

紫甘薯叶超声波提取工艺优化及其对小鼠肝脏保护作用研究

陈彤^{1,2*},李丽洪¹,陈小河¹,梁金平³,杨立明³¹龙岩学院生命科学学院;²福建省预防兽医学与兽医生物技术重点实验室;³龙岩市农业科学研究所,龙岩 364000

摘要:优化紫甘薯叶的超声波提取工艺,考察提取物对 CCl₄ 诱导急性肝损伤小鼠的保护作用。采用 3 因素(乙醇浓度、超声功率、超声时间)3 水平正交试验,以紫甘薯叶提取物清除羟基自由基能力为考察指标,优化紫甘薯叶超声波提取工艺参数,并用 CCl₄ 建立急性肝损伤模型,考察不同剂量的紫甘薯叶超声波提取物(0.1 g/kg, 0.3 g/kg)对肝损伤的影响,探讨紫甘薯叶超声波提取物的肝脏保护作用。结果表明,紫甘薯叶超声波提取最优提取工艺为:乙醇浓度 70%,超声功率 400 W,超声时间 17 min。与模型组相比,紫甘薯叶超声波提取物能降低急性肝损伤小鼠血清中 ALT 活性及肝组织 MDA 含量,提高肝组织 SOD 活性和 GSH 水平,明显减轻肝损伤小鼠肝组织的损伤程度,表明紫甘薯叶超声波提取物对 CCl₄ 诱导急性肝损伤小鼠具有保护作用。

关键词:紫甘薯叶;羟基自由基;超声波提取物;肝损伤

中图分类号:Q933

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.8.007

Extraction of Purple Sweet Potato Leaves and its Protective Effects on CCl₄-induced Acute Liver Injury of Mice

CHEN Tong^{1,2*}, LI Li-hong¹, CHEN Xiao-he¹, LIANG Jin-ping³, YANG Li-ming³

¹College of Life Sciences, Longyan University; ²Fujian Key Laboratory of Preventive Veterinary Medicine and Veterinary Biotechnology; ³Longyan Institute of Agricultural Sciences, Longyan 364000, China

Abstract: The ultrasonic extraction process of purple sweet potato leaves was optimized and the protective effect of the extract on CCl₄-induced acute hepatic injury of mice was investigated. The extraction process was optimized by orthogonal test with three factors (ethanol concentration, ultrasonic power, and ultrasonic time) and three levels. The hydroxyl radical scavenging rate was used as investigation index. The protective effect of different doses (0.1 g/kg, 0.3 g/kg) of purple sweet potato leaves extract on hepatic injury was investigated by the establishment of acute hepatic injury model using CCl₄. The results showed that the optimal extraction conditions were as follows: ethanol concentration of 70%, ultrasonic power of 400 W, ultrasonic time of 17 min. Compared with the model group, purple sweet potato leaves extract decreased the activities of serum ALT and hepatic MDA concentration, increased the activities of hepatic SOD and the level of hepatic GSH, and obviously relieved damage degree of liver tissue in the hepatic injury mice. These results indicated that purple sweet potato leaves extract had protective effect on CCl₄-induced acute hepatic injuries of mice.

Key words: purple sweet potato leaves; hydroxyl radical; ultrasonic extract; hepatic injury

甘薯 [*Iponioea batatas* (L.) Lam.], 又名番薯、红薯, 原产美洲, 约在 500 年前传入我国, 具有高产稳产、抗灾能力强、适应性广、容易栽培等特点。甘薯茎叶含有蛋白质、糖类物质、维生素、矿物质以及黄酮、绿原酸、类胡萝卜素等生物活性成分^[1]。紫甘薯不仅含有普通甘薯的营养成分, 还富含天然花青素, 具有清除自由基^[2]、抗生物氧化延缓衰老^[3]、

抗癌防癌^[4]等保健功效。紫甘薯(由福建省龙岩市农业科学研究所提供)是甘薯中的一种, 是近年福建省龙岩市农业科学研究所引进的具有优良特性的甘薯新品种(LY001), 食用部位主要是其叶片。本试验采用 3 因素 3 水平对紫甘薯叶超声波提取物进行正交试验, 以清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)能力为指标优化提取工艺条件, 制备提取物, 并采用 CCl₄ 诱导建立小鼠肝损伤模型, 研究紫甘薯叶超声波提取物的体内、外抗氧化活性及其保肝作用, 为肝病防治和提高紫甘薯叶的开发利用提供一定的参考。

收稿日期:2016-02-18 接受日期:2016-06-08

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划(G20142009);国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-11-C-07);福建省教育厅科技 A 类项目(JA13308)

* 通讯作者 E-mail:chen.9376@163.com

1 材料与仪器

1.1 试验动物

清洁级雄性 KM 小鼠 48 只,体重 22 ± 2 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司(合格证编号:2015000515149)。

1.2 主要仪器

电热恒温水浴锅 DK-S24 型(上海森信实验仪器有限公司);旋转蒸发器 RE-52AA(上海亚朵生长仪器厂);循环水氏多用真空泵 SHB-B95 型(郑州杜甫仪器厂);电热恒温鼓风干燥箱 DH2 π -9070 A 型(上海精宏实验设备有限公司);低速台式冷冻离心机 TDL-500 bR 型(上海安亭科学仪器厂);分光光度计 UV-2000 型(上海肯强仪器有限公司);生化分析仪(南京南大仪器有限公司);Motic 显微镜 BA310-T(重庆光电仪器有限公司)。

1.3 主要试剂

考马斯亮兰试剂盒(货号:A045-2),丙二醛(MDA)试剂盒(货号:A003-1),总超氧化物歧化酶

(T-SOD)试剂(货号:A300-1),谷胱甘肽(GSH)试剂盒(货号:A006-1)(以上均购自南京建成生物工程研究所),ALT 试剂盒(购自安普生物科技有限公司)。

硫酸亚铁、水杨酸、双氧水(以上均为分析纯)。

2 实验方法

2.1 超声波法制备紫甘薯叶提取物的工艺研究

采摘生长 45~60 d 已成熟的从顶端往下数 10 片的混合紫甘薯叶片(紫红色),洗净自然晾干,于 60 °C 烘箱烘干粉碎,过 40 目得紫甘薯叶粉末。按照表 1 的提取因素和水平,进行 3 因素 3 水平正交实验,选择 $L_9(3)^3$ 正交表,3 因素 3 水平的确定参考刘静^[5]、李颖畅^[6]、顾英^[7]的研究,稍作改变。各组提取液于真空抽滤泵中过滤,滤液于旋转蒸发器中浓缩,浓缩液于干燥箱中烘干,制成粉末,采用水杨酸法测定提取物对羟基自由基的清除作用,优化超声波法制备紫甘薯叶提取物的最佳工艺参数,并按照最佳提取工艺参数制备紫甘薯叶超声波提取物。

表 1 超声波提取因素及水平

Table 1 Factors and levels of ultrasonic extraction

水平 Level	因素 Factor		
	乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	超声功率 Ultrasonic power (W)	超声时间 Ultrasonic time (min)
1	60	200	7
2	70	400	12
3	80	600	17

2.2 紫甘薯叶提取物清除羟基自由基的测定

采用水杨酸法测羟基自由基的清除率。实验组:精密量取 1.8 mmol/L FeSO_4 2 mL 置于 10 mL 塑料离心管中,加入 1.8 mmol/L 水杨酸-乙醇 1.5 mL,再加入不同浓度的紫甘薯叶提取物溶液 1 mL,再加入 0.03% H_2O_2 0.1 mL,启动整个反应,在 37 °C 水浴加热 30 min,然后在 2000 rpm 下离心 10 min,510 nm 下测定吸光度。重复 3 次求平均值。

空白对照组:以蒸馏水代替样品溶液做空白对照 2 管,其他条件与实验组一致。

本底对照组:考虑待测液溶液本身的吸光度值不同,以 1.8 mmol/L FeSO_4 2 mL、1.8 mmol/L 水杨酸-乙醇 1.5 mL、不同浓度紫甘薯叶超声波提取物溶液 1 mL 和蒸馏水 0.1 mL 作为超声波提取物溶液的本底吸收值,在 510 nm 下测定吸光度。重复 3 次

求其平均值。

羟基自由基清除率(%) = $[(A_0 - (A_X - A_{X_0})) / A_0] \times 100$

A_0 为空白对照液的吸光度; A_X 为加入紫甘薯叶提取物样品溶液的吸光度; A_{X_0} 为样品溶液的本底吸收值。

2.3 小鼠分组与给药处理

将 48 只清洁级雄性 KM 小鼠随机分成 4 组:空白组、模型组、紫甘薯叶超声波提取物高剂量组及低剂量组。适应性喂养 3 d 后开始实验。低剂量组(0.1 g/kg)、高剂量组(0.3 g/kg)每日分别灌胃不同剂量^[8]的超声波提取物,空白组和模型组灌以适量的生理盐水,连续 10 d。在末次给药 1 h 后,各剂量组和模型组腹腔注射体积分数 0.5% CCl_4 植物油溶液(注射的量按小鼠的体重进行注射)10 mL/kg,

空白组腹腔注射等量的植物油溶液。小鼠禁食不禁水 18 h 后,称重各组小鼠体重,摘眼球取血,制备血清,检测各小鼠血清中的谷丙转氨酶(ALT)含量。颈椎脱臼法处死小鼠,取出肝脏称重,取肝大叶同一部位组织块放入 10% 福尔马林溶液中固定,制备肝组织病理学切片。其余肝组织放入 -80 ℃ 冰箱冰冻保存备用,用于检测肝脏中丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)。

2.4 观察指标及检测方法

2.4.1 小鼠肝脏指数的测定

实验结束后分别摘取肝脏测定肝重量,计算肝脏指数。

2.4.2 血清 ALT 含量的测定

采用安普生物科技有限公司试剂盒的测定方法进行测定。

2.4.3 考马斯亮兰蛋白测定

采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。

2.4.4 肝组织 MDA、GSH 水平及 T-SOD 活性的测定

采用南京建成生物工程研究所试剂盒的测定方法进行测定。

2.4.5 肝组织病理切片制作

10% 福尔马林溶液固定后的肝组织,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肝组织切片的病理形态学变化。

2.5 数据处理

运用 SPSS 16.0 统计软件,数据用平均值 \pm 标准偏差($\bar{x} \pm s$)表示,样本组间采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 作为有显著性差异。

3 实验结果

3.1 最佳工艺的确定

测定空白对照液的吸光度、加入紫甘薯叶提取物样品溶液的吸光度、样品溶液的本底吸收值后,根据公式计算出超声波法所对应的不同水平提取出的紫甘薯叶提取物不同浓度下的羟基自由基清除率,求出紫甘薯叶提取物浓度(X)和对应的羟基自由基清除率(Y)的回归方程。

为了更好的说明样品清除羟基自由基的能力,用半数清除率(IC_{50})来比较清除羟基自由基的能力,根据曲线方程,计算出各组 IC_{50} ,结果见表 2。

表 2 紫甘薯叶超声波提取物对羟基自由基的清除能力

Table 2 Hydroxyl free radical scavenging activity of ultrasonic extract of purple sweet potato leaves

编号 No.	(A)乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	(B)超声功率 Ultrasonic power (W)	(C)超声时间 Ultrasonic time (min)	IC_{50} (mg/mL)
1	1(60)	1(200)	1(7)	0.0089
2	1	2(400)	2(12)	0.0122
3	1	3(600)	3(17)	0.0098
4	2(70)	1	2	0.0101
5	2	2	3	0.00415
6	2	3	1	0.0092
7	3(80)	1	3	0.00621
8	3	2	1	0.008437
9	3	3	2	0.018951
K1	0.0309	0.02521	0.026537	
K2	0.02345	0.024787	0.041251	
K3	0.033598	0.037951	0.02016	
k1	0.0103	0.008403	0.008846	
k2	0.007817	0.008262	0.01375	
k3	0.011199	0.01265	0.00672	
R	0.003383	0.004388	0.00703	

由表 2 的极差分析可得出,3 个因素中超声时间影响最大,其次是超声功率,乙醇浓度影响最小。同时,由正交表还可以得出的紫甘薯叶超声波提取最佳工艺条件为 $A_2B_2C_3$,即乙醇浓度为 70%,超声

功率 400 W,超声时间为 17 min。在此工艺下,紫甘薯叶超声波提取物清除羟基自由基的半数清除率的浓度为 0.00415 mg/mL。

表 3 方差分析表

Table 3 Variance analysis table

变异源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	F 值 F value	P 值 P value
A	2	4.988	0.167
B	2	10.104	0.090
C	2	21.123	0.045

由表 3 可知,三因素中超声时间的 P 值为 0.045, $P < 0.05$,所以超声时间对提取物清除羟基自由基的影响显著,而超声功率和乙醇浓度的 P 值分别为 0.090、0.167, $P > 0.05$,因此超声功率和乙醇浓度对提取物清除羟基自由基的影响不显著。

3.2 紫甘薯叶超声波提取物对小鼠肝脏指数、血清 ALT 的影响

实验结果显示 CCl_4 模型组较正常组血清 ALT

极显著升高($P < 0.001$),表明造模成功。紫甘薯叶超声波提取物的高剂量、低剂量组均可降低血清 ALT 水平,与模型组比较有显著性差异($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$),提示紫甘薯叶超声波提取物对 CCl_4 致肝损伤小鼠肝脏具有明显保护作用。模型组肝脏指数明显增大($P < 0.001$),灌胃紫甘薯叶超声波提取物后肝脏指数显著降低($P < 0.01$),这表明紫甘薯叶超声波提取物对肝脏肿胀有一定的缓解作用。

表 4 紫甘薯叶超声波提取物对小鼠肝脏指数、血清 ALT 值的影响

Table 4 The effect of purple sweet potato leave extracts on mouse liver index and serum ALT value

组别 Group	Dose (g/kg · d)	ALT (U/L)	Mice liver index (%)
空白组 Normal	-	29.67 ± 3.51 ^{###}	4.85 ± 0.03 ^{###}
模型组 Model	-	93.38 ± 10.97	5.50 ± 0.09
低剂量组 Low dose	0.1	61.23 ± 11.93 [#]	4.89 ± 0.23 [#]
高剂量组 High dose	0.3	41.30 ± 6.11 ^{##}	4.85 ± 0.08 ^{##}

注:与模型对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$ 。

Note: compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$.

3.3 紫甘薯叶超声波提取物对小鼠肝匀浆 MDA、T-SOD、GSH 的影响

实验结果可见 CCl_4 模型对照组较正常对照组肝组织 MDA 含量明显升高,SOD 活性、GSH 含量显

著降低($P < 0.05$, $P < 0.001$)。紫甘薯叶超声波提取物的高、低剂量组均对降低肝组织 MDA 水平不显著($P > 0.05$),但是可显著提高 T-SOD 活性($P < 0.05$, $P < 0.01$),及肝组织 GSH 含量($P < 0.001$)。

表 5 紫甘薯叶超声波提取物对小鼠肝组织匀浆 MDA、T-SOD、GSH 水平的影响

Table 5 The effect of purple sweet potato leave extracts on levels of T-SOD, GSH and MDA in mouse liver homogenate

组别 Group	Dose (g/kg · d)	MDA (nmol/mgprot)	T-SOD (U/mgprot)	GSH (mgGSH/gprot)
空白组 Normal	-	4.431 ± 0.397 [#]	144.165 ± 3.421 ^{###}	2.571 ± 0.472 [#]
模型组 Model	-	6.179 ± 0.536	99.369 ± 5.239	1.299 ± 0.108
低剂量组 Low dose	0.1	6.130 ± 0.912	118.368 ± 5.820 [#]	2.321 ± 0.096 ^{###}
高剂量组 high dose	0.3	5.801 ± 0.699	133.378 ± 8.318 ^{##}	2.905 ± 0.170 ^{###}

注:与模型对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$,^{###} $P < 0.001$ 。

Note: compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$.

3.4 紫甘薯叶超声波提取物对小鼠肝组织病理学的影响

由图 1A、a 可见,空白组的肝组织 HE 染色中肝小叶结构正常,肝索以中央静脉为轴心呈放射状有序排列,肝血窦明显、清晰,肝细胞形态结构正常,有明显的界线且胞浆均匀、无空泡、无炎性浸润。图 1B、b 显示模型组中肝组织出现较大面积的变性坏死,肝小叶结构异常,肝索排列杂乱不清,未见肝血窦,肝细胞变性明显,表现为肝细胞肿胀,体积增大,

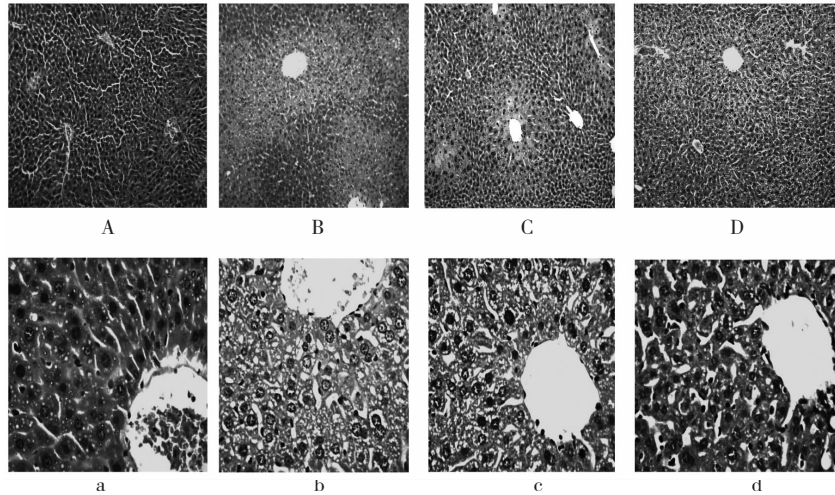


图 1 空白组 (A、a)、模型组 (B、b)、紫甘薯叶提取物低剂量组 (C、c) 及紫甘薯叶提取物高剂量组 (D、d) 小鼠肝组织病理图 (HE 染色, A~D: $\times 100$; a~d: $\times 400$)

Fig. 1 Liver tissue structure of mice from blank group (A, a), model group (B, b), purple sweet potato leave extracts low dose group (C, c) and high dose group (D, d) (H&E staining, A-D: $\times 100$, a-d: $\times 400$)

4 讨论与结论

CCl_4 诱导肝损伤是由于 CCl_4 进入机体后,在肝细胞内产生了自由基,从而对肝细胞造成损伤,故本试验以清除羟基自由基的 IC_{50} 为衡量指标,优化超声波提取的工艺条件。试验结果显示,紫甘薯叶超声波提取的最佳工艺条件为:乙醇浓度为 70%,超声功率 400 W,超声时间为 17 min,其中超声时间对提取物清除羟基自由基的影响显著 ($P < 0.05$),乙醇浓度和超声功率对提取物清除羟基自由基的影响不显著 ($P > 0.05$)。在最佳提取工艺条件下,紫甘薯叶超声波提取物清除羟基自由基的半数清除率的浓度为 0.00415 mg/mL,具有较强的清除羟基自由基能力。

肝损伤是临床常见的危害人类健康的疾病,可分为病理性肝损伤和化学性肝损伤。嗜酒、环境中的化学毒物(如:四氯化碳、半乳糖胺)及某些药物

胞浆疏松,细胞核不同程度固缩、大小不一,甚至出现细胞坏死,核消失。图 1C、c 可见紫甘薯叶提取物的低剂量组肝小叶结构异常的范围明显比模型组缩小,肝索依稀可见,细胞质较稀疏但细胞变性程度缩小。图 1D、d 显示,紫甘薯叶提取物高剂量组的肝小叶病变范围明显进一步缩小,肝索及肝血窦较明显,肝细胞结构较正常。所以,紫甘薯叶超声波提取物对肝损伤小鼠的肝组织结构有一定的保护作用。

(如:扑热息痛、抗结核药)都可引起化学性肝损伤,引起肝脏不同程度的肝细胞坏死、脂肪变性、肝硬化和肝癌。目前,虽然已有一些治疗肝损伤的药物,但治疗效果不很理想,且有一些不良反应,寻找有效且副作用较小的保肝药品,进行保肝治疗仍是非常重要的手段。

本试验采用 CCl_4 诱导建立小鼠肝损伤模型,以研究紫甘薯叶超声波提取物对肝损伤的保护作用。 CCl_4 诱导的体内肝损伤模型是急性肝损伤研究的典型模型^[9], CCl_4 致肝损伤的主要机制是脂质过氧化^[10]。 CCl_4 是经典的亲肝毒物,进入机体后,经肝微粒体酶细胞色素 P_{450} 催化生成三氯甲基自由基 (CCl_3) 和三氯甲基过氧自由基 (ooCCl_3),二者能与亚细胞结构的脂质和蛋白质发生共价结合,抑制肝细胞内的甘油三酯以极低密度脂蛋白的形式运出肝外,使甘油三酯在肝细胞内蓄积,造成肝细胞内质网等膜性成分的脂质过氧化,导致蛋白质合成障碍,脂

质分解代谢紊乱,从而损伤肝细胞^[11]。ALT 主要存在于肝细胞的细胞液内,其细胞内浓度是血清中 ALT 浓度的近千倍,即使是很轻微的肝细胞损伤,也可以使血清 ALT 含量增加,可见血清 ALT 对肝细胞损伤很敏感,是目前临床普遍检测的指标^[12]。本试验结果显示:紫甘薯叶超声波提取物剂量组均能明显降低 CCl₄ 急性肝损伤引起的 ALT 升高,表明紫甘薯叶提取物对 CCl₄ 所致小鼠急性肝损伤具有保护作用。模型组肝损伤后肝脏指数明显增大($P < 0.001$),各剂量组肝脏指数明显降低,这表明紫甘薯叶提取物可对肝脏肿胀有一定的缓解作用。

体内抗氧化系统能力的降低是脂质过氧化产生的前提。体内抗氧化能力的降低可导致自由基的积累,引发细胞生物膜上的脂质过氧化,破坏细胞膜的结构和功能;引发蛋白质变性和交联,使机体内的许多酶及激素丧失生物活性;同时还可以破坏核酸结构进而导致整个机体代谢紊乱,最终引发机体病变。因此,自由基作为生物体内的有害物质,能够引发某些疾病和加速机体衰老。MDA 是体内自由基攻击脂质产生脂质过氧化物的代谢最终产物,可对细胞产生进一步破坏作用,MDA 不仅是反映脂质过氧化的敏感指标,还可间接反映出细胞损伤的程度^[13]。T-SOD 是体内重要的抗氧化酶,它们可以清除体内过多产生的超氧阴离子、过氧化氢等自由基,当 CCl₄ 进入机体后生成大量三氯甲基自由基时,T-SOD 可因过度消耗而减少。GSH 是体内重要的还原产物,可直接消除活性氧自由基,自由基在机体内积累过多时,能使 GSH 含量明显降低^[14]。因此测定 MDA、GSH 水平及 T-SOD 活性可一定程度上反映机体内自由基的积累程度及自由基对机体的损伤情况。本实验结果显示,紫甘薯叶超声波提取物对于降低 CCl₄ 急性肝损伤小鼠肝组织 MDA 含量作用不显著,但可显著提高 T-SOD 活性,提高 GSH 水平,表明紫甘薯叶超声波提取物具有增强肝脏抗氧化能力、减少脂质过氧化物生成的作用。

肝组织病理学切片显示,紫甘薯叶超声波提取物对于由四氯化碳引起的肝损伤都有一定程度缓解作用,表现为紫甘薯叶超声波提取物各剂量组的小鼠在同样程度 CCl₄ 损害下,肝细胞变性程度与模型组相比均明显减轻,说明紫甘薯叶超声波提取物对肝脏的组织结构的确有一定程度的保护作用。

综上所述,紫甘薯叶超声波提取物具有较强的清除羟基自由基的抗氧化作用,但主要是提取物中

哪种活性物质起作用还不清除,后续试验可进一步分析各提取物中花青素、黄酮、多酚、多糖等活性物质含量,及各种活性物质含量与清除羟基自由基的相关性。本实验结果还显示紫甘薯叶超声波提取物对 CCl₄ 诱导的急性肝损伤小鼠具有较强的保护作用,其保护机制可能与其具有较强的清除自由基的抗氧化作用有关,结合紫甘薯叶成本低廉,营养丰富,鲜嫩香滑爽口,少生病少喷药等特点,是人们餐桌上的美味菜肴,长期食用对肝脏有保护作用,尤其对化学性肝损伤具有一定的治疗作用;又因其拥有丰富的天然活性成分和疗效,可生产成一系列紫甘薯叶保健产品,如:甘薯叶保健饮料、即食甘薯叶软包装罐头、甘薯叶保健茶、速冻甘薯叶、甘薯茎叶保健醋饮料^[15];同时还因为紫甘薯叶富含天然色素,无副作用,可作为食品添加剂加于食物中,安全,色泽自然。因此,紫甘薯叶具有广阔的市场前景,可推广大面积种植。

参考文献

- 1 Wang SK(王世宽), Wu P(吴平), Xu YL(许艳丽), *et al.* Nutritive components of sweet potato leaves and its application. *J Sichuan Univ Sci Eng* (四川理工学院学报), 2009, 22(6): 57-59.
- 2 Jia ZH(贾正华), He HY(贺海燕), Su AG(苏爱国), *et al.* Nutritional function and cooking processing of purple sweet potato. *Food Nutr China*(中国食物与营养), 2010, 4: 69-71.
- 3 Wang S(王杉), Deng ZY(邓泽元), Cao S(曹树), *et al.* Studies on the antioxidative functions of purple-fleshed sweet potato anthocyanin *in vivo*. *Acta Nutr Sin* (营养学报), 2005, 27: 245-248.
- 4 Zhang Z(张卓). Advances in apoptosis of tumor-cell induced by anthocyanidins. *J Int Oncol* (国际肿瘤学), 2006, 33: 834-835.
- 5 Liu J(刘静). Study on extraction and antioxidant activity of proanthocyanidins from blueberry leaves. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University (福建农林大学), MSc. 2014.
- 6 Li YC(李颖畅), Zhang MH(张明辉), Ma CY(马春颖), *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from blueberry leaves by response surface method. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2015, 36: 234-238.
- 7 Gu Y(顾英), Han FY(韩凤英), Wang HY(王洪洋). Optimization of extraction of sweet potato leaves flavonoids using response surface method. *Sci Technol Food Ind* (食品工业

- 科技), 2012, 33: 286-289.
- 8 Chen T, Zhong FJ, Hong YM, *et al.* Effect of *Trifolium pratense* extract on methionine-choline deficient diet-induced steatohepatitis in C57BL/6 mice. *Chin J Nat Med*, 2014, 12: 194-198.
 - 9 Wang BJ, Liu CT, Teng CY, *et al.* Hepatoprotective and antioxidant effects of *Bupleurum kanoi* Liu (Chao et Chuang) extract and its fractions fractionated using supercritical CO₂ on CCl₄-induced liver damage. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42: 609-617.
 - 10 Bai ZZ(白贞子), Jiang YF(姜艳芳), Tong LF(佟丽芳), *et al.* Effects of Jiangzhitong on carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats. *J Jilin Univ, Med Ed*(吉林大学学报, 医学版), 2009, 35: 222-225.
 - 11 Chen A(陈瑗). Radicals Medica. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991. 283-286.
 - 12 Jiang T(姜涛), Qin LP(秦路平), Zheng HC(郑汉臣), *et al.* Studies on the flavonoids and antilipid peroxidation of *Bidens bipinnata*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2006, 18: 765-767.
 - 13 Sergent O, Pereira M, Belhomme C, *et al.* Role for membrane fluidity in ethanol-induced oxidative stress of primary rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313: 104-111.
 - 14 Kang YI, Zhou Z. Zinc prevention and treatment of alcoholic liver disease. *Mole Aspects Med*, 2005, 26: 391-404.
 - 15 Cai QL(蔡秋亮). Research and development of a series of protective foods on sweet potato leaves in brief. *Mod Agric Technol*(现代农业科技), 2015, 24: 266-267.
-
- (上接第 1211 页)
- 12 Uchiyama F, Jikyo T, Takeda R, *et al.* *Lepidium meyenii* (Maca) enhances the serum levels of luteinising hormone in female rats. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151: 897-902.
 - 13 Tang XL(唐小玲), Mao SR(毛绍蓉). 更年期雌激素、孕酮、睾酮与肥胖的关系. *Labeled Immunoassays Clin Med* (标记免疫分析与临床), 2010, 17: 132-133.
 - 14 The study of the relationship between athletics and perimenopausal syndrome in Guangdong. *Clin Med J China* (中国临床医学), 2004, 11: 1091-1092.
 - 15 Zhang YZ(张永忠). Experimental study of Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) on menopause syndrome and osteoporosis. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, PhD. 2006.
 - 16 Liu HT(刘涵涛), Lin YM(林亚梅). 围绝经期妇女性激素水平的变化. *Med Innov Res* (现代保健学创新研究), 2010, 3: 139-140.
 - 17 Wang YL(汪艳丽), Ji QR(季其仁), Xiao LL(肖玲玲), *et al.* Effects of sex hormones on glucose and lipid metabolism in peri- and postmenopausal women. *Anhui Med J* (安徽医学), 2005, 26: 27-28.
 - 18 Sandoval M, Okuhama NN, Aageles FM, *et al.* Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem*, 2002, 79: 207-213.
 - 19 Liu P(刘萍), Yang SQ(杨双琪), Liu Y(刘洋). 诱发排卵障碍的 PCOS 患者血清泌乳素水平变化及意义. *Shandong Med J* (山东医药), 2014, 54(39): 47-48.
 - 20 Li HF(李红芳). 女性更年期综合症及其影响因素分析. *Chin Health Ind* (中国卫生产业), 2014, 1: 99-101.
 - 21 Oshima M, Gu Y, Tsukada S. Effects of *Lepidium meyenii* wale and *Jatropha macrantha* on blood levels of estradiol-17p, progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice. *J Vet Med Sci*, 2003, 65: 1145-1146.