

蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷的 HPLC-MS 鉴定及在内皮细胞中的舒血管和抗炎作用研究

李春阳¹, 付琳^{1,2}, 黄午阳¹, 徐丽萍²

(1. 江苏省农业科学院农产品加工所, 江苏南京 210014)

(2. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘要: 通过建立体外肿瘤坏死因子(TNF- α)诱导人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)炎症损伤反应模型, 研究蓝莓叶中槲皮素及其衍生物金丝桃苷对人脐静脉内皮细胞中血管紧张素 I 转化酶(ACE)以及炎症因子(单核细胞趋化蛋白-1、细胞间粘附分子-1和血管细胞间粘附分子-1)含量的影响, 采用酶联免疫吸附剂测定方法(ELISA)检测细胞上清液中可溶性 ACE 和炎症因子蛋白含量的变化, 探讨二者在血管内皮细胞中的舒血管和抗炎作用。研究表明, 肿瘤坏死因子 TNF- α 可引起 HUVEC 内 ACE 和炎症因子含量显著增加, 槲皮素和金丝桃苷预处理内皮细胞能显著抑制 ACE 酶活性和炎症因子含量的增加($p < 0.05$), 具有一定的抗炎和舒血管作用。

关键词: 蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷; 人脐静脉内皮细胞; 血管紧张素 I 转化酶抑制剂; 抗炎

文章编号: 1673-9078(2017)1-20-25

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.004

Vasodilator and Anti-inflammatory Effects of Quercetin and Hyperin from Blueberry Leaves Identified by HPLC-MS in Umbilical Vein Endothelial Cells

LI Chun-yang¹, FU Lin^{1,2}, HUANG Wu-yang¹, XU Li-ping²

(1. Institute of Farm Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

(2. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: TNF- α induction was used to establish an *in vitro* inflammatory injury model in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). The effects of quercetin and hyperin from blueberry leaves on angiotensin I converting enzyme (ACE) level and the content of inflammatory factors (monocyte chemoattractant protein-1, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1) in HUVECs was investigated. Soluble ACE and inflammatory factor protein content in supernatants was detected by ELISA to explore the vasodilator and anti-inflammatory function of quercetin and hyperin in endothelial cells. The results showed that the content of ACE and inflammatory factor soluble proteins was significantly increased in TNF- α -induced cells. The protein expression of ACE and inflammatory factors in HUVECs were significantly decreased ($p < 0.05$) when the cells were treated with quercetin or hyperin, showing that both exhibited anti-inflammatory and vasodilator effects.

Key words: quercetin; hyperin; blueberry leaves; human umbilical vein endothelial cells; angiotensin I converting enzyme inhibitor; anti-inflammation

心血管疾病严重威胁人类健康, 几乎所有的心血管疾病都和内皮功能障碍有关^[1]。肿瘤坏死因子(TNF- α)是一种多效性细胞因子, 是最早发挥作用的前炎性因子, 能促进细胞产生更多的细胞因子和炎症介

收稿日期: 2015-11-16

基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目(BK20141386)

作者简介: 李春阳(1966-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 营养与活性物质、农产品深加工

质, 进而促进炎症反应的发生, 并参与动脉粥样硬化等心血管疾病的发生和发展^[2]。单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、细胞间粘附分子-1(ICAM-1)和血管细胞间粘附分子-1(VCAM-1)是涉及心血管疾病发病机理的关键因子, 都直接或间接参与引发炎症, 促进动脉粥样硬化的形成^[3,4]。血管紧张素 I 转化酶(ACE)存在于血管内皮细胞表面, 催化血管紧张素 I (Ang I)转换成一种血管收缩剂即血管紧张素 II (Ang II), 参与调节肾

素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS), 在调节血压以及心血管功能中起到至关重要的作用^[5]。植物多酚具有舒血管、降血压、降血脂、抗氧化与抗炎等多种生物学功能, 在预防和治疗心血管疾病中得到了广泛的应用^[6]。

蓝莓(*Vaccinium* spp.)属于杜鹃花科越橘属, 具有多种生物学特性, 是集营养健康美味为一体、备受消费者青睐的一种小浆果^[7]。在我国, 对于蓝莓叶的研究报道和开发利用较少, 蓝莓叶大多作为废弃物处理, 造成了宝贵资源的浪费。蓝莓叶具有多种功效, 包括抗炎、抗氧化、抗高血压及保护心血管疾病等^[8]。其中槲皮素(Quercetin, Q)是一种多羟基黄酮类化合物, 是重要的饮食类抗氧化物, 具有抗病毒、抗菌、抗抑郁、抗血小板凝聚和引发血管舒张等多种效应, 并对多种恶性肿瘤细胞具有抑制作用, 可引起癌症细胞凋亡^[9]。金丝桃苷(Hyperin, H), 即槲皮素-3-O- β -D-吡喃半乳糖苷, 具有抗抑郁、抗氧化、镇痛、降血压和舒张血管等功效^[10]。叶多酚的生理活性研究很多, 但蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷对血管内皮细胞的保护机制尚未有报道。

蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷作为蓝莓的副产物往往被忽视, 造成资源浪费, 蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷的研究将有益于蓝莓副产物资源的开发利用。本研究探讨蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷在人脐静脉内皮细胞(HUVEC)内的舒血管和抗炎作用机制, 检测其对内皮细胞ACE、MCP-1、ICAM-1和VCAM-1的影响作用。研究蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷是ACE和炎症因子的有效抑制剂, 这对于以蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷为原料, 研制治疗心血管疾病的药物和功能性食品提供了一定的理论基础和依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料和试剂

1.1.1 材料

人脐静脉内皮细胞(HUVEC)上海中乔新舟生物科技有限公司; 槲皮素、金丝桃苷和肿瘤坏死因子- α 美国Sigma公司; DMEM高糖培养液、EDTA胰酶及胎牛血清, GIBCO公司; ACE、MCP-1、ICAM-1和VCAM-1 ELISA试剂盒, 武汉博士德生物工程有限公司; HPD400大孔树脂, 沧州宝恩化工有限公司; 其他药品试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

AIRTECH超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; CO₂细胞培养箱, 美国热电公司; Berthold LB941

微孔板式多功能分析仪, 德国Berthold Technologies; DD-5M湘仪离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; FDU-1200真空冷冻干燥机, 东京理化/EYELA; 高效液相色谱与质谱联用仪Agilent 1100 HPLC/MS (SL), 美国Agilent公司。

1.2 方法

1.2.1 槲皮素和金丝桃苷的提取、纯化和检测^[11]

1.2.1.1 提取

冷藏蓝莓叶冷冻干燥至干, 以1:25料液比溶解于浓度60%的乙醇溶液, 65℃提取2h。5000g下离心, 低温蒸干, 冻干。

1.2.1.2 纯化

活化HPD400大孔树脂, 上样浓度为3mg/mL, pH为2, 上样流速为2mL/min时, 用80mL、40%乙醇以1mL/min的流速进行洗脱。

1.2.1.3 HPLC-MS/MS检测

过0.22 μ m滤膜后, 由自动进样器进样10 μ L, 流速0.6mL/min, 柱温35℃, 采用Zorbax SB-C18反相色谱柱(4.6mm \times 250mm, 5 μ m), DAD检测器, 检测波长为320nm。流动相A: 含1.0%醋酸的水; 流动相B: 含1.0%醋酸的甲醇。

洗脱条件: 采用梯度洗脱; 以流动相B的含量来表示为: 0~5min, 5%B; 5~15min, 5%~10%B; 15~40min, 10~15%B; 40~55min, 15%~40%B; 55~60min, 40%~60%B; 60~65min, 60%~100%B; 65~70min, 100%B; 80~85min, 70%~75%B; 85~90min, 75%~35%B; 90~95min, 5%B。

质谱条件: 雾化器N230(psi); 干燥氮气N210(psi); 毛细管温度为350℃, ESI-: 3.0kV, 测定范围: m/z 100~1000。

1.2.2 HUVEC培养

取出液氮中保存的HUVEC细胞, 用含有10%胎牛血清、2%青链霉素的DMEM高糖培养液在37℃5%CO₂培养箱中复苏细胞, 再用0.25%EDTA胰酶进行消化, 细胞计数、传代和冻存。选择生长良好的3~7代细胞用于实验。

1.2.3 槲皮素和金丝桃苷处理人脐静脉内皮细胞

待细胞长至80%~90%时, 进行细胞消化制备成细胞悬液, 取10 μ L于血球计数板上计数, 调整细胞浓度为1 \times 10⁶个/mL。人脐静脉内皮细胞多呈圆形、小多角形和短梭形, 少数细胞伸展, 细胞单层生长, 不重叠。

细胞进行6孔板培养,设立分组:空白组(DMSO)、TNF- α 刺激组(10 $\mu\text{g/L}$)、终浓度为1、10、50和100 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素+TNF- α 实验组(10 $\mu\text{g/L}$)、终浓度为1、10、50和100 $\mu\text{mol/L}$ 金丝桃苷+TNF- α 实验组(10 $\mu\text{g/L}$)。预先加入不同浓度的槲皮素或金丝桃苷处理18 h,再加入TNF- α 再培养6 h,测定各项指标变化。

1.2.4 ELISA 测定细胞上清液中 ACE、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 蛋白含量

细胞经不同分组药物刺激,取细胞上清,按一定比例稀释,根据 ELISA 试剂盒进行操作,在酶标仪450 nm下测定 OD 值。根据样品的吸光值在坐标上找出对应的浓度,乘以稀释度计算样品的最终浓度,测定出 ACE、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 蛋白含量。

1.2.5 数据处理

所有样品进行三次测定,结果表示为平均值 \pm 标准偏差(SD)。相关性分析与显著性差异采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。多组均数间采用单因素方差分析,两两之间比较采用 Dunnett-t 检验。重复试验结果采用相同数据处理方法,当 $p < 0.05$ 时表示存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 蓝莓叶多酚纯化组分的 HPLC-MS/MS 分

析

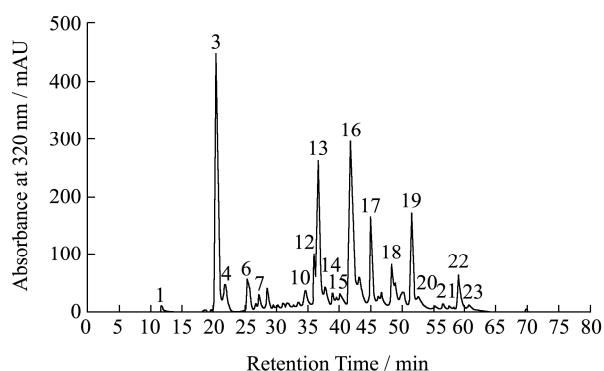


图1 蓝莓叶多酚纯化后组分的高相液相色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of blueberry polyphenol purified components (detected at 320 nm)

蓝莓叶多酚纯化后的组分经 HPLC 分离后主要包括 23 个峰(图1),由峰12的一级质谱图(图2),可知其分子离子峰[M-H] m/z 463.3,去质子二聚体[2M-H] m/z 927.1,这些特征离子碎片与已分离鉴定出蓝莓叶多酚中的金丝桃苷相符^[11,12],经推测峰12为金丝桃苷。由峰22的一级质谱图(图3),可知其分子离子峰[M-H] m/z 301.1,其最大吸收波长为370 nm,

与 Oszmianski^[11,12]研究蓝莓叶多酚中的槲皮素色谱数据相符,推测峰22为槲皮素。

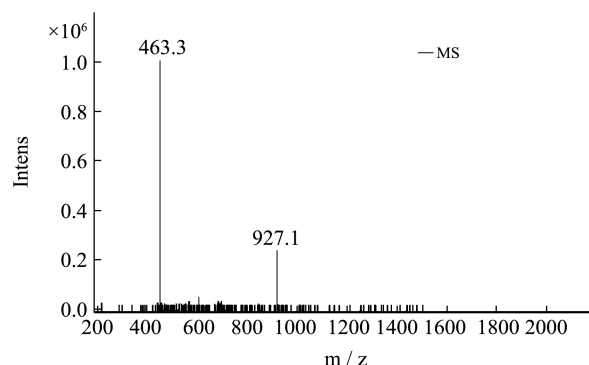


图2 峰12的质谱图

Fig.2 Mass spectrum of peak 12

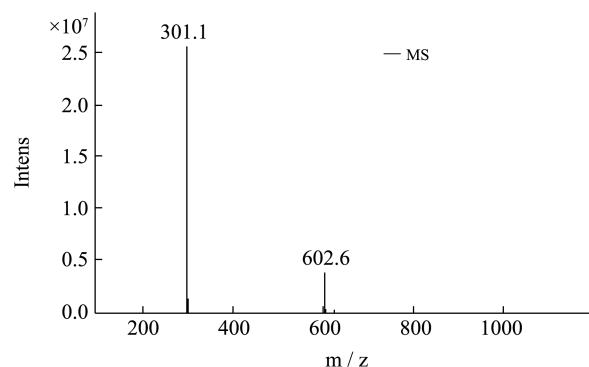


图3 峰22的质谱图

Fig.3 Mass spectrum of peak 22

2.2 槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 ACE

影响

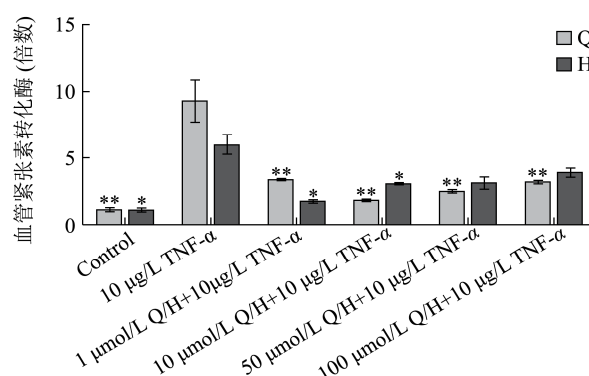


图4 ELISA 法测定不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 ACE 水平的影响

Fig.4 Effect of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced ACE in HUVECs by ELISA

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs TNF- α 。

由图4可知, TNF- α (10 $\mu\text{g/L}$) 诱导 HUVEC 时, 内皮细胞上清液中 ACE 含量显著增加。槲皮素实验

组中 TNF- α 诱导组 ACE 含量 (0.81 $\mu\text{g/L}$) 为空白组 (0.09 $\mu\text{g/L}$) 的 9.22 倍, 金丝桃苷实验组 TNF- α 诱导组 ACE 含量 (0.90 $\mu\text{g/L}$) 为空白组 (0.15 $\mu\text{g/L}$) 的 5.84 倍。槲皮素和金丝桃苷对 HUVEC 细胞中 ACE 水平的影响显著, 槲皮素和金丝桃苷浓度从 1 $\mu\text{mol/L}$ 增加到 100 $\mu\text{mol/L}$, 细胞内 ACE 水平含量都比刺激组要低, 说明槲皮素和金丝桃苷都可作为 ACE 抑制剂, 用于治疗心血管疾病。槲皮素对 TNF- α 诱导的 ACE 抑制率先增大后减小, 在浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制率最大为 81.13%; 金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 ACE 抑

制率随浓度增大而减小, 在浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制率为 71.64%, 抑制效果最明显, 高浓度时没有明显抑制效果。槲皮素和金丝桃苷预处理 HUVEC, 可以保护细胞免受 TNF- α 干扰, 显著抑制 ACE 水平增高(表 1)。金丝桃苷作为槲皮素的吡喃半乳糖苷, 相对于槲皮素, 抑制活性较弱。有报道指出^[12,13], 糖苷的介入会降低花青素的抗氧化活性, 这是由于糖苷代替羟基, 降低了游离羟基与位点结合, 同理, 也降低了抑制 ACE 的能力。

表 1 不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 ACE 的含量和抑制率

Table 1 Content and inhibition rate of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced ACE in HUVECs

浓度/ $(\mu\text{mol/L})$		1	10	50	100
ACE 含量/ $(\mu\text{g/L})$	Q	0.289 \pm 0.009	0.153 \pm 0.014	0.212 \pm 0.017	0.271 \pm 0.015
	H	0.255 \pm 0.030	0.458 \pm 0.021	0.468 \pm 0.077	0.586 \pm 0.064
抑制率/%	Q	64.36	81.13	72.86	66.58
	H	71.64	49.05	47.94	34.82

2.3 槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的

MCP-1 影响

图 5 表明, TNF- α (10 $\mu\text{g/L}$) 诱导 HUVEC 时, 内皮细胞上清液中 MCP-1 含量显著增加。槲皮素实验组中 TNF- α 诱导组 MCP-1 含量 (0.566 $\mu\text{g/L}$) 为空白组 (0.138 $\mu\text{g/L}$) 的 4.1 倍, 金丝桃苷实验组 TNF- α 诱导组含量 (0.425 $\mu\text{g/L}$) 为空白组 (0.23 $\mu\text{g/L}$) 的 1.85 倍。槲皮素和金丝桃苷预处理 HUVEC, 显著抑制 MCP-1 水平增高。槲皮素和金丝桃苷对 HUVEC 细胞中 MCP-1 水平的影响显著, 具有统计学意义。由表 2 可知, 槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 MCP-1 抑制率先增大后减小。槲皮素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制率最高为 54.59%, 金丝桃苷浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制效果最明显, 抑制率为 41.42%。与抑制 ACE 活性类似, 槲皮素相对于金丝桃苷, 抑制炎症因子

MCP-1 的效果略强。

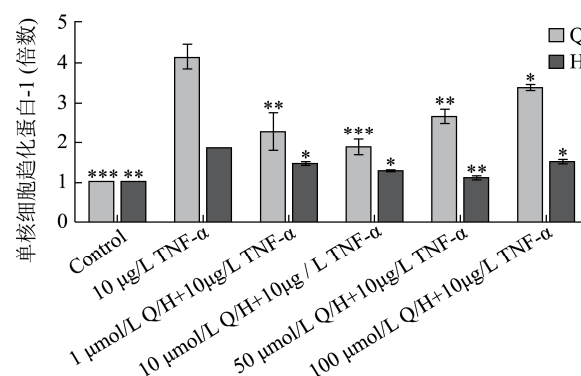


图 5 ELISA 法测定不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 MCP-1 水平的影响

Fig.5 Effect of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced MCP-1 in HUVECs by ELISA

注: * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs TNF- α 。

表 2 不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 MCP-1 的含量和抑制率

Table 2 Content and inhibition rate of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced MCP-1 in HUVECs

浓度/ $(\mu\text{mol/L})$		1	10	50	100
MCP-1 含量/ $(\mu\text{g/L})$	Q	0.311 \pm 0.069	0.257 \pm 0.026	0.365 \pm 0.022	0.464 \pm 0.008
	H	0.335 \pm 0.001	0.292 \pm 0.011	0.249 \pm 0.007	0.344 \pm 0.001
抑制率/%	Q	45.05	54.59	35.51	18.02
	H	21.18	31.29	41.42	19.06

2.4 槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 ICAM-1 的影响

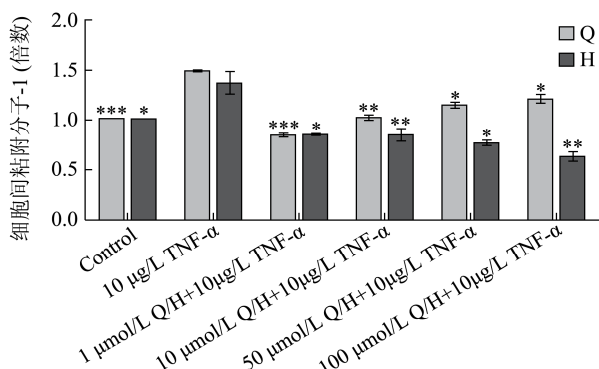


图6 ELISA 法测定不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 ICAM-1 水平的影响

Fig.6 Effect of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced ICAM-1 in HUVECs by ELISA

注: * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs TNF- α 。

由图 6 可见, TNF- α (10 μ g/L) 诱导 HUVEC 时, 内皮细胞上清液中 ICAM-1 含量显著增加。槲皮素实验组中 TNF- α 诱导组 ICAM-1 含量 (0.686 μ g/L) 为空白组 (0.461 μ g/L) 的 1.49 倍, 金丝桃苷实验组 TNF- α 诱导组含量 (0.425 μ g/L) 为空白组 (0.23 μ g/L) 的 1.85 倍。槲皮素和金丝桃苷对 HUVEC 细胞中 ICAM-1 水平的影响显著, 具有统计学意义。表 3 表明, 槲皮

表 3 不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 ICAM-1 的含量和抑制率

Table 3 Content and inhibition rate of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced ICAM-1 in HUVECs

浓度/ μ mol/L		1	10	50	100
ICAM-1 含量/ μ g/L	Q	0.385 \pm 0.009	0.469 \pm 0.011	0.525 \pm 0.023	0.553 \pm 0.023
	H	0.162 \pm 0.008	0.16 \pm 0.006	0.145 \pm 0.016	0.119 \pm 0.017
抑制率/%	Q	43.88	31.63	23.50	19.39
	H	37.45	38.22	44.02	54.05

表 4 不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 VCAM-1 的含量和抑制率

Table 4 Content and inhibition rate of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced VCAM-1 in HUVECs

浓度/ μ mol/L		1	10	50	100
VCAM-1 含量/ μ g/L	Q	0.351 \pm 0.008	0.308 \pm 0.001	0.375 \pm 0.004	0.393 \pm 0.001
	H	0.301 \pm 0.005	0.339 \pm 0.011	0.390 \pm 0.001	0.397 \pm 0.004
抑制率/%	Q	13.12	23.76	7.17	2.72
	H	26.74	17.72	5.34	3.64

TNF- α (10 μ g/L) 诱导 HUVEC 时, 内皮细胞上清液中 VCAM-1 含量显著增加。槲皮素实验组中 TNF- α 诱导组 VCAM-1 含量 (0.404 μ g/L) 为空白组

素对 TNF- α 诱导的 ICAM-1 抑制率随浓度增大而减小, 抑制率降低 55.81%; 而金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 ICAM-1 抑制率随浓度增大而增大, 抑制率升高 44.33%。与 MCP-1 不同, 金丝桃苷对 ICAM-1 的抑制作用较槲皮素高一些, 在 100 μ mol/L 时抑制率超过 50%。槲皮素和金丝桃苷干预后可明显降低 ICAM-1 表达, 减轻炎症所致细胞损伤程度, 起到了保护作用。

2.5 槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 VCAM-1 的影响

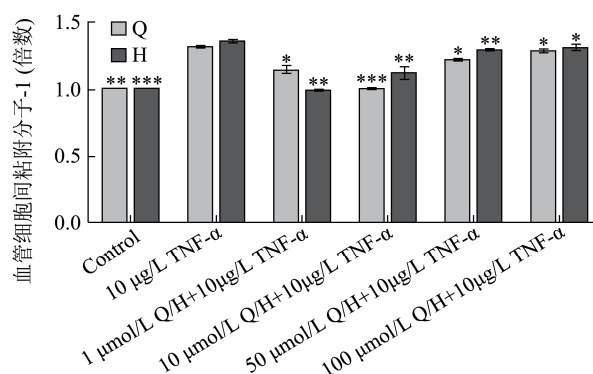


图7 ELISA 法测定不同浓度槲皮素和金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 HUVEC 细胞上清中 VCAM-1 水平的影响

Fig.7 Effect of different concentrations of quercetin and hyperin on the level of TNF- α -induced VCAM-1 in HUVECs by ELISA

注: * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs TNF- α 。

(0.309 μ g/L) 的 1.31 倍, 金丝桃苷实验组 TNF- α 诱导组含量 (0.412 μ g/L) 为空白组 (0.304 μ g/L) 的 1.36 倍。槲皮素和金丝桃苷预处理 HUVEC, 显著抑制

VCAM-1 水平增高。槲皮素和金丝桃苷对 HUVEC 细胞中 VCAM-1 水平的影响显著, 具有统计学意义(图 7)。槲皮素对 TNF- α 诱导的 VCAM-1 抑制率先增大后减小, 在浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时效果最明显; 而金丝桃苷对 TNF- α 诱导的 VCAM-1 抑制率随浓度增大而减小, 抑制率降低 86.39% (表 4)。

3 结论

3.1 浓度范围在 1~100 $\mu\text{mol/L}$ 的槲皮素和浓度范围在 1~10 $\mu\text{mol/L}$ 的金丝桃苷能够抑制由 TNF- α 诱导的内皮细胞 ACE 蛋白过度表达, 高浓度金丝桃苷对 ACE 的抑制并不明显, 表明蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷具有一定的舒血管功能, 且在较低浓度时效果比较明显。

3.2 槲皮素和金丝桃苷能够抑制 TNF- α 引起的炎症因子 MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 蛋白过度表达, 不同浓度蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷都有抑制作用, 但抑制率效果不同, 然而抑制率与浓度之间并没有明显的规律性, 表明蓝莓叶槲皮素和金丝桃苷能够降低细胞炎症反应, 从而保护血管内皮细胞免受损伤。

3.3 金丝桃苷是槲皮素-3-O- β -D-吡喃半乳糖苷, 在对舒血管和抑制 MCP-1 的效果没有槲皮素的作用效果强, 这可能是由于糖苷代替羟基, 降低了游离羟基与位点结合引起的。

参考文献

- [1] Wang K F, Shang-Hua X U, Chang-Sheng X U, et al. The effects of advanced glycation end products on MCP-1 and VCAM-1 expressions in human umbilical vein endothelial cell and the atorvastatin intervention effect [J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2011, 19(4): 299-304
- [2] Huang W Y, Wang J, Liu Y M, et al. Inhibitory effect of malvidin on TNF- α -induced inflammatory response in endothelial cells [J]. European Journal of Pharmacology, 2014, 723: 67-72
- [3] Kruse C, Kurz A R, Pálfi K, et al. Polarity protein scrib facilitates endothelial inflammatory signaling [J]. Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology, 2015
- [4] Chen H, Xie K, Han H, et al. Molecular hydrogen protects mice against polymicrobial sepsis by ameliorating endothelial dysfunction via an Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. International Immunopharmacology, 2015, 28(1): 643-654
- [5] Hsueh W A, Wyne K. Renin-angiotensin-aldosterone system in diabetes and hypertension [J]. The Journal of Clinical Hypertension, 2011, 13(4): 224-237
- [6] Ly C, Yockell-Lelièvre J, Ferraro Z M, et al. The effects of dietary polyphenols on reproductive health and early development [J]. Human Reproduction Update, 2015, 21(2): 228-248
- [7] J M Castagnini, N Betoret, E Betoret, et al. Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 64(2): 1289-1296
- [8] Li C, Feng J, Huang W Y, et al. Composition of polyphenols and antioxidant activity of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) in Nanjing [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(3): 523-531
- [9] Nishida S, Satoh H. Role of gap junction involved with endothelium-derived hyperpolarizing factor for the quercetin-induced vasodilatation in rat mesenteric artery [J]. Life Sciences, 2013, 92(13): 752-756
- [10] Fan Y F, Chen Z W, Guo Y, et al. Cellular mechanisms underlying hyperin-induced relaxation of rat basilar artery [J]. Fitoterapia, 2011, 82(4): 626-631
- [11] 冯进, 李敏, 曾晓雄, 等. 大孔树脂纯化蓝莓叶多酚及其组成分析 [J]. 食品科学, 2013, 34(10): 86-91
- [12] FENG Jin, LI Min, ZENG Xiao-xiong, et al. Macroporous resin purification and composition analysis of polyphenols from blueberry leaves [J]. Food Science, 2013, 34(10): 86-91
- [13] Oszmianski J, Wojdylo A, Gorzelany, J, et al. Identification and characterization of low molecular weight polyphenols in berry leaf extracts by HPLC-DAD and LC-ESI/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(54): 12830-12835
- [14] Joana P, Teresa Cpd, Leonor Ma. Malvidin-3-glucoside protects endothelial cells up-regulating endothelial NO synthase and inhibiting peroxynitrite-induced NF-kB activation [J]. Chemico-biological Interactions, 2012, 199(3): 192-200
- [15] Huang W Y, Wang J, Li C Y. Anti-inflammatory effect of malvidin-3-glucoside and malvidin-3-galactoside [J]. Bio-medical Materials and Engineering, 2013, 23: S415-S424