

毛泡桐花黄酮对小鼠脾和胸腺超微结构及免疫功能的影响

王占彬¹, 王亚锴¹, 赵德明², 张自强¹

(1. 河南科技大学动物科技学院, 洛阳 471003; 2. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

摘要: 为研究毛泡桐花黄酮对小鼠脾和胸腺超微结构的影响, 将 120 只昆明种小白鼠随机分为 4 组: 对照组(灌服 0.3 mL · d⁻¹ 含 0.5% CMC-Na 的 PBS)、黄酮 I 组[40 mg · (kg · d)⁻¹ 黄酮]、黄酮 II 组[120 mg · (kg · d)⁻¹ 黄酮]和黄酮 III 组[360 mg · (kg · d)⁻¹ 黄酮], 每组 30 只(雌雄各半), 采用灌胃法按体重每日给小鼠灌服毛泡桐花黄酮建立实验动物模型, 在处理第 28 天处死小鼠, 采集脾和胸腺, 计算脏器指数, MTT 法检测刀豆素 A(ConA)诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖转化、中性红试验测定小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能, 并采用扫描电镜观察小鼠脾和胸腺结构。结果表明, 不同剂量的毛泡桐花黄酮均能显著提高小鼠胸腺和脾指数及淋巴细胞增殖反应和腹腔巨噬细胞吞噬功能($P < 0.05$), 且呈现一定的剂量依赖性; 毛泡桐花黄酮高、中、低 3 个剂量组小鼠脾和胸腺中成熟淋巴细胞数量均较对照组增多, 特别是高剂量组成熟淋巴细胞数量最多。提示, 毛泡桐花黄酮通过增加小鼠免疫器官质量、免疫器官中成熟淋巴细胞数量等影响其超微结构。毛泡桐花黄酮通过提高脾 T 淋巴细胞增殖反应和腹腔巨噬细胞吞噬能力, 对小鼠免疫功能具有一定的调控作用。

关键词: 毛泡桐花; 黄酮; 扫描电镜; 小鼠; 脾; 胸腺

中图分类号: S852.16

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)06-0952-08

The Effect of Flavonoids from *Paulownia tomentosa* Flowers on the Ultrastructure and Immune Function of Spleen and Thymus in Mice

WANG Zhan-bin¹, WANG Ya-kai¹, ZHAO De-ming², ZHANG Zi-qiang¹

(1. College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: To explore the effect of flavonoids from flowers of *Paulownia tomentosa* on the ultrastructure of spleen and thymus in mice, 120 Kunming mice were randomly divided into four groups ($n = 30$, half male and half female). Using daily intragastric administration of flavonoids from *Paulownia tomentosa* flower according to the weight to establish the experimental animal model; Mice in flavonoid group I, flavonoid group II and flavonoid group III were drenched (once daily for 28 days) with 40, 120 and 360 mg · (kg · d)⁻¹ flavonoid, respectively. Mice in control group were gavaged with equal volume PBS containing 0.5% CMC-Na. On the 28th day of the treatment, spleens and thymuses were collected and organ index was calculated. Proliferation and transformation of spleen lymphocytes induced by ConA were determined by MTT method. Phagocytosis of peritoneal macrophages was tested by neutral red test. The ultrastructure of spleen and thymuses were observed through scanning electron microscope. The results showed

收稿日期: 2012-12-10

基金项目: 河南省科技攻关项目(132102310279)

作者简介: 王占彬(1964-), 男, 河南省嵩县人, 博士, 副教授, E-mail: wangzhanbin3696@126.com

that different doses of flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers can significantly improve the thymus and spleen index and lymphocyte proliferation response ($P < 0.05$) in a dose-dependent manner. Compared with the control group, the number of mature lymphocytes in mice spleen and thymus increased significantly in the three flavonoid-treated groups, especially in high dose group. The results suggest that flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers affect the ultra-structure of spleen and thymus by increasing immune organ quality, immune organs mature lymphocyte number. In addition, lymphocyte proliferation response, flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers has a certain regulation effect on the immune function in mice by reinforcing the T lymphocyte proliferation response of spleen and thymus to the cellular immune function.

Key words: *Paulownia tomentosa* flowers; flavonoids; scanning electron microscope; mice; spleen; thymus

黄酮类化合物广泛存在于自然界的植物体中,是药用植物中主要活性成分之一^[1-2]。在畜禽生产中还发现,该化合物具有提高畜禽机体免疫力、抗菌消炎、提高抗氧化能力和保健等作用^[3-8]。

毛泡桐(*Paulownia tomentosa steud*)为玄参科泡桐属植物,目前,在中国广泛种植。毛泡桐花的药用价值在中国古代史书中就有记载。现代研究表明毛泡桐花中含有一定量的黄酮类化合物,不但可用于心脑血管疾病、糖尿病、高血压等疾病的治疗,而且还具有重要的抗癌功效^[7,9-12]。但有关毛泡桐花黄酮对小鼠免疫器官超微结构及免疫功能影响的研究至今尚未见报道。本试验旨在研究毛泡桐花黄酮对小鼠脾和胸腺超微结构及免疫功能的影响,为进一步探讨毛泡桐花黄酮能否作为一种绿色饲料添加剂应用于畜禽生产以提高畜禽免疫力及预防、治疗畜禽免疫缺陷性疾病等提供形态学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

毛泡桐花黄酮样品纯化物:由河南科技大学动物科技学院中心实验室纯化并制备,纯化物中总黄酮的含量为 98.25%。

1.2 实验动物

120 只 21 日龄昆明种小白鼠(由河南省实验动物中心提供),饲养于清洁级动物房,自由饮水和进食,每日 12 h 光照,温度 22~25 ℃。

1.3 仪器与试剂

AG204 型电子天平(上海精密科学仪器公司);SY3200-T 型超声波清洗器(上海声源超声波仪器设备有限公司);澳柯玛 AM-C23CV 型微波炉(青岛澳柯玛股份有限公司);ELX800UV 酶标仪(美国

BioTek 公司);KYKY-EM3200 型数字化扫描电子显微镜(苏州瑞测精密仪器有限公司)。羧甲基纤维素钠、戊二醛为国产分析纯。

1.4 试验设计

将 120 只试验小白鼠预饲 1 周后,随机分为 4 组,每组 30 只(公母各半)。即空白对照组(A组)、毛泡桐花黄酮纯化物低、中、高 3 个剂量组(B、C、D 组),试验组每日 15:00 灌胃黄酮,B、C、D 试验组灌胃剂量分别为 40、120、360 $\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,具体是毛泡桐花黄酮溶于 0.5% 的羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制所需浓度的溶液,每只灌胃 0.3 $\text{mL} \cdot \text{d}^{-1}$ 。对照组只灌胃等量的溶剂。试验期间小鼠自由采食和饮水。试验期注意观察动物(如活动情况、进食情况、精神状态等),每周称 1 次动物体重。试验期 28 d 结束时,处死小鼠并解剖取胸腺、脾称重,戊二醛固定,待制备电镜样品。

1.5 测定指标

在实验处理第 28 天,经脱臼处死小鼠(每组随机选取 10 只),迅速剖开腹腔取出胸腺和脾,除去脂肪组织后称重,并计算胸腺指数和脾指数

免疫器官指数($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) = 免疫器官鲜重(g) / 宰前活重(kg)。

1.6 脾淋巴细胞增殖反应测定

处死小鼠(每组随机选取 5 只)后,参照李媛等^[13]方法制备脾细胞悬浮液,同时调整细胞浓度为 $1 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$ 。于 96 孔的培养板上每孔分别加入脾细胞悬浮液 100 μL ,再加入 100 μL 含 ConA(ConA 终质量浓度 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的 RPMI1640 培养液,保持每份 3 个复孔,37 ℃、5% CO_2 培养箱培养 48 h,终止培养前 4 h 每孔加入 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MTT 10 μL 振荡后继续培养,离心去上清,加酸化异丙醇 120

μL , 在酶标仪 570 nm 处测 A 值, 结果以 3 个复孔 A 的均值表示。

1.7 腹腔巨噬细胞吞噬能力测定

小鼠处死(每组随机选取 5 只)后, 参照运晨霞等^[14]的方法制备小鼠腹腔巨噬细胞, 用 RPMI1640 培养液调整细胞浓度至 $1 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$, 采用中性红法测定小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力, 结果以酶标仪 570 nm 处吸光度均值表示。

1.8 电镜样本制备

将组织用双面刀片切成边长约 $3 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 的小方块。放入盛有 2.5% 戊二醛的小瓶内, 将小瓶放入盛有 300 mL 水的培养皿中, 在微波炉内(火力 20, 额定输出功率约 150 W, 下同), 固定 3 min。具体过程: 将装有材料的小瓶放在盛有水的培养皿中, 同时在炉内放一盛 900 mL 水的烧杯用于吸收微波炉产生的多余热量, 防止材料温度升高。固定后将小瓶中的戊二醛倒出, 然后加入缓冲液, 在微波炉内清洗 3 次, 火力 40, 每次 1 min。清洗后材料用 30%、50%、70%、80%、90%、100% 的乙醇依次梯度脱水, 每次在微波炉内处理 1 min, 火力 40。脱水后将乙醇倒出, 加入醋酸异戊脂, 然后放在微波炉内处理, 每次 1 min, 火力 40。

表 1 毛泡桐花黄酮对小鼠脾、胸腺脏器指数的影响

Table 1 Effect of flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers on spleen and thymus index in mice

组别 Groups	脾指数/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Spleen index ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	胸腺指数/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Thymus index ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
空白对照组 Control group [$0 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	5.27 ± 0.23^b	2.86 ± 0.32^{bb}
低剂量组 Low dose group [$40 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	6.59 ± 0.34^a	3.56 ± 0.35^a
中剂量组 Medium dose group [$120 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	6.77 ± 0.26^a	3.98 ± 0.26^a
高剂量组 High dose group [$360 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	6.79 ± 0.31^a	4.12 ± 0.33^{Aa}

同列数据肩标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)。下表同

In the same row, values with the same letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), and with different capital letter superscripts mean significant difference ($P < 0.01$). The same as below

2.2 毛泡桐花黄酮对小鼠脾淋巴细胞增殖反应和腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响

与正常对照组相比, 毛泡桐花黄酮各剂量组脾

1.9 数据处理

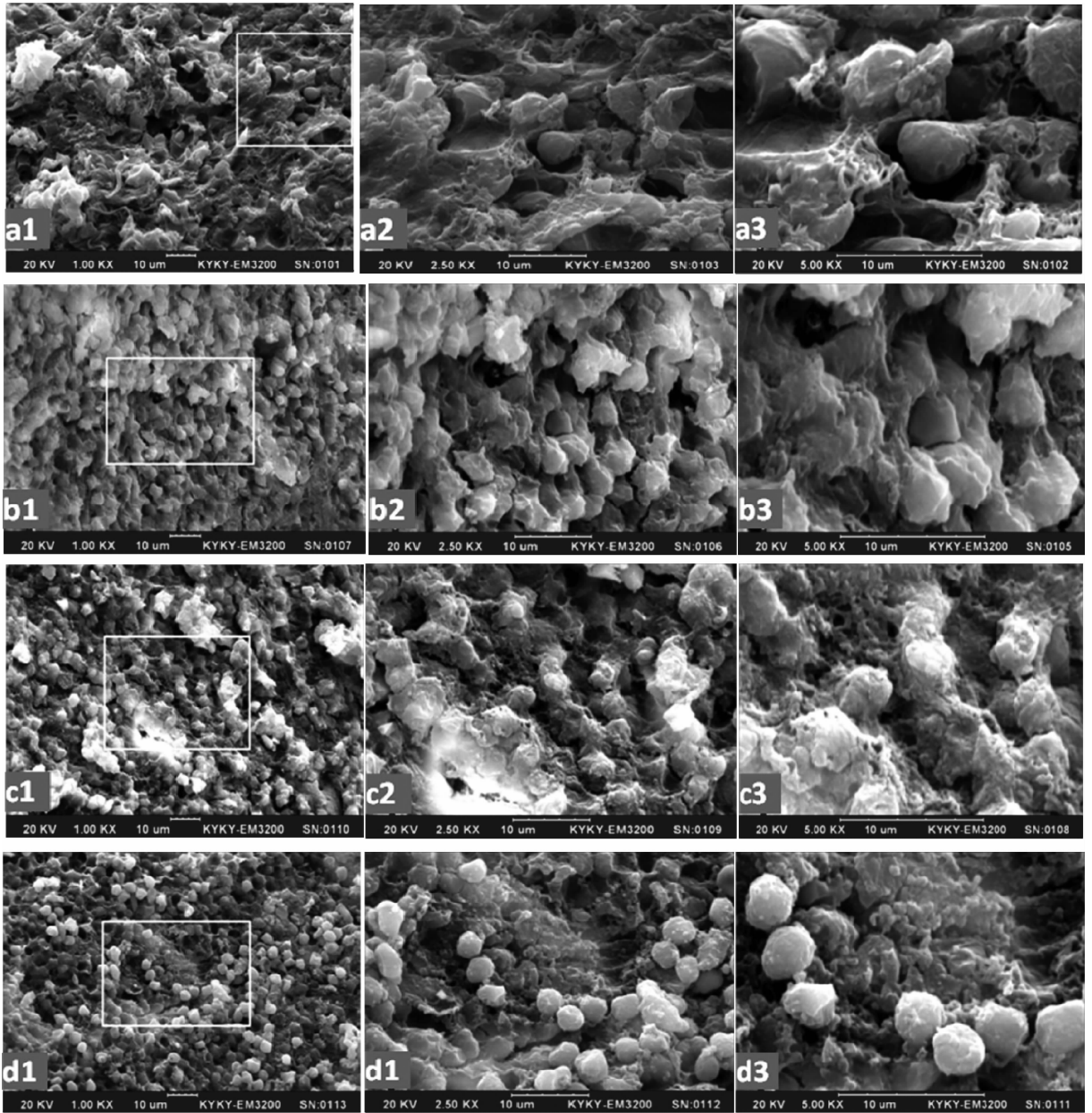
试验数据采用 SAS8.02 软件包方差分析和 Duncan's 多重比较, 数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 毛泡桐花黄酮对小鼠脾和胸腺脏器指数的影响

毛泡桐花黄酮对小鼠脾、胸腺脏器指数均具有一定的影响。各试验组小鼠脾指数, 与对照组相比毛泡桐花黄酮的低剂量组、中剂量组、高剂量组分别比对照组提高 25.04% ($P < 0.05$)、28.46% ($P < 0.05$)、28.84% ($P < 0.05$), 且 3 个试验组之间差异不显著 ($P > 0.05$); 各试验组小鼠胸腺指数, 与对照组相比毛泡桐花黄酮的低剂量组、中剂量组、高剂量组分别比对照组提高 24.45% ($P < 0.05$)、39.16% ($P < 0.05$)、44.05% ($P < 0.01$), 且 3 个试验组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 说明毛泡桐花黄酮的低剂量组、中剂量组、高剂量组对小鼠脾和胸腺具有明显的刺激增生作用, 具体见表 1。

淋巴细胞增殖反应和腹腔巨噬细胞吞噬能力均提高, 特别是中剂量和高剂量组与对照组相比差异极显著 ($P < 0.01$), 具体见表 2。

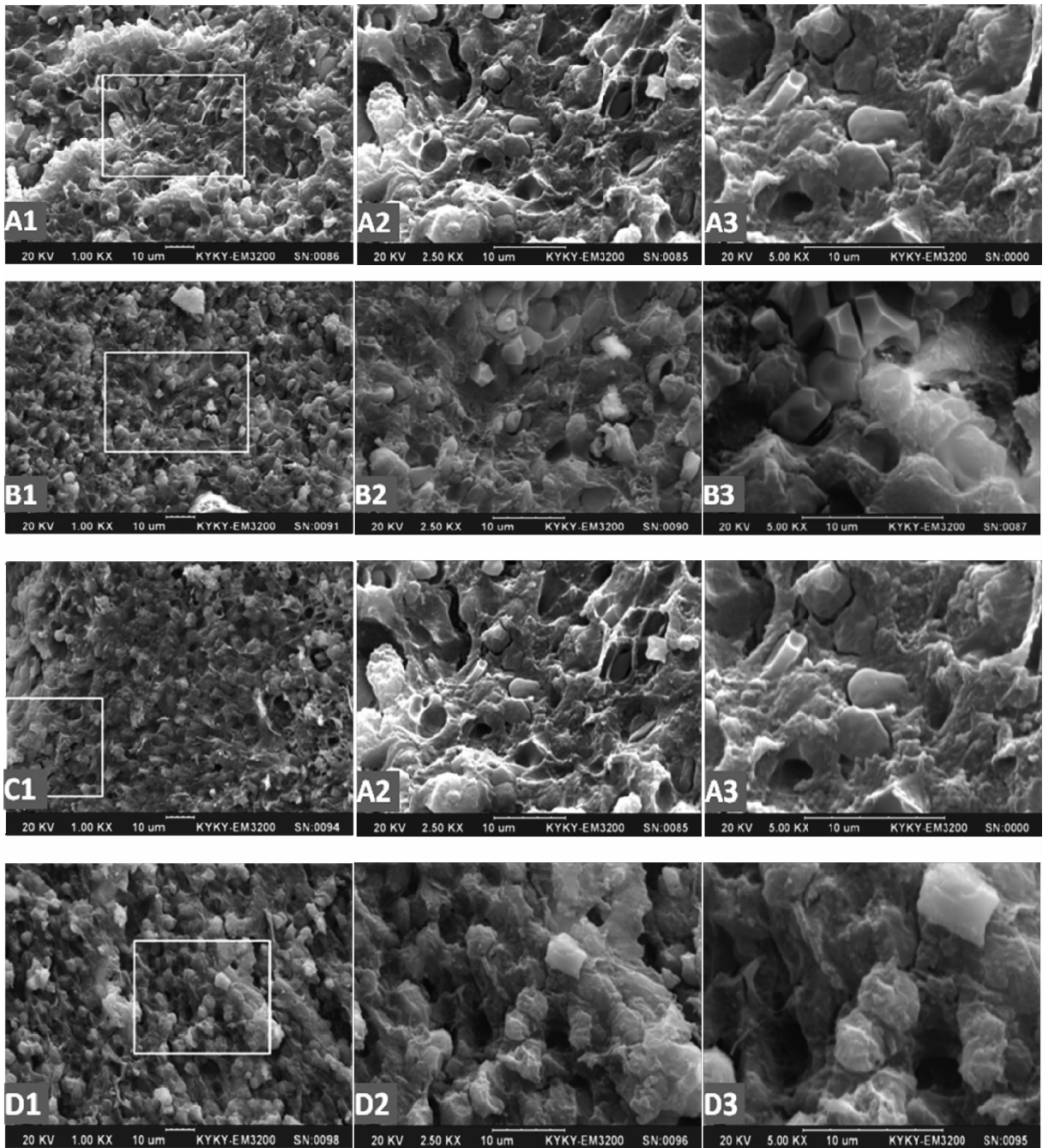


a1、a2、a3. 对照组(1 000×、2 500×和 5 000×);b1、b2、b3. 40 mg · (kg · d)⁻¹黄酮组(1 000×、2 500×和 5 000×);c1、c2、c3. 120 mg · (kg · d)⁻¹黄酮组(1 000×、2 500×和 5 000×);d1、d2、d3. 360 mg · (kg · d)⁻¹黄酮组(1 000×、2 500×和 5 000×);添加毛泡桐花黄酮组小鼠胸腺中成熟淋巴细胞数量均较对照组增多,特别是黄酮 360 mg · (kg · d)⁻¹组成熟淋巴细胞数量最多

a1, a2, a3. The control group (1 000 ×, 2 500 × and 5 000 ×);b1, b2, b3. The 40 mg · (kg · d)⁻¹ flavonoids group(1 000 ×, 2 500 × and 5 000 ×);c1, c2, c3. The 120 mg · (kg · d)⁻¹ flavonoids group(1 000 ×, 2 500 × and 5 000 ×);d1, d2, d3. The 360 mg · (kg · d)⁻¹ flavonoids group (1 000 ×, 2 500 × and 5 000 ×). Compared with the control group, the number of mature lymphocytes in mice thymus increased significantly in the three flavonoid-treated groups, especially in the 360 mg · (kg · d)⁻¹ flavonoids group

图 1 毛泡桐花黄酮对小鼠胸腺超微结构的影响

Fig. 1 Effect of flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers on the ultrastructure of thymus in mice



A1、A2、A3. 对照组(1 000×、2 500×和 5 000×);B1、B2、B3. 40 mg·(kg·d)⁻¹黄酮组(1 000×、2 500×和 5 000×);C1、C2、C3. 120 mg·(kg·d)⁻¹黄酮组(1 000×、2 500×和 5 000×);D1、D2、D3. 360 mg·(kg·d)⁻¹黄酮组(1 000×、2 500×和 5 000×)。添加毛泡桐花黄酮组小鼠脾脏中成熟淋巴细胞数量均较对照组增多,特别是黄酮 360 mg·(kg·d)⁻¹黄酮组成熟淋巴细胞数量最多

A1, A2, A3. The control group (1 000×, 2 500× and 5 000×);B1, B2, B3. The 40 mg·(kg·d)⁻¹ flavonoids group (1 000×, 2 500× and 5 000×);C1, C2, C3. The 120 mg·(kg·d)⁻¹ flavonoids group(1 000×, 2 500× and 5 000×);D1, D2, D3. The 360 mg·(kg·d)⁻¹ flavonoids group (1 000×, 2 500× and 5 000×). Compared with the control group, the number of mature lymphocytes in mice spleen increased significantly in the three flavonoid-treated groups, especially in the 360 mg·(kg·d)⁻¹ flavonoids group

图 2 毛泡桐花黄酮对小鼠脾超微结构的影响

Fig. 2 Effect of flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers on the ultrastructure of spleen in mice

表 2 毛泡桐花黄酮对小鼠脾淋巴细胞增殖及腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响

Table 2 Effect of flavonoids from *Paulownia tomentosa* flowers on spleen Lymphocyte proliferation and Phagocytosis of peritoneal macrophages in mice

组别 Groups	脾淋巴细胞增殖 Lymphocyte proliferation of Spleen($A_{570\text{ nm}}$)	腹腔巨噬细胞吞噬能力 Phagocytosis of peritoneal macrophages($A_{570\text{ nm}}$)
空白对照组 Control group [$0\text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	$0.462 \pm 0.028^{\text{B}}$	$0.441 \pm 0.026^{\text{b}}$
低剂量组 Low dose group [$40\text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	$0.471 \pm 0.031^{\text{B}}$	$0.503 \pm 0.051^{\text{Aa}}$
中剂量组 Medium dose group [$120\text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	$0.532 \pm 0.047^{\text{A}}$	$0.543 \pm 0.039^{\text{A}}$
高剂量组 High dose group [$360\text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]	$0.594 \pm 0.053^{\text{A}}$	$0.565 \pm 0.043^{\text{A}}$

2.3 毛泡桐花黄酮对小鼠胸腺超微结构的影响

小鼠胸腺扫描电镜图片(图 1)显示:正常对照组(a1、a2 和 a3)小鼠胸腺淋巴细胞呈圆形,细胞数量相对较少,细胞之间不规则排列,个别细胞与周围间质脱离呈现出空洞现象,有的淋巴细胞与周围间质彻底脱离而呈现出一个明显的凹痕。毛泡桐花黄酮高剂量组(d1、d2 和 d3)小鼠胸腺 T 淋巴细胞呈圆形且数量明显增多,各细胞排列规则,没有细胞与其周围细胞间质脱离及细胞脱落现象,细胞体积较对照组也有所增大,说明高剂量组胸腺中成熟淋巴细胞数量明显比对照组增多,胸腺发育较好。低剂量组(b1、b2 和 b3)和中剂量组(c1、c2 和 c3)小鼠胸腺中 T 淋巴细胞呈圆形,细胞与周围间质吻合较好,胸腺空洞现象不明显,其所含成熟淋巴细胞数量介于对照组和高剂量组之间,说明淋巴细胞数量与黄酮添加剂量呈正相关。

2.4 毛泡桐花黄酮对小鼠脾超微结构的影响

小鼠脾扫描电镜图片(图 2)均显示脾之脾小梁及成熟的淋巴细胞(包括 B 细胞、T 细胞)、少量散在的巨噬细胞。正常对照组(A1、A2 和 A3)和毛泡桐花黄酮低剂量组(B1、B2 和 B3)小鼠脾淋巴细胞呈圆形,细胞数量较少,细胞与周围间质有脱离现象,相邻细胞之间的细胞间质凹凸不平,中剂量(C1、C2 和 C3)和高剂量组(D1、D2 和 D3)脾中淋巴细胞数量明显增多,特别是高剂量组淋巴细胞数量最多,有发达的脾小梁及大量成熟的表面有微绒毛的 B 细胞,各个细胞及间质组织排列致密,少有细

胞空隙。

3 讨论

胸腺和脾是机体内的重要免疫器官。其中胸腺对动物免疫功能的建立及其免疫能力丧失后免疫调控功能的恢复具有重要作用,胸腺产生的大量胸腺细胞在 T 淋巴细胞不足时可作为 T 淋巴细胞的后备完成其免疫调控功能,成熟的胸腺细胞还可以随血液到达机体外周的免疫器官协助 B 淋巴细胞发挥体液免疫作用。脾是有机体内体积较大的免疫器官,对各类瘤细胞、有害微生物等均有一定的过滤作用,脾还是机体淋巴细胞的居留地和增殖场所,除此,机体的特异性免疫反应大都发生在脾^[15]。一般认为,免疫器官的质量降低为免疫抑制所致,而免疫器官的质量增加则为免疫增强的表现^[16]。王洪武等^[17]研究表明,淫羊藿黄酮可增加免疫力低下小鼠的体重,虽对免疫器官脾的质量无明显增加作用,但能够明显增加脾细胞的绝对数量及每克脾组织中细胞的相对数量,因而淫羊藿黄酮对免疫低下小鼠的细胞免疫功能具有显著的恢复作用,同时对体液免疫有显著增强作用。本研究结果表明,毛泡桐花黄酮通过促进小鼠胸腺和脾的发育调控小鼠的免疫功能,这可能与黄酮促进机体代谢,改善钙离子通道有关^[18-20]。毛泡桐花黄酮对小鼠脾和胸腺指数的影响随着其剂量的增加不断增强,呈现出一定的剂量依赖性。

胸腺是动物的中枢免疫器官,能分泌多种胸腺

激素参与调节机体的免疫功能,特别是参与机体的细胞免疫功能,增强机体抗肿瘤、抗感染的功能,胸腺还是 T 细胞发育分化和成熟的场所,近年来的研究表明,胸腺中初始 T 细胞的数量能代表胸腺中 T 细胞的增殖潜能,其功能状态直接决定着机体的细胞免疫功能,并影响机体的体液免疫功能^[21]。本试验中扫描电镜显示,随着毛泡桐花黄酮剂量的加大,胸腺中成熟淋巴细胞数量逐渐增加,成熟淋巴细胞的生理状态和细胞内细胞器的数量和形态发生改变,进而调控机体的免疫功能。

脾作为机体的重要免疫器官,在机体的各种免疫应答中发挥着重要作用。脾的实质包括红髓、白髓及边缘区。白髓中淋巴细胞尤为密集,脾小体作为白髓的主要结构单位,富含大量的 B 淋巴细胞,而动脉周围淋巴鞘则密集有大量的 T 淋巴细胞。红髓中白细胞较多。在脾的边缘区中富含大量巨噬细胞及少量 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞,当有机体受到抗原刺激后,抗原经巨噬细胞加工处理后,在 T 细胞的协同作用下,脾小体中 B 型淋巴细胞增殖产生大量的效应 B 细胞即浆细胞,分泌抗体参与体液免疫。本试验脾淋巴细胞增殖反应、腹腔巨噬细胞吞噬能力及扫描电镜结果表明,不同剂量的毛泡桐花黄酮均能提高脾中 T 淋巴细胞的增殖反应及腹腔巨噬细胞的吞噬能力、增加成熟淋巴细胞的数量,特别是高剂量组效应更加明显,这说明毛泡桐花黄酮的添加量与脾淋巴细胞增殖反应、腹腔巨噬细胞吞噬能力及成熟淋巴细胞的数量呈正相关,试验结果显示,毛泡桐花黄酮可能通过不同途径影响脾超微结构和免疫功能进而改善小鼠的免疫功能。

淋巴细胞增殖反应被认为是反映机体免疫功能的重要检测指标之一^[22]。巨噬细胞作为机体天然免疫的组成部分,不仅对机体的屏障机能起着重要作用,并且参与免疫应答,还可产生多种生物活性物质,如 IL-2、TNF- α 等。在产生特异性细胞免疫和体液免疫之前发挥防御作用。毛泡桐花黄酮可提高脾淋巴细胞增殖反应和腹腔巨噬细胞吞噬能力并提高免疫器官质量、影响免疫器官中成熟淋巴细胞数量,提示,不同剂量的毛泡桐花黄酮不仅影响免疫器官脾、胸腺的超微结构而且对小鼠的免疫功能也具有一定的调控作用。

参考文献:

- [1] 高锦明,张鞞灵,王株清. 黄酮类化合物的分布及开发利用[J]. 西北林学院学报,2000,15(1):69-74.
- [2] AGATI G, AZZARELLO E, POLLASTRI S, et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance [J]. *Plant Sci*, 2012, 196:67-76.
- [3] 王亚菊,赵茹茜,陈杰. 大豆黄酮的营养生理功能与应用[J]. 中国饲料,2002(1):28-29.
- [4] WANG W N, YANG X B, LIU H Z, et al. Effect of Oenanthe javanica flavone on human and duck hepatitis B virus infection[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(5):587-592.
- [5] TORMAKANGAS L, VUORELA P, SAARIO E, et al. In vivo treatment of acute Chlamydia pneumoniae infection with the flavonoids quercetin and luteolin and an alkyl gallate, octyl gallate, in a mouse model [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70(8):1222-1230.
- [6] SEZIK E, ASLAN M, YESILADA E, et al. Hypoglycaemic activity of Gentiana olivieri and isolation of the active constituent through bioassay-directed fractionation techniques [J]. *Life Sci*, 2005, 76(11):1223-1238.
- [7] ROBOTHAM S A, BRODBELT J S. Regioselectivity of human UDP-glucuronosyltransferase isozymes in flavonoid biotransformation by metal complexation and tandem mass spectrometry [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82:1764-1770.
- [8] 王占彬,赵德明,刘红,等. 毛泡桐皮黄酮提取物抗氧化作用研究[J]. 中国饲料,2012(6):22-25.
- [9] 杜欣,师彦平,李志刚,等. 毛泡桐花中黄酮类成分的分离与结构确定[J]. 中草药,2004, 35(3):245-247.
- [10] 王宝华,高增平,江佩芬,等. 鲜泡桐花与阴干泡桐花化学成分的对比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2003,26(3):56-57.
- [11] 付明哲,袁福汉,卢兴民. 泡桐黄酮抗菌作用及对免疫机能的影响[J]. 中国兽药杂志, 1999, 25(5):46-47.
- [12] CAO J G, XIA X, CHEN X F, et al. Characterization of flavonoids from *Dryopteris erythrosora* and evaluation of their antioxidant, anticancer and acetylcholinesterase inhibition activities [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 51:242-250.
- [13] 李媛,宋媛媛,张洪泉. 松果菊苷对衰老小鼠免疫功能 and 线粒体 DNA 相对含量的影响[J]. 中国药理学通报,2010,26(6):810-813.
- [14] 运晨霞,余晓玲,吴光,等. 三叶黄合剂对小鼠细胞免疫功能影响的实验研究[J]. 时珍国医国药,2009, 20(5):1155-1157.

[1] 高锦明,张鞞灵,王株清. 黄酮类化合物的分布及开发

- [15] 杨汉春. 动物免疫学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003.
- [16] GROSSMAN C J. Interaction between the gonadal steroids and the immune system[J]. *Science*, 1985, 227:257-261.
- [17] 王洪武,贾亮亮,徐媛青,等. 淫羊藿总黄酮对环磷酰胺致免疫低下小鼠的免疫调节作用[J]. 天津医药, 2010,38(12):1068-1071.
- [18] TARAHOVSKY Y S, YAGOLNIK E A, MUZAFAROV E N, et al. Calcium-dependent aggregation and fusion of phosphatidylcholine liposomes induced by complexes of flavonoids with divalent iron[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818: 695-702.
- [19] WEST M E, MAUER L J. Development of an integrated approach for the stability testing of flavonoids and ascorbic acid in powders[J]. *Food Chem*, 2011, 129(1):51-58.
- [20] DE SOUZA DOS SANTOS M C, GONÇALVES C F, VAISMAN M, et al. Impact of flavonoids on thyroid function [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(10): 2495-2502.
- [21] MLADINICH K M, PIASKOWSKI S M, RUDERSDORF R, et al. Dengue virus-specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes target NS1, NS3 and NS5 in infected Indian rhesus macaques [J]. *Immunogenetics*, 2012, 64:111-121.
- [22] 杨兴海,吴杰,郭莲军. 资木瓜皂苷提取工艺的优化及对大鼠佐剂性关节炎抗炎免疫机制的研究[J]. 华西药理学杂志,2010, 25(5): 547-549.

(编辑 白永平)