

金丝桃苷对 SLT-Ⅱ e 诱导大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的影响

周宏超^{1,2}, 范光丽¹, 穆 祥², 胡 格², 索占伟²

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2 北京农学院 兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 昌平 102206)

[摘 要] 通过检测金丝桃苷对 SLT-Ⅱ e 诱导的大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌前列环素(PGI₂)、血栓素(TXA₂)及血小板活化因子(PAF)的影响,探索中药复方有效成分金丝桃苷对仔猪水肿病的疗效机制。将培养的肠黏膜微血管内皮细胞分为阴性对照组、阳性对照组、不同质量浓度金丝桃苷处理组等 6 个组,采用 ELISA 法测定了培养 3, 6, 9 和 12 h 时细胞上清液中 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 质量浓度的变化。结果表明,不同质量浓度金丝桃苷处理组对 SLT-Ⅱ e 诱导肠黏膜微血管内皮细胞过量分泌 PGI₂、PAF 无明显的抑制作用;1 和 5 μg/mL 质量浓度金丝桃苷处理组对 SLT-Ⅱ e 诱导肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的分泌具有明显的下调作用。由此可见,金丝桃苷通过抑制 SLT-Ⅱ e 诱导肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的过量分泌,阻止血小板聚集,避免微血栓形成,以达到治疗疾病的目的;金丝桃苷保护大鼠肠黏膜微血管内皮细胞损伤的模型剂量为 1 和 5 μg/mL。

[关键词] SLT-Ⅱ e; 肠黏膜微血管内皮细胞; 前列环素; 血栓素 A₂; 血小板活化因子

[中图分类号] S852.21

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)04-0006-05

Effects of active various concentrations of hyperoside on PGI₂, TXA₂ and PAF production induced by SLT-Ⅱ e in rat intestinal microvascular endothelial cells

ZHOU Hong-chao^{1,2}, FAN Guang-li¹, MU Xiang², HU Ge², SUO Zhan-wei²

(1 College of Animal Sciences and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Beijing city Key laboratory of Veterinary Medicine (Chinese traditional medicine), Beijing University of Agriculture, Changping, Beijing 102206, China)

Abstract: The study observed the effects of various concentrations of hyperoside on PGI₂, TXA₂ and PAF production induced by SLT-Ⅱ e in rat intestinal microvascular endothelial cells so as to probe curative effect mechanism of edema disease of swine. The RIMECs are divided into negative control group (0 μg/mL SLT-Ⅱ e), masculine control group (10 μg/mL SLT-Ⅱ e), test 3 group (10 μg/mL SLT-Ⅱ e + 1 μg/mL hyperoside), test 4 group (10 μg/mL SLT-Ⅱ e + 5 μg/mL hyperoside), test 5 group (10 μg/mL SLT-Ⅱ e + 10 μg/mL hyperoside) and test 6 group (10 μg/mL hyperoside). In each group various concentrations of hyperoside against PGI₂, TXA₂ and PAF production induced by SLT-Ⅱ e in RIMECs were studied by ELISA. The results showed that hyperoside had inhibited the secretion of SLT-Ⅱ e inducing PGI₂, PAF production in RIMECs, but showed unobvious declining; while 1, 5 μg/mL hyperoside had inhibited the

[收稿日期] 2006-11-17

[基金项目] 北京市自然科学基金项目(6021001);北京市高等学校人才强教计划项目(BAHED)

[作者简介] 周宏超(1970-),男,陕西丹凤人,讲师,在读博士,主要从事动物病理生理学研究。

[通讯作者] 穆 祥(1960-),男,江苏启东人,教授,主要从事细胞微环境研究。E-mail: muxiang1109@sina.com

secretion of SLT-Ⅱ e inducing TXA₂ production in RIMECs and showed marked declining. Hyperoside had inhibited the secretion of SLT-Ⅱ e inducing TXA₂ production there after to counterwork blood platelet conglomeration, avoid tiny thrombus form and heal disease; then the model concentration of hyperoside was 1,5 μg/mL to protect the RIMECs.

Key words: SLT-Ⅱ e; RIMEC; PGI₂; TXA₂; PAF

猪水肿病(Edema disease of swine, ED)是仔猪常见的由产志贺样毒素大肠埃希菌(*Shiga-like toxin Escherichia coli*, SLTEC)引起的一种急性致死性传染病,临床以神经症状和全身水肿为特征。本病发病率虽不高(通常为10%~35%),但病死率高达90%,给养猪业带来了极大的危害。F18ab 菌毛与志贺样毒素Ⅱ型变异体(SLT-Ⅱ e)是致仔猪水肿病的 SLTEC 的2个主要毒力因子^[1-2]。细菌以其F18ab 菌毛黏附于小肠上皮细胞,造成小肠上皮细胞的损害,引起仔猪腹泻。同时,在肠道内定居并增殖的细菌产生 SLT-Ⅱ e 并被微血管吸收,导致感染猪出现水肿和神经症状。目前,该病主要用抗菌药物进行预防,但抗菌药物长期应用可导致药物残留,间接引起人体内胃肠道菌群平衡紊乱及病原体耐药性增加等问题^[3-5]。中药复方具有不良反应少,不易产生耐药性,基本上无药物残留等特点,它不仅可以对抗细菌毒素,而且还能调节机体的免疫功能,提高动物机体的抗病能力^[6]。因此,开发用于预防仔猪水肿病的中药复方制剂并探索其疗效机制,有着非常重要的现实意义。

Beekhuizen 等^[7]研究表明,不同组织器官起源的微血管内皮细胞,表现出该组织器官的特异性。因此,研究发生于某一器官或组织的微血管病变,应采用该器官或组织的微血管内皮细胞作为研究的细胞模型^[8]。Methoyapun 等^[9]研究表明,SLTEC 不会使猪肠黏膜发生严重的病理变化,其靶细胞是肠黏膜血管内皮细胞,表现为内皮细胞空泡化、血管周围水肿及微血栓形成等。因此,肠黏膜微血管内皮细胞是研究仔猪水肿病最为理想的细胞模型。张涛等^[10-11]研究表明,中药方剂及其有效成分可能通过作用于微血管内皮细胞,而对微血管系统功能进行调控,实现对细胞微环境的改善,使机体阴阳趋于平衡,从而达到治疗疾病的目的,而不是直接杀死或抑制细菌。以肠黏膜微血管内皮细胞为平台,研究中药有效成分对微血管内皮细胞分泌作用的调控,有助于探索中药复方有效成分对仔猪水肿病的疗效机制。

本研究以 SLT-Ⅱ e 诱导肠黏膜微血管内皮细

胞分泌前列环素(PGI₂)、血栓素(TXA₂)及血小板活化因子(PAF)为细胞病理模型,加入不同剂量金丝桃苷进行疗效观察,通过检测细胞培养上清液中 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 质量浓度的变化,验证中药复方有效成分金丝桃苷在仔猪水肿病发生过程中,对肠黏膜微血管内皮细胞分泌细胞因子的调控作用,旨在为仔猪水肿病的防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

DMEM 培养基来自美国 GIBCO 公司,批号为 1255136;Hanks 干粉来自美国 SIGMA 公司,批号为 065K8302;克隆专用胎牛血清及Ⅱ型胶原酶均来自奥地利 PAA Laboratories GmbH,批号分别为 A01123-591 和 K24004-1121;PGI₂、TXA₂ 及 PAF ELISA 试剂盒由 Adlitteram Diagnostic Laboratories(ADL)公司提供;SLT-Ⅱ e 粗制品(蛋白含量为 1.5 mg/mL)由扬州大学兽医学院微生物与免疫学教研室提供;金丝桃苷标准品为中国药品生物制品检定所产品,批号为 111521-200303;550 型酶标仪为 BIO-RAD 公司产品。

1.2 大鼠肠黏膜微血管内皮细胞的分离培养

选择出生 24 h 内的 SD 大鼠乳鼠,用无菌方法取出空肠,D-Hanks 液冲洗,纵向切开冲洗后剪成小段,吹打数次。用质量分数 0.1%Ⅱ型胶原酶消化,暴露出微血管网,接种于 24 孔细胞培养板中,基础培养基用 DMEM 培养基,加入质量分数 15%的克隆专用胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 10 μg/mL 链霉素,置体积分数 5%CO₂ 培养箱中培养,2~3 d 换液 1 次。细胞达到 80%融合生长时即行传代。在倒置显微镜下,细胞呈典型的铺路石状相嵌排列,无重叠生长现象。免疫荧光法检测内皮细胞 vWF 因子的相关抗原呈阳性。

1.3 试验细胞准备及处理

试验采用 3 代细胞。融合生长的微血管内皮细胞经质量分数 0.1%Ⅱ型胶原酶消化后,将细胞悬液接种于 24 孔细胞培养板,细胞密度为 1×10^5 mL⁻¹,每孔 500 μL,置体积分数 5% CO₂ 培养箱中

培养。待细胞融合成单层细胞后开始试验。

1.4 试验分组

将培养已融合的肠黏膜微血管内皮细胞分为 6 组进行试验。处理 1 组:只加维持培养液,SLT-Ⅱe 质量浓度为 0 μg/mL(阴性对照组);处理 2 组:SLT-Ⅱe 质量浓度为 10 μg/mL(阳性对照组);处理 3 组:质量浓度 1 μg/mL 金丝桃苷预孵 2 h 后,加入 10 μg/mL SLT-Ⅱe;处理 4 组:质量浓度 5 μg/mL 金丝桃苷预孵 2 h 后,加入 10 μg/mL SLT-Ⅱe;处理 5 组:质量浓度 10 μg/mL 金丝桃苷预孵 2 h 后,加入 10 μg/mL SLT-Ⅱe;处理 6 组:金丝桃苷质量浓度 10 μg/mL。每组设重复孔 5 孔,分别于培养 3,6,9 和 12 h 时,收集上清液贮存于-20 ℃冰箱内待测。

1.5 PGI2、TXA2 和的 PAF 质量浓度测定

PGI2、TXA2 及 PAF 质量浓度测定按照 ADL 公司提供的 PGI2 ELISA 试剂盒、TXA2 ELISA 试剂盒及 PAF ELISA 试剂盒的操作步骤进行。

1.6 统计学处理

统计学分析采用 SPLM 3.0 中文统计软件(第四军医大学卫生统计学教研室提供),数据以“ $\bar{X} \pm S$ ”表示,采用方差分析进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 金丝桃苷对大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌 PGI2、TXA2 及 PAF 的影响

由表 1 可见,质量浓度 10 μg/mL 金丝桃苷作用 3~6 h,PGI2 质量浓度从(641.73±6.03) pg/mL 增加到(732.39±4.37) pg/mL,TXA2 质量浓度从(2.35±0.06) ng/mL 增加到(2.62±0.04) ng/mL,PAF 质量浓度从(214.60±12.4) pg/mL 增加到(229.79±12.37) pg/mL;质量浓度 10 μg/mL 金丝桃苷作用 6 h 时,PGI2、PAF 的分泌量达到高峰,作用 9 h 时 TXA2 的分泌量达到高峰;质量浓度 10 μg/mL 金丝桃苷作用 9~12 h 时,细胞上清液中的 PGI2、TXA2 及 PAF 分泌量均逐渐下降。

表 1 10 μg/mL 金丝桃苷对大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌 PGI2、TXA2 及 PAF 的影响(n=5)
Table 1 Effects of active 10 μg/mL of hyperoside induces PGI2 ,TXA2 and PAF production in RIMECs(n = 5)

处理时间/h Treatment time	PGI2/(pg · mL ⁻¹)	TXA2/(ng · mL ⁻¹)	PAF/(pg · mL ⁻¹)
3	641.73±6.03	2.35±0.06	214.60±12.4
6	732.39±4.37	2.62±0.04	229.79±12.37
9	366.09±4.19	3.19±0.07	200.51±4.24
12	388.29±5.83	2.59±0.07	194.58±3.66

表 1 结果还说明,10 μg/mL 金丝桃苷对正常的肠黏膜微血管内皮细胞 PGI2、TXA2 及 PAF 的分泌有一定的促进作用,并在一定程度上调节了 PGI2、TXA2 及 PAF 之间的动态平衡。

2.2 金丝桃苷对 SLT-Ⅱe 诱导的大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌 PGI2、TXA2 及 PAF 的影响

由表 2 可见,处理 3,4,5 组细胞上清液中的

PGI2 质量浓度分别于 9,3,3 h 达到高峰,PGI2 的质量浓度分别为(577.11±7.21),(716.1±5.41),(628.45±5.04) pg/mL,与阴性对照组相比差异均达极显著水平(P<0.01)。说明不同质量浓度金丝桃苷对 SLT-Ⅱe 诱导的大鼠肠黏膜微血管内皮细胞过量分泌 PGI2 无明显抑制作用。

表 2 不同质量浓度金丝桃苷对 SLT-Ⅱe 诱导肠黏膜微血管内皮细胞分泌 PGI2 的影响(n=5)

Table 2 Effects of active various concentrations of hyperoside against SLT-Ⅱe induces PGI2 production in RIMECs(n=5) pg/mL

处理 Treatment	处理时间/h Treatment time			
	3	6	9	12
1	315.03±4.97	285.04±5.48	389.13±7.9	345.37±6.25
2	357.90±3.3 *	795.27±3.17 * *	504.75±3.12 * *	680.62±7.09 * *
3	531.23±4.35 * *	540.36±4.46 * *	577.11±7.21 * *	555.87±5.48 * *
4	716.10±5.41 * *	686.87±6.11 * *	708.45±5.74 * *	578.07±4.64 * *
5	628.45±5.04 * *	556.59±2.31 * *	611.55±4.87 * *	575.67±3.06 * *

注:同列数据后标 * 者表示与阴性对照组相比差异显著(P<0.05),标 * * 者表示与阴性对照组相比差异极显著(P<0.01)。下表同。
Note: After the data on the same file * demonstrates significant difference (P<0.05) and * * demonstrates most much significant difference (P<0.01)vs negative control group. The following tables are the same.

由表 3 可见,处理 3,4,5 组细胞上清液中的 TXA₂ 质量浓度分别于 12,9,12 h 达到高峰,此时质量浓度分别为(2.76±0.05),(2.53±0.09),(3.34±0.06) ng/mL。阴性对照组(处理 1)在培养的 3~12 h,细胞上清液中的 TXA₂ 分泌量变化不大。在 SLT-Ⅱ e 诱导下(处理 2),细胞上清液中的 TXA₂ 分泌量于培养的 3 h 时迅速升高(质量浓度为 5.89±0.02),是正常培养细胞(处理 1)分泌量的

2.5 倍,与阴性对照组相比的差异极显著($P < 0.01$);处理 2 组细胞培养期内 TXA₂ 的分泌量一直保持较高状态。预先加入不同质量浓度金丝桃苷处理后,细胞上清液中 TXA₂ 分泌量出现不同程度的下降,其中 1 和 5 μg/mL 金丝桃苷对 SLT-Ⅱ e 诱导的大鼠肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的分泌具有明显的下调的作用,细胞上清液中 TXA₂ 的分泌量接近正常水平。

表 3 不同质量浓度的金丝桃苷对 SLT-Ⅱ e 诱导肠黏膜微血管内皮细胞分泌 TXA₂ 的影响($n=5$)

Table 3 Effects of active various concentrations of hyperoside against SLT-Ⅱ e induces TXA ₂ production in RIMECs($n=5$)				
处理 Treatment	处理时间/h Treatment time			
	3	6	9	12
1	2.32±0.08	2.33±0.08	2.94±0.08	2.30±0.09
2	5.89±0.02 **	5.95±0.14 **	6.73±0.05 **	7.50±0.04 **
3	2.39±0.06	2.34±0.06	2.18±0.07 **	2.76±0.05 **
4	2.50±0.07 **	2.51±0.06 **	2.53±0.09 **	2.32±0.07
5	2.75±0.07 **	3.08±0.07 **	2.6±0.07 **	3.34±0.06 **

由表 4 可见,处理 3,4,5 组细胞上清液中的 PAF 浓度分别在 9,6,12 h 达到高峰,此时其质量浓度分别为(205.39±6.88),(240.17±4.54),(251.84±4.76) pg/mL,与阴性对照组相比差异均

达极显著水平($P < 0.01$)。此结果说明,不同质量浓度金丝桃苷对 SLT-Ⅱ e 诱导的大鼠肠黏膜微血管内皮细胞 PAF 的分泌无显著抑制作用。

表 4 不同质量浓度的金丝桃苷对 SLT-Ⅱ e 诱导肠黏膜微血管内皮细胞分泌 PAF 的影响($n=5$)

Table 4 Effects of active various concentrations of hyperoside against SLT-Ⅱ e induces PAF production in RIMECs($n=5$)				
处理 Treatment	处理时间/h Treatment time			
	3	6	9	12
1	126.62±2.95	127.27±4.86	145.06±2.11	153.96±2.94
2	149.41±3.62 *	164.34±4.67 **	207.05±4.39 **	247.47±6.49 **
3	162.67±11.07 **	193.07±8.84 **	205.39±6.88 **	197.01±4.66 **
4	193.87±8.28 **	240.17±4.54 **	214.78±4.73 **	168.85±4.11 *
5	77.60±11.69 **	178.36±7.47 **	216.43±5.79 **	251.84±4.76 **

3 讨 论

据文献[4,12-13]报道,仔猪水肿病发病迅速,4~12 h 左右开始出现症状,SLT-Ⅱ e 以非特异性机制被吸收进入血液循环,与血管内皮细胞和平滑肌细胞受体结合,阻碍靶细胞的蛋白质合成,从而造成细胞的变性和死亡,使血管通透性增强,引起组织水肿和神经症状。因此水肿病防治的关键在于及时阻断 SLT2-Ⅱ e 与血管内皮细胞受体的结合,调控内皮细胞细胞因子 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的分泌,维持微循环动态平衡,从而达到治疗的目的。本研究复制的细胞病理模型进一步证实了这一结果。

在仔猪水肿病的发生发展过程中,肠黏膜微血管内皮细胞分泌的 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的动态平

衡是调控血管壁紧张度、微血管内微血栓形成的重要因素,当其失衡后往往会引起组织器官微循环中微血栓的形成,导致局部血液循环障碍,使病情进一步恶化,甚至引起仔猪迅速死亡。

金丝桃苷是黄酮类成分,具有清除自由基^[11]、抑制大鼠脑缺血损伤时氧自由基和 NO 的产生^[15]、阻滞 Ca²⁺ 通道、抑制 Ca²⁺ 内流^[16]、减轻缺血引起的组织器官损伤、降低高脂血症时氧自由基对血管内皮细胞的损害及保护血管内皮细胞等作用^[17]。其对微血管内皮细胞分泌细胞因子的调控作用尚未见报道。

本试验结果表明,阴性对照组肠黏膜微血管内皮细胞细胞因子 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的分泌始终处于平稳状态,平均质量浓度分别为(333.64±

6.15) pg/mL、(2.47±0.08) ng/mL 及 (138.23±3.22) pg/mL, 它们之间的动态平衡维持着肠黏膜局部血液循环的正常进行。SLT-II e 作用下肠黏膜微血管内皮细胞 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的分泌量出现大幅度的增加; 预先加入不同质量浓度金丝桃苷后, PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的分泌量出现不同程度的下降, 其中质量浓度 1 和 5 μg/mL 的金丝桃苷处理对 SLT-II e 诱导的肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的分泌具有明显的下调作用, 使其分泌量接近正常水平。此结果说明, 金丝桃苷在仔猪水肿病的治疗过程中, 发挥了中和外毒素 (SLT-II e) 损伤的作用, 抑制了肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的过度分泌, 而对 PGI₂、PAF 的分泌下调作用不明显。TXA₂ 是强烈的血管收缩剂和血小板聚集剂, TXA₂ 分泌量恢复正常可阻止微血管进一步收缩, 缓解局部血液循环障碍, 防止血小板聚集, 避免微血管内微血栓的形成, 抑制了病情的进一步恶化。

10 μg/mL 金丝桃苷单独作用时, 肠黏膜微血管内皮细胞 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的分泌量均会出现一定程度的升高现象。这表明金丝桃苷对动物机体的局部微血管内皮细胞可能具有双向调节作用。金丝桃苷既可以促进正常肠黏膜微血管内皮细胞 PGI₂、TXA₂ 及 PAF 的分泌, 也可以抑制肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的过度分泌。

本试验说明, 1 和 5 μg/mL 金丝桃苷对 SLT-II e 诱导的大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌 TXA₂ 具有明显的下调作用, 是临床治疗仔猪水肿病的理想剂量。1 和 5 μg/mL 金丝桃苷处理使 SLT-II e 诱导的肠黏膜微血管内皮细胞 TXA₂ 的分泌量下降, 这也可能就是中药复方有效成分金丝桃苷的疗效机制, 但还需从分子水平做进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Alexa P, Hamrik J, Stouracova K, et al. Passive immunoprophylaxis of edema disease in weaned piglets[J]. *Vet Med*, 2004, 49(12): 447-452.
- [2] Imberechts H, De Greve H, Lintermans P. The pathogenesis of edema disease in pigs. A review[J]. *Vet Microbiol*, 1992, 31: 221-233.
- [3] Cemiglia C E, Kotarski S. Evaluation of veterinary drug residues in food for their potential to affect human intestinal microflora[J]. *Regulatory Toxicol Pharmacol*, 1999, 29(3): 238-261.
- [4] 刘国平, 吴 斌, 刘梦元, 等. 致仔猪水肿病大肠杆菌的分离、鉴定及生物学特性[J]. *中国兽医学报*, 2005, 25(1): 31-33.
- [5] Hunter J E B, Bennett M, Hart C A, et al. Apramycin-resistant *Escherichia coli* isolated from pigs and a stockman[J]. *Epidemiol infect*, 1994, 112: 473-480.
- [6] 陈 奇. 中成药名方药理与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 3-4.
- [7] Beekhuizen H, van Furth R. Growth characteristics of cultured human macrovascular venous and arterial and microvascular endothelial cells[J]. *J Vasc Res*, 1994, 31(4): 230-239.
- [8] 娄晋宁. 微血管内皮细胞的培养及其在医学研究中的应用[J]. *微循环学杂志*, 2004, 14(3): 5-8.
- [9] Methiyapun S, Pohlenz J F, Bertschinger H U. Ultrastructure of the intestinal mucosa in pigs experimentally inoculated with an edema disease-producing strain of *Escherichia coli*[J]. *Vet Pathol*, 1984, 21(5): 516-520.
- [10] 张 涛. 清热中药三种有效成分主要作用对象的初探[D]. 河北保定: 河北农业大学, 2005.
- [11] 张 涛, 穆 祥, 黄会岭, 等. 微血管内皮细胞在中医学研究中的地位探讨[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2005, 11(5): 391-393.
- [12] 杨 霞, 卢中华, 陈丽颖, 等. 仔猪致病性大肠杆菌的分离鉴定[J]. *畜牧与兽医*, 2005, 37(9): 34-35.
- [13] 林艺远, 刘国平, 杨明柳, 等. 猪水肿病发病机理研究进展[J]. *动物医学进展*, 2006, 27(7): 10-15.
- [14] Li Q L, Chou G X, Chen Z W, et al. Inhibitory mechanism of hyperin on the apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion of rats[J]. *Acta Pharm Sin*, 2002, 37: 849-852.
- [15] 章家胜, 陈志武, 马传庚, 等. 金丝桃苷对大鼠缺血性脑损伤中氧自由基和一氧化氮的作用[J]. *中国中药杂志*, 1991, 24(7): 431-433.
- [16] Cheng Z W, Ma C G, Fang M, et al. The blocking effect of hyperin on the inward flow of calcium ion[J]. *Acta Pharm Sin*, 1994, 29(1): 15-19.
- [17] 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.