

金丝桃苷通过 NOS/NO 系统调控血管内皮影响动脉粥样硬化进程的实验研究

刘 驰¹, 闵冬雨², 朱竟赫³, 袁 宇¹, 关晓娇¹, 胡丽萍^{1*}

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847

2. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032

3. 辽宁省中医药研究院, 辽宁 沈阳 110034

摘要: 目的 探讨金丝桃苷通过一氧化氮合酶 (NOS) / 一氧化氮 (NO) 系统调控血管内皮影响动脉粥样硬化进程。方法 采用高脂饲料喂养 ApoE^{-/-} 小鼠复制动脉粥样硬化模型。在造模的同时给予金丝桃苷 (200 mg/kg) 和辛伐他汀 (阳性对照, 5.2 mg/kg) 进行干预, 每天给药 2 次, 连续 12 周, 每周称小鼠体质量; 全自动生化分析仪检测小鼠血清中总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 的含量; ELISA 法检测小鼠血清中丙二醛 (MDA)、白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、NO 和内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 的含量; HE 染色法和油红 O 染色法观察小鼠胸主动脉病理学变化情况和脂质沉积状况; Western blotting 检测小鼠胸主动脉中聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 1 (PARP1)、精氨酸酶 II (ARG2)、eNOS 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 蛋白的表达。结果 与模型组比较, 金丝桃苷显著抑制小鼠体质量增长 ($P < 0.05, 0.01$); 显著降低小鼠血清中 LDL-C、MDA 和 IL-6 的水平 ($P < 0.05, 0.01$), 显著升高 NO 和 eNOS 的水平 ($P < 0.05, 0.01$); 显著减小小鼠主动脉管腔内斑块面积 ($P < 0.05, 0.01$) 并改善脂质沉积状况; 显著下调小鼠主动脉组织 PARP1、ARG2、iNOS 的表达, 并上调 eNOS 的表达 ($P < 0.01$)。结论 金丝桃苷可以减缓动脉粥样硬化的病理进程, 可能是通过降低 LDL-C 水平、影响 NOS 活性、调节 NO 的合成, 改善血管内皮功能实现的。

关键词: 金丝桃苷; 动脉粥样硬化; 血管内皮; 一氧化氮合酶; NO; 聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 1; 精氨酸酶 II

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 05-0971-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.05.009

Experimental study of hyperoside on process of atherosclerosis by regulating vascular endothelium via NOS/NO system

LIU Chi¹, MIN Dongyu², ZHU Jinghe³, YUAN Yu¹, GUAN Xiaojiao¹, HU Liping¹

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

2. The First Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China

3. Liaoning Institute of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China

Abstract: Objective To investigate hyperoside through the nitric oxide synthase (NOS) / nitrogen oxide (NO) system regulate the vascular endothelium and affect the atherosclerosis process. **Methods** ApoE^{-/-} mice were fed with high-fat diet to reproduce the atherosclerosis model. Drug intervention was given at the same time as the model for 12 weeks. The mouse growth was Monitored. The contents of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in serum were detected by an automatic biochemical analyzer. The levels of malondialdehyde (MDA), interleukin-6 (IL-6), NO, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) were measured by ELISA. HE staining and Oil red O staining were used to observe the pathological changes and the lipid deposition in the thoracic aorta of mice. Western blotting was used to detect the expressions of poly ADP-ribose polymerase 1 (PARP1), arginase II (ARG2), eNOS and inducible nitric oxide synthase (iNOS) proteins in aorta. **Results** Compared with model group, hyperoside significantly inhibited the weight gain of mice ($P < 0.05$ or 0.01). Hyperoside significantly reduced the levels of LDL-C, MDA and IL-6 in mouse serum,

收稿日期: 2020-09-21

基金项目: 辽宁省自然科学基金面上项目(2015010708)

第一作者: 刘 驰, 硕士, 助理实验师, 主要研究方向中药药理。

*通信作者: 胡丽萍 Tel/Fax: (024)31203966 E-mail: huliping705@163.com

and increase the levels of NO and eNOS ($P < 0.05$ or 0.01). Hyperoside could reduce the plaque area ($P < 0.05$ or 0.01) and improve the lipid deposition in rat aortic lumen. Hyperoside significantly down-regulated the expression of PARP1, ARG2, and iNOS in mouse aortic tissue, and up-regulated the expression of eNOS ($P < 0.05$). **Conclusion** Hyperoside can slow down the pathological process of atherosclerosis. It may be achieved by decreasing LDL-C level, affecting NOS activity, regulating NO synthesis and improving vascular endothelial function.

Key words: hyperoside; atherosclerosis; vascular endothelium; NOS; NO; PARP1; ARG2

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是一种以脂质沉积、粥样斑块形成、纤维组织增生、管壁硬化并伴随炎症细胞浸润为特征的慢性血管疾病,AS几乎与所有动脉阻塞相关的疾病都存在紧密联系,并且是心血管疾病(例如高血压、卒中、冠心病和心力衰竭等)的潜在病理学基础^[1-3]。AS的发病机制一直是研究的热点,目前认为可能是多种发病机制共同作用的结果,涉及蛋白质、基因和多种细胞因子构成的庞大相互作用关系网络,包括血管损伤、细胞增殖、凋亡、炎症和氧化应激等^[4]。血管内皮细胞作为血液与管壁之间的屏障,可以通过合成并释放血管扩张剂(如NO)和血管收缩剂(如内皮素-1)来控制血管舒张与收缩的平衡,以维持血管稳定的状态^[5]。NO是一种由血管内皮细胞衍生的调节血管张力的内源性信号因子,有降低血脂水平,抑制黏附分子的表达、血小板聚集及血管平滑肌增殖的作用,因此NO的合成和释放减少可作为血管内皮功能障碍和血管内皮损伤的一个标志^[6-9]。受损的血管内皮细胞会引起黏附分子和促炎因子的显著表达、血管收缩、血小板聚集、氧化应激、血管平滑肌增殖及血栓形成^[10]。因此血管内皮功能障碍和血管内皮损伤被认为是AS的早期指征,对AS的形成和发展产生重要的影响^[10]。

金丝桃苷又名槲皮素-3-O-β-D吡喃半乳糖苷,属于黄酮醇苷类化合物。在多种中药中均可以鉴定和分离出金丝桃苷,如黄蜀葵花、夏枯草、罗布麻、山楂等^[11-14]。有研究发现,金丝桃苷具有多种药理活性,在保护肝、肾、肺、胃肠黏膜及心脑血管等方面发挥重要作用。课题组前期实验证明山楂总黄酮在降血脂和改善心肌缺血方面发挥重要的作用。而金丝桃苷又是山楂总黄酮的主要组分之一。本实验研究金丝桃苷对AS的干预作用,探讨其可能的作用机制,为金丝桃苷的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 动物

8周龄雄性SPF级ApoE^{-/-}小鼠,体质量(20±2)g;8周龄雄性SPF级C57BL/6小鼠,体质量(20±2)g,均

购自南京生物医药研究院,实验动物生产许可证号SCXK(苏)2015-0001。适应性饲养1周,室温(22±2)°C,光暗循环各12h,正常饮食饮水。

1.2 药品及主要试剂

金丝桃苷(HPLC计算质量分数≥98%,批号wkq17031007,四川省维克奇生物科技有限公司);辛伐他汀(杭州默沙东制药有限公司,批号N022449);小鼠NO、内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)、丙二醛(MDA)、白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)-α酶联免疫试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);兔抗eNOS多克隆抗体(美国abcom);兔抗诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、β-actin多克隆抗体和HRP标记山羊抗兔IgG(武汉三鹰生物技术有限公司);兔抗聚二磷酸腺苷核糖聚合酶1(PARP1)、精氨酸酶II(ARG2)多克隆抗体(博士德生物工程有限公司)。高脂饲料来源小泰有泰(北京)生物科技有限公司

1.3 主要仪器

5804R高速冷冻离心机(德国艾本德);RM2245石蜡切片机、CM1950冷冻切片机(德国徕卡);CX-41显微镜(日本奥林巴斯);Epoch酶标仪(美国伯腾);164505电泳仪、化学发光成像系统(美国伯乐)。

2 方法

2.1 动物模型的制备、分组及给药

取36只8周龄雄性SPF级ApoE^{-/-}小鼠,随机分为3组,每组12只,分别为模型组、金丝桃苷(200mg/kg,剂量根据预试验及前期研究^[23]确定)组和辛伐他汀(阳性对照,5.2mg/kg)组,另取12只8周龄雄性SPF级C57BL/6小鼠作为对照组。对照组给予普通饲料喂养,其他3组均给予高脂饲料复制AS模型^[24],模型成功以出现脂质斑块为判定标准。造模同时ig给药,对照组和模型组ig等体积的0.5%CMC-Na溶液,各组小鼠每天ig给药2次,连续给药12周。每周测量小鼠的体质量,并做好记录。

2.2 ApoE^{-/-}小鼠生长情况观测

从第1周开始至第12周结束,每天观察ApoE^{-/-}

小鼠精神状况、活动情况,每周测量ApoE^{-/-}小鼠的体质量,并做好记录。

2.3 血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)含量检测

用摘眼球法经眼眶静脉丛收集血液样本于2.0 mL EP管中,静置2 h后,4 °C、3 000 r/min离心20 min,取上清液(即血清)备用。将血清置于全血项分析仪中检测TC、TG、HDL-C、LDL-C的含量。

2.4 ELISA法检测血清中MDA、IL-6、TNF- α 、NO、eNOS的含量

用摘眼球法经眼眶静脉丛收集血液样本于2.0 mL EP管中,静置2 h后,4 °C、3 000 r/min离心20 min,取上清液(即血清)备用。严格按照ELISA试剂盒操作步骤检测血清中MDA、IL-6、TNF- α 、NO、eNOS的分泌情况。

2.5 胸主动脉组织HE染色

取主动脉根部于4%多聚甲醛溶液中固定72 h后,经脱水与浸蜡、组织石蜡包埋、切片与展片、捞片与烤片、HE试剂盒染色并于光学显微镜下观察、采集图像信息。应用Image Pro Plus 6.0软件统计斑块和管腔面积,计算斑块面积/管腔面积。

2.6 胸主动脉组织油红O染色

取主动脉根部于4%多聚甲醛溶液中固定72 h后,经梯度沉糖、OCT包埋、冰冻切片、油红O染色试剂盒染色,并于光学显微镜下观察、采集图像信

息。应用Image Pro Plus 6.0软件统计斑块和管腔面积,计算脂质斑块面积/管腔面积。

2.7 Western blotting法检测胸主动脉组织中PARP1、ARG2、eNOS、iNOS蛋白表达

各组分别取100 mg主动脉组织,加入细胞裂解液1 mL,用匀浆器冰浴研磨至无固体组织沉淀,置于冰上静置30 min后,4 °C、12 000 r/min离心20 min,收集上清即为组织总蛋白;按照BCA蛋白定量试剂盒说明书操作测定蛋白浓度;将蛋白样品与5 \times 蛋白上样缓冲液按4:1比例混合,100 °C煮沸5 min,冷却备用;用10% SDS-PAGE电泳分离蛋白,用三明治法湿法将蛋白转移至PVDF膜上;5%脱脂奶粉于室温下封闭,于摇床中低速慢摇1 h;以Marker为参照根据目的蛋白的分子量分别剪下各目的蛋白的PVDF膜,分别加入一抗PARP1、ARG2、eNOS、iNOS,4 °C过夜;洗膜后加入二抗,室温孵育1 h;再次漂洗后将PVDF膜置于化学发光仪中进行图像采集。

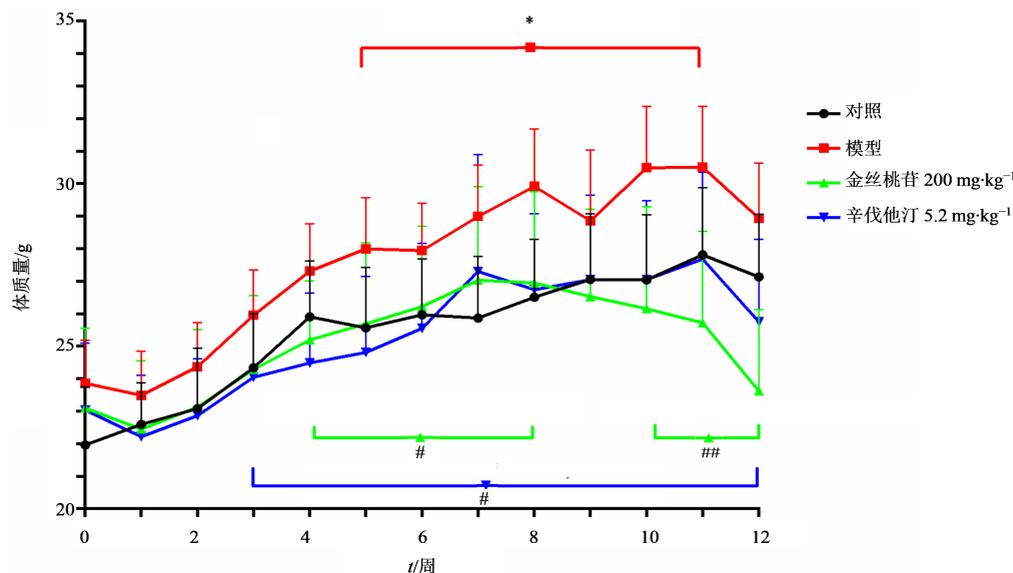
2.8 统计学分析

采用SPSS 21.0软件进行数据分析,所有数据资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验或Games Howell检验。

3 结果

3.1 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠生长情况的影响

将每周小鼠体质量汇总统计,结果见图1,各组小鼠体质量呈持续稳定增长的状态,其中模型组小



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
 * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图1 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Fig. 1 Effects of hyperoside on weight of ApoE^{-/-} mice ($\bar{x}\pm s, n=12$)

鼠体质量增长幅度最大,金丝桃苷组小鼠体质量增长幅度最小。自第5周起,模型组小鼠体质量明显高于同期对照组小鼠,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。第4~8、10~12周,金丝桃苷组小鼠体质量明显低于同期模型组,差异具有统计学意义($P < 0.05, 0.01$)。

3.2 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C水平的影响

实验结束后,对各组小鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C的水平进行比较,结果见表1。与对照组比较,模型组的TC、HDL-C、LDL-C水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,金丝桃苷组和辛伐他汀组的LDL-C水平均显著降低($P < 0.01$)。

表1 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠血清中TC、TG、HDL-C、LDL-C的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	2.29±0.55	1.20±0.20	1.57±0.43	0.49±0.10
模型	—	30.89±1.71**	1.25±0.12	3.08±0.29**	8.83±0.38**
金丝桃苷	200	29.28±2.17	1.35±0.45	2.86±0.56	8.18±0.16##
辛伐他汀	5.2	30.49±3.28	1.50±0.40	2.84±0.29	7.75±0.30##

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

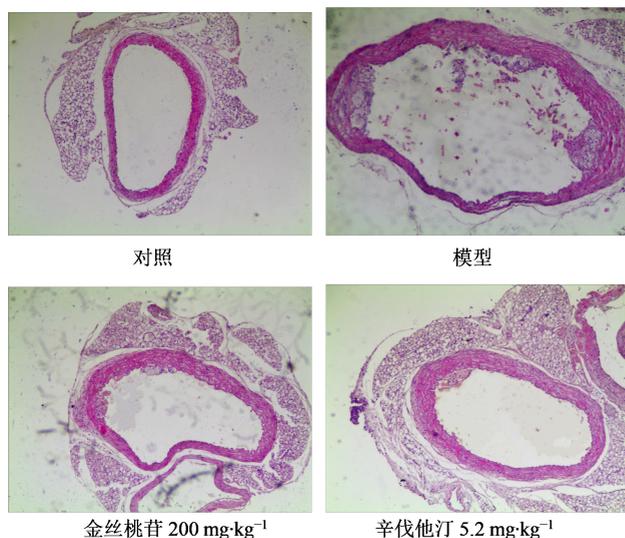
** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group

表2 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠血清中MDA、IL-6、TNF- α 、NO、eNOS的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	TNF- α /(mol·L ⁻¹)	NO/(μ mol·L ⁻¹)	eNOS/(U·mg ⁻¹)
对照	—	14.67±1.40	28.58±3.04	411.79±32.94	17.18±4.29	23.46±2.76
模型	—	16.41±1.29*	38.18±6.40**	457.03±26.08*	12.75±2.39*	18.53±2.30**
金丝桃苷	200	14.53±1.37#	32.56±2.86#	426.97±22.59	16.74±3.43#	23.28±4.18#
辛伐他汀	5.2	14.09±0.78##	27.67±3.34##	452.86±12.41	16.41±2.28##	23.64±4.28#

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

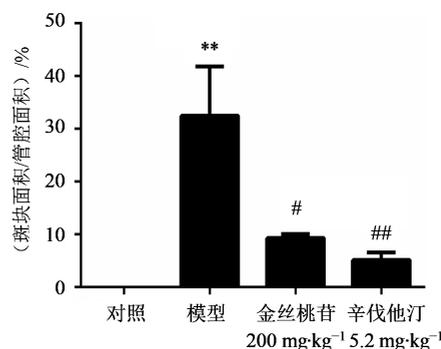


3.3 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠血清中MDA、IL-6、TNF- α 、NO、eNOS水平的影响

结果如表2所示,与对照组比较,模型组的MDA、IL-6和TNF- α 的水平均显著升高($P < 0.05, 0.01$),NO和eNOS的水平均显著降低($P < 0.05, 0.01$);与模型组比较,金丝桃苷组和辛伐他汀组的MDA和IL-6的水平均显著降低($P < 0.05, 0.01$),NO和eNOS的水平均显著升高($P < 0.05, 0.01$)。

3.4 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉组织HE染色的影响

HE染色结果见图2,对照组主动脉形态完整,管腔内壁未见异常;与对照组比较,模型组主动脉内壁增生明显,且斑块面积较大($P < 0.01$);与模型



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图2 金丝桃苷对ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉组织HE染色(40 \times)结果的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 2 Effect of hyperoside on HE staining (40 \times) results of thoracic aorta tissue in ApoE^{-/-} mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组比较, 金丝桃苷组和辛伐他汀组主动脉形态较完整, 且斑块面积/管腔面积显著减少 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.5 金丝桃苷对 ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉组织油红 O 染色结果的影响

油红 O 染色结果见图 3, 对照组主动脉管腔完整光滑, 未见异常; 与对照组比较, 模型组主动脉管腔内脂质沉积明显, 且主动脉内壁上存在大量斑块, 占整个管腔面积比率显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金丝桃苷组和辛伐他汀组主动脉管腔内脂质沉积减少, 且斑块面积/管腔面积显著减少 ($P < 0.01$)。

3.6 金丝桃苷对 ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉组织中 PARP1、ARG2、eNOS、iNOS 蛋白表达的影响

结果如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组主动脉组织中 PARP1、ARG2、iNOS 的表达显著上调, eNOS 的表达显著下调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金丝桃苷组和辛伐他汀组 PARP1、ARG2、iNOS 的表达均显著下调, 而 eNOS 的表达均显著上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

4 讨论

近年来, 随着社会的发展和人们生活水平的不断提高, 导致人们的生活结构发生了巨大的改变, 特别是饮食结构的变化使肥胖、高脂血症、高血压、

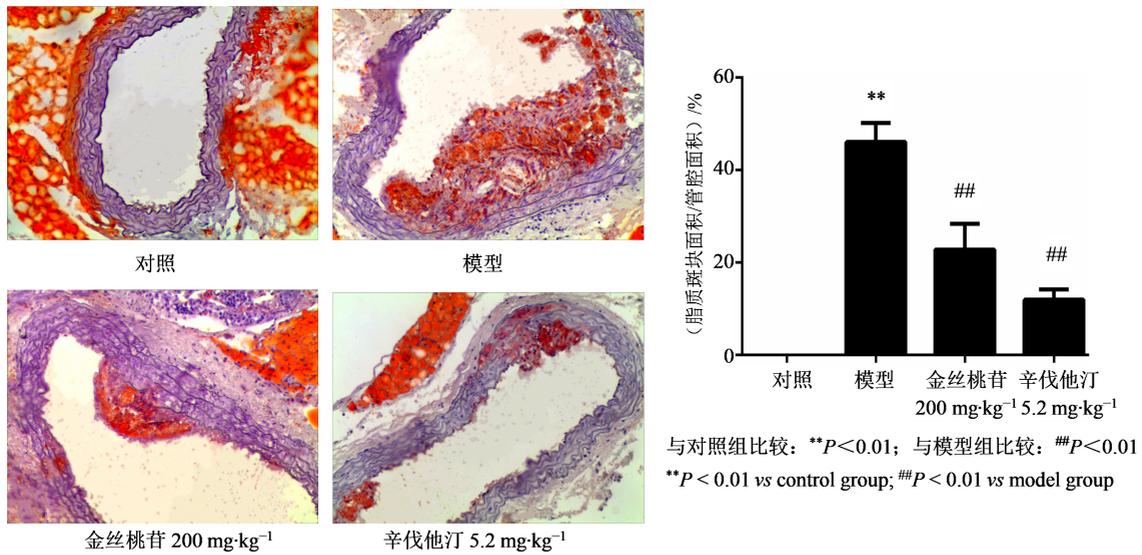


图 3 金丝桃苷对 ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉组织油红 O 染色 (100×) 结果的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 3 Effect of hyperoside on oil red O staining (100×) results of thoracic aorta tissue in ApoE^{-/-} mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

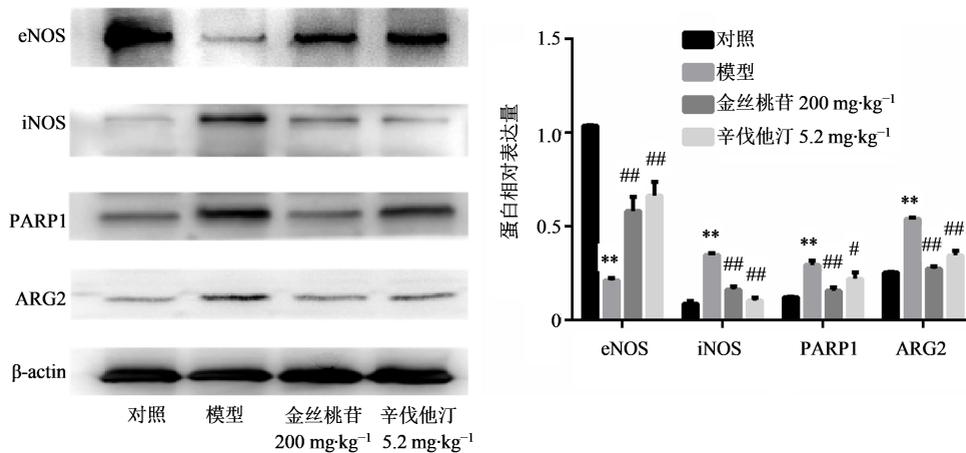


图 4 金丝桃苷对 ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉组织中 PARP1、ARG2、eNOS、iNOS 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 4 Effect of hyperoside on PARP1, ARG2, eNOS, iNOS protein expression in thoracic aorta tissue of ApoE^{-/-} mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

2型糖尿病等代谢紊乱性疾病呈逐年上升趋势。脂代谢紊乱,尤其是高脂血症是导致AS的主要危险因素,其中LDL-C的水平被认为是AS发病机制的关键,有临床证据显示LDL-C增加10%,使AS风险增加20%,由此可见脂质控制特别是降低LDL-C的水平成为AS乃至心血管疾病风险管理的重点^[15-16]。中药作为一种天然药物,具有多药源、多靶点、多活性、不良反应小等特点,有研究将中药与西药的降脂效果对比后发现,中药具有降脂作用温和,毒性作用小的优势^[17]。黄酮类成分作为降脂中药的有效成分之一,因其具有强大的抗炎反应和抗氧化应激的作用,在预防和治疗高脂血症及AS方面备受关注^[18-20]。有文献报道,金丝桃苷具有良好的心血管保护作用,可抑制氧化应激和炎症反应,增强免疫力和调节血脂,可能对于预防和治疗高脂血症及AS具有重要意义^[21-23]。

ApoE^{-/-}小鼠是目前在AS领域中应用最多的基因工程动物,因其可以在较短时间内形成AS损伤,并且这些损伤与人类的AS损伤相似等优势被认为是用于研究AS较理想的小鼠模型^[24]。因此本实验选用8周龄ApoE^{-/-}小鼠高脂饲料喂养12周复制AS模型,并在造模的同时给予金丝桃苷进行预防性治疗。各组体质量统计结果显示,金丝桃苷无明显的毒副作用并能显著抑制高脂饲料喂养的ApoE^{-/-}小鼠体质量的生长。病理结果显示,金丝桃苷对脂质沉积和斑块的形成具有一定的抑制作用。血脂检测结果表明,金丝桃苷可能是通过降低LDL-C的水平发挥改善AS的作用。

血管内皮功能障碍被认为是AS的早期事件,NO合成途径受阻可能是AS发生的最早期事件之一,NO的合成或活性的降低有助于AS的发生^[25]。NO合成途径受阻的主要原因有2种:一是NO的降解。在生理条件下eNOS产生NO,这是内皮细胞血管保护功能的关键因素,然而在与氧化应激相关的病理条件下,过量产生的活性氧使eNOS解耦联导致功能失调,不再生成NO而是产生大量的超氧阴离子,与此同时iNOS被诱导表达,在一段时间内产生大量的NO,NO与超氧阴离子迅速结合生成过氧亚硝基阴离子,导致血管内皮损伤。二是eNOS对左旋精氨酸(L-Arg)的结合能力下降。当机体处于持续的氧化应激状态,将会导致DNA的损伤,PARP1作为一种DNA修复酶被激活参与DNA修复,过表达的PARP1可以使ARG2的表达增加,而且ARG2的活力远远大于eNOS的活力,因此ARG2

可与eNOS竞争其相同底物L-Arg,而导致eNOS合成NO能力下降^[26-27]。本实验结果显示,经过金丝桃苷的干预可以提高小鼠血清NO的含量,与模型组比较,金丝桃苷组小鼠主动脉中PARP1、ARG2和iNOS表达下降,eNOS水平升高,考虑金丝桃苷可能通过调控NOS/NO系统发挥了保护血管内皮的作用。

金丝桃苷对高脂饲料诱导的ApoE^{-/-}小鼠AS发挥改善作用,可能是通过降低LDL-C水平、影响NOS活性、调节NO的合成,改善血管内皮功能,进而影响AS形成和发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Tsui P F, Lin C S, Ho L J, et al. Spices and atherosclerosis [J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1724.
- [2] Konstantinov I E, Mejevoi N, Anichkov N M. Nikolai. N. Anichkov and his theory of atherosclerosis [J]. *Tex Heart Inst J*, 2006, 33(4): 417-423.
- [3] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease [J]. *New Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126.
- [4] 张运. 动脉粥样硬化研究的当前问题 [J]. *中国医药科学*, 2012, 2(1): 9-11.
Zhang Y. Current issues in atherosclerosis research [J]. *China Med Pharm*, 2012, 2(1): 9-11.
- [5] Rong S, Hu X, Zhao S, et al. Procyanidins extracted from the litchi pericarp ameliorate atherosclerosis in ApoE knockout mice: their effects on nitric oxide bioavailability and oxidative stress [J]. *Food Funct*, 2017, 8(11): 4210-4216.
- [6] Chen J Y, Ye Z X, Wang X F, et al. Nitric oxide bioavailability dysfunction involves in atherosclerosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 423-428.
- [7] Napoli C, de Nigris F, Williams-Ignarro S, et al. Nitric oxide and atherosclerosis: An update [J]. *Nitric Oxide*, 2006, 15(4): 265-279.
- [8] Shaw C A, Taylor E L, Megson I L, et al. Nitric oxide and the resolution of inflammation: implications for atherosclerosis [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2005, 100(1): 67-71.
- [9] Ignarro L J, Napoli C. Novel features of nitric oxide endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2004, 6(4): 281-287.
- [10] Herman A G, Moncada S. Therapeutic potential of nitric oxide donors in the prevention and treatment of atherosclerosis [J]. *Eur Heart J*, 2005, 26(19): 1945-1955.
- [11] 石芸, 池玉梅, 谈献和, 等. 黄蜀葵花HPLC指纹图谱

- 及金丝桃苷、槲皮素含量测定研究[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(6): 399-420.
- Shi Y, Chi Y M, Tan X H, et al. HPLC fingerprint of *Abelmoschus corollaand* determination of hyperfine and quercetin [J]. Northwest Pharm J, 2011, 26(6): 399-420.
- [12] 黄兹英, 王继良, 黄敏洁, 等. HPLC法同时测定夏枯草中芦丁、金丝桃苷、槲皮素和山奈酚[J]. 中成药, 2012, 34(3): 520-523.
- Hang Z Y, Wang J L, Hang M J. Determination of rutin, hyperoside, quercetin and kaempferol in *Prunella vulgaris* by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med, 2012, 34(5): 520-523.
- [13] 韩利文, 侯晋军, 李云兰, 等. 高效液相色谱法比较不同种属和产地罗布麻中金丝桃苷的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(5): 392-394.
- Han L W, Hou J J, Li Y L, et al. Comparison of hyperoside in *Folium Apocyni Veneti* of different species and areas by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2006, 23(5): 392-394.
- [14] Weon J B, Jung Y S, Ma C J. Quality analysis of chlorogenic acid and hyperoside in *Crataegi Fructus* [J]. Pharmacogn Mag, 2016, 12(46): 98-103.
- [15] Gupta K K, Ali S, Sanghera R S. Pharmacological options in atherosclerosis: a review of the existing evidence [J]. Cardiol Ther, 2019, 8(1): 5-20.
- [16] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study [J]. Lancet, 2004, 364(9438): 937-952.
- [17] 王阶, 张金生. 降脂中药研究勾玄[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1005-1008.
- Wang J, Zhang J S. Study on antihyperlipidemia effects of Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2007, 32(11): 1005-1008.
- [18] Cappello A R, Dolce V, Iacopetta D, et al. Bergamot (*Citrus Bergamia* risso) flavonoids and their potential benefits in human hyperlipidemia and atherosclerosis: an overview [J]. Mini Rev Med Chem, 2016, 16(8): 619-629.
- [19] 周长征. 黄酮类化合物的降脂作用研究进展[J]. 北方药学, 2012, 9(4): 100-101.
- Zhou C Z. Recent studies on flavonoids in lowering blood lipid [J]. J North Pharm, 2012, 9(4): 100-101.
- [20] 祝晓庆, 杨洁, 刘超, 等. 中草药黄酮类化合物防治动脉粥样硬化的实验研究进展[J]. 湖北科技学院学报, 2017, 31(4): 358-361.
- Zhu X Q, Yang J, Liu C, et al. Experimental research progress of Chinese herbal flavonoids in preventing and treating atherosclerosis [J]. J Hubei Univ Sci Technol (Med Sci), 2017, 31(4): 358-361.
- [21] 林萍, 易宏伟, 张斐. 金丝桃苷药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(10): 23-26.
- Lin P, Yi H W, Zhang F. Advances of the hyperin pharmacology research [J]. Chin Mod Med, 2012, 14(10): 23-26.
- [22] 李敏芳, 李慧, 王学美. 金丝桃苷药理作用研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(4): 102-104.
- Li M F, Li H, Wang X M. Advances of the hyperin pharmacology research [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2008, 15(4): 102-104.
- [23] 李贵海, 孙敬勇, 张希林, 等. 山楂降血脂有效成分的实验研究[J]. 中草药, 2002, 33(1): 50-52.
- Li G H, Sun J Y, Zhang X L, et al. Experimental studies on antihyperlipidemia effects of two compositions from hawthorn in mice [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2002, 33(1): 50-52.
- [24] 陈洁, 李玉杰. 鼠动脉粥样硬化模型的建立[J]. 解剖学研究, 2007, 29(3): 225-227.
- Chen J, Li Y J. Establishment of an atherosclerosis rat model [J]. Anat Res, 2007, 29(3): 225-227.
- [25] Napoli C, Ignarro L J. Nitric oxide and atherosclerosis [J]. Nitric oxide, 2001, 5(2): 88-97.
- [26] Li H, Horke S, Forstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2014, 237(1): 208-219.
- [27] 刘兰兰, 王友群. 精氨酸酶对血管功能的影响及相关药物的研发[J]. 药学进展, 2009, 33(12): 536-541.
- Liu L L, Wang Y Q. Effects of Arginase on vascular dysfunction as well as the research and development of the related drugs [J]. Prog Pharm Sci, 2009, 33(1): 536-541.

[责任编辑 兰新新]