

• 药理与临床 •

瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物对氧化应激诱导的果蝇肠道免疫的影响

周 洋, 柳宗琳, 陈羽臣, 金丽华*

东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: 目的 研究中药提取物对氧化应激诱导的果蝇肠道免疫功能的影响。方法 通过喂食氧化应激物(百草枯和 H_2O_2) 后统计果蝇生存率的方法, 从 50 种中药中筛选出具有缓解氧化应激损伤作用的中药。通过分析果蝇寿命、肠道干细胞和成肠细胞数量等, 探索中药对果蝇肠道氧化应激损伤的影响。结果 瓜蒌、红花、川芎和菊花具有缓解氧化应激损伤的作用, 主要表现为提高百草枯和 H_2O_2 诱导后果蝇的生存率、延长果蝇寿命、缓解由老化及百草枯诱导的肠道干细胞和成肠细胞数量过多的现象。结论 瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物对百草枯和 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤具有很好的缓解和保护作用。

关键词: 瓜蒌; 红花; 川芎; 菊花; 果蝇; 肠道免疫; 氧化应激; 生存率

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)15-2194-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.15.014

Effect of extract from *Trichosathis Fructus*, *Carthami Flos*, *Chuanxiong Rhizoma*, and *Chrysanthemi Flos* on oxidative stress-induced gut immunity in *Drosophila melanogaster*

ZHOU Yang, LIU Zong-lin, CHEN Yu-chen, JIN Li-hua

College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: **Objective** To study the effect of the extract from Chinese materia medica (CMM) on oxidative stress-induced gut immunity of *Drosophila melanogaster*. **Methods** *D. melanogaster* was treated by Paraquat and H_2O_2 with or without CMM, and the effects of 50 kinds of CMM on the survival rate of *D. melanogaster* in response to oxidative stress were recorded. And the antioxidant effects of CMM on lifespan and the number of ISC and enteroblast (EB) in intestinal epithelium cells were analyzed. **Results** The extracts from *Trichosanthes kirilowii* (*Trichosathis Fructus*), *Carthamus tinctorius* (*Carthami Flos*), *Ligusticum chuanxiong* (*Chuanxiong Rhizoma*), and *Chrysanthemum monfolium* (*Chrysanthemi Flos*) could significantly improve the survival rate of Paraquat and H_2O_2 -induced *D. melanogaster*, increase the lifespan of *D. melanogaster*, and regulate Paraquat-induced and age-related changes in the number of ISC and EB. **Conclusion** The extracts from *T. kirilowii*, *C. tinctorius*, *L. chuanxiong*, and *C. monfolium* could significantly improve the oxidative stress-induced gut immunity of *D. melanogaster*.

Key words: *Trichosathis Fructus*; *Carthami Flos*; *Chuanxiong Rhizoma*; *Chrysanthemi Flos*; *Drosophila melanogaster* Meigen; gut immunity; oxidative stress; survival rate

活性氧(ROS)诱导氧化反应能导致衰老并引发多种疾病,如心血管疾病、糖尿病、帕金森病、癌症等^[1-2]。目前国内外大多使用人工合成的抗氧化剂来清除机体中过量的氧自由基,如2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)等,这些抗氧化剂抗氧化能力较强,但具有潜在的

毒性和致癌作用,现已被多个国家禁用^[3-4],因而开发天然抗氧化剂日益受到重视。中药以其丰富的资源、高效的抗氧化活性、副作用小、毒性低等优点成为人们寻找天然抗氧化剂的重要资源^[5]。

目前,中药抗氧化剂的筛选主要利用体外试管法,即通过测定样品抑制脂质类物质氧化的能力和

收稿日期: 2014-02-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31270923); 中央高校基本科研业务费专项资金(DL13EA08-01)

作者简介: 周 洋(1989—),女,硕士研究生,研究方向为果蝇天然免疫。Tel: 15104567223 E-mail: 582852650@qq.com

*通信作者 金丽华 Tel: 15046109867 E-mail: lhjin2000@hotmail.com

对自由基的清除能力来评价待测样品的抗氧化活性,此法简便、快速,但体外测试与生物体内的抗氧化作用存在着差异性^[6]。中药的体内抗氧化活性研究模式生物主要有鸡、小鼠等^[7-8]。由于其成本较高、周期长、劳动量大,因而中药的大量筛选受到了一定的局限。果蝇作为重要模式生物,具有生长周期短、繁殖能力强、成本低等优点,且与人类在生长发育、神经退化、肿瘤形成等方面有很多相似之处^[9-10],故可利用果蝇大量筛选具有抗氧化活性的中药。

百草枯(Paraquat)与氧气反应产生的超氧阴离子在超氧化物歧化酶(SOD)的催化下产生 H₂O₂, H₂O₂ 在 Fe²⁺ 的催化下分解为羟自由基,因此百草枯和 H₂O₂ 可通过提高体内 ROS 水平引起氧化应激反应^[11-12]。本实验通过喂食果蝇百草枯和 H₂O₂ 后,统计果蝇生存率的方法,从 50 种中药提取物中筛选出具有缓解氧化应激损伤作用的 4 种中药提取物

(瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物)。通过分析果蝇寿命、肠道干细胞和成肠细胞数量等,探索 4 种中药提取物对果蝇肠道氧化应激损伤的影响,为天然抗氧化剂开发和利用提供理论基础。

1 材料

1.1 药材与试剂

50 种中药购自哈尔滨人民同泰药店,由东北林业大学生命科学学院王秀华教授鉴定,鉴定结果见表 1。百草枯(Paraquat,批号 STBB4829V)和 H₂O₂ (批号 014K3646) 购自 Sigma 公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 果蝇

野生型 *W¹¹¹⁸* 品系黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* Meigen 为本实验室保存,esgGal4 UAS-GFP 品系果蝇由北京大学裘荣文教授提供。果蝇培养温度为 25 ℃、相对湿度 60%。

表 1 50 种供试中药及药用部位

Table 1 Names and their medicinal parts of 50 kinds of CMM

编号	植物名称	药用部位	编号	植物名称	药用部位
1	桑寄生 <i>Taxillus chinensis</i>	带叶茎枝	26	苏木 <i>Caesalpinia sappan</i>	心材
2	莱菔子 <i>Raphanus sativus</i>	成熟种子	27	川楝子 <i>Melia toosendan</i>	果实
3	石菖蒲 <i>Acorus tatarinowii</i>	根茎	28	钩藤 <i>Uncaria rhynchophylla</i>	带钩茎枝
4	大黄 <i>Rheum officinale</i>	根及根状茎	29	紫草 <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	根
5	前胡 <i>Peucedanum praeruptorum</i>	根	30	鸡血藤 <i>Spatholobus suberectus</i>	藤茎
6	瓜蒌 <i>Trichosanthes kirilowii</i>	成熟果实	31	防己 <i>Stephania tetrandra</i>	块根
7	党参 <i>Codonopsis pilosula</i>	根	32	川牛膝 <i>Cyathula officinalis</i>	根
8	路路通 <i>Fructus liquidambaris</i>	成熟果实	33	石韦 <i>Pyrrosia lingua</i>	叶
9	草乌 <i>Aconitum kusnezoffii</i>	块根	34	草豆蔻 <i>Alpinia katsumadai</i>	成熟种子
10	肉桂 <i>Cinnamomun cassia</i>	树皮	35	降香 <i>Dalbergia odorifera</i>	树干和根的心材
11	使君子 <i>Quisqualis indica</i>	成熟果实	36	红花 <i>Carthamus tinctorius</i>	花
12	何首乌 <i>Polygonum multiflorum</i>	块根	37	炙百合 <i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	肉质鳞叶
13	银柴胡 <i>Stellaria dichatoma</i> var. <i>lanceolata</i>	根	38	川芎 <i>Ligusticum chuanxiong</i>	根茎
14	怀牛膝 <i>Achyranthes bidentata</i>	根	39	香附 <i>Cyperus rotundus</i>	根茎
15	木香 <i>Saussurea lappa</i>	根	40	猪苓 <i>Phyporus umbellatus</i>	菌核
16	蒲黄 <i>Pollen typhae</i>	花粉	41	菊花 <i>Chrysanthemum monfolium</i>	头状花序
17	瞿麦 <i>Dianthus superbus</i>	带花全草	42	苦参 <i>Sophora flavescens</i>	根
18	益母草 <i>Leonurus heterophyllus</i>	全草	43	莪术 <i>Curcuma phaeocaulis</i>	根茎
19	三七粉 <i>Panax notoginseng</i>	根茎制品	44	白前 <i>Cynanchum glaucescens</i>	根茎及根
20	白茅根 <i>Imperata cylindrical</i> var. <i>major</i>	根茎	45	郁金 <i>Curcuma aromatica</i>	块根
21	麦门冬 <i>Ophiopogon japonicus</i>	块根	46	五加皮 <i>Acanthopanax gracilistylus</i>	根皮
22	薤白 <i>Allium macrostemon</i>	鳞茎	47	骨碎补 <i>Drynaria fortunei</i>	根茎
23	丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i>	根及根茎	48	海金沙 <i>Lygodium japonicum</i>	全草或成熟孢子
24	茵陈 <i>Artemisia capillaris</i>	地上部分	49	地榆 <i>Sanguisorba officinalis</i>	根及根状茎
25	川乌 <i>Aconitum carmichaeli</i>	母根	50	百部 <i>Stemona japonica</i>	块根

1.3 仪器

ALC—210.4 型电子分析天平, 北京赛多利斯公司; Elix5 去离子水系统, Millipore 公司; SZ51 型显微镜, 日本 Olympus 公司; Axioskop 2 plus 型荧光显微镜, Zeiss 公司。

2 方法

2.1 中药水提液的制备

50 种中药各称取 20 g, 加入 200 mL (或 400 mL) 去离子水浸泡 12 h, 中火熬制 3 h, 滤过, 滤渣再加入 200 mL 去离子水用同样的方法提取 1 次, 合并 2 次滤液浓缩至 100 mL, 即得到质量浓度为 0.2 g/mL (20%) 的中药水提液, 置 -40 °C 保存备用。

2.2 果蝇培养基的配制

对照组培养基 (正常培养基): 配制方法参考文献方法^[13]; 实验组培养基 (中药提取物培养基): 加入与对照组去离子水等体积的中药提取液, 培养基中各中药提取物的质量分数 (以生药计): 百部和苦参为 1.25%; 防己和川牛膝为 2.5%; 肉桂为 5%; 其他中药提取物均为 10%。

2.3 果蝇生存率实验

随机收集对照组和实验组羽化 3~5 d 的果蝇, 雌雄各 15 只。果蝇饥饿处理 2 h 后转移到放有 5 张滤纸的果蝇管中, 向滤纸中加入 6 mmol/L 百草枯或 1% H₂O₂ 溶液 (含 5% 蔗糖), 使滤纸充分湿润, 每 24 小时更换 1 次滤纸并记录果蝇死亡数, 共记录 6 d, 每组重复 3 次。

2.4 果蝇寿命实验

随机收集对照组和实验组羽化 4 d 的果蝇。雌雄分开, 每组各 30 只。每 2 天更换 1 次培养基, 每天

定时统计果蝇死亡数, 直至全部死亡。每组重复 4 次。

2.5 果蝇肠道干细胞和成肠细胞计数

羽化 4~5 d 的 esgGal4 UAS-GFP 品系雌果蝇喂食含 5% 蔗糖的百草枯 (10 mmol/L) 溶液 16 h 或羽化 4 d 的雌果蝇培养 30 d 后, 显微镜下提取 10~12 条果蝇肠道于多聚甲醛中, 常温固定 30 min, DAPI 染色 10 min, 甘油封片后荧光显微镜下观察并拍照, 每组重复 3 次。

2.6 统计学处理

采用 Prism 软件进行统计学分析, 组间差异采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 缓解果蝇氧化应激损伤的中药提取物的筛选结果

本实验用百草枯或 H₂O₂ 喂食果蝇, 通过比较对照组和实验组果蝇的生存率来筛选具有缓解氧化应激损伤作用的中药提取物。结果表明, 成体果蝇经百草枯处理 6 d 后, 在 50 种中药提取物实验组中果蝇生存率比对照组生存率大于 50% 的有大黄、前胡、瓜蒌、党参、川楝子、红花、炙百合、川芎、菊花, 共 9 种中药提取物 (图 1-A)。另外, H₂O₂ 处理 6 d 后, 实验组生存率是对照组 2 倍以上的有瓜蒌、木香、丹参、苏木、鸡血藤、草豆蔻、红花、川芎、菊花和骨碎补 (图 1-B)。其中, 无论喂食百草枯还是 H₂O₂ 均能显著提高果蝇生存率的为瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物。

为了验证筛选出的 4 种中药提取物的抗氧化作用, 分别喂食百草枯或 H₂O₂, 每组实验重复 3 次, 其结果与筛选时得到的生存率相似。在喂食百草枯

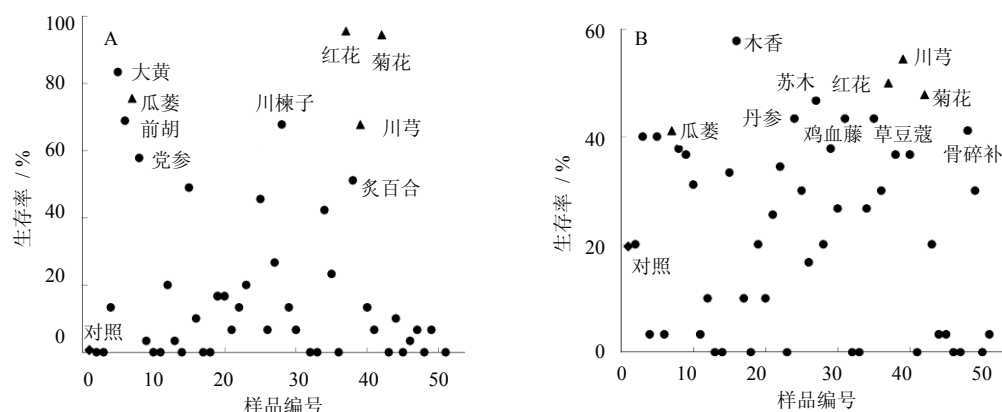


图1 50种中药提取物对百草枯(A)和H₂O₂(B)诱导氧化应激损伤果蝇生存率的影响

Fig. 1 Effects of extracts from 50 kinds of CMM on oxidative-stress damage of *D. melanogaster* induced with Paraquat (A) and H₂O₂ (B)

第 6 天, 对照组生存率降到 1.1%, 而实验组(瓜蒌、红花、川芎和菊花)的生存率分别为 75.5%、95.6%、67.7%和 94.4%, 与对照组相比分别提高了 74.4%、94.5%、66.6%和 93.3% ($P < 0.01$ 、0.001, 图 2-A 和表 2)。另外, H_2O_2 处理果蝇 6 d 后, 对照组的生存率为 16.7%, 实验组(瓜蒌、红花、川芎和菊花)的生存率分别为 41.1%、50%、54.4%和 47.8%, 比对照组分别提高了 1.4、1.99、2.2 和 1.8 倍 ($P < 0.01$ 、

0.001, 图 2-B 和表 3)。这表明瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物可缓解百草枯或 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤, 显著提高果蝇的生存率。

3.2 对果蝇寿命的影响

正常生理条件下, 机体抗氧化防御体系能保证细胞内 ROS 水平处于一个稳定状态, 然而当机体受某些外源性物质入侵时, 可能导致机体自由基代谢平衡失调、抗氧化体系紊乱等^[14]。其中, ROS 的

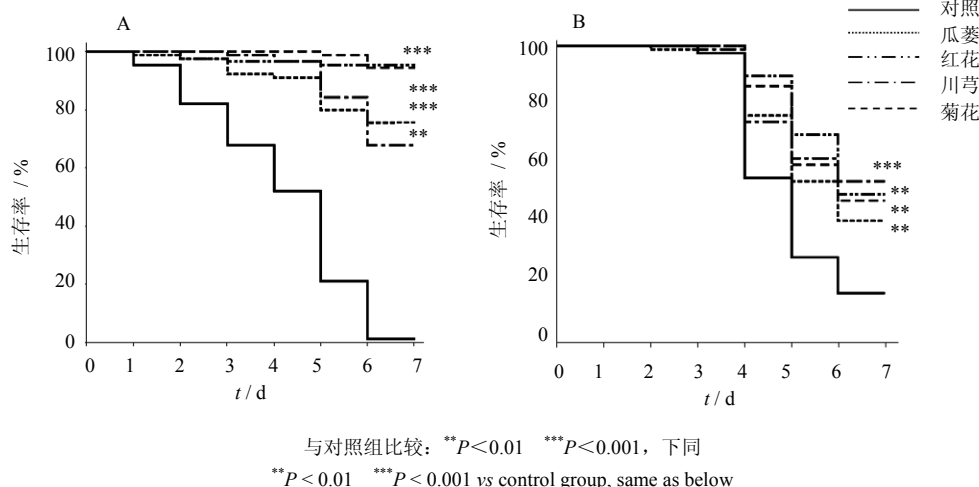


图 2 瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物对百草枯 (A) 和 H_2O_2 (B) 处理后果蝇生存率的影响
Fig. 2 Effects of extracts from *Trichosathis Fructus*, *Carthami Flos*, *Chuanxiong Rhizoma*, and *Chrysanthemi Flos* on survival rate of *D. melanogaster* induced with Paraquat (A) and H_2O_2 (B)

表 2 4 种中药提取物缓解百草枯处理后果蝇的生存率 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Relief of extracts from four kinds of CMM on survival rate of *D. melanogaster* after treated with Paraquat ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	生存率 / %						
	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
对照	100.0±0.0	95.6±1.9	82.2±5.1	67.8±13.9	52.2±7.7	21.1± 3.8	1.1± 1.9
瓜蒌	100.0±0.0	98.9±1.9	97.8±1.9	92.2± 1.9	91.1±3.8	80.0± 8.8	75.5± 6.9***
红花	100.0±0.0	100.0±0.0	97.8±1.9	96.7± 3.3	96.7±3.3	95.6± 1.9	95.6± 1.9***
川芎	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	98.9± 1.9	96.7±0.0	84.4±12.6	67.7±18.4**
菊花	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0± 0.0	100.0±0.0	98.9± 1.9	94.4± 5.1***

表 3 4 种中药提取物缓解 H_2O_2 处理后果蝇的生存率 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3 Relief of extracts from four kinds of CMM on survival rate of *D. melanogaster* after treated with H_2O_2 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	生存率 / %						
	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
对照	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	97.8±1.9	55.6± 5.1	28.9± 7.7	16.7±5.8
瓜蒌	100.0±0.0	100.0±0.0	98.9±1.9	97.8±1.9	76.7±15.3	54.4± 6.9	41.1±5.1**
红花	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	90.0±10.0	70.0±17.3	50.0±6.7**
川芎	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	98.9±1.9	74.4±16.4	62.2±15.8	54.4±3.8***
菊花	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	86.7± 0.0	60.0± 6.7	47.8±5.1**

过量产生会破坏线粒体中的DNA、蛋白及脂质分子,造成线粒体功能紊乱,进而引起机体衰老^[15]。为了进一步探索瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物对氧化应激损伤的缓解作用,分析了4种中药对果蝇寿命的影响。与对照组相比,瓜蒌提取物能够延长雌、雄果蝇寿命约2 d;红花提取物能延长雌果蝇寿命约5 d,但对雄果蝇寿命影响不显著;川芎提取物能延长雌果蝇寿命约4 d,但对雄果蝇寿命影响不显著;菊花提取物对果蝇寿命没有明显影响,见表4。

3.3 对百草枯诱导的果蝇肠道干细胞和成肠细胞数量的影响

果蝇喂食百草枯后可诱导肠道干细胞增殖,使得肠道上皮细胞中的肠道干细胞和成肠细胞数量显著增加^[16],通过这些细胞的再生来修复由百草枯引起的肠道上皮细胞损伤。但肠道干细胞过度增殖会导致肠道中未分化的成肠细胞大量积累,破坏肠道稳态,进而对机体产生不利影响^[17]。为了分析瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物对果蝇肠道干细胞增殖及分化的影响,利用自身携带绿色荧光蛋白

表4 4种中药提取物对果蝇寿命的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 120$)

Table 4 Effects of extracts from four kinds of CMM on lifespan of *D. Melanogaster* ($\bar{x} \pm s$, $n = 120$)

组别	平均寿命 / d	
	雌性	雄性
对照	49.11 ± 8.34	51.08 ± 10.05
瓜蒌	51.39 ± 6.90*	53.42 ± 11.27
红花	54.93 ± 8.19	51.70 ± 9.14
川芎	53.83 ± 9.42	48.14 ± 10.19
菊花	48.19 ± 8.89	46.24 ± 10.78

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

报告基因的 *esgGal4 UAS-GFP* 品系果蝇分析了果蝇肠道干细胞和成肠细胞的增殖。结果表明,百草枯处理后,喂食瓜蒌、红花、川芎和菊花的实验组果蝇中 GFP 阳性细胞(肠道干细胞和成肠细胞)数量均显著低于对照组,与对照组相比分别减少了47.1%、38.6%、31.3%和13.8% ($P < 0.01$ 、0.001),见图3。

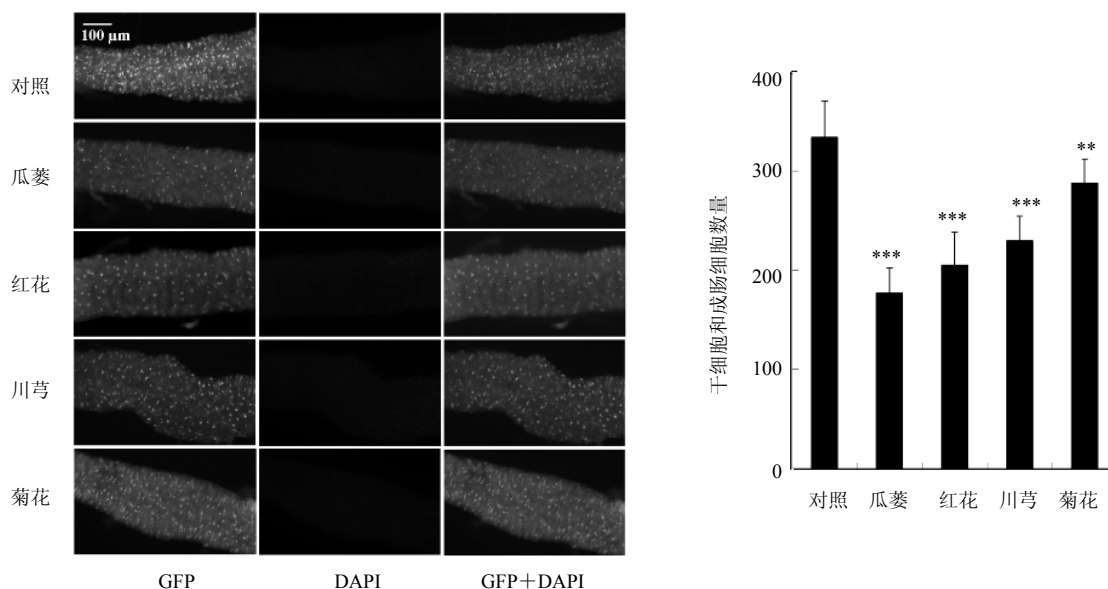


图3 4种中药提取物对百草枯处理后果蝇肠道干细胞和成肠细胞数量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 3 Effects of extracts from four kinds of CMM on changes of numbers of ISC and EB in adult midgut of *D. melanogaster* after treated with Paraquat ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.4 对老化果蝇肠道干细胞和成肠细胞数量的影响

成体果蝇中肠由肠道干细胞、成肠细胞、肠上皮细胞及内分泌细胞构成。随着果蝇年龄增长,老化的果蝇由于肠道干细胞过度增殖和错误分化使肠道上皮细胞退化,导致肠道发育异常和死亡率增加^[17]。

所以本实验进一步分析了4种中药提取物对老化果蝇肠道上皮细胞的影响。结果表明,喂食瓜蒌、红花、川芎和菊花的实验组 GFP 阳性细胞(肠道干细胞和成肠细胞)数量与对照组相比分别减少了30.2%、28.6%、41.9%和21.2% ($P < 0.001$),见图4。

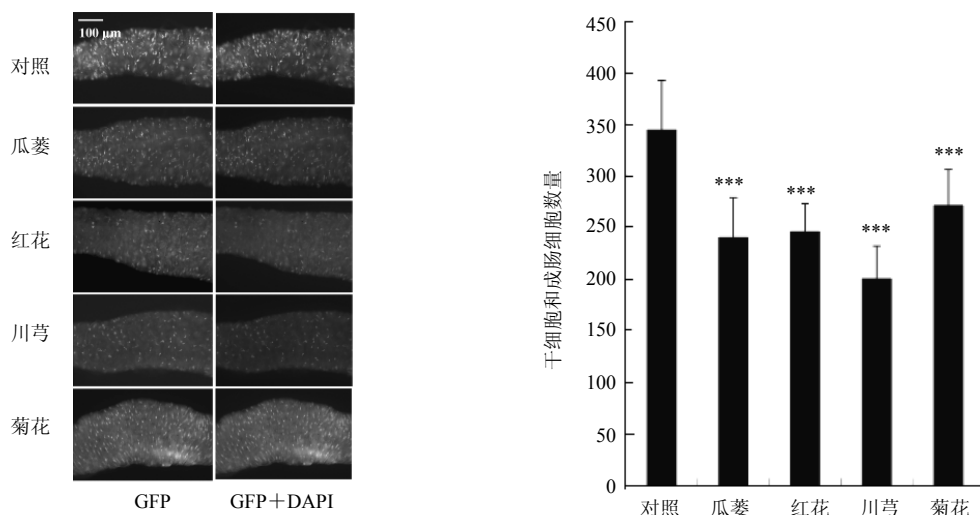


图 4 4 种中药提取物对老化果蝇肠道干细胞和成肠细胞数量的影响

Fig. 4 Effects of extracts from four kinds of CMM on numbers of ISC and EB within adult midgut of *D. melanogaster*

4 讨论

中药具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒以及提高机体免疫力等作用^[18-19]。果蝇作为重要的模式生物，其肠道结构、细胞构成及干细胞参与的信号转导途径与哺乳动物有很多相似之处^[20]。所以，可以利用模式生物果蝇来研究调节肠道免疫相关的中药^[21]。为了筛选具有抗氧化活性的中药，本研究建立果蝇氧化应激损伤模型，通过统计果蝇的生存率，从 50 种中药中筛选出具有缓解氧化应激损伤作用的中药。再通过分析果蝇寿命、肠道干细胞和成肠细胞数量变化等来探讨中药的免疫调节功能。结果表明，在所筛选的 50 种中药中，瓜蒌、红花、川芎和菊花具有比较显著的缓解氧化应激损伤作用。主要表现在瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物可以明显地提高百草枯和 H_2O_2 诱导后果蝇的生存率；其中，瓜蒌、红花和川芎能减少老化及百草枯诱导的肠道干细胞和成肠细胞数量，这可能是由于中药含有的抗氧化剂减少了机体自由基的产生^[22-24]，通过降低体内 ROS 水平，达到缓解氧化应激损伤、延缓机体衰老的作用。果蝇在中药培养基里生长状态与正常培养基相同，而且只喂食 5% 蔗糖和中药提取物时果蝇 6 d 内的生存率没有发生变化，这说明蔗糖和中药提取物对果蝇不造成任何损伤。研究发现菊花可提高小鼠体内抗氧化酶活力来抑制 D-半乳糖所致脂质过氧化进而延缓机体衰老^[25]，具有抗氧化性。实验结果显示菊花虽然提高了百草枯和 H_2O_2 诱导后果蝇的生存率、减少了老化和百草枯诱导的肠道干

细胞和成肠细胞数量，但对果蝇寿命没有明显作用。这是因为衰老是一个十分复杂的过程，线粒体氧化应激损伤只是衰老的主要原因，并不是唯一原因^[15]。所以菊花可能不仅仅通过提高机体抗氧化酶活性来缓解老化，还可能通过其他途径。

综上所述，瓜蒌、红花、川芎和菊花可提高果蝇的肠道免疫功能、缓解氧化应激引起的损伤和延长寿命等，本研究为抗氧化活性中药的筛选提供借鉴，为中药的开发与利用提供新思路。

参考文献

- [1] Ji X Y, Tan B K, Zhu Y C, et al. Comparison of cardioprotective effects using ramipril and DanShen for the treatment of acute myocardial infarction in rats [J]. *Life Sci*, 2003, 73(11): 1413-1426.
- [2] 吴青, 黄娟, 罗兰欣, 等. 15 种中草药提取物抗氧化活性的研究 [J]. *中国食品学报*, 2006, 6(1): 284-288.
- [3] 任兴权. 食用植物油中抗氧化剂丁基羟基茴香醚 (BHA) 和 2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (BHT) 的检测 [D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [4] 成喜雨, 崔馨, 刘春朝, 等. 中草药抗氧化活性研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(3): 514-518.
- [5] 王忠雷, 杨丽燕, 张小华, 等. 天然产物抗氧化活性成分研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2012, 35(5): 386-390.
- [6] 王晓宇, 杜国荣, 李华. 抗氧化能力的体外测定方法研究进展 [J]. *食品与生物技术学报*, 2012, 31(3): 247-252.
- [7] 赵云, 单安山, 郭晓秋. 五味子乙醇提取物对肉仔鸡抗氧化功能和血液生化指标的影响 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(9): 5268-5270.

- [8] 高德富, 刘晓蕙, 樊剑鸣, 等. 黄芪提取物对小鼠生长性能、抗氧化及免疫功能的影响 [J]. 航空航天医学杂志, 2011, 22(2): 144-147.
- [9] Saunders R D, Boubriak I, Clancy D J, *et al.* Identification and characterization of a *Drosophila* ortholog of WRN exonuclease that is required to maintain genome integrity [J]. *Aging Cell*, 2008, 7(3): 418-425.
- [10] Brumby A M, Richardson H E. Using *Drosophila melanogaster* to map human cancer pathways [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 626-639.
- [11] Bus J S, Gibson J E. Paraquat: model for oxidant-initiated toxicity [J]. *Environ Health Perspect*, 1984, 55: 37-46.
- [12] Valko M, Rhodes C J, Moncol J, *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer [J]. *Chemico-Biological Interact*, 2006, 160(1): 1-40.
- [13] 李文佳, 刘 强, 金丽华. 刺五加提取物对果蝇免疫功能的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1997-2001.
- [14] 李建喜, 杨志强, 王学智. 活性氧自由基在动物机体内的生物学作用 [J]. 动物医学进展, 2006, 27(10): 33-36.
- [15] Sastre J, Pallardo F V, Vina J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging [J]. *Free Radical Biol Med*, 2003, 35(1): 1-8.
- [16] Choi N H, Kim J G, Yang J D, *et al.* Age-related changes in *Drosophila* midgut are associated with PVF2, a PDGF/VEGF-like growth factor [J]. *Aging Cell*, 2008, 7(3): 318-334.
- [17] Biteau B, Hochmuth C E, Jasper H. JNK activity in somatic stem cells causes loss of tissue homeostasis in the aging *Drosophila* gut [J]. *Cell Stem*, 2008, 3(4): 442-455.
- [18] 李淑红, 王京仁, 成 钢, 等. 四种中草药对小鼠抗炎作用比较研究 [J]. 湖北农业科学, 2013, 52(4): 892-894.
- [19] 韩立丽, 王建发, 王凤龙, 等. 黄芪多糖对肠道免疫功能影响的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(8): 133-135.
- [20] Wilson A A, Kotton D N. Another notch in stem cell biology: *Drosophila* intestinal stem cells and the specification of cell fates [J]. *Bioessays*, 2008, 30(2): 107-109.
- [21] 左占广, 朱彩霞, 鲁东立, 等. 红景天提高黑腹果蝇肠道免疫功能研究 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 691-694.
- [22] 冯 涛, 阎婷婷, 阎国荣, 等. 红花提取物清除自由基能力的初步研究 [J]. 天津农学院学报, 2010, 17(1): 6-9.
- [23] 秦海燕, 王永胜, 索志荣. 川芎醇提物的体外抗氧化活性 [J]. 西南科技大学学报, 2010, 25(3): 19-21.
- [24] 孙 娟, 赵启韬, 黄臻辉, 等. 瓜蒌皮对急性心肌缺血大鼠的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(3): 114-116.
- [25] 林久茂, 庄秀华, 王瑞国. 菊花对 D-半乳糖衰老抗氧化作用 [J]. 福建中医药, 2002, 33(5): 44.