

藤梨根总黄酮对大鼠肝脏组织抗氧化能力及其相关基因表达的影响

滕 坤¹, 臧 皓¹, 沈 鹏¹, 张海丰¹, 阮洪生^{2*}

1. 通化师范学院制药与食品科学学院, 吉林 通化 134002

2. 浙江医药高等专科学校中药学院, 浙江 宁波 315100

摘 要: 目的 对藤梨根总黄酮(TFAR)体内与体外的抗氧化活性及其相关机制进行研究。方法 以清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)自由基能力为指标对 TFAR 进行体外抗氧化活性实验;以 D-半乳糖致衰老大鼠为模型,测定大鼠肝脏组织中丙二醛(MDA)的量及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活力及抗氧化相关基因 SOD1、SOD2、GPX1 mRNA 表达。结果 TFAR 对 DPPH、ABTS 自由基具有良好的清除作用,IC₅₀ 分别为 27.01 mg/mL 和 29.55 mg/mL。与模型组比较,TFAR 各给药组肝脏组织中 MDA、SOD、CAT 指标均有显著改善($P<0.05$ 、 0.01),表现在 MDA 水平降低,SOD、CAT 活性升高,并回调到对照组水平以上。TFAR 各剂量组对指标的调控作用呈量效关系。与模型组比较,TFAR 3 个剂量组均能够上调衰老模型大鼠肝脏组织上清液中 SOD1、SOD2、GPX1 mRNA 的表达,差异显著($P<0.05$ 、 0.01),且存在一定的剂量依赖关系。结论 TFAR 在体外和体内均有抗氧化活性,抗氧化活性与上调大鼠肝脏组织中 SOD1、SOD2、GPX1 mRNA 表达有关。

关键词: 藤梨根;总黄酮;抗氧化;丙二醛;超氧化物歧化酶;过氧化氢酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)12-2486-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.019

Effects of total flavonoids of *Actinidiae Radix* on anti-oxidant capacity and related gene expression in rat liver tissues

TENG Kun¹, ZANG Hao¹, SHEN Peng¹, ZHANG Hai-feng¹, RUAN Hong-sheng²

1. College of Pharmaceutical and Food Science, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, China

2. College of Chinese Medicine, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China

Abstract: Objective To investigate the antioxidant activities of total flavonoids of *Actinidiae Radix* (TFAR) *in vitro* and *in vivo* and the related mechanism. **Methods** The anti-oxidant activities of TFAR were determined using DPPH and ABTS radical scavenging assays *in vitro*. The content of MDA and the activity of SOD and CAT in rat liver tissue were determined. **Results** TFAR have showed significant DPPH radical scavenging activity and ABTS free radical scavenging activity and the IC₅₀ values of TFAR were 27.01 and 29.55 mg/mL, respectively. Compared with the model group, the MDA content of liver tissue was significantly decreased in the order of TFAR from low dose to high dose, and the activity of SOD and CAT increased significantly. Compared with model group, gene expression of mRNA of SOD1, SOD2 and GPX1 in liver tissue was up-regulated by each dose group of TFAR. **Conclusion** TFAR has anti-oxidant activity *in vitro* and *in vivo*, and has a dose-dependent relationship with the expression of mRNA in rat liver tissue.

Key words: *Actinidiae Radix*; total flavonoids; anti-oxidant; MDA; SOD; CAT

现代研究表明,癌症、衰老等疾病都与过量自由基的产生密切相关,且活性氧自由基及其诱导的氧化反应是导致糖尿病和代谢综合征等多种慢性疾病的重要因素^[1-2]。生物机体内过氧化氢酶(CAT)是过氧化物的清除剂,在维护生物机体内自由基产

生与清除的动态平衡中起着极其重要的作用。丙二醛(MDA)是自由基氧化后产生的代谢产物。CAT活性的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力,而MDA水平的高低又间接反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度。因而CAT活性与MDA的量是

收稿日期: 2017-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31100254); 吉林省教育厅项目(吉教科合字[2015]第439号)

作者简介: 滕 坤(1975—),女,硕士,副教授,硕士生导师,研究方向为中药炮制研究。E-mail: tengkun1975999@163.com

*通信作者 阮洪生(1973—),男,博士,副教授,研究方向为中药有效成分开发。E-mail: 360535646@qq.com

反映体内氧自由基代谢的重要指标^[3]。能够清除自由基的药物即具有抗氧化作用,因此具有抗氧化活性的药物可以有效克服自由基过量所带来的危害^[4-5]。大量研究表明黄酮类化合物具有较强的抗氧化和清除自由基的活性^[6]。藤梨根为猕猴桃科植物软枣猕猴桃 *Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq. 的根,本课题组前期研究表明藤梨根中也含有大量的黄酮类化合物^[7-8]。目前,藤梨根的研究主要集中在化学成分提取分离、定量测定及药效学的抗肿瘤、抗炎等方面,对藤梨根总黄酮(total flavonoids of *Radix Actinidiae*, TFAR)的自由基清除活性和抗氧化活性及其作用机制的深入分析相对较少。现代研究证实炎症的产生与氧化应激之间也存在必然的联系^[9]。鉴于此,本研究以常用抗氧化剂维生素C(VC)为阳性对照,采用清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)自由基的方法,测定TFAR体外清除自由基的能力,同时以D-半乳糖诱导衰老大鼠为模型,研究TFAR在抗衰老模型动物体内的抗氧化作用及其作用机制,为深度开发利用TFAR奠定基础。

1 材料

1.1 药物及试剂

藤梨根药材购自吉林通化医药大厦,经通化师范学院于俊林教授鉴定为猕猴桃科软枣猕猴桃 *Actinidia arguta* (Sieb. & Zucc) Planch. ex Miq. 的干燥根,原植物保存于通化师范学院制药与食品科学学院。芦丁(中国食品药品检定研究院,批号100080-201409,质量分数92.6%);DPPH、ABTS、VC(美国Sigma公司);超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、考马色亮蓝G-250、D-半乳糖、戊巴比妥钠(南京建成生物工程研究所);Trigol试剂盒、cDNA第一链合成试剂盒、荧光定量PCR试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司);其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

DNM-9606型酶标仪(北京普朗新技术有限公司);752N型紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);BP211D型十万分之一电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);TGL-16LM型高速冷冻离心机(上海赵迪生物科技有限公司);MDF-382E型超低温冰箱(日本三洋公司);

ISRDV-1型立式恒温振荡器(苏州捷美电子有限公司);XW-80A型漩涡振荡仪(上海精密科学仪器有限公司);light Cyclor 480II实时荧光定量PCR仪(瑞士罗氏公司)。

1.3 实验动物

Wistar大鼠36只,雌雄各半,16~22周龄,体质量200~220g,购自辽宁长生生物技术公司,许可证号为SCXK(辽)2015-0001。

2 方法

2.1 TFAR的制备

TFAR的制备采用本课题组前期筛选的星点设计-响应面法确定的优选工艺,以总黄酮提取率(总黄酮质量/药材干质量)为指标,以芦丁为对照品,采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法测定总黄酮的量^[7-8]。经计算TFAR提取率为10.31%,总黄酮质量分数85%。

2.2 TFAR体外抗氧化活性评价

2.2.1 TFAR清除DPPH自由基的活性测定 参考文献方法^[10],DPPH用75%乙醇配成100 $\mu\text{mol/L}$ 溶液。TFAR用75%乙醇稀释,配制成5种不同浓度的样品溶液,在10 mL具塞比色管中依次加入2 mL样品溶液和2 mL DPPH溶液,充分混匀,室温避光放置30 min,于517 nm波长处测定吸光度(A)值。对照组以2 mL 75%乙醇代替DPPH溶液,与2 mL样品混匀,于517 nm波长处测定 A 值(A_1)。空白组以2 mL DPPH溶液与2 mL 75%乙醇混合后测定517 nm波长处的 A 值(A_0)。VC为阳性对照药物。计算DPPH自由基清除率,实验重复3次。

$$\text{DPPH清除率} = 1 - (A - A_1) / A_0$$

2.2.2 TFAR清除ABTS自由基活性测定 参考文献方法^[11],在96孔板中分别加入DMSO溶解的不同浓度的TFAR溶液5 μL ,然后加入45 μL 无水乙醇,再加入150 μL 的ABTS工作液,振荡6 s,混匀,30 $^{\circ}\text{C}$ 下反应6 min,734 nm下测定样品 A 值(A_i),以无水乙醇代替样品,测得空白 A 值(A_0),以无水乙醇代替ABTS,测得样品本底 A 值(A_j),每个样品5个复孔,重复3次,取其平均值,以VC为阳性对照药物,计算ABTS自由基清除率。

$$\text{ABTS清除率} = [A_0 - (A_i - A_j)] / A_0$$

2.3 TFAR体内抗氧化活性评价

2.3.1 动物分组、造模及给药 以D-半乳糖诱导大鼠衰老模型^[12-13]。将36只Wistar大鼠,随机分成6组,即对照组,模型组,VC组,TFAR高、中、低

剂量组, 每组 6 只, 雌雄各半, 按每笼 2 只饲养, 自由进食饮水。除对照组外, 其余各组均颈背部 sc 5% D-半乳糖生理盐水溶液, 每天 1 次, 给药剂量为 100 mg/kg, 造模持续 7 周。从造模第 1 天开始给药, TFAR 低、中、高剂量组分别 ig 给予 TFAR 0.54、1.08、2.16 g/kg, VC 组 ig 给予 VC 水溶液 15 mg/kg, 给药体积为 10 mL/kg, 对照组和模型组 ig 给予同等体积的生理盐水, 连续给药 7 周。

2.3.2 待测样本的制备^[14-16] 在各组末次给药后禁食不禁水 14 h, 次日, 以 1%戊巴比妥钠 ip 麻醉大鼠, 10 mL/kg, 待大鼠翻正反射消失后, 冰浴固定, 解剖各组大鼠, 迅速取出肝脏, 用生理盐水冲净, 滤纸吸干多余的生理盐水, 精密称定肝脏组织 1.0 g, 置事先预冷的研钵中快速研磨, 以 1:9 比例加入 4 °C 生理盐水继续研磨至匀浆状, 转移至 5 mL 离心管中, 3 500 r/min 离心 15 min, 其上清液为待测样本。

2.3.3 肝组织上清液指标测定 采用脂质氧化法测定 MDA 的量, 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性, 紫外吸收法测定 CAT 活力, 考马斯亮蓝法测定样本的蛋白浓度, 具体操作均按试剂盒说明书进行。

2.3.4 大鼠肝脏抗氧化相关基因表达的测定 参照文献报道方法^[17-19]进行 RNA 提取和 qPCR 定量。按 Trigol 试剂盒的操作方法提取肝脏的总 RNA; 取 2 μ L RNA 原液, 加入 498 μ L ddH₂O, 用移液枪反复混匀, 用 ddH₂O 为空白对照, 测定 260、280 nm 处吸光度 (A_{260} 、 A_{280}) 值, 计算 A_{260}/A_{280} , 比值 ≥ 1.8 满足实验要求, 将 RNA 质量浓度调整到 10 ng/ μ L 备用。

参照 cDNr 第一链合成试剂盒说明书分别将各样品的总 RNA 进行逆转录合成 cDNA, 并以此为模板采用实时荧光定量 PCR 方法测定 SOD1、SOD2 和 GPX1 的 mRNA 表达量。

引物由北京鼎国昌盛生物技术有限公司设计, 序列见表 1。以肌动蛋白 (actin) 为内参, 在罗氏实时荧光定量 PCR 仪上进行 PCR 反应, 反应体系为 25 μ L, 采用两步法, 第 1 步在 0.2 mL PCR 管 (DEPC 处理) 中加入以下反应体系, 包括 17.3 μ L H₂O, 2.5 μ L 10 $\times$ buffer, 2 μ L dNTP, 1 μ L Primer F (10 μ mol/L), 1 μ L Primer R (10 μ mol/L), 1 μ L DNA 模板, 0.2 μ L Taq 酶, 总体积 25 μ L, 短暂离心, 混匀体系中组分。进行 PCR 循环, 条件为 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 63 °C 复性 30 s, 72 °C

表 1 实时定量 PCR 引物信息

Table 1 Information of primers used for real-time quantitative PCR

基因	序列	长度/bp
SOD1-S	GAACCAGTTGTGGTGTTCAGG	20
SOD1-R	GGTCTCCAACATGCCTCTCT	20
SOD2-S	CTGGCCAAGGGAGATGTTAC	20
SOD2-R	AAAGACCCAAAGTCACGCTT	20
GPX1-R	CATCAGGAGAATGGCAAGAA	20
GPX1-S	TCACCTCGCACTTCTCAAAC	20
actin-S	CAACTCCCTCAAGATTGTCTAGCAA	24
actin-R	GGCATGGACTGTGGTCATGA	20

延伸 30 s, 共 35 个循环, 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。第 2 步在 0.2 mL PCR 管 (DEPC 处理) 中加入以下反应体系, 包括 1~10 ng cDNA 模板, 0.5 μ L Primer F (10 μ mol/L), 0.5 μ L Primer R (10 μ mol/L), 12.5 μ L 2 $\times$ SYBR Green PCR Premix HS Tag, 用 RNAase-free ddH₂O 补足 25 μ L, 短暂离心, 混匀体系中组分。进行 PCR 循环, 条件为 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 63 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 35 个循环, PCR 反应每份样品做 3 次重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[20]计算样品中各抗氧化基因 mRNA 的相对表达量。

2.4 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析及组间两两比较。

3 结果

3.1 对 DPPH 自由基的清除作用

由图 1 可知, VC、TFAR 清除 DPPH 自由基能力与质量浓度呈一定的量效关系, 与相同质量浓度的 VC 相比, TFAR 清除 DPPH 自由基的能力略弱。在二者质量浓度达到 30 mg/mL 时, 对 DPPH 自由基的清除率达到最大值, 即使质量浓度继续增大时, 清除率上升缓慢, 没有显著变化。VC 和 TFAR 清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值分别为 19.81、27.01 mg/mL。

3.2 对 ABTS 自由基的清除作用

图 2 结果表明, 在质量浓度 30 mg/mL 时, TFAR 清除 ABTS 自由基的能力达到最大值, 即使质量浓度继续增大, 其清除率没有显著变化。与相同质量浓度的 VC 相比, TFAR 对 ABTS 清除率略低。VC 和 TFAR 清除 ABTS 自由基的 IC₅₀ 值分别为 24.33、29.55 mg/mL。

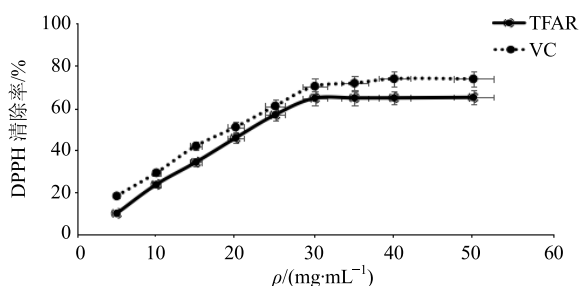


图 1 TFAR 体外对 DPPH 的清除作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 DPPH radical scavenging activity of TFAR *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

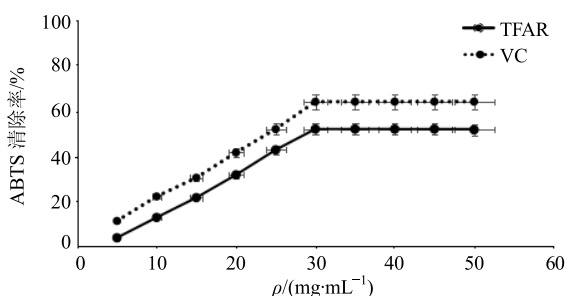


图 2 TFAR 体外对 ABTS 自由基的清除作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 ABTS radical scavenging activity of TFAR *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.3 对大鼠肝脏组织 MDA 水平及 SOD、CAT 活性的影响

表 2 结果表明, 与对照组比较, 模型组大鼠肝脏组织中 MDA、SOD、CAT 指标值差异显著 ($P < 0.01$)。与模型组比较, TFAR 各组肝脏组织中 MDA、SOD、CAT 指标均有显著改善 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表现在 MDA 水平降低, SOD、CAT 活性升高, 并回调到对照组水平以上。TFAR 各剂量组对指标的调控呈量效关系。在指标调控方面, TFAR 高剂量组与 VC 组的调控能力相当, 而 TFAR 的中、低剂量组略差一些。以上结果说明 TFAR 可明显抑制肝脏组织的氧化应激反应, 体内具有抗氧化作用。

3.4 对大鼠肝脏抗氧化基因 SOD1、SOD2、GPX1 基因表达的影响

与模型组比较, TFAR 各剂量组均能够上调衰老模型大鼠肝脏组织上清液中 SOD1、SOD2、GPX1 mRNA 表达, 差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且存在一定的剂量依赖关系。结果见图 3~5。

表 2 TFAR 对衰老大鼠肝脏组织 MDA 水平及 SOD、CAT 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of TFAR on levels of MDA and activities of SOD and CAT in liver tissues of aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	总 SOD/(U·mg ⁻¹)	Cu, Zn-SOD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)
对照	—	1.253 ± 0.358	117.009 ± 1.880	78.436 ± 0.988	12.265 ± 0.794
模型	—	2.982 ± 0.273**	83.253 ± 0.842**	52.429 ± 0.631**	10.462 ± 0.458**
TFAR	0.54	2.335 ± 0.341 [#]	112.098 ± 1.614 ^{##}	65.183 ± 1.602 [#]	13.582 ± 1.356 [#]
	1.08	1.848 ± 0.215 ^{##}	122.397 ± 1.113 ^{##}	79.122 ± 1.124 ^{##}	14.362 ± 1.754 ^{##}
	2.16	1.335 ± 0.138 ^{##}	135.931 ± 1.688 ^{##}	89.020 ± 1.126 ^{##}	15.633 ± 1.661 ^{##}
VC	0.015	1.216 ± 0.175 ^{##}	140.257 ± 1.635 ^{##}	92.372 ± 1.478 ^{##}	15.672 ± 1.504 ^{##}

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below

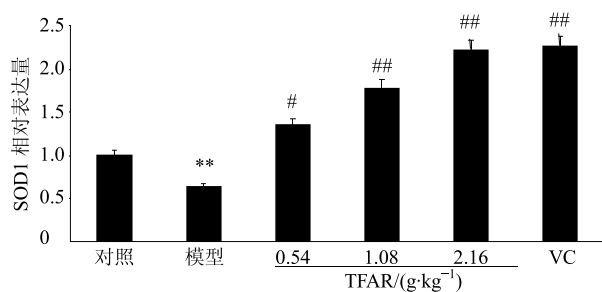


图 3 TFAR 对衰老大鼠肝脏组织 SOD1 mRNA 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effects of TFAR on mRNA expression of SOD1 in liver tissue of aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

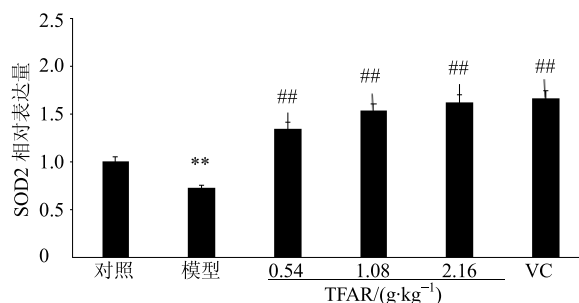


图 4 TFAR 对衰老大鼠肝脏组织 SOD2 mRNA 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effects of TFAR on mRNA expression of SOD2 in liver tissue of aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

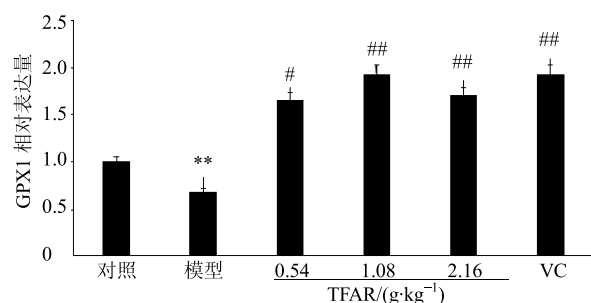


图 5 TFAR 对衰老大鼠肝脏组织 GPX1 mRNA 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Effects of TFAR on mRNA expression of GPX1 in liver tissue of aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

体外抗氧化实验中, TFAR 表现出了良好的清除 DPPH 自由基的作用, IC_{50} 值与阳性对照 VC 非常接近; 而后在体内的抗氧化实验中, 与模型组比较, TFAR 的 3 个剂量组, 可以使肝脏组织的 MDA 水平明显降低, SOD、CAT 活性则明显升高。体外和体内的实验结果说明 TFAR 可明显抑制氧化应激, 有抗氧化作用, 且有一定的量效关系。TFAR 给药后对于大鼠肝脏组织中 SOD1 的 mRNA 基因表达的影响, 也存在一定的剂量依赖关系, 这与体内抗氧化结果相一致; TFAR 对 SOD1、SOD2 和 GPX1 的影响则总体表现均可上调 mRNA 的表达^[21-22]。

目前国内外对治疗肿瘤和抗衰老植物药的研究发现, 黄酮及其苷类成分能够通过清除自由基、抗脂质过氧化等多途径、多靶点来达到治疗目的^[23-24]。本研究的结果也与这些研究成果相符, 但对于 TFAR 抗氧化多靶点作用机制及具体的抗氧化的物质基础还需深入研究。

参考文献

- [1] Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, *et al.* Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis [J]. *Mediat Inflamm*, 2010, doi: 10.1155/2010/453892.
- [2] Matough F A, Budin S B, Hamid Z A, *et al.* The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications [J]. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2012, 12(1): 5-18.
- [3] 燕宪涛, 路新国, 章海风, 等. 枸杞菊花冲剂对老年大鼠肝脏和血清 CAT 活力及 MDA 含量的影响 [J]. *西部中医药*, 2012, 25(3): 24-26.
- [4] Mzid M, Ben K S, Ben S M, *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts

from *Urtica urens* [J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 775-781.

- [5] Pliszka B, Huszcza-Ciolkowska G, Wierzbicka E. Effects of solvents and extraction methods on the content and antiradical activity of polyphenols from fruits *Actinidia arguta*, *Crataegus monogyna*, *Gaultheria procumbens* and *Schisandra chinensis* [J]. *Acta Scient Polon Technol Alim*, 2016, 15(1): 57-63.
- [6] 朱 华, 梁东艳, 廖月葵. 总黄酮化合物药理作用研究进展 [J]. *广西中医药*, 2003, 26(3): 3-5.
- [7] 滕 坤, 阮洪生, 武子敬, 等. 星点设计-响应面法优选藤梨根中总黄酮的工艺研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2012, 27(7): 610-614.
- [8] 滕 坤, 阮洪生, 武子敬, 等. 大孔吸附树脂纯化藤梨根中总黄酮工艺优选 [J]. *医药导报*, 2013, 32(1): 63-65.
- [9] Teng K, Ruan H S, Zhang H F. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of roots extracts from *Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch [J]. *Pharmacogn J*, 2014, 6(2): 80-86.
- [10] Zhang S L, Deng P, Xu Y C, *et al.* Quantification and analysis of anthocyanin and flavonoids compositions, and antioxidant activities in onions with three different colors [J]. *J Integr Agric*, 2016, 15(9): 2175-2181.
- [11] 吕 寒, 滕杰晖, 陈 剑, 等. 枇杷叶总黄酮的纯化工工艺及抗氧化活性研究 [J]. *中国现代应用药学杂志*, 2014, 31(1): 40-44.
- [12] 艾秀峰, 陈民利, 潘永明, 等. D-半乳糖致衰老模型大鼠肝肾功能 and 自由基代谢与中药的干预作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2010, 20(5): 41-45.
- [13] 常艳芬, 宫文霞, 郑艳红, 等. 黄芩醇提取物干预 D-半乳糖致衰老大鼠的尿液代谢组学研究 [J]. *药学报*, 2016, 51(1): 86-92.
- [14] 张继业, 李亚楠, 常 春, 等. 补阳还五汤小鼠体内抗氧化作用的药效动力学研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(1): 96-100.
- [15] 朱慧民, 李 辉, 朱天民, 等. 红豆杉多糖对 Beagle 犬心肌缺血再灌注损伤模型心肌 NADPH 氧化酶 mRNA 及 SOD、MDA 的影响 [J]. *中草药*, 2011, 42(5): 935-939.
- [16] 徐 博, 吴畏难, 李传甲, 等. 萱草花总黄酮对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用及机制探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(23): 139-143.
- [17] 王彦平, 袁贵英, 曹 娅, 等. 紫山药提取物抗氧化与延长寿命作用的研究 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(1): 360-363.
- [18] 李成舰, 童海鸥, 颜琼娟, 等. L-茶氨酸对大鼠内脏组织抗氧化能力及相关基因表达的影响 [J]. *食品科学*, 2017, 38(3): 188-194.

- [19] 周笑犁, 刘俊锋, 吴琛, 等. 精氨酸和 *N*-氨甲酰谷氨酸对环江香猪脂质代谢的影响 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(4): 1055-1060.
- [20] 许友卿, 张青红, 李颖慧, 等. 饲料中添加杜仲叶粉对青鱼生长和组织免疫相关基因表达的影响研究 [J]. 农业现代化研究, 2015, 36(6): 1074-1079.
- [21] Yen G C, Hsieh C L. Antioxidant activity of extracts from *Du-zhong* (*Eucommia ulmoides*) toward various lipid peroxidation models *in vitro* [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46(10): 3952-3957.
- [22] 褚现明, 王妮, 孙雪霞, 等. C-PC 抑制 ox-LDL 诱导内皮细胞脂质过氧化损伤的机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(4): 588-589.
- [23] 蒋晓文, 白俊鹏, 田星, 等. 牛蒡根中黄酮苷类化学成分及其抗氧化活性构效关系的研究 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 726-731.
- [24] 李爽, 郑毅男, 韩佳彤, 等. 发酵处理对毛豆异黄酮苷元含量及其乙醇提取物抗氧化活性的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2016, 44(7): 202-214.