论著

文章编号:1000-5404(2009)21-2046-04

花色苷类植物化学物抑制血管内皮细胞氧化应激损伤作用的结构-效应关系研究

易 龙[1],陈春烨[1],金 鑫[1],糜漫天[1],常 辉[1],凌文华[2],朱俊东[1],张乾勇[1],张 婷[1],于 斌[1] ([1]第三军医大学军事预防医学院营养与食品卫生学教研室,重庆市医学营养研究中心,重庆市营养与食品安全重点实验室,重庆 400038,[2]中山大学公共卫生学院营养学系,广州 510080)

摘 要:目的 对膳食中常见的21种花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤作用进行结构-效应关系研究,探索与花色苷内皮保护作用密切相关的结构特征,筛选出作用较显著的化合物单体。**方法** 不同浓度氧化低密度脂蛋白(ox-LDL,50、100、150、200 μg/ml)处理内皮细胞24 h,MTT法检测细胞活力,确定IC_{50};以不同浓度(50、100、200 μmol/L)的花色苷预处理内皮细胞2 h后,100 μg/ml的ox-LDL继续处理细胞24 h,MTT法检测各组细胞活力;100 μmol/L花色苷预处理内皮细胞2 h后,100 μg/ml ox-LDL继续处理细胞24 h,按试剂盒说明书测定细胞培养上清液MDA和NO水平;根据各组细胞活力、MDA和NO值,结合不同花色苷的结构特征进行结构-效应关系分析。**结果** ox-LDL能明显抑制内皮细胞活力,并呈浓度依赖关系,IC_{50}为100 μg/ml。不同花色苷对内皮细胞活力、MDA生成和NO释放的影响存在显著相关性。花色苷对内皮细胞氧化应激损伤的抑制作用与其总-OH数量及B环-OH数量呈明显正相关;B环3′,4′-邻苯二羟基和C环3-OH能增强花色苷的抑制作用,而甲基化和糖苷化能明显削弱其作用;A环6-OH可能削弱其抑制作用,B环5′和A环5位-OH对其作用无显著影响;葡萄糖取代与半乳糖取代对花色苷抑制作用的影响无显著差异,而单糖取代较之双糖取代能明显增强其抑制作用。Delphinidin和Delphinidin-3-glucoside分别是2种作用最显著的花色苷元和花色苷。**结论** B环3′,4′-邻苯二羟基和C环3-OH是花色苷抑制内皮细胞氧化损伤的重要结构特征。

关键词: 花色苷;动脉粥样硬化;氧化应激;构效关系

中图法分类号: R151.41; R322.12; R329.26 **文献标识码:** A

Structure-activity relationship of anthocyanin phytochemicals in inhibiting oxidized-stress injury of vascular endothelial cells

YI Long[1], CHEN Chun-ye[1], JIN Xin[1], MI Man-tian[1], CHANG Hui[1], LING Wen-hua[2], ZHU Jun-dong[1], ZHANG Qian-yong[1], ZHANG Ting[1], YU Bin[1] ([1]Department of Nutrition and Food Hygiene, Chongqing Medical Nutrition Research Center, Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Department of Medical Nutriology, School of Public Health, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Objective To investigate the structure-activity relationship for 21 anthocyanins in inhibiting oxidized injury of endothelial cells, and explore the structural characteristics of anthocyanins closely related to their effects. **Methods** Endothelial cells were treated by ox-LDL at different concentrations of 50, 100, 150 or 200 μg/ml, and MTT assay was used to determine IC_{50}. After pre-incubated for 2 h with different concentrations (50, 100 or 200 μmol/L) of anthocyanins and then treated with 100 μg/ml ox-LDL for another 24 h in endothelial cells, MTT assay was used to detect the cellular viability. After pre-treated for 2 h with different anthocyanins with 100 μmol/L and treated with ox-LDL for another 24 h, MDA and NO level in the culture media were both measured according to the methods of assay kits. Structure-activity relationship was analyzed according to the respective cellular viability, MDA and NO level. **Results** Cellular viability was significantly inhibited by ox-LDL in a dose-dependent manner, and the IC_{50} was 100 μg/ml. A significant correlation was observed

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30730079);"十一五"国家科技支撑计划(2008BAI58B06);重庆市营养与食品安全重点实验室科技创新能力建设资助项目(2006CA1003)

Supported by the National Natural Science Foundation (30730079), the "Eleventh Five-year Plan" for National Key Technology R&D Program of China (2008BAI58B06) and the Innovation Project of Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety (2006CA1003)

作者简介: 易 龙,男,四川省隆昌县人,博士研究生,助教,主要从事营养与心血管疾病方面的研究。E-mail:longgyin8341@hotmail.com

通信作者: 糜漫天,电话:(023)68752292,E-mail:mimt@sina.com

收稿日期: 2009-05-07;**修回日期:** 2009-07-19

among the effect of anthocyanins on cell viability, MDA production and NO release. The inhibitory effects of anthocyanins in ox-LDL-injured endothelial cells were positively related to the total number of hydroxyl groups and hydroxyl substitutions in B ring. 3′,4′-ortho-dihydroxyl substitution on B-ring and a 3-hydroxyl group on C-ring significantly enhanced the inhibitory effect of anthocyanins, yet methoxylation or glycosylation significantly decreased the effect. 6-hydroxylation substitution might attenuate the inhibitory effect of anthocyanins, while substitution at C5 or C5′ showed no significant influence on the effect of anthocyanins. Anthocyanin with monosaccharose substitution was much stronger than that with disaccharose substitution, while there was no significant difference between anthocyanins with glucoside and that with galacotoside substitution. Delphinidin and delphinidin-3-glucoside were respectively the most effectual anthocyanidin or anthocyanin. **Conclusion** 3′,4′-ortho-dihydroxyl substitution on B-ring and a 3-hydroxyl group on C-ring are the main structural requirements for anthocyanins in suppressing ox-LDL-induced injury in endothelial cells.

Key words: anthocyanin; atherosclerosis; oxidized stress; structure-activity relationship

花色苷(anthocyanins)是广泛存在于多种蔬菜和水果中的多酚类植物化学物(phytochemicals)。流行病学调查发现,长期摄入富含花色苷的食物能够明显降低动脉粥样硬化(atherosclerosis,AS)等心血管疾病的发病率,揭示花色苷可能具有潜在的抗 AS 作用[1,2]。花色苷种类繁多,常见的约 500 余种,均具有 2-苯基色原烯结构,因其侧位取代位点和取代基团不同而结构各异,其心血管保护作用也可能存在差异。本研究旨在通过体外建立氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,ox-LDL)诱导的人血管内皮细胞氧化应激损伤模型,比较膳食中常见的 21 种不同结构并具有代表性的花色苷对内皮细胞活力、脂质过氧化标志物丙二醛(MDA)生成和内皮细胞分泌的一氧化氮(NO)的影响,通过结构-效应关系的研究,探索花色苷分子结构中与其抑制内皮细胞氧化应激损伤密切相关的结构位点和取代基团,并筛选出作用较显著的化合物单体,为深入阐明花色苷抗 AS 作用相关分子机制奠定基础,并为探索 AS 防治的新策略提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　化学试剂　　21 种花色苷纯品分别购自美国 Sigma、法国 Extrasynthese 和挪威 Polyphenols 公司,具体见表 1,以 DMSO 溶解,分装后 -20℃保存。DMEM 液体培养基和胎牛血清均购自美国 Gibco 公司。ox-LDL 购自广州中山大学公共卫生学院实验室,Brad-Ford 法测定蛋白浓度为 2 mg/ml。MDA 和 NO 检测试剂盒购自南京建成生物工程公司。

1.1.2　细胞株　　人血管内皮细胞株 EA. hy926 由第三军医大学西南医院全军烧伤研究所梁光萍[3]博士惠赠,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基在 37 ℃、5% CO_2、100% 饱和湿度条件下培养,经形态学观察和Ⅷ因子相关抗原免疫荧光细胞化学法鉴定。

1.2　方法

1.2.1　ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激损伤体外模型的建立　　实验方法参照文献[4]进行。细胞活力(%) = $[D(490)_{处理组}/D(490)_{对照组}]\times100\%$

1.2.2　MTT 法检测不同种类花色苷对血管内皮细胞活力的影响　　取对数生长期的 EA. hy926 细胞,以 1×10^5/ml 接种于 96 孔板,每孔 100 μl。细胞融合为单层后,以不同浓度的花色苷(50、100、200 μmol/L)预处理细胞 2 h,弃去培养液,再以 100 μg/ml 的 ox-LDL 继续处理 24 h,并设 100 μmol/L 的 BHA 或 α-生育酚阳性对照组,以及正常细胞对照组和 ox-LDL (100 μg/ml)处理组。每组各 5 个平行。每孔加入 MTT(5 mg/ml) 20 μl,继续培养 4 h,小心吸去上清液,每孔加入 150 μl 的 DMSO 溶解结晶颗粒,490 nm 测定吸光度值[$D(490)$]。完全重复实验 3 次,计算各组平均值和标准差。细胞活力计算方法同 1.2.1。

1.2.3　不同种类花色苷对血管内皮细胞 MDA 生成和 NO 释放的影响　　实验分组与处理方法同 1.2.2。分别按照试剂盒说明书检测各组细胞培养上清液中 MDA 和 NO 水平。完全重复实验 3 次,计算各组平均值和标准差。MDA 生成抑制率(%) = $[1-D(490)_{处理组}/D(490)_{ox\text{-}LDL处理组}]\times100\%$。NO 释放率(%) = $[D(490)_{处理组}/D(490)_{对照组}]\times100\%$

1.2.4　结构-效应关系研究　　根据各组细胞活力、MDA 值、NO 值,进行相关性分析。并比较花色苷总-OH 数量和 B 环-OH 数量、各环侧位主要取代位点(3′、4′、5′、3、5 和 6 位)和取代基团(-OH、$-OCH_3$ 和单糖)的差异与其抑制内皮细胞氧化应激损伤的关系,探索与花色苷抑制内皮损伤作用密切相关的结构特征,并筛选出作用较显著的化合物单体。

1.3　统计学处理

计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析,组间两两比较通过 Tukey-Kramer 法分析,相关性分析采用 Pearson 相关性检验。

表1 不同种类花色苷对内皮细胞活力、MDA 生成和 NO 释放的影响($\bar{x} \pm s$)

种类	细胞活力(%)			MDA 生成抑制率(%)	NO 释放率(%)
	50 μmol/L	100 μmol/L	200 μmol/L		
Cyanidin	68.46 ± 6.60	73.88 ± 3.33[a]	75.52 ± 5.49	62.38 ± 2.44[a]	86.28 ± 6.49[a]
Peonidin	48.47 ± 6.55	54.11 ± 5.87	58.38 ± 4.98	46.93 ± 1.95	62.68 ± 7.26
Malvidin	47.70 ± 8.02	50.41 ± 7.19	52.62 ± 5.25	49.78 ± 1.38	60.18 ± 7.85
Pelargonidin	54.53 ± 6.33	58.13 ± 6.69	58.63 ± 3.92	52.41 ± 2.06	67.56 ± 4.99
Delphinidin	71.19 ± 4.09	75.64 ± 5.03[a]	80.80 ± 5.34	66.58 ± 3.10[a]	90.87 ± 7.33[a]
Petunidin	65.95 ± 12.46	69.93 ± 10.20[a]	62.21 ± 4.74	59.32 ± 3.57[a]	79.08 ± 3.30[a]
Cyanidin-3-glc	50.24 ± 6.54	61.81 ± 8.88[b]	65.61 ± 7.09	40.94 ± 1.35	65.40 ± 2.07
Peonidin-3-glc	47.43 ± 2.40	47.83 ± 5.06	55.33 ± 5.95	16.04 ± 1.65	55.48 ± 5.37
Malvidin-3-glc	48.20 ± 2.46	50.38 ± 2.99	51.97 ± 7.43	16.77 ± 7.50	55.15 ± 9.69
Pelargonidin-3-glc	49.14 ± 3.18	51.50 ± 1.39	57.81 ± 7.91	19.98 ± 5.27	53.21 ± 9.39
Delphinidin-3-glc	52.20 ± 2.25	64.76 ± 5.45[a]	69.11 ± 11.02	53.30 ± 2.05[a]	68.87 ± 10.45[b]
Petunidin-3-glc	49.17 ± 5.99	55.23 ± 6.97	62.21 ± 6.35	33.38 ± 3.40	60.89 ± 8.01
Cyanidin-3-gla	51.58 ± 7.78	55.97 ± 5.14	64.19 ± 11.56	39.60 ± 4.75[a]	62.42 ± 8.17
Malvidin-3-gla	48.85 ± 4.06	50.48 ± 7.08	52.37 ± 5.21	12.55 ± 5.92	53.73 ± 7.18
Cyanidin-3,5-diglc	48.94 ± 3.13	53.22 ± 6.93	61.24 ± 10.22	28.64 ± 5.54	47.43 ± 7.12
Cyanidin-3-rut	52.45 ± 6.52	55.20 ± 7.08	62.58 ± 7.24	39.61 ± 4.41	48.84 ± 13.10
Luteolinidin	57.04 ± 4.97	65.76 ± 6.30[a]	66.25 ± 5.61	59.96 ± 3.41[a]	73.19 ± 4.53[a]
Fisetinidin	59.95 ± 5.76	68.93 ± 8.08[a]	67.44 ± 3.66	56.49 ± 3.23[a]	76.51 ± 1.84[a]
Diosmetinidin	48.13 ± 2.96	51.60 ± 5.41	55.65 ± 3.74	28.37 ± 14.46	49.29 ± 2.71
Apigenindin	48.49 ± 2.77	52.35 ± 3.46	56.39 ± 6.00	49.26 ± 4.82	49.59 ± 2.58
Quercetagetinidin	64.86 ± 2.70	55.20 ± 2.30	36.90 ± 8.31	13.44 ± 2.25[c]	26.03 ± 5.83[c]
BHA	65.09 ± 6.78	69.01 ± 4.57[a]	74.27 ± 8.46	57.89 ± 3.52[a]	80.98 ± 5.19[a]
α-Tocopherol	63.47 ± 8.01	67.00 ± 4.03[a]	74.10 ± 6.85	50.42 ± 3.35[a]	79.72 ± 7.14[a]

对照组细胞活力和 NO 释放率为 100%,MDA 生成抑制率为(12.34 ± 1.25)%;ox-LDL(100 μg/ml)处理组细胞活力为(46.16 ± 6.41)%,NO 释放率为(27.46 ± 2.55)%;a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与 ox-LDL(100 μg/ml)处理组比较;c:$P<0.01$,与 BHA(100 μmol/L)处理组比较

2 结果

2.1 OxLDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激损伤体外模型的建立

前期实验研究[5]发现,ox-LDL 能显著抑制 EA.hy926 细胞活力($P<0.05$),并呈浓度依赖性关系,半数抑制浓度(IC_{50})约为 100 μg/ml。

2.2 不同种类花色苷对血管内皮细胞活力、MDA 生成和 NO 释放的影响

如表1显示,不同种类的花色苷对内皮细胞活力、MDA 生成和 NO 释放的影响分别存在明显差异。各指标间相关系数(r)的统计分析结果如下,花色苷(100 μmol/L)对细胞活力和 MDA 生成:$r=0.803$, $P<0.01$;对细胞活力和 NO 释放水平:$r=0.836$, $P<0.01$;对 MDA 生成和 NO 释放水平:$r=0.811$, $P<0.01$,表明花色苷对内皮细胞活力、MDA 生成和 NO 释放的影响存在显著相关性。除 Quercetagetinidin 外,其余花色苷均能不同程度增加内皮细胞活力,并随处理浓度增加而增大;而 Quercetagetinidin 随处理浓度增大对内皮细胞活力的抑制作用增加,表现出一定的细胞毒作用。内皮细胞以100 μmol/L 的花色苷预处理后,均能不同程度的减少 MDA 生成和增加 NO 释放。但不同种类的花色苷对内皮细胞的作用存在明显差异,作用较显著的花色苷元顺次为 Delphinidin、Cyanidin、Petunidin、Luteolinidin、Fisetinidin,较明显的花色苷顺次为 Delphinidin-3-glc、Cyanidin-3-glc、Petunidin-3-glc。

2.3 结构-效应关系分析

根据各组细胞活力、MDA 值和 NO 值,主要从花色苷总-OH 数量和 B 环-OH 数量、各环侧位主要取代位点和取代基团的差异进行结构-效应关系分析。花色苷的基本结构见图1。

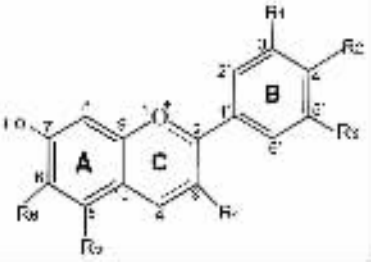


图1 花色苷的基本结构

2.3.1 -OH 数量与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤的关系 通过计算各种花色苷总-OH 数量和各环(A、B、C 环)羟基数量,结合其对细胞活力、MDA 生成和 NO 释放的影响进行分析,结果显示,花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤作用与其总-OH 数量与 B 环-OH 数量均存在明显正相关性。但含有 5 个-OH 的 Delphinidin 作用强于含有 6 个-OH 的 Quercetagetinidin($P<0.05$),两者仅在 A 环6 位存在 1 个 OH 的差异,提示除-OH 数量,取代位置也是重要影响因素。

2.3.2 A 环不同取代位点和取代基团与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤的关系 对 A 环 5 位和 6 位取代位点和取代基团(-OH)与花色苷抑制内皮细胞氧化应激损伤作用关系的研究发现,5-OH 对花色苷的作用无显著影响($P>0.05$),而 6-OH 能明显减弱花色苷对内皮细胞的保护作用($P<0.05$)。如比较含有 5-OH 的 Cyanidin 与无 5-OH 的 Fisetinidin 对细胞活力、MDA 值和 NO 值的影响,发现两者对内皮细胞的作用无统计学差异($P>0.05$);而仅有 6-OH 差异的 Cyanidin 与 Quercetagetinidin 比较,含有 6-OH 的 Quercetagetinidin 随处理浓度的增大而对内皮细胞活力的抑制作用增加,且不能削弱 ox-LDL 诱导的 MDA 生成增加和 NO 释放减少,揭示 Quercetagetinidin 可能具有一定的细胞毒作用,且可能与 6-OH 的存在有关。

2.3.3　B 环不同取代位点和取代基团与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤的关系　　对 B 环 3′、4′和 5′取代位点和取代基团(-OH 或-OCH_3)与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤作用关系的研究结果显示,3′,4′-邻苯二羟基的存在能够显著增强花色苷对内皮细胞的保护作用,而 5′-OH 的存在对花色苷作用影响不显著,3′、4′或 5′的-OCH_3能明显削弱花色苷的内皮保护作用。如对 6 种基本的苷元和对应的 6 种基本的葡萄糖苷结构-效应关系的研究结果显示,具有 3′,4′-邻苯二羟基结构的 Delphinidin、Cyanidin、Petunidin 及其相应的葡萄糖苷与不具有此结构的 Pelargonidin、Peonidin、Malvidin 及其相应的葡萄糖苷比较,前者比后者能显著增强细胞活力、抑制 MDA 生成并促进 NO 释放($P<0.05$)。本实验研究结果揭示,3′,4′-邻苯二羟基结构可能是影响花色苷内皮保护作用的重要结构特征。

2.3.4　C 环 3-OH 与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤的关系　　对 C 环 3-OH 与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤关系的研究结果显示,3-OH 的存在能够明显增强花色苷对内皮细胞的保护作用。比较 6 种基本的花色苷元与相应的 3-葡萄糖苷或 3-半乳糖苷对细胞活力、MDA、NO 水平的影响,结果显示,花色苷元作用均显著强于相应的花色苷($P<0.05$)。对 Cyanidin 和 Luteolinidin,以及 Pelargonidin 和 Apigeninidin 比较研究也发现,3-OH 的存在能明显增强花色苷对内皮细胞的保护作用($P<0.05$)。

2.3.5　取代糖基种类与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤的关系　　对不同取代糖基种类与花色苷抑制血管内皮细胞氧化应激损伤作用关系的研究发现,葡萄糖苷的作用略强于相应的半乳糖苷,而单糖的作用显著强于双糖($P<0.05$),表明取代糖基种类对花色苷对内皮的作用有明显影响。

3　讨论

AS 已成为西方发达国家第一死因,其发病机制复杂,至今尚未阐明,血浆 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激(oxidative stress)损伤是 AS 发生的早期事件和始动因素,并促进 AS 发展,已成为 AS 防治的重要靶点[6]。花色苷类植物化学物属于多酚中的黄酮类物质,其潜在抗 AS 作用已经成为目前研究的热点[7]。膳食中的花色苷种类繁多,在结构上大都由花色苷元(anthocyanidin)和不同种类的糖(葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖等)分子结合,而不同结构的花色苷抗 AS 作用可能存在显著差异。为揭示花色苷类植物化学物抗 AS 作用的结构-效应关系并筛选出抗 AS 作用较显著的化合物,本研究选择食物中常见的具有结构代表性的 21 种花色苷(元),以 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化应激损伤为模型,从细胞活力、脂质过氧化(MDA 生成)和细胞分泌功能(NO 释放)等 3 个方面,比较不同种类的花色苷对内皮细胞氧化应激损伤的影响,并进行结构-效应关系的分析,结果显示,花色苷类植物化学物抗 AS 作用与其总-OH 数量及 B 环-OH 数量存在正相关性;3′,4′-邻苯二羟基和 3 位-OH 的存在能够显著增强花色苷对内皮细胞的保护作用,可能是花色苷发挥抗 AS 作用的重要结构特征;而 6 位-OH 的存在可能削弱花色苷对内皮细胞的保护作用。本研究结果还显示,Delphinidin 和 Delphinidin-3-glucoside 分别是 21 种受试花色苷(元)中抗 AS 作用最强的花色苷元和花色苷。

花色苷属于黄酮类化合物,两者在结构上具有相似性,对比国内外关于其他黄酮类化合物抗 AS 作用构效关系的研究,结果发现黄酮分子结构中 3′,4′-邻苯二羟基也是与其抗 AS 作用密切相关的取代位点和取代基团[8,9]。花色苷的 A 、B 和 C 环可形成大的 P-Π 共轭体系,具有强烈的斥电子作用,而 B 环酚羟基处于共轭体系之中,易脱氢提供电子,与自由基结合,因而可能在抑制内皮细胞氧化应激损伤中起关键作用[10]。通过化学计算发现,B 环 3′-OH 上的氧的电子密度最小,故其发生电离的能力最强,而 4′-OH 的存在可以延长共扼体系,使整个分子的电子云分布离域,有助于花色苷形成相对稳定的自由基中间体。同时,3′-OH 供氢后易与 4′位的氧共享 4′-OH 的氢而形成分子内氢键,从而提高 3′, 4′-邻苯二羟基花色苷对抗自由基的稳定性。花色苷可能通过直接影响细胞膜脂质过氧化或进入细胞内清除过量 ROS 生成而发挥抑制内皮细胞氧化应激损伤的作用,而 3′, 4′-邻苯二羟基或 3-羟基的存在能够明显增强花色苷的抗氧化能力,抑制内皮细胞氧化损伤。

参考文献:

[1] Neto C C. Cranberry and blueberry: evidence for protective effects against cancer and vascular diseases[J]. Mol Nutr Food Res, 2007, 51(6): 652 – 664.

[2] Flesch M, Rosenkranz S, Erdmann E, *et al*. Alcohol and the risk of myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2001, 96(2): 128 – 135.

[3] Liang G P, Su Y Y, Chen J, *et al*. Analysis of the early adaptive response of endothelial cells to hypoxia via a long serial analysis of gene expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 384(4): 415 – 419.

[4] 陈春烨,张乾勇, 易　龙,等. bcl-2 在氧化低密度脂蛋白诱导人血管内皮细胞凋亡中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(8): 663 – 667.

[5] 金　鑫,易　龙,陈春烨,等. 膜电位及 MAPK 磷酸化在飞燕草素抑制 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞氧化损伤中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(19): 1854 – 1858.

[6] Pennathur S, Heinecke J W. Oxidative stress and endothelial dysfunction in vascular disease[J]. Curr Diab Rep, 2007, 7(4): 257 – 264.

[7] Young J E, Zhao X, Carey E E,*et al*. Phytochemical phenolics in organically grown vegetables[J]. Mol Nutr Food Res, 2005, 49(12): 1136 – 1142.

[8] Miyake T, Shibamoto T. Antioxidative activities of natural compounds found in plants[J]. J Agric Food Chem,1997, 45(5): 1819 – 1822.

[9] 刘　杰,王伯初,彭　亮,等. 黄酮类抗氧化剂的构-效关系[J]. 重庆大学学报, 2004, 27(2): 120 – 124.

[10] 刘莉华,宛晓春,李大祥. 黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展(综述) [J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(3): 265 – 270.

(编辑　王小宪)