肾组织中升高的丙二醛水平, 并提高低下的 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶活性, 认为齐墩果酸是通过其抗氧化作用产生保护肾组织及其提高肾功能后导致血压下降。

Madlala 等^[92]接着又报道齐墩果酸、齐墩果酸甲酯或溴化齐墩果酸对心脏无负性肌力作用, 能松弛苯肾上腺素或 KCl 预收缩的主动脉或肠系膜动脉, 去内皮或环氧化酶抑制剂吲哚美辛仅能部分对抗它们的松弛作用, 而 NOS 抑制剂左旋硝基精氨酸甲酯不对抗它们的血管松弛作用, ATP 依赖性通道抑制剂格列苯脲和电压依赖性 K^+ 通道抑制剂 4-氨基吡啶联用可完全对抗它们的血管松弛作用, 所以认为齐墩果酸及其衍生物是通过与环氧化酶有关的内皮依赖性和血管平滑肌细胞 K^+ 通道有关的非内皮依赖性双重松弛作用, 降低血管阻力, 产生抗高血压作用。Martinez-Gonzalez 等^[93]用冠状动脉平滑肌细胞进行实验, 发现齐墩果酸能诱导 MAPK 磷酸化, 激活 cAMP 应答元件结合蛋白, 上调环氧化酶-2 表达, 时间和浓度相关地诱导前列环素合成和释放, 且不诱导血栓素 A2 合成和释放。而前列环素有扩张血管和抗血小板聚集作用。Rodriguez-Rodriguez 等^[94-96]报道齐墩果酸在 3~30 $\mu\text{mol/L}$ 对正常和高血压大鼠的主动脉及肠系膜动脉有松弛作用, 并提高血管 NO 浓度。深入研究发现齐墩果酸是通过时间依赖性增加蛋白激酶 B 上丝氨酸 437 (Akt-Ser437) 的磷酸肌醇-3 激酶 (PI3K) 依赖性磷酸化反应, 促进内皮 NOS 上的丝氨酸 1177 (eNOS-Ser1177) 磷酸化, 提高 NO 合成和释放。而 NO 不仅松弛血管平滑肌产生降压作用, 也能抑制肾小管的 Na^+ 重吸收产生增加肾脏 Na^+ 排泄的利尿作用。

4.2 熊果酸

Aguirre-Crespo 等^[97]报道熊果酸 0.03~110 $\mu\text{mol/L}$ 可浓度和内皮相关地松弛离体大鼠胸主动脉环, IC_{50} 为 44.15 $\mu\text{mol/L}$ 。熊果酸在 30 $\mu\text{mol/L}$ 时

使去甲肾上腺素的收缩曲线显著右移,但对 KCl 引起的血管收缩无松弛作用。熊果酸在 3 $\mu\text{mol/L}$ 时使硝普钠的松弛血管曲线显著左移,但不影响卡巴胆碱引起的松弛曲线。左旋硝基精氨酸甲酯和可溶性鸟苷酸环化酶抑制剂 ODQ 都能阻滞熊果酸的血管松弛作用,提示熊果酸的血管扩张作用是通过内皮相关性释放 NO,随后激活血管平滑肌可溶性鸟苷酸环化酶,促进环磷酸鸟苷形成,而产生血管松弛作用。Li 等^[98]认为熊果酸能上调 NOS 表达和维护 NOS 活性,促进 NO 合成和释放。

以上资料显示熊果酸和齐墩果酸主要是通过调控血管 NO 系统产生松弛血管、降血压、防治动脉粥样硬化和血管狭窄。

5 结语

熊果酸和齐墩果酸能对抗 ox-LDL、C-反应蛋白、非酶糖基化终产物、高糖、 H_2O_2 、脂多糖对血管内皮细胞的损伤。熊果酸和齐墩果酸本身能抑制血管平滑肌细胞增殖,也能对抗血清、ox-LDL、高糖、瘦蛋白诱导血管平滑肌细胞增殖,从而产生血管保护作用和改善血管功能。熊果酸和齐墩果酸减轻糖尿病大鼠的血管损伤,减轻球囊导管损伤引起的血管狭窄,抑制静脉桥移植后的血管壁炎症反应和血管外膜成纤维细胞增殖并防止血管狭窄,以及防止多种实验性动脉粥样硬化模型动物的血管狭窄。熊果酸和齐墩果酸对血管内皮细胞有抑制增殖作用,也有对抗伤害因子抑制增殖或促进增殖的双向作用,因此对血管生成也有双向调控作用,能抑制角膜、糖尿病动物视网膜及肿瘤组织内的血管新生。熊果酸和齐墩果酸有扩张血管,降低血管阻力,对正常的和多种高血压动物有显著的降压作用。

熊果酸和齐墩果酸除能抑制肿瘤组织内的血管新生外,本身还具有广谱、直接的抗肿瘤和免疫调节作用^[3-9]。肿瘤是一种患病人数众多、耗费社会资源和增加家庭负担的慢性疾病。熊果酸和齐墩果酸是来源于天然植物的有效成分,毒性较低,因此熊果酸和齐墩果酸的对抗多种肿瘤细胞作用可以深度挖掘,最好能作为肿瘤病人长期应用的基础药物来开发。熊果酸和齐墩果酸除能防治各种血管狭窄及降压外,还具有降血糖抗糖尿病并发症^[12-14],调血脂抗肥胖^[15],抗动脉粥样硬化^[16],抗肝脂肪变和纤维化^[17]以及心^[10]、肝^[11]、肾^[9]、肺^[8]、脑和神经^[18]保护作用,而这些都是现代社会里发病非常高、而又缺少特效药的常见病。因此药品生产企业

与研发机构可以将熊果酸和齐墩果酸开发成防治代谢综合征、心脑血管病以及并发症的保健品或者药物,将会有非常广阔的市场,而且使大众受益。

参考文献

- [1] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗微生物和原虫药理研究进展 [J]. 抗感染药学, 2010, 7(3): 153-156.
- [2] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(4): 235-240.
- [3] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的抗消化系肿瘤作用 [J]. 上海医药, 2011, 32(12): 606-611.
- [4] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗性器官和呼吸系统肿瘤作用 [J]. 中国性科学, 2011, 20(12): 15-18, 28.
- [5] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗皮肤癌与白血病药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2012, 9(3): 177-181.
- [6] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗脑瘤作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(1): 132-135.
- [7] 张明发,沈雅琴. 女贞子及其有效成分药理作用与皮肤科临床应用的进展 [J]. 抗感染药学, 2013, 10(4): 258-264.
- [8] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的肺功能保护和抗肺癌作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(5): 961-965.
- [9] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的泌尿系药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 304-312.
- [10] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的心脏保护作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(3): 489-493.
- [11] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸保肝药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2012, 9(1): 13-19.
- [12] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸降血糖和抗糖尿病并发症的作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2015, 12(6): 801-806.
- [13] 张明发,沈雅琴. 熊果酸降血糖的药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(1): 8-12.
- [14] 张明发,沈雅琴. 熊果酸抗糖尿病并发症的药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2016, 13(2): 247-251.
- [15] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸调血脂抗肥胖药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(1): 90-97.
- [16] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸抗动脉粥样硬化作用 [J]. 上海医药, 2014, 35(23): 73-80.
- [17] 张明发,沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗肝脂肪变和纤维化作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(2): 270-278.
- [18] 张明发,沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的神经精神药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(5): 570-576.
- [19] 张明发,沈雅琴. 女贞子及其活性成分促生长增体质

- 作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(3): 474-481.
- [20] 张明发, 沈雅琴. 女贞子及其活性成分抗骨质疏松症的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(6): 566-571.
- [21] 苏元镇. 熊果酸对 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用及其机制的研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2014.
- [22] 苏元镇, 王春波, 辛 辉, 等. 熊果酸对 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞 NQO1 表达的影响 (英文) [J]. 现代生物医学进展, 2014(14(11)): 2019-2023.
- [23] 郝冉冉, 王晨静, 仲伟珍, 等. 熊果酸对 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(4): 29-32.
- [24] 郝冉冉. 熊果酸通过 SIRT1/Atg5 激活自噬对 ox-LDL 诱导 HUVECs 氧化损伤的保护作用 [D]. 青岛: 青岛大学, 2015.
- [25] 毕娟娟, 何 林, 余 音, 等. 自噬在熊果酸抑制人脐静脉内皮细胞增殖中的作用 [J]. 中国生物制品学杂志, 2012, 25(3): 294-299.
- [26] 孔德新. 熊果酸经 ROCK/PPAR γ /CXCL16 信号通路对 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用 [D]. 青岛: 青岛大学, 2016.
- [27] 金 越, 吕圆圆, 刘克辛, 等. 熊果酸抑制 HepG₂ 中 C-反应蛋白的异常表达及其对 HUVECs 的损伤 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, 18(7): 725-731.
- [28] Lv Y Y, Jin Y, Han G Z, et al. Ursolic acid suppresses IL-6 induced C-reactive protein expression in HepG₂ and protects HUVECs from injury induced by CRP [J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 45(1/2): 190-194.
- [29] Andrikopoulos N K, Kaliora A C, Assimopoulou A N, et al. Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against *in vitro* low-density lipoprotein oxidation [J]. J Med Food, 2002, 5(1): 1-7.
- [30] Andrikopoulos N K, Kaliora A C, Assimopoulou A N, et al. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against *in vitro* LDL oxidation [J]. Phytother Res, 2003, 17(5): 501-507.
- [31] 吴佳蕾. 基于糖基化终产物分析生地-山茱萸特征成分保护糖尿病血管病变的作用机制 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [32] 王建梅, 向 敏, 吴萍萍. 熊果酸对蛋白质体外非酶糖基化反应的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2010, 21(2): 169-172.
- [33] Yin M C, Chan K C. Nonenzymatic antioxidative and antiglycative effects of oleanolic acid and ursolic acid [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(17): 7177-7181.
- [34] 孙文冲, 韩彦弢, 王春波, 等. 熊果酸对 H₂O₂ 诱导的 HUVECs 损伤的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(4): 31-34.
- [35] Steinkamp-Fenske K, Bollinger L, Xu H, et al. Ursolic acid from the Chinese herb danshen (*Salvia miltiorrhiza* L.) upregulates eNOS and downregulates NOX4 expression in human endothelial cells [J]. Atherosclerosis, 2007, 195(1): e104-111.
- [36] 王道艳, 王 志, 韩彦弢, 等. 齐墩果酸对 ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 青岛大学医学院学报, 2014, 50(6): 487-489, 492.
- [37] 王道艳. 齐墩果酸经 LOX-1/NADPH 氧化酶/ROS、Nrf2/HO-1 通路抑制 ox-LDL 诱导的 HUVECs 细胞损伤 [D]. 青岛: 青岛大学, 2014.
- [38] 王巧云, 李丙华, 朱 莉, 等. 齐墩果酸对氧化损伤模型人脐静脉内皮细胞的保护作用 [J]. 中国药房, 2014, 25(4): 4033-4035.
- [39] 王 玉, 韩志武. 齐墩果酸对氧化损伤人脐静脉内皮细胞线粒体中一氧化氮合酶的调控作用 [J]. 中国药房, 2015, 26(19): 2617-2620.
- [40] 王巧云. 齐墩果酸经 TBX20/PPAR γ /PON2 通路抑制 ox-LDL 诱导 HUVEC 细胞损伤 [D]. 青岛: 青岛大学, 2015.
- [41] Kong D, Han Y, Wang C, et al. The cytoprotective effects of oleanolic acid in human umbilical vascular endothelial cells is mediated via UCP2/ROS/cytochrome C/AIF pathway [J]. J Cardiovas Pharmacol, 2016, 67(4): 457-462.
- [42] Lee W, Yang E J, Ku S K, et al. Anti-inflammatory effects of oleanolic acid on LPS-induced inflammation *in vitro* and *in vivo* [J]. Inflammation, 2013, 36(1): 94-102.
- [43] Yang E J, Lee W, Ku S K, et al. Anti-inflammatory activities of oleanolic acid on HMGB1 activated HUVECs [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(5): 1288-1294.
- [44] 王 玄. 齐墩果酸经 SIRT1/PML/AP-1 信号通路对大鼠动脉血管平滑肌细胞增殖的调控 [D]. 青岛: 青岛大学, 2015.
- [45] Han D, Zhang X, Zhang J, et al. Oleanolic acid suppresses vascular smooth muscle cell proliferation by increasing lincRNA-p21 expression [J]. Oncology Letters, 2016, 12(5): 3519-3524.
- [46] 王 玉. 齐墩果酸经 UCP-2/FGF-2/p53/TSP-1 通路抑制大鼠血管平滑肌细胞增殖 [D]. 青岛: 青岛大学, 2016.
- [47] 王建梅, 向 敏, 吴萍萍, 等. 熊果酸抑制大鼠血管平滑肌细胞增殖的作用及其机制 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(1): 66-69.
- [48] 王文隆, 邓 洁, 赵崇强, 等. 熊果酸对大鼠血管平滑肌细胞增殖和迁移的影响及机制研究 [J]. 心肺血管病杂志, 2013, 32(5): 624-627.

- [49] Jiang Q X, Han Y T, Gao H, et al. Ursolic acid induced anti-proliferation effects in rat primary vascular smooth muscle cells is associated with inhibition of microRNA-21 and subsequent PTEN/PI3K [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 781: 69-75.
- [50] Zeller I, Wiedemann D, Schwaiger S, et al. Inhibition of cell surface expression of endothelial adhesion molecules by ursolic acid prevents intimal hyperplasia of venous bypass grafts in rats [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2012, 42(5): 878-884.
- [51] Pozo M, Castilla V, Gutierrez C, et al. Ursolic acid inhibits neointima formation in the rat carotid artery injury model [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 184(1): 53-62.
- [52] 李伟, 刘琼, 何林, 等. 熊果酸对血管内皮细胞增殖的影响及其机制 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2011, 24(2): 157-162, 168.
- [53] Messner B, Zeller I, Ploner C, et al. Ursolic acid causes DNA-damage, p53-mediated, mitochondria- and caspase-dependent human endothelial cell apoptosis, and accelerates atherosclerotic plaque formation *in vivo* [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(2): 402-408.
- [54] Cardenas C, Quesada A R, Medina M A. Effects of ursolic acid on different steps of angiogenic process [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 320(2): 402-408.
- [55] Kiran M S, Viji R I, Sameer Kumar V B, et al. Modulation of angiogenic factors by ursolic acid [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371(3): 556-560.
- [56] Lee A W, Chen T L, Shih C M, et al. Ursolic acid induces allograft inflammatory factor-1 expression via a nitric oxide-related mechanism and increases neovascularization [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(24): 12941-12949.
- [57] 王杰军, 王兵, 郭静, 等. 熊果酸体外抑制血管形成的研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2000, 21(11): 1071-1073.
- [58] Sohn R H, Lee H Y, Chung H Y, et al. Anti-angiogenesis activity of triterpene acids [J]. *Cancer Lett*, 1995, 94(2): 213-217.
- [59] 陈锡强, 程丽芳, 徐新刚, 等. 熊果酸对斑马鱼血管生成及斑马鱼移植瘤的抑制作用 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(7): 1004-1008.
- [60] Das B, Yeger H, Tsuchida R, et al. A hypoxia-driven vascular endothelial growth factor/Flt 1 autocrine loop interacts with hypoxia-inducible factor-1 α through mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 pathway in neuroblastoma [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16): 7267-7275.
- [61] 李希波, 孙雪飞, 尹秋伟, 等. 熊果酸体内抗肺癌作用机制探讨 [J]. *山东大学学报: 医学版*, 2007, 45(2): 188-191.
- [62] Guo, G, Yao W, Zhang Q, et al. Oleanolic acid suppresses migration and invasion of malignant glioma cells by inactivating MAPK/ERK signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72079.
- [63] Lin C C, Huang C Y, Mong M C, et al. Antiangiogenic potential of three triterpene acids in human liver cancer cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(2): 755-762.
- [64] 曾丽娜. 熊果酸滴眼液抑制缝线诱导大鼠角膜新生血管的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2014.
- [65] 王博, 吴京, 马明, 等. 熊果酸对大鼠角膜移植排斥反应的抑制作用 [J]. *南方医科大学学报*, 2015, 35(4): 530-535.
- [66] Mitsuda S, Yokomichi T, Yokoigawa J et al. Ursolic acid, a natural pentacyclic triterpenoid, inhibits intracellular trafficking of proteins and induces accumulation of intercellular adhesion molecule-1 linked to high-mannose-type glycans in the endoplasmic reticulum [J]. *FEBS Open Biol*, 2014, 4: 229-239.
- [67] Skopinski P, Szaflik J, Dudo-Krol B, et al. Suppression of angiogenic activity of sera from diabetic patients with non-proliferative retinopathy by compounds of herbal origin and sulindacsulfone [J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14(4): 707-711.
- [68] 于爱忠. 熊果酸对糖尿病小鼠视网膜病变的预防作用及其机制探究 [J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(14): 1479-1481, 1485.
- [69] 贺玲, 郑晓龙, 张杰, 等. 熊果酸对氧诱导小鼠视网膜病变的保护作用 [J]. *眼科新进展*, 2013, 33(10): 918-921, 926.
- [70] 赵清, 魏盟, 赵炳辉, 等. 熊果酸对兔外周血内皮祖细胞数量和功能的影响 [J]. *世界临床药物*, 2006, 27(12): 713-717.
- [71] 王建梅, 向敏, 凌婧, 等. 熊果酸对DM大鼠主动脉血管NF- κ B表达的影响 [J]. *中药药理与应用*, 2009, 25(1): 11-14.
- [72] Buus N H, Hansson N C, Rodriguez-Rodriguez R, et al. Antiatherogenic effects of oleanolic acid in apolipoprotein E knockout mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670(2/3): 519-526.
- [73] Xian M, Wang J, Zhang Y, et al. Attenuation of aortic injury by ursolic acid through RAGE-NOX-NF- κ B pathway in streptozocin-induced diabetic rats [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(5): 877-886.
- [74] 朱保成, 夏勇. 熊果酸对球囊损伤大鼠颈总动脉后内膜增生及PCNA、NF- κ B表达的影响 [J]. *泰山医学院学报*, 2014, 35(4): 261-264.

- [75] 刘盛华, 王武军. 熊果酸抑制术后血管再狭窄的机制研究 [J]. 实用医学杂志, 2015, 31(1): 23-27.
- [76] 刘盛华. 熊果酸抑制 NF- κ B 活化防治大鼠静脉再狭窄的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2015.
- [77] 刘盛华, 刘小利, 李 彬, 等. 熊果酸对大鼠血管外模成纤维细胞增殖的影响 [J]. 中国医学创新, 2017, 14(6): 6-9.
- [78] Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid [J]. J Ethnopharmacol, 1995, 49(1): 57-68.
- [79] 武继彪, 黄文兴, 董 榕. 齐墩果酸对实验性动脉粥样硬化的预防作用 [J]. 中药药理与临床, 1991, 7(2): 24-26.
- [80] Somova L I, Shode F O, Ramnanan P, et al. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 84(2/3): 299-305.
- [81] Ullevig S L, Zhao Q, Zamora D, et al. Ursolic acid protects diabetic mice against monocyte dysfunction and accelerated atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2011, 219(2): 409-412.
- [82] 杨晓龙, 刘艳峰, 陈树杰. 熊果酸对动脉粥样硬化大鼠保护作用的研究 [J]. 心肺血管病杂志, 2017, 36(1): 53-57.
- [83] Lin Y T, Yu Y M, Chang W C, et al. Ursolic acid plays a protective role in obesity-induced cardiovascular diseases [J]. Canadian J Physiol Pharmacol, 2016, 94(6): 627-633.
- [84] Feng J, Zhang P, Chen X, et al. PIK3 and ERK/Nrf2 pathway are involved in oleanolic acid-induced heme oxygenase-1 expression in rat vascular smooth muscle cells [J]. J Cell Biochem, 2011, 112(6): 1524-1531.
- [85] Somova L O, Nadar A, Rammanan P, et al. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension [J]. Phytomedicine, 2003, 10(2/3): 115-121.
- [86] Somova L I, Shode F O, Mipando M. Cardiotonic and antidysrhythmic effects of oleanolic and ursolic acids, methyl maslinate and uvaol [J]. Phytomedicine, 2004, 11(2/3): 121-129.
- [87] Sundaresan A, Harini R, Pugalendi K V. Ursolic acid and rosiglitazone combination alleviates metabolic syndrome in high fat diet fed C57BL/6J mice [J]. Gen Physiol Biophys, 2012, 31(3): 323-333.
- [88] Mapanga R F, Tufts M A, Shode F O, et al. Renal effects of plant-derived oleanolic acid in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Ren Fail, 2009, 31(6): 481-491.
- [89] Bachhav S S, Patil S D, Bhutada M S, et al. Oleanolic acid prevents glucocorticoid-induced hypertension in rats [J]. Phytother Res, 2011, 25(10): 1435-1439.
- [90] Bachhav S S, Bhutada M S, Patil S P, et al. Oleanolic acid prevents increase in blood pressure and nephrotoxicity in nitric oxide dependent type of hypertension in rats [J]. Pharmacognosy Res, 2015, 7(4): 385-392.
- [91] Madlala H P, Heerden F R, Mubagwa K, et al. Changes in renal function and oxidative status associated with the hypotensive effects of oleanolic acid and related synthetic derivatives in experimental animals [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128192.
- [92] Madlala H P, Metzinger T, Heerden F R, et al. Vascular endothelium-dependent and independent actions of oleanolic acid and its synthetic oleanane derivatives as possible mechanisms for hypotensive effects [J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0147395.
- [93] Martinez-Gonzalez J, Rodriguez-Rodriguez R, Gonzalez-Diez M, et al. Oleanolic acid induces prostacyclin release in human vascular smooth muscle cells through a cyclooxygenase-2 dependent mechanism [J]. J Nutr, 2008, 138(3): 443-448.
- [94] Rodriguez-Rodriguez R, Herrera M D, Perona J S, et al. Potential vasorelaxant effects of oleanolic acid and erythrodiol, two triterpenoids contained in 'orujo' olive oil, on rat aorta [J]. Br J Nutr, 2004, 92: 635-642.
- [95] Rodriguez-Rodriguez R, Perona J S, Herrera M D, et al. Triterpenic compounds from 'orujo' olive oil elicit vasorelaxation in aorta from spontaneously hypertensive rats [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54: 2096-2102.
- [96] Rodriguez-Rodriguez R, Stankevicius E, Herrera M D, et al. Oleanolic acid induces relaxation and calcium-independent release of endothelium-derived nitric oxide [J]. Br J Pharmacol, 2008, 155(4): 535-546.
- [97] Aguirre-Crespo F, Vergara-Galicia J, Villalobos-Molina R, et al. Ursolic acid mediates the vasorelaxant activity of *Lepechinia caulescens* via NO release in isolated rat thoracic aorta [J]. Life Sci, 2006, 79(11): 1062-1068.
- [98] Li H, Forstermann U. Prevention of atherosclerosis by interference with the vascular nitric oxide system [J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(27): 3133-3145.