

山核桃叶总黄酮苷元及其主要单体成分球松素查尔酮的 抗氧化活性

徐敏,沈勇,张坤,刘楠楠,蒋福升,丁志山*
(浙江中医药大学生命科学院,杭州 310053)

[摘要] 目的:测定山核桃叶总黄酮苷元(TFA)及其主要单体成分——球松素查尔酮(PSC)的抗氧化活性。方法:采用柱层析法分离、富集山核桃叶中的总黄酮苷元及单体化合物球松素查尔酮;测定总黄酮苷元中总酚含量,通过 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基实验、铁离子还原/抗氧化能力(FRAP)测定法、抗脂质过氧化(LPO)实验、抗蛋白氧化羰基(PCO)生成实验,对 TFA 和 PSC 进行体外抗氧化活性研究。结果:富集的山核桃叶总黄酮苷元中总酚含量用没食子酸当量(GAE)表示为 $(283.75 \pm 10.82) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;TFA 和 PSC 对 DPPH 自由基清除的抑制浓度(IC_{50})分别为 (20.05 ± 1.74) 、 $(11.66 \pm 0.61) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,抑制脂质过氧化的 IC_{50} 分别为 (74.62 ± 5.39) 、 $(24.38 \pm 1.24) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,抑制蛋白过氧化的 IC_{50} 分别为 (174.29 ± 11.26) 、 $(86.74 \pm 7.89) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;TFA 和 PSC 均具有较强的抗氧化能力;除了对铁离子还原力外,其他各项指标化合物 PSC 均显著强于 TFA。结论:山核桃叶中含有较高含量的黄酮苷元,其富集的总黄酮苷元具有较强的抗氧化活性,已知成分大于 50%,而球松素查尔酮是其主要药效物质,值得进一步开发应用。

[关键词] 山核桃;总黄酮苷元;球松素查尔酮;总酚;抗氧化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0204-05

[doi] 10.11653/syfyj2013220204

Antioxidant Activity of Total Flavonoid Aglycones and the Main Compound Pinostrobin Chalcone Separated from Leaves of *Carya cathayensis*

XU Min, SHEN Yong, ZHANG Kun, LIU Nan-nan, JIANG Fu-sheng, DING Zhi-shan*

[收稿日期] 20130613(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81303258);浙江省新苗人才计划项目(2008R40G2120013;2012R410057);浙江省医药卫生科技计划项目(2012KYB136)

[第一作者] 徐敏,硕士研究生,从事中医药抗肿瘤研究,Tel:18042320249,E-mail:xmlyrl@gmail.com

[通讯作者] *丁志山,博士,教授,从事中医药抗肿瘤研究,Tel:0571-86613666,E-mail:zjctmdzs@163.com

- [4] 张树森,况时祥,肖雁. 脑通胶囊对 VD 大鼠海马 NMDA 受体 mRNA 表达及锥体细胞的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):230.
- [5] 石平荣,莫润田,刘庆元,等. 复方甘草酸苷治疗女性青春期后痤疮疗效观察[J]. 岭南皮肤性病科杂志,2006,15(3):133.
- [6] 孙晓生,谢波. 山药药理作用的研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(3):353.
- [7] 杨曦,蒋桂华. 女贞子的研究开发现状与展望[J]. 时珍国医国药,2008,19(12):2987.
- [8] 高玉桂,王灵芝,唐冀雪. 丹参酮的性激素样活性[J]. 中国医学科学院学报,1998,2(3):189.
- [9] 赵辨. 中国临床皮肤病学[M]. 南京:江苏科技出版社,2010:1165.
- [10] Shiba K, Hamaguchi T, Kataoka K, et al. Cloning of the hamster androgen receptor gene[J]. J Dermatol Sci, 2001,26(3):163.
- [11] Deplewski D, Rosenfield R L. Role of hormones in pilosebaceous unit development[J]. Endocr Rev,2000,21(4):363.
- [12] 弓娟琴. 痤疮与雄激素关系的研究进展[J]. 国外医学:皮肤性病学分册,1997,23(2):65.

[责任编辑 聂淑琴]

(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] Objective: To determine the antioxidant activity of the total flavonoid aglycones (TFA) and its main component pinostrobin chalcone (PSC) separated from the leaves of *Carya cathayensis* (LCC). **Method:** Polyamide column chromatography was used to extract TFA and PSC; the antioxidant activity of TFA and PSC against 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP), lipid peroxide (LPO) and protein carbonylation (PCO) was assayed. **Result:** Total phenol content of TFA was equivalent ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ extract) to 283.75 mg (gallic acid equivalent) $\cdot \text{g}^{-1}$. The scavenging of DPPH of TFA and PSC are (20.05 ± 1.74), (11.66 ± 0.61) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The inhibiting of LPO of TFA and PSC are (74.62 ± 5.39), (24.38 ± 1.24) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The inhibiting of PCO of TFA and PSC are (174.29 ± 11.26), (86.74 ± 7.89) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The antioxidant assay indicated that both TFA and PSC had a strong antioxidant activity, and except the FRAP activity, all other assay results manifested that the antioxidant activity of PSC was significantly stronger than that of TFA. **Conclusion:** The leaves of *C. cathayensis* with high amount of TFA, which with great antioxidant activity, and the compound PSC was the main active component, which was worthy to be further exploited.

[Key words] *Carya cathayensis*; total flavonoid aglycones; pinostrobin chalcone; total phenol; antioxidation

山核桃为胡桃科山核桃属落叶乔木,主要分布在我国浙江临安,皖南山区和皖西大别山一带。其果实具有极高的营养和保健价值^[1-2],树皮具有清热解毒、抗菌消炎、镇痛、抗氧化、抗肿瘤等作用,且其中槲皮苷含量极高^[3];外果皮具有抗炎镇痛、抑菌消炎等作用^[4-9],其叶片提取物对多种细菌、真菌有抑制作用^[10]。此外,何志平等^[11]研究发现山核桃叶提取物还具有较强的抗氧化活性;陈红红等^[1]更是发现山核桃叶总黄酮对D-半乳糖诱导的衰老小鼠具有延缓衰老作用。

本实验室对山核桃叶成分做了系统研究工作,发现其中含有较高含量的黄酮苷元,结构鉴定^[12]和定量分析表明^[13],球松素查尔酮是其中一个最为主要的化合物,含量占叶干重的1.02%,占富集的总黄酮苷元51.46%。基于黄酮类化合物的多种药理活性,本文对富集的山核桃叶总黄酮苷元及其主要单体成分球松素查尔酮的抗氧化活性进行系统评价,以便为山核桃叶开发利用奠定基础。

1 材料

1.1 药物 山核桃叶于2011年夏采自浙江临安市昌化镇,经浙江中医药大学丁志山教授鉴定为山核桃 *Carya cathayensis* Sarg. 树叶。聚酰胺(80~100目,浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂,批号201204276)。1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH, AR,日本Wako公司,批号KWE1637);没食子酸(华蓝化学,批号149-91-7);铁氰化钾(上海试剂一厂,批号32-08330);2,4-二硝基苯肼(上海化学试剂三

厂);1-甲基-2-苯基吡啶(东京化成工业,批号M0733);其他化学试剂均为分析纯。

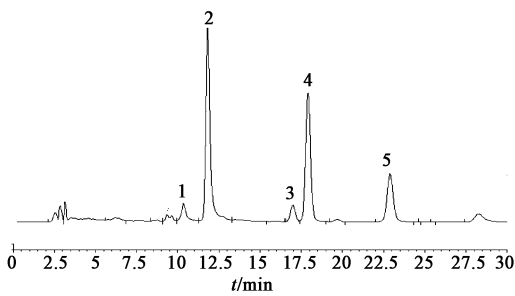
1.2 动物 Wistar大鼠,1.5月龄,雄性,体重(200 ± 20)g,购于浙江中医药大学实验动物中心。动物实验条件合格证SYXK(浙)2008-0115;许可证SCXK(沪)2008-0016。

1.3 仪器 2000型冷冻离心机(Kendro Laboratory);UV-2000型紫外分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司);戴安UltiMate3000液相色谱仪配备戴安Acclaim120 C₁₈色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),戴安UltiMate3000自动进样器和戴安UltiMate3000 DAD检测器。

2 方法

2.1 山核桃叶总黄酮苷元的制备 山核桃叶自然晾干后打粉,称取100.0g干粉用2500 mL 95%乙醇提取2次,过滤,合并2次滤液,加入聚酰胺10g,双蒸水400 mL,40℃减压除去乙醇,残余混悬液直接装柱,自然沉降后用1 L 30%乙醇洗脱,然后用40%乙醇洗脱,收集40%乙醇洗脱液,减压蒸干得山核桃叶总黄酮苷元1.4g,通过HPLC法含量测定^[13](见图1),其中含汉黄芩素0.46%,白杨素4.85%,小豆蔻明3.19%,球松素查尔酮51.46%,松属素6.44%,即已知化合物占总黄酮苷元的66.4%。

2.2 球松素查尔酮的制备^[13] 山核桃叶粉碎,称取400.0g,70%乙醇70℃回流提取1h。乙醇溶液浓缩至无醇味,加入等体积去离子水。此山核桃叶



1~5 号峰分别对应应汉黄芩素、白杨素、
小豆蔻明、球松素查尔酮和松属素

图 1 富集的总黄酮苷元 HPLC

溶液用 800 mL 水和 800 mL 石油醚萃取。水相用 CHCl_3 , EtOAc 和 n-BuOH 萃取。 CHCl_3 层上硅胶柱 (54 cm × 4 cm, 160 ~ 200 目), 并用 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (80:1, 80:5, 80:10, 80:20, 50:50, 20:80, 0:100) 梯度洗脱, TLC 检测, 硅胶柱再次梯度洗脱纯化得到球松素查尔酮。

2.3 山核桃叶总黄酮苷元总酚含量的测定

2.3.1 标准曲线的绘制 采用 Folin-Ciocalteu 法^[14]测定山核桃叶总黄酮苷元中的总酚含量。以没食子酸为对照品绘制曲线。取 $12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 没食子酸甲醇溶液 0, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0 mL, 加入 1 mL Folin-酚试剂, 黑暗条件下放置 10 min 后加入 2 mL Na_2CO_3 , 补水至 5 mL, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 10 min, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 最后于 770 nm 处测定紫外吸收。

2.3.2 样品测定 精密吸取 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 供试品溶液 0.4 mL, 加入 1 mL Folin-Ciocalteu 试剂, 黑暗条件下放置 10 min 后加入 2 mL Na_2CO_3 , 补水至 5 mL, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 10 min, 最后于 770 nm 处测定供试品溶液的紫外吸收。

2.4 山核桃叶总黄酮苷元和 PSC 体外抗氧化活性研究

2.4.1 对 DPPH 自由基清除实验^[15] 吸取质量浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 山核桃叶总黄酮苷元溶液、 $120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PSC 溶液和 $6.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 没食子酸阳性对照品梯度体积, 并加甲醇至 2.425 mL, 再分别加入 $0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液 0.075 mL。黑暗室温条件下放置 30 min, 以甲醇为空白, 于 512 nm 处测定样品的吸光度(A)。3 组平行实验后 ($n=3$), 下列公式计算各个样品对 DPPH 自由基的清除率:

$$\text{清除率} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{药品}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100\%$$

2.4.2 对铁原子还原能力实验^[16] 吸取质量浓度均为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 山核桃叶总黄酮苷元溶液、 300 mg

$\cdot \text{L}^{-1}$ PSC 溶液和 $8.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 没食子酸阳性对照品梯度体积, 加入 pH 6.6 磷酸盐缓冲液 0.5 mL 和 1% 铁氰化钾溶液 0.5 mL。 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 20 min, 加入 10% 三氯乙酸 0.5 mL, $3\ 000 \times g$ 离心 10 min。取上清液 1 mL, 加蒸馏水 1 mL 和 0.1% 三氯化铁 0.1 mL, 4 min 后于 700 nm 处测定样品的 A。3 组平行实验 ($n=3$), 记录实验数据并作图 ($n=3$), 对样品与阳性对照品数据进行对比分析。

2.4.3 抑制脂质过氧化实验^[17] 大鼠大脑匀浆制备: 取 Wistar 大鼠, 断颈处死后取出大脑, 精确称其质量, 切片后用玻璃匀浆器充分碾成组织匀浆, 1:10 (w/v) 加入 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.4 磷酸盐缓冲液。 $5\ 000 \times g$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 离心 15 min, 取上清液, 分装于离心管中, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下冷冻保存。样品制备: 精密称取 10 mg 山核桃叶总黄酮苷元和 PSC, 溶于 10 mL 1% (w/v) 吐温-80 水溶液中, 使其质量浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。样品测定: 向 0.5 mL 大脑匀浆中加入 $20 \text{ } \mu\text{L}$ FeCl_3 和维生素 C 作为氧化剂, 然后加入梯度体积样品溶液, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 1 h 后加入 20% TCA 以阻止反应并沉淀蛋白, $3\ 000 \times g$ 离心 15 min。取上清液 500 μL , 分别加入 650 μL 1-甲基-2-苯基咪唑溶液以及 150 μL 37% 浓盐酸, 向空白管中加入 650 μL 混合溶液 (乙腈: 甲醇 3:1) 以及 150 μL 37% 浓盐酸, $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 40 min 后在 586 nm 处逐个测定 A。以儿茶素为阳性对照, 记录数据并作图, 根据 2.4.1 公式计算 MDA 生成抑制率并计算 IC_{50} 。

2.4.4 抑制蛋白过氧化实验^[18] 大鼠肝脏匀浆制备: 取 Wistar 大鼠, 断颈处死后取出肝脏, 其余方法同 2.4.3 的大鼠大脑匀浆制备。样品制备: 方法同 2.4.3。样品测定: 向 0.4 mL 肝脏匀浆中加入 $20 \text{ } \mu\text{L}$ FeCl_3 和维生素 C 作为氧化剂, 然后加入梯度体积样品溶液, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 1 h 后加入 2 mL $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DNPH 溶液, 空白管加入 2 mL $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl。黑暗条件下, 室温放置 1 h, 每 15 min 涡旋 1 次。1 h 后加入 20% TCA 溶液, 混匀后 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃去上清。再用 2 mL 10% TCA 溶液冲洗 1 次, 2 mL 混合溶液 (乙醇: 乙酸乙酯 1:1) 冲洗 3 次。将沉淀溶解于 1 mL 盐酸胍溶液中, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下放置 10 min 后在 366 nm 处逐个测定 A。以儿茶素为阳性对照, 记录数据并作图, 根据公式计算蛋白羰基生成抑制率并计算 IC_{50} 。

2.5 数据处理 样品清除自由基的能力以半数抑制浓度 (IC_{50}) 来表示。 IC_{50} 为使溶液中自由基数目减少到 50% 时所需样品的浓度。

3 结果与分析

3.1 山核桃叶总黄酮苷元总酚含量的测定 Folin-Ciocalteu 法测得标准曲线为: $Y = 0.1137X + 0.0538$, $R^2 = 0.9987$ 。线性范围为 $0 \sim 25 \mu\text{g}$ 。X: 没食子酸含量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); Y: 测定的吸光值。

在 770 nm 下山核桃叶总黄酮苷元溶液的吸光度平均值为 0.5700 , 根据标准曲线计算, 其总酚含量相当于没食子酸当量 (GAE) (283.75 ± 10.82) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3.2 山核桃叶总黄酮苷元和 PSC 体外抗氧化活性研究

3.2.1 对 DPPH 自由基清除能力 在实验浓度范围内, 山核桃叶总黄酮苷元、PSC 和没食子酸对 DPPH 自由基的清除率随浓度增大而增大, 基本呈线性关系 (见图 2); 计算得山核桃叶总黄酮苷元的 IC_{50} 为 (20.05 ± 1.74) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, PSC 的 IC_{50} (11.66 ± 0.61) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 没食子酸的 IC_{50} 为 (0.50 ± 0.02) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。PSC 对 DPPH 自由基清除能力明显强于山核桃叶总黄酮苷元。

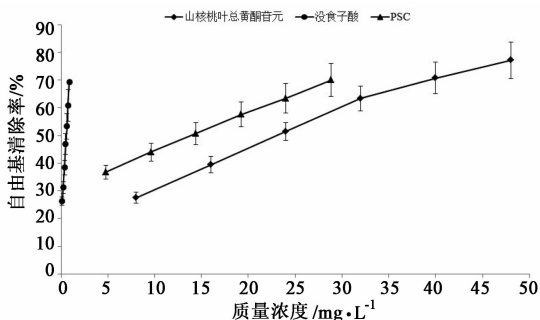


图 2 药物清除 DPPH 自由基能力 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2.2 对铁原子还原能力 在实验浓度范围内, 山核桃叶总黄酮苷元、PSC 和没食子酸对铁原子还原能力随浓度增大而增大 (见图 3), 且可以判断出, 要达到相同吸光度所需要的没食子酸含量最低, PSC 含量最高。化合物 PSC 对铁原子还原能力不如山核桃叶总黄酮苷元强。

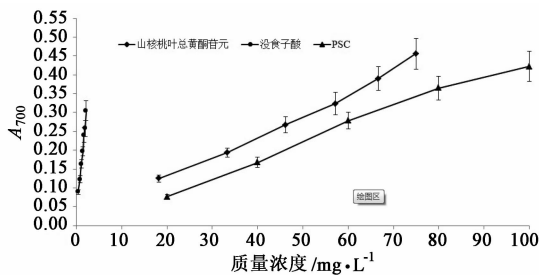


图 3 药物铁原子还原能力 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2.3 抑制脂质过氧化能力 在实验所测定的浓度范围内, 山核桃叶总黄酮苷元和 PSC 对脂质过氧

化抑制能力随浓度的增大而增大 (见图 4)。计算得儿茶素的 IC_{50} 为 (4.64 ± 0.15) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 山核桃叶总黄酮苷元的 IC_{50} 为 (74.62 ± 5.39) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, PSC 的 IC_{50} 为 (24.38 ± 1.24) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。PSC 抗脂质过氧化能力明显强于山核桃叶总黄酮苷元。

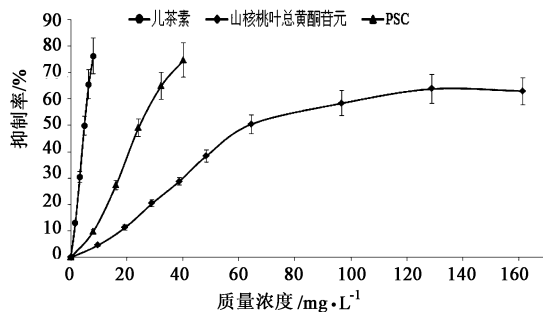


图 4 药物抑制脂质过氧化能力 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2.4 抑制蛋白过氧化能力 在实验所测定的浓度范围内, 山核桃叶总黄酮苷元和 PSC 对蛋白过氧化抑制能力随浓度的增大而增大 (见图 5)。儿茶素的 IC_{50} 为 (18.54 ± 1.17) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 山核桃叶总黄酮苷元的 IC_{50} 为 (174.29 ± 11.26) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, PSC 的 IC_{50} 为 (86.74 ± 7.89) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该实验同样证明 PSC 抗蛋白过氧化能力明显强于山核桃叶总黄酮苷元。

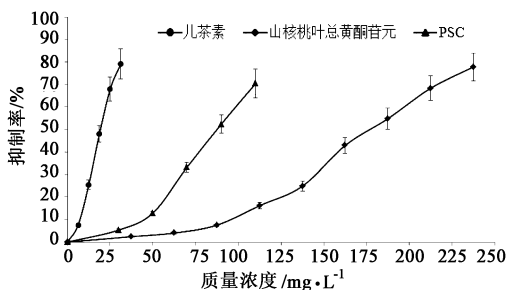


图 5 药物抑制蛋白过氧化能力 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2.5 山核桃叶总黄酮苷元、PSC 和阳性对照品清楚自由基活性、抑制脂质及蛋白过氧化物的半数抑制浓度 详见表 1。

表 1 TFA, PSC 和阳性对照品各抗氧化实验的 IC_{50} ($\bar{x} \pm s, n = 3$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

样品	IC_{50}		
	DPPH	LPO	PCO
TFA	20.05 ± 1.74	74.62 ± 5.39	174.29 ± 11.26
PSC	11.66 ± 0.61	24.38 ± 1.24	86.74 ± 7.89
没食子酸	0.50 ± 0.02	-	-
儿茶素	-	4.64 ± 0.15	18.54 ± 1.17

4 讨论

近年来,天然药物的发展和广泛应用为人类防病和治病发挥了极大的作用。其含有多种不同的抗氧化活性成分,受到了国内外医药工作者的重视。大量的体内外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。同时,黄酮还具有抑菌、抗衰老、抗心肌缺血^[21]、降血脂、降血压等药理保健功能且毒副作用很小,是一类极具开发前景的天然有机抗氧化剂。

本研究以我国特有植物山核桃叶为研究对象,提取其主要成分总黄酮苷元,以及已知化合物中含量最高的球松素查尔酮,进行体外抗氧化方面的研究,探讨其抗氧化活性。研究发现,PSC 和山核桃叶总黄酮苷元均具有一定的抗氧化活性,且 PSC 抗氧化活性大于山核桃叶总黄酮苷元。可以初步判断山核桃叶总黄酮苷元的抗氧化作用主要原因是其中富含大量的球松素查尔酮,不仅为以后进一步开发 PSC 的药用价值提供参考,并且为高效利用山核桃叶提供一定的理论依据。

[参考文献]

[1] 陈红红,李助乐,章健,等. 山核桃叶总黄酮抗衰老作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5):892.

[2] 宛蕾,陈秀芬,杜江. 胡桃青皮抗炎及镇痛作用的研究[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(2):29.

[3] 陈金印,张坤,徐敏,等. 山核桃树皮中槲皮苷的提取工艺优选及含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22):42.

[4] 浙江药用植物志编写组. 浙江药用植物志(上册)[M]. 杭州:浙江科学技术出版社, 1980:159.

[5] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1997.

[6] 施宏,丁志山. 山核桃属植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中成药, 2009, 31(6):924.

[7] 司传领,刘忠,惠岚峰,等. 核桃楸树皮提取物的化学成分及其抗氧化活性研究[J]. 林产化学与工业,

2008, 28(1):29.

[8] 林君阳. 山核桃外果皮化学成分及抑菌活性研究[D]. 临安:浙江林学院, 2008.

[9] 王金兰,张淑霞,李铁军,等. 山核桃树皮化学成分研究[J]. 中草药, 2008, 39(4):490.

[10] 殷舒,毛胜凤,杨琼霞,等. 山核桃叶片提取物的抑菌作用[J]. 浙江林学院报, 2007, 24(5):604.

[11] 何志平,庞林江,茅林春,等. 山核桃叶提取物的抗氧化活性比较[J]. 食品与机械, 2011, 27(3):45.

[12] Cao Xu-dong, Ding Zhi-shan, Jiang Fu-sheng, et al. Antitumor constituents from the leaves of *Carya cathayensis*[J]. *Nat Prod Res*, 2011, 26(22):2089.

[13] 沈勇,刘楠楠,徐敏,等. 高效液相色谱法测定山核桃叶中 5 个黄酮苷元含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(5):804.

[14] Singleton V L, Rossi J A Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents[J]. *Am J Enol Vitic*, 1965, 16(3):144.

[15] Lee J C, Kim H R. , Kim J, et al. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(22):6490.

[16] Oyaizu M. Studies on products of browning reactions-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine [J]. *Japanese Journal of Nutrition*, 1986, 44:307.

[17] Gerard-Monnier D, Erdelmeier I, Regnard K, et al. Reactions of 1-Methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation [J]. *Chem Res Toxicol*, 1998, 11(10):1176.

[18] Reznick A Z, Packer L. Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay [J]. *Methods Enzymol*, 1994, 233(38):357.

[19] 黄秀兰,张雪静,王伟,等. 淫羊藿总黄酮注射液对垂体后叶素致大鼠心肌缺血的影响[J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(9):533.

[责任编辑 聂淑琴]