

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.10.019

# 牡丹花蕊醇提物对 $H_2O_2$ 诱导 HUVEC 细胞损伤的保护作用

Protective effects of alcohol extraction from peony stamen  
on  $H_2O_2$ -induced damage in HUVEC

罗磊<sup>1,2</sup> 关宁宁<sup>1,2</sup> 向进乐<sup>1,2</sup> 朱文学<sup>1,2</sup>

LUO Lei<sup>1,2</sup> GUAN Ning-ning<sup>1,2</sup> XIANG Jin-le<sup>1,2</sup> ZHU Wen-xue<sup>1,2</sup>

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023;

2. 河南省农产品干燥装备工程技术研究中心, 河南 洛阳 471023)

(1. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China; 2. Henan Agricultural Products Drying Equipment Engineering Technology Research Center, Luoyang, Henan 471023, China)

**摘要:**采用高效液相色谱分析牡丹花蕊醇提物的主要成分,并通过  $H_2O_2$  诱导 HUVEC 细胞建立损伤模型,研究牡丹花蕊醇提物对其保护作用。结果表明:牡丹花蕊醇提物主要成分为芦丁、槲皮素和芍药苷 3 种单体,含量分别为 44.25%, 15.50%, 17.00%;牡丹花蕊醇提物能够降低细胞及其培养液中 MDA 含量,提高细胞内 SOD 和 GPX 活性以及 GSH 的含量。牡丹花蕊醇提物能够提高 HUVEC 细胞的抗氧化能力。

**关键词:**牡丹花;醇提物;高效液相色谱法;HUVEC 细胞;  $H_2O_2$  损伤

**Abstract:** The main components of the alcohol extraction from peony stamen was analyzed by high performance liquid chromatography.  $H_2O_2$  induced human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) cells to establish a damage model to study the protective effect of peony flower extract. Results: the alcohol extraction from peony stamen mainly contain three monomers, namely rutin, quercetin and paeoniflorin, with contents of 44.25%, 15.50% and 17.00%, respectively. The alcohol extraction from peony stamen can reduce the content of MDA in cells and culture medium, increase the activities of SOD, GPX and GSH content in the calls. The alcohol extraction of peony stamen can improve the antioxidant capacity of HUVEC.

**基金项目:**河南省科技攻关项目(编号:172102110019);河南省高校科技创新团队计划(编号:17IRTSTHN016)

**作者简介:**罗磊,男,河南科技大学教授,博士。

**通信作者:**朱文学(1976—),男,河南科技大学教授,博士。

E-mail: zwx@haust.edu.cn

**收稿日期:**2019-03-11

**Keywords:** peony; alcohol extracts; HPLC; human umbilical vein endothelial cells (HUVEC);  $H_2O_2$ -induce damage

牡丹是中国最重要的观赏花卉之一,同时具有较高的食用价值,自古就有牡丹花茶、牡丹花酒和牡丹花脯等产品,2011年3月卫生部认定凤丹牡丹为新资源食品<sup>[1]</sup>。牡丹花蕊是牡丹花的精华部分,具有很高的营养价值,周明远等<sup>[2]</sup>研究表明牡丹花蕊可提取牡丹花蕊油,其中亚油酸和亚麻酸含量远高于其他常见食用油。李朝莘等<sup>[3]</sup>研究表明牡丹花蕊水液体在体外具有较强的抗氧化性。但是目前对牡丹花蕊醇提物抗氧化作用及主要功效成分缺乏深入研究。

血管内皮细胞参与机体免疫活动,其损伤与动脉粥样硬化<sup>[4]</sup>、脑卒中、高血压<sup>[5]</sup>、冠心病和糖尿病<sup>[6-7]</sup>等疾病的发生发展有着紧密的关系。而氧化应激是造成细胞损伤的重要因素之一,所以采用  $H_2O_2$  诱导内皮细胞是研究抗氧化作用的重要手段之一<sup>[8-10]</sup>。傅茂润等<sup>[11]</sup>对牡丹花蕊进行了提取工艺研究,李朝莘等<sup>[3]</sup>研究了牡丹花蕊提取液的体外抗氧化功效,但关于牡丹花蕊提取物在细胞水平上的功效研究却鲜有报道。试验拟在高效液相色谱分析其功效成分的基础上,采用  $H_2O_2$  诱导人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC 细胞)损伤来检测牡丹花蕊醇提物在细胞中抗氧化作用,以期为牡丹在牡丹花蕊方向上的综合利用提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

牡丹花:品种为凤丹白,采摘地点为洛阳洛龙区牡丹园;

芦丁、槲皮素、山奈酚、芹菜素、芍药苷和木犀草素标准品:纯度均 $\geq 98\%$ ,上海源叶生物科技有限公司;

人脐静脉内皮细胞:上海名劲科技有限公司;

高糖培养基:美国 Hyclone 公司;

噻唑蓝:美国 Sigma 公司;

双抗、胰蛋白酶(250 NFU/mg):美国 Gibco 公司;

四季青胎牛血清:杭州四季青生物工程材料有限公司;

纤维素酶:50 U/mg,上海源叶生物科技有限公司;

SOD、GPX、MDA、GSH 和 BCA 测定试剂盒:南京建成生物工程公司;

其他试剂均为分析纯。

## 1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪:1260Infinity 型,安捷伦科技有限公司;

双人单面净化工作台:SW-CJ-2FD 型,济南启科仪器设备有限公司;

倒置显微镜:CKX41 型,日本 Olympus 公司;

全自动酶标仪:680 型,美国 Bio-Rad 公司;

CO<sub>2</sub>细胞培养箱:E191IR 型,美国金西盟公司;

数控超声波清洗器:KQ-500DE 型,南京晓晓仪器设备有限公司。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 牡丹花蕊醇提物的制备** 采用纤维素酶—超声辅助乙醇提取法,条件:乙醇浓度 70%,料液比 1:40 (g/mL),加酶量 0.3%,酶解 pH 5,酶解时间 30 min,50 °C 条件下酶解后沸水浴 10 min 灭活,超声功率 300 W,超声时间 30 min,超声温度 45 °C,提取后旋蒸浓缩。牡丹花蕊提取液配置成浓度为 2.0 mg/mL 的上样液,以 1.50 mL/min 上样流速进行 D-101 树脂的吸附过程,先以 3.0 BV 的蒸馏水以 1.5 mL/min 流速洗脱除杂,再以体积分数 95%乙醇溶液以 3.0 mL/min 流速洗脱,收集乙醇洗脱液,旋蒸(温度 60 °C)至总体积的 5%,真空冷冻干燥(温度约-40 °C,冷冻时间 24 h)后置于 4 °C 冰箱中保存,备用。

**1.3.2 牡丹花蕊醇提物的紫外光谱扫描** 称取冻干后的牡丹花蕊醇提物粉末 5 mg,用 70%无水乙醇定容至 100 mL,在波长 200~700 nm 的范围内,用紫外分光光度计进行光谱扫描。

### 1.3.3 牡丹花蕊醇提物的高效液相色谱分析

(1) 色谱条件:采用 Kromasil 100-5C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱进行分析,以乙腈(A)和水(B)为流动相进行梯度洗脱,0~30 min,30% A→60% A,检测波长 230 nm,流速 0.8 mL/min,柱温 30 °C,进样量 10 μL。

(2) 制作标准曲线:参考有关牡丹相关文献<sup>[12-13]</sup>,试验选择 6 种主要的标准品作为参照,即芦丁、槲皮素、山

奈酚、芹菜素、芍药苷和木犀草素。参考王金艳等<sup>[14]</sup>的方法稍作修改,配置标准混合溶液绘制标准曲线。

(3) 称取牡丹花蕊醇提物粉末 4 mg,甲醇溶液定容至 10 mL,超声 5 min 后过 0.22 μm 滤膜过滤,按 1.3.3(1)的色谱条件进行分析。

### 1.3.4 牡丹花蕊醇提物的细胞试验

(1) HUVEC 细胞培养:参考刘竹青等<sup>[15]</sup>的方法配置 DMEM 培养基,在 CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中培养细胞,并定时更换培养液。

(2) HUVEC 氧化损伤模型的建立:参考罗磊等<sup>[16]</sup>的方法并稍作调整,将细胞密度为 2.0×10<sup>5</sup> 个/mL 的 HUVEC 细胞接种于细胞培养板。配置不同浓度梯度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液(0~1 mmol/L)作用于 HUVEC 细胞,采用 MTT 法检测细胞存活率。依据式(1)计算细胞存活率。

$$A = (1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

A——细胞存活率,%;

A<sub>0</sub>——空白组的吸光度均值;

A<sub>1</sub>——不同浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组的吸光度均值。

(3) 药物浓度剂量的筛选:筛选过程同氧化损伤模型建立过程相似,配置不同浓度的牡丹花蕊醇提物培养液(0~1 mg/L)作用于 HUVEC 细胞,采用 MTT 法<sup>[17]</sup>检测并计算细胞存活率。

(4) HUVEC 细胞内抗氧化物酶的测定:参考卞梦瑶等<sup>[17]</sup>的方法并稍作调整,将细胞接种于 6 孔板中,每孔 2.0 mL,培养 24 h 贴壁后,吸弃细胞培养液。空白组和模型组加入 2.0 mL 培养基;低、中、高组分别加入 2.0 mL 不同质量浓度的牡丹花蕊醇提液(100,300,500 μg/mL);对照组加入 2.0 mL 浓度为 500 mg/mL 的 V<sub>c</sub> 培养液,置于培养箱中培养。24 h 后吸弃上清液,每孔加入 800 mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 2.0 mL,置于培养箱中培养 4 h 后将细胞和细胞培养液分离。参照 SOD、GPX、GSH、MDA 和 BCA 试剂盒的操作说明,以 BCA 试剂盒检测结果为基础,测定细胞及细胞培养液中 SOD 和 GPX 活性以及 GSH 和 MDA 的含量。

## 1.4 数据统计

利用 Excel 软件和 DPS 9.5 软件进行统计学分析和数据处理,试验数据以 ( $\bar{x} \pm S$ ) 表示。组间比较采用单因素方差分析并用 LSD 法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 牡丹花蕊醇提物的成分分析

**2.1.1 紫外光谱扫描结果** 大多数黄酮类化合物的紫外吸收光谱中有两个特征吸收峰带,300~400 nm 的吸收带为带 I,240~280 nm 的吸收带为带 II<sup>[18]</sup>。如图 1 所示,

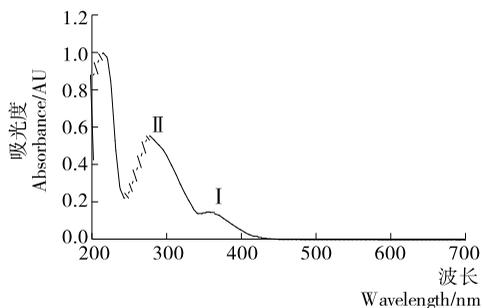


图1 牡丹花蕊醇提取物的紫外可见吸收光谱

Figure 1 Ultraviolet-visible absorption spectra of alcohol extraction from peony stame

牡丹花蕊醇提取物溶液经过紫外光谱扫描之后在 277 nm 处出现了特征峰带 II, 在 365 nm 处出现了特征峰带 I。说明牡丹花蕊醇提取物的紫外光谱扫描结果符合黄酮类化合物的特征光谱反应。

2.1.2 HPLC 分析 表 1 为 6 种标准品的标准曲线,且在 0.05~0.40 mg/mL 时与峰面积呈良好的线性关系。图 2 为黄酮混合标准溶液与牡丹花蕊醇提取物溶液的 HPLC 图。图 2(b)中出现的 3 个较为明显的色谱峰,分别为峰 1、峰 2 和峰 4,且与图 2(a)中的峰 1、峰 2 和峰 4 相对应,保留时间基本相同。图 2(b)中保留时间在 7.31 min 的峰以及保留时间在 11.66 min 的峰在图 2(a)中无对应保留时间的峰。经分析,牡丹花蕊醇提取物中主要含有芦丁、槲皮素和芍药苷 3 种单体,且含量分别为 44.25%,17.00%,15.50%,所以纯化后的牡丹花蕊醇提取物的浓度约为 76.75%。

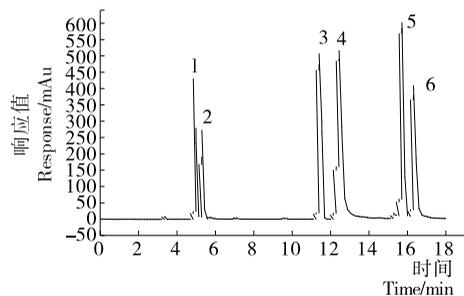
表 1 6 种标准品的标准曲线

Table 1 Standard curve of six standards

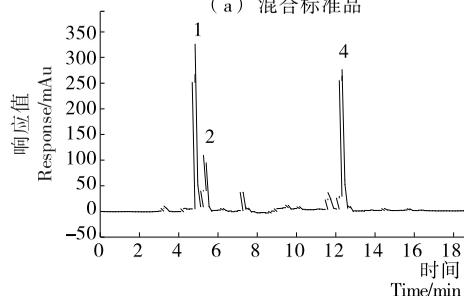
黄酮名称	标准曲线	R <sup>2</sup>	线性范围/ (mg · mL <sup>-1</sup> )
芦丁	Y=10 785x+477.5	0.999 8	0.05~0.40
槲皮素	Y=19 553x+1 719	0.999 3	0.05~0.40
芍药苷	Y=13 113x+40.6	0.999 9	0.05~0.40
芹菜素	Y=16 819x-71.062	0.999 2	0.05~0.40
木犀草素	Y=29 239x-1 141.46	0.9990	0.05~0.40
山奈酚	Y=36 244x-1 726.12	0.999 8	0.05~0.40

## 2.2 牡丹花蕊醇提取物的细胞抗氧化试验

2.2.1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的筛选 由图 3 可知,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度在 0~600 μmol/L 时,对 HUVEC 无明显的抑制作用(P>0.05)。当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度为 800 μmol/L 时,HUVEC 细胞存活率为 52.05%。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度过高可能会导致细胞过量死亡,而浓度过低又会因细胞代数不同等因素而不能对细胞产生明显的抑制作用,故 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度选择 800 μmol/L 为宜。



(a) 混合标准品

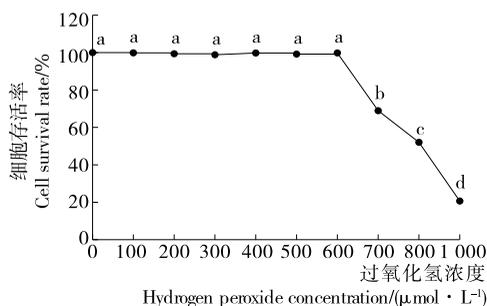


(b) 样品

1. 芦丁 2. 芍药苷 3. 木犀草素 4. 槲皮素 5. 芹菜素 6. 山奈酚

图 2 混合黄酮标准品和样品的 HPLC 图

Figure 2 HPLC chromatogram of the mixture of flavone standards and sample



小写字母不同表示组间差异显著(P<0.05)

图 3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 HUVEC 细胞存活率的影响

Figure 3 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the survival rate of HUVEC

2.2.2 牡丹花蕊醇提取物浓度选择 如图 4 所示,浓度在 100~500 μg/mL 时牡丹花蕊醇提取物对 HUVEC 细胞的生长无显著影响(P>0.05)。浓度>500 μg/mL 时,显著抑制增殖(P<0.05)。研究<sup>[19]</sup>表明当血管内皮细胞受损时会增加动脉硬化的可能性,所以,选择牡丹花蕊醇提取物剂量为 100,300,500 μg/mL 来进行下一步试验。

肿瘤的生长和转移与血管生成关系密切,所以抑制血管生成是研究抗肿瘤的重要机制之一。图 4 表明,当牡丹花蕊醇提取物浓度>500 μg/mL 时对 HUVEC 细胞有抑制作用,说明牡丹花蕊醇提取物中可能含有某种血管生成抑制因子。

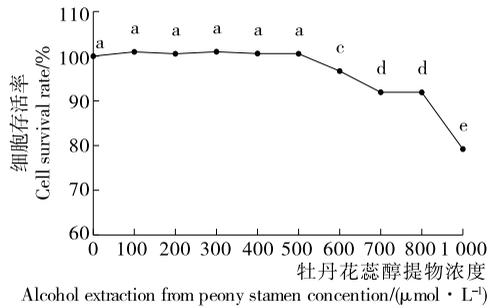


图 4 牡丹花蕊醇提取物对 HUVEC 细胞存活率的影响  
Figure 4 Effects of alcohol extraction from peony stamen on the survival rate of HUVEC

2.2.3 牡丹花蕊醇提取物对 HUVEC 细胞及培养液中 SOD 活性的影响 超氧化物歧化酶是机体内重要的自由基清除剂,能够清除胞内过量 ROS 从而维持细胞内的稳定性<sup>[20]</sup>。图 5 表明,细胞中模型组 SOD 含量为 156.5 U/mg,剂量组 SOD 含量均显著提高(P<0.05),均在 200.0 U/mg 以上。说明当细胞受损时,细胞内的自由基含量增加,SOD 含量下降,而牡丹花蕊醇提取物能够提高细胞抗自由基攻击的能力,提高细胞内 SOD 水平。

高剂量组含量为 269.5 U/mg,对照组含量为 275.9 U/mg,两者差异无统计学意义(P>0.05)。说明高

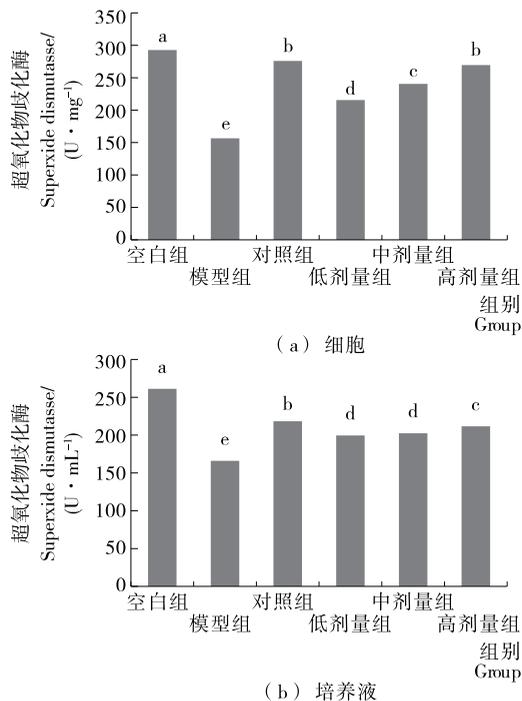


图 5 HUVEC 细胞及细胞培养液中超氧化物歧化酶活性  
Figure 5 SOD activities in HUVEC cells and cell culture medium

剂量的牡丹花蕊醇提取物的抗氧化性可达到 V<sub>C</sub> 水平。细胞培养液中 SOD 含量变化与细胞一致,中、低剂量组之间的差异无统计学意义(P>0.05)。

2.2.4 牡丹花蕊醇提取物对 HUVEC 细胞及培养液中 GSH 含量的影响 谷胱甘肽能够清除 O<sup>2-</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,能够与自由基等有害物质相结合转为无害物质排出体外,减少机体氧化损伤<sup>[21]</sup>。图 6 表明,细胞中模型组的浓度为 5.90 mg/g,剂量组 GSH 含量分别为 10.70, 21.01, 36.80 mg/g,含量显著升高。说明牡丹花蕊醇提取物能够提高细胞内 GSH 的含量,从而降低自由基的含量,避免细胞损伤。高剂量组的 GSH 含量与对照组相比,差异不显著(P>0.05),说明高剂量的牡丹花蕊醇提取物在细胞内具有很强的抗氧化性。培养液与细胞中 GSH 的含量变化一致,细胞及培养液中的低、中、高剂量组间均有显著差异,说明抗氧化能力与浓度存在剂量依赖效应。

2.2.5 牡丹花蕊醇提取物对 HUVEC 细胞及培养液中 GPX 活性的影响 谷胱甘肽过氧化物酶是一种能够催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解的酶,将 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 还原成水,而自身转化为氧化型谷胱甘肽,而氧化型谷胱甘肽可以在还原酶的作用下转化为 GSH.GSH 通过清除过量的自由基来维持细胞活性<sup>[22-23]</sup>。如图 7 所示,细胞中牡丹花蕊醇提取物组将模型组中 GPX 的含量从 57.79 mg/L 提高到了 150.00 mg/L 以上,培养液中,GPX 的含量从 6.90 mg/L 提高到了

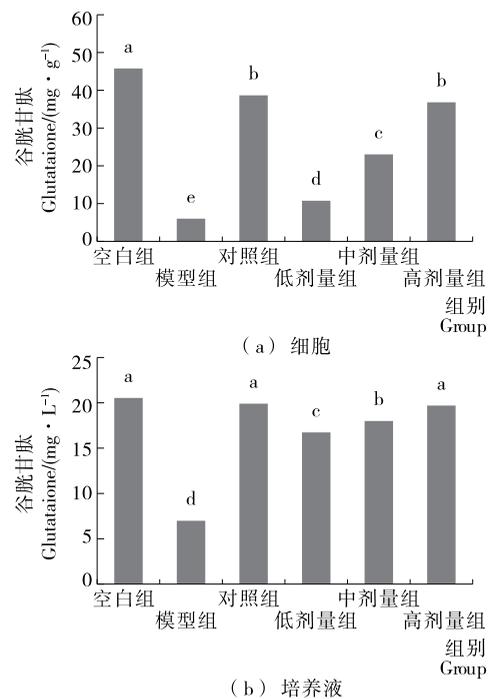
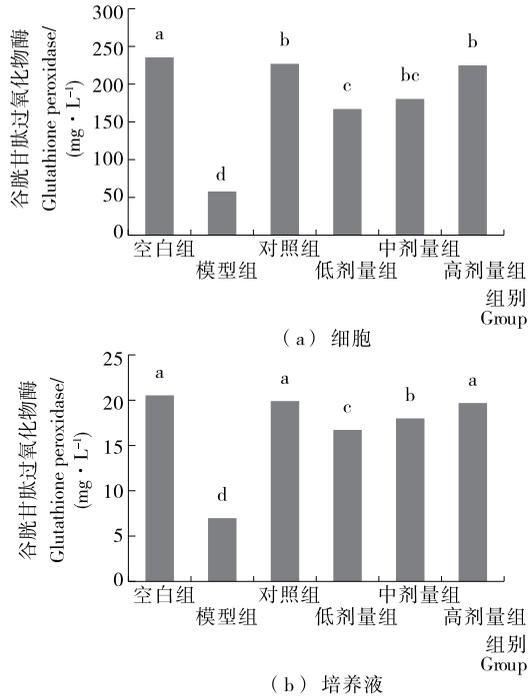


图 6 HUVEC 细胞及细胞培养液中谷胱甘肽含量  
Figure 6 GSH content in HUVEC cells and cell culture medium



小写字母不同表示组间差异显著( $P < 0.05$ )

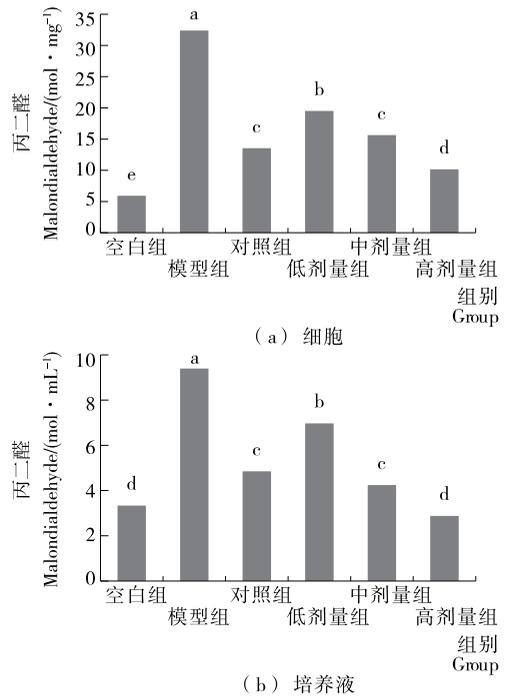
图 7 HUVEC 细胞及细胞培养液中谷胱甘肽过氧化物酶活性

Figure 7 GPX activities in HUVEC cells and cell culture medium

15.00 mg/L 以上,差异显著( $P < 0.05$ )。说明牡丹花蕊醇提取物能够提高细胞内 GPX 的活性,使其催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水解,增加 GSH 含量,提高细胞的抗氧化应激的能力。剂量组中 GPX 的活性变化也表明花蕊醇提取物的抗氧化能力与浓度存在剂量依赖效应。培养液中 GPX 的含量与细胞中含量变化一致。

**2.2.6 牡丹花蕊醇提取物对 HUVEC 细胞及培养液中 MDA 含量的影响** 不饱和脂肪酸因自由基攻击发生氧化,机体的脂质过氧化产物丙二醛就会升高,丙二醛的存在会加速细胞膜的衰老<sup>[24-25]</sup>。如图 8 所示,细胞中模型组的 MDA 含量为 32.38 mol/mg,远高于空白组的 5.93 mol/mg,说明当细胞受到氧化损伤时,细胞内的脂质过氧化反应增多,细胞膜的功能性降低。与模型组相比,低、中、高剂量组显著抑制了 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的 MDA 含量的增加( $P < 0.05$ ),说明牡丹花蕊醇提取物能够清除自由基,减少细胞内脂质过氧化物的产生。高剂量组的 MDA 含量低于对照组的,说明高剂量的牡丹花蕊醇提取物对于降低细胞内 MDA 含量的作用,可能高于抗坏血酸。细胞培养液中 MDA 含量变化与细胞中 MDA 含量变化一致。

周艳峰等<sup>[26]</sup>研究表明,芦丁在对人晶状体上皮细胞氧化损伤的保护作用,主要与减少 ROS 的生成有关,其中 SOD、MDA 和 GSH 的变化情况与试验一致。宋献美



小写字母不同表示组间差异显著( $P < 0.05$ )

图 8 HUVEC 细胞及细胞培养液中丙二醛含量

Figure 8 MDA content in HUNVEC cells and cell culture medium

等<sup>[27]</sup>研究表明芍药苷对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 HUVEC 损伤具有明显的保护作用,可通过抑制 HUVEC 细胞间黏附因子 ICAM-1 的表达<sup>[28]</sup>,从而抑制细胞损伤。Shokoohinia 等<sup>[29]</sup>和 Daubney 等<sup>[30]</sup>研究表明槲皮素可通过减少 ROS 的形成来保护神经细胞 PC12 和心肌细胞 H9c2。褚韦韦等<sup>[31]</sup>研究表明槲皮素能够增强细胞内的还原系统,增加 GPX1、SOD2 及 GSH 的水平,降低氧化应激所带来的损伤。而试验结果表明,牡丹花蕊醇提取物主要成分为芦丁、槲皮素和芍药苷,含量分别达到 44.25%, 15.50%, 17.00%,总含量为 76.75%。芦丁、槲皮素和芍药对细胞内 SOD 和 GPX 等抗氧化酶活性的提高和对细胞的保护作用,与牡丹花蕊醇提取物对细胞的保护机制一致,因此,芦丁、槲皮素和芍药苷可能是牡丹花蕊醇提取物产生较强抗氧化作用的主要成分。

### 3 结论

细胞抗氧化试验表明,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 能够造成细胞膜的损伤,对 HUVEC 细胞中的 SOD 和 GPX 等抗氧化酶活性具有抑制作用,造成脂质过氧化物 MDA 含量上升,GSH 含量下降。当不同浓度的牡丹花蕊醇提取物作用于 HUVEC 细胞后,细胞中 SOD 和 GPX 活性以及 GSH 的含量均有不同程度的提高,而且细胞中 MDA 含量也显著降低。说明牡丹花蕊醇提取物能够提高细胞中各种抗氧化酶的活性,减少脂质过氧化反应的发生,保护 HUVEC 细胞完整且提高

细胞抗氧化性。这一结论与马静静等<sup>[25]</sup>的研究结论一致,说明通过抑制细胞间黏附因子的表达可能也是牡丹花蕊醇提物其发挥抗氧化性的途径之一。

牡丹花蕊醇提物纯化后主要所含芦丁、槲皮素和芍药苷 3 种单体,三者可能是牡丹花蕊醇提物产生较强抗氧化作用的主要成分,但 3 种单体成分发挥抗氧化作用的主要机制和途径却尚不清楚。牡丹花蕊中 3 种单体成分的分纯化及其功效研究将是下一步的研究方向。

### 参考文献

- [1] 刘普, 卢宗元, 邓瑞雪, 等. 牡丹籽饼粕化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3 105-3 108.
- [2] 周远明, 郑国生, 马传利, 等. 牡丹雄蕊油的提取及化学成分研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(3): 59-61.
- [3] 李朝苹, 陈立勇, 阴英超, 等. 牡丹花蕊水提取液抗氧化功能研究[J]. 山东大学学报: 医学版, 2015, 53(11): 32-36.
- [4] TABAS I, GARCÍACARDENA G, OWENS G K. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis [J]. *Journal of Cell Biology*, 2015, 209(1): 13-22.
- [5] 刘珊, 李俐漫, 左浩江, 等. 粗壮女贞对氧化损伤血管内皮细胞的保护作用[J]. 现代预防医学, 2017, 44(2): 297-300.
- [6] 杨兆颖. CEPO 对 PCI 术后患者血清致人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017: 19-33.
- [7] ZHANG Yang, LIU Jian, LUO Jiang-yun, et al. Upregulation of angiotensin(1-7)-mediated signaling preserves endothelial function through reducing oxidative stress in diabetes[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23(11): 880-892.
- [8] 杨艳娜, 金在顺, 杨光, 等. 芍药苷对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 H9C2 心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2017, 11(5): 762-765.
- [9] 罗云梅, 付晓霞, 杨丹莉, 等. 淫羊藿苷对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用及机制[J]. 中国新药与临床杂, 2016, 35(1): 40-45.
- [10] WEST A P, BRODSKY I E, RAHNER C, et al. TLR signaling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS[J]. *Nature*, 2011, 472(7 344): 476-480.
- [11] 傅茂润, 刘峰, 赵海军, 等. 牡丹雄蕊的营养成分和抗氧化能力研究[J]. 中国食物与营养, 2011(5): 71-74.
- [12] 闫慧娇, 赵伟, 耿岩玲, 等. 牡丹花化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(12): 2 056-2 059.
- [13] 孙泽飞. 牡丹花类黄酮成分及抗氧化能力分析[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2015: 22-42.
- [14] 王金艳, 任静, 陈世彬, 等. HPLC 法同时测定达原饮中芒果苷等 6 种成分的含量[J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37(1): 72-74.
- [15] 刘竹青, 尹登科, 韩岚, 等. 桃红四物汤含药血清对过氧化氢损伤的人脐静脉内皮细胞的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 402-406.
- [16] 罗磊, 张冰洁, 马丽苹, 等. 金银花叶黄酮体外抗氧化能力
- 及对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 RAW264.7 巨噬细胞损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2018, 39(11): 139-145.
- [17] 卞梦瑶, 方勇, 裴斐, 等. 生姜油树脂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起 RAW264.7 巨噬细胞损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 244-249.
- [18] 黄汉昌, 姜招峰. 芦丁与人血清白蛋白相互作用的紫外可见光谱特性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(3): 476-481.
- [19] 张蕾. 丹参素钠调节 MAPKs 通路抗动脉粥样硬化小鼠内皮细胞损伤的机制研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2017: 23-35.
- [20] 刘焕兰, 武夏林, 曲卫玲, 等. 琼玉口服液对衰老小鼠脑组织 SOD 活性及血清中 SOD 和 MDA 含量的影响[J]. 吉林中医药, 2013, 33(3): 278-280.
- [21] SPINACI M, MUCCILLI V, BUCCI D, et al. Biological effects of polyphenol-rich extract and fractions from an oenological oak-derived tannin on in vitro swine sperm capacitation and fertilizing ability[J]. *Theriogenology*, 2019, 12: 82-89.
- [22] 罗磊, 关宁宁, 杨永庆, 等. 牡丹花蕊黄酮对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 RAW264.7 巨噬细胞损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 142-148.
- [23] BEDOYA-RAMÍREZ D, CILLA A, CONTRERAS-CALDERÓN J, et al. Evaluation of the antioxidant capacity, furan compounds and cytoprotective-cytotoxic effects upon Caco-2 cells of commercial Colombian coffee[J]. *Food Chemistry*, 2017, 219(1): 364-372.
- [24] 张冰洁. 金银花叶中黄酮类化合物的提取、纯化及抗氧化研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2017: 20-35.
- [25] 马静静, 郑彬, 张伟, 等. 土壤 B[a]P 叠加污染对蚯蚓体腔细胞 SOD、POD 和 MDA 的毒性效应[J]. 生态与农村环境学报, 2013, 29(6): 743-748.
- [26] 周艳峰. 芦丁抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的人晶状体上皮细胞氧化损伤和凋亡及其机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2016: 19-31.
- [27] 宋献美, 钱丽丽, 梁瑞峰. 芍药苷对过氧化氢损伤的人脐静脉内皮细胞的保护作用[J]. 现代预防医学, 2015, 42(16): 2 914-2 916, 2 923.
- [28] 王微, 张晔, 刘畅, 等. 芍药苷对模拟缺血再灌注后人脐静脉内皮细胞胆碱能抗炎通路及相关因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(3): 1 106-1 108.
- [29] SHOKOOHINIA Y, RASHIDI M, HOSSEINZADEH L, et al. Quercetin-3-O-β-d-glucopyranoside, a dietary flavonoid, protects PC12 cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cytotoxicity through inhibition of reactive oxygen species [J]. *Food Chemistry*, 2015, 167: 162-167.
- [30] DAUBNEY J, BONNER P L, HARGREAVES A J, et al. Cardioprotective and cardiotoxic effects of quercetin and two of its in vivo metabolites on differentiated H9c2 cardiomyocytes[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2015, 116(2): 96-109.
- [31] 褚韦韦, 吴国水, 孙雪东. 槲皮素对肾细胞氧化损伤的保护作用及机制[J]. 浙江预防医学, 2015, 27(7): 677-681.