

文章编号: 1000-0615(2003)03-0283-06

琼胶低聚糖清除自由基的活性

薛长湖, 徐 强, 赵 雪, 李兆杰, 林 洪
(青岛海洋大学食品科学与工程系, 山东 青岛 266003)

摘要: 采用体外鲁米诺发光和 DPPH 体系对琼胶低聚糖清除氧自由基活性进行了研究。实验结果表明, 琼胶低聚糖 ML 对水溶性的 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 有很好的清除作用, IC_{50} 分别为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 效果与自由基清除剂肌肽相近。琼胶低聚糖 ML 对醇溶性的 DPPH 自由基有一定的清除活性 (IC_{50} 为 $6.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 但是清除效果远不如 Vc 和丙丁酚。对不同的聚合度、含硫量和摩尔浓度的琼胶低聚糖的清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的活性进行比较, 实验发现含硫量高、分子量大的低聚糖在清除自由基过程中发挥主要作用。琼胶低聚糖 ML 对 LPS+ D-GalN 急性肝损伤小鼠的实验表明, 一定浓度的 ML 灌胃可以有效抑制肝损伤小鼠血清 GPT 活性和 MDA 浓度的升高, 保护抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 的活力, 对肝损伤有很好的保护作用。

关键词: 琼胶低聚糖; 清除自由基; 化学发光; 肝损伤

中图分类号: S948 文献标识码: A

Radical scavenging ability of agar oligomers

XUE Chang-hu, XU Qiang, ZHAO Xue, LI Zhao-jie, LIN Hong

(Department of Food Science and Technology, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

Abstract The free oxygen radical scavenging effects of agar oligomers were studied by the method for determination of Luminescence and DPPH assay. The results showed that agar oligomer ML had strong scavenging effects on $\cdot\text{OH}$ and $\text{O}_2^{\cdot-}$, IC_{50} were $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $0.7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, but the scavenging effect on DPPH radical was much lower than Vc and probutoL. Comparison of the scavenging activities on $\text{O}_2^{\cdot-}$ between agar Oligomers with different sulphate content and molecular weight showed that high sulphate group or high molecular weight took the main action to scavenge radicals. Agar oligomers taken ig to LPS+ D-GalN induced liver injury mice could effectively inhibit the increase of GPT acticity and MDA content, and maintain the acitivities of SOD, GSH-Px activity in mice serum. It had good protective effect on liver injury.

Key words: agar oligomers; radical scavenging; chemical luminescence; liver injury

活性氧自由基在有氧呼吸的生物体内普遍存在, 不能及时清除的自由基可以损伤神经系统, 造成早老年痴呆、震颤麻痹等症; 损伤细胞器, 促进衰老; 损伤遗传物质, 参与致癌、促癌; 造成脂质过氧化, 形成血栓、动脉粥样硬化、白内障等症^[1]。自由基清除剂可以有效中和自由基, 减轻此类损伤。多糖类物质是其中重要的一类。中药多糖、硫酸多糖、壳多糖等对各种自由基的清除作用已有相关报道^[2,5], 但琼胶多糖易于形成凝胶, 不易形成均匀分散系, 尚没有琼胶多糖清除自由基的报道。实验通过酸降解制得水溶性好的琼胶低聚糖, 首次研究了其对不同自由基的清除能力, 探讨分子量、硫酸基含量、摩尔浓度

收稿日期: 2002-07-16

资助项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(991206008)

作者简介: 薛长湖(1964-) 江苏兴化人, 教授, 从事海洋生物多糖研究。Tel: 0532-2032468, E-mail: xuech@ouqd.edu.cn

和质量浓度对清除自由基能力的影响,并研究了该低聚糖对脂多糖+ D-氨基半乳糖(LPS+ D- GalN)所致肝损伤小鼠的肝脏和体内抗氧化酶系统的保护作用,为琼胶的进一步应用提供理论借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

琼胶低聚糖:不同聚合度的高分子琼胶低聚糖(HL)、中分子琼胶低聚糖(ML)、低分子琼胶低聚糖(LL)样品由本实验室制备^[6],原料相同,降解条件不同,平均聚合度分别为4.12、3.35、2.02(总糖/还原糖法)。不同含硫量的高硫琼胶低聚糖(HS)、低硫琼胶低聚糖(LS)、极低琼胶低聚糖(OS)由本实验室制备,原料不同,降解条件相同,含硫量分别为7.084%、1.537%、0.2%(BaCl₂-明胶法)。

1,1-二苯基-β-苦基肼(DPPH)购于Aldich Chem公司,鲁米诺(luminol)购于Merck公司;肌肽(carnosine)购于Wako公司;丙丁酚(protocol)购于Sigma公司;维生素C(Vc)分析纯,购于淄博化学试剂厂;干酵母为宜昌食用酵母基地高活性干酵母;焦性没食子酸购自贵州遵义市第二化工厂。其他试剂均为分析纯。

WDD-2型电脑发光测试仪,北京瑞利分析仪器公司产品;721分光光度计,上海第三实验分析仪器厂。

实验动物:昆明种小鼠,18~22g,雌雄各半,青岛市实验动物和动物实验中心提供。

阳性对照药:甘利欣(diammonii glycyrrhizinis, DG),批号:20010301,保肝护肝药,连云港正大天晴制药有限公司生产。

D-氨基半乳糖(D- GalN)由重庆医学院化学教研室提供。脂多糖(LPS)为Sigma公司产品。谷丙转氨酶(GPT)临床诊断试剂盒、丙二醛(MDA)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测试盒和超氧化物歧化酶(SOD)测试盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 各自由基清除体系

羟基自由基($\cdot\text{OH}$)清除体系:抗坏血酸- Cu^{2+} -酵母悬浮液-鲁米诺- H_2O_2 体系^[7];超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)清除体系:焦性没食子酸-鲁米诺体系^[7];DPPH自由基清除体系:糖溶解于Tris-HCl($0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH=7.4)中,丙丁酚溶于无水乙醇中备用。取不同体积的糖Tris-HCl溶液定容到2 mL,配成浓度系列,加入2 mL DPPH($250\mu\text{mol}$),用力震荡,室温避光反应20min,于517nm下测吸光值 $A^{[8]}$ 。

1.2.2 琼胶低聚糖对各种自由基的清除效果

取低聚糖ML作3种体系中清除自由基能力实验, $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 体系的清除效果与肌肽比较,DPPH体系的清除效果与Vc和丙丁酚比较。 IC_{50} 为清除50%自由基时低聚糖浓度。

1.2.3 聚合度对琼胶低聚糖清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力影响

取LL、ML、HL样做清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 实验,考察聚合度2.02、3.35、4.12对清除作用的影响。

1.2.4 含硫量对琼胶低聚糖清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力影响

取LS、HS、OS样做清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 实验,考察含硫量1.558%、7.084%、0.2%对清除作用的影响。

1.2.5 摩尔浓度对琼胶低聚糖清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力影响

以往实验主要采用质量浓度($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)研究糖类物质清除自由基的能力,但化学反应动力学研究采用摩尔浓度($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)更科学。以琼二糖(DP2)分子量324为标准,按平均聚合度计算HL、ML、LL的平均分子量为667、526、327。按此平均分子量配制相同摩尔浓度的糖溶液,比较三者 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 体系中清除自由基的能力。

1.2.6 体内清除自由基实验

采用 LPS+ D- GalN 所致急性肝损伤小鼠模型。昆明小鼠 24 只, 随机分为 4 组: 正常对照组、阴性对照组、阳性对照组及给药组。动物除喂给正常饲料外, 阳性对照组动物每日 DG 灌胃 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 给药组动物每日 ML 灌胃 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 阴性对照组动物以同体积的生理盐水灌胃。连续给药 10d, 末次给药 2h 后, 除正常对照组腹腔注射生理盐水外, 其他各组动物均腹腔注射 D- GalN ($600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 LPS ($1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 造成肝损伤。小鼠禁食不禁水, 24h 后股动脉取血, 分离血清, 测定血清的 GPT、SOD、GSH-Px 的活性及 MDA 的含量^[9]。

2 结果与讨论

2.1 琼胶低聚糖 ML 在 3 种体系中清除自由基的能力

图 1 显示了琼胶低聚糖 ML 对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除能力。低浓度低聚糖可以迅速清除 $\cdot\text{OH}$ 自由基, 糖浓度升高, 其对自由基的抑制率也逐渐上升, 但增幅趋缓, 最高抑制率维持在 70% 左右。与 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除剂肌肽比较, 低浓度 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下) 时 ML 对自由基的清除作用略优于肌肽; 而较高浓度 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上) 时, ML 的抑制作用略差于肌肽, 最高抑制率约 80%。总体看琼胶低聚糖 ML 清除 $\cdot\text{OH}$ 自由基的能力和肌肽相近, 两者的 IC_{50} 分别为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.11 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。图 2 显示了琼胶低聚糖 ML 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的清除能力。随着低聚糖浓度的增加, 抑制率不断上升, 增幅比较均匀, 约 $0.7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时达到 IC_{50} , 最大抑制率维持在 90% 以上。与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基清除剂肌肽对比发现, 在 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度以下, 肌肽的抑制率稍高于 ML, 其 IC_{50} 约 $0.56 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度以上时 ML 的抑制率反而稍高于肌肽。总的看来, 琼胶低聚糖 ML 清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的能力接近于肌肽。

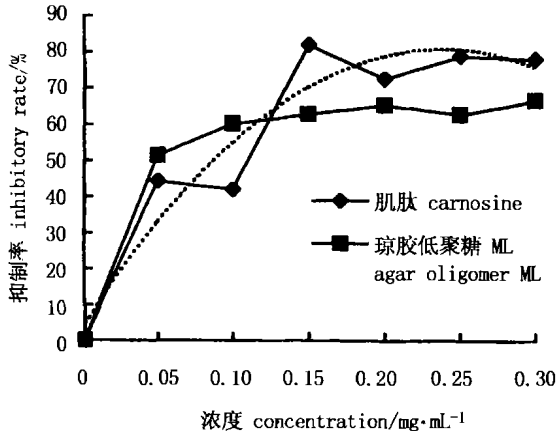


图 1 琼胶低聚糖 ML 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用

Fig. 1 The comparison between ML and carnosine on scavenging hydroxy radical

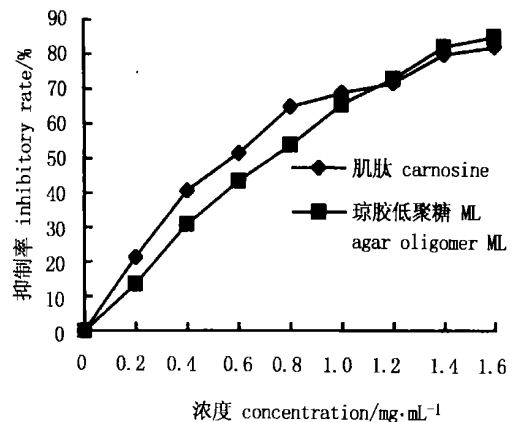


图 2 琼胶低聚糖 ML 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除作用

Fig. 2 The comparison between ML and carnosine on scavenging superoxide anion radical

DPPH 是一种比较稳定的自由基, 其 N 上有一个游离电子, 因此, 在 517 nm 处有最大的吸收峰, 其乙醇溶液呈紫色。加入自由基清除剂后, DPPH 捕捉一个电子与游离电子配对, 在 517 nm 处的吸收消失, 紫色褪去。因此, 通过测定加入自由基清除剂后 DPPH 在 517 nm 处吸收值的下降, 可以看出其对 DPPH 的清除作用。图 3 显示了不同浓度 Vc 和丙丁酚对 DPPH 的清除能力。通过计算 Vc 和丙丁酚对 $22.015 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 清除达 100% 时的浓度为 $25.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $13.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。图 4 显示琼胶低聚糖 ML 对 DPPH 清除作用, 在质量浓度高于 Vc 和丙丁酚 1 000 倍的情况下, 随浓度增加, 吸光值下降, 但幅度不大, 当吸光值降幅达到 Vc 和丙丁酚降幅一半时 (约 $A = 0.8$) 达到 IC_{50} , 此时 ML 浓度约 $6.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。证明在清除 DPPH 自由基体系中琼胶低聚糖的效果远不如 Vc 和丙丁酚。

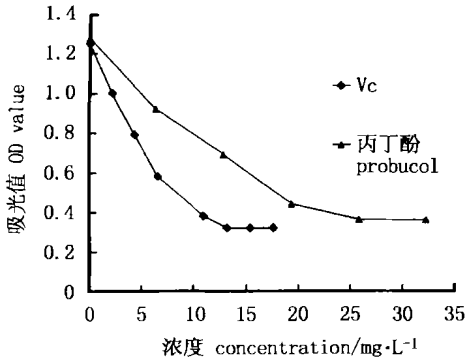


图3 Vc、丙丁酚对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 3 The scavenging abilities of Vc and protocol on DPPH

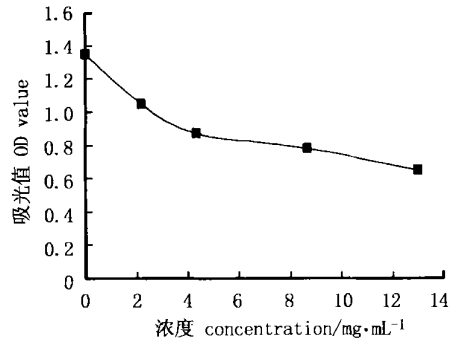


图4 琼胶低聚糖 ML 对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 4 The scavenging abilities of agar polymer ML on DPPH

实验表明琼胶低聚糖对水溶性的 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的清除能力较强,效果接近肌肽,而对醇溶性、脂溶性的 DPPH 自由基的清除能力较差。因此可以推断在生物体中发挥清除自由基作用时,低聚糖可以在体液中发挥清除作用,而不能溶于脂质中,阻止脂质过氧化。

2.2 聚合度对琼胶低聚糖清除自由基能力的影响

图5显示了不同聚合度琼胶低聚糖 LL、ML、HL 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基的清除作用。随着3种糖浓度增加,抑制率也逐渐增加,但增幅趋缓,最大抑制率约90%。在 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的低浓度以下3种糖对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 自由基抑制率的关系是 $\text{HL} > \text{ML} > \text{LL}$,而 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$

浓度以上,3种糖抑制率的关系是 $\text{LL} > \text{ML} > \text{HL}$,总的看来,3种糖对该自由基的抑制能力处于同一水平。HL的抑制率曲线在低浓度时抑制率增长很快,在 $0.6\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时达到 IC_{50} ,随后增长率趋缓,抑制率略低于LL、ML;ML的抑制率曲线一直保持较平均的增长率,各浓度下抑制率基本位于HL、LL之间,其 IC_{50} 约 $0.725\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;LL在 $0.6\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度以下,抑制率增长缓慢,抑制率低于ML、LL,在 $0.6\sim 1.2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间增长迅速,最终抑制率超过ML、LL,其 IC_{50} 约 $0.88\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3 含硫量对琼胶低聚糖清除自由基能力的影响

低聚糖 OS、LS、HS 的有机硫含量分别为 0.2%、1.537%、7.084%,对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除效果如图6,在 $1.8\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度以下3种低聚糖的清除效果差别不大,高于此浓度含硫量最高的HS的清除效果显著高于LS,而LS又显著高于OS,说明低聚糖含硫量越高清除自由基的效果越好。但3种低聚糖的清除效果均低于琼胶低聚糖 LL、ML、HL,其原因可能是制备过程中使用 NaCl 洗脱不同含硫量的琼胶,这些盐没能去除完全,使糖的实际浓度偏低。

2.4 摩尔浓度对琼胶低聚糖清除自由基能力的影响

在相同的摩尔浓度下低聚糖 LL、ML、HL 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除效果如图7,分子量高的HL在各浓度下均略高于ML样,而ML样显著高于LL样。因此在清除自由基过程中,分子量较高的低聚糖起着关键作

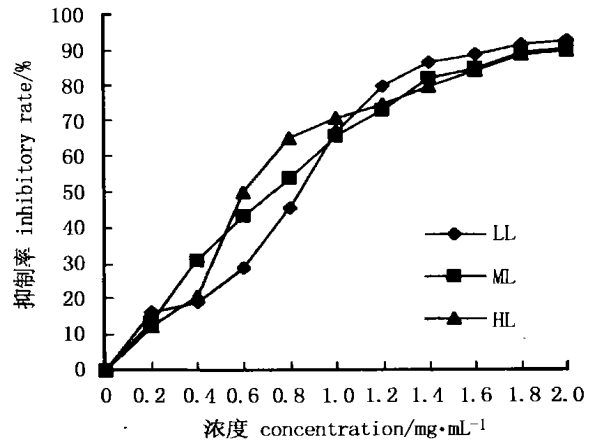
图5 不同聚合度琼胶低聚糖清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 效果

Fig. 5 The comparison between agar oligomers with different DP on scavenging superoxide anion radical

用。可能是体积大的低聚糖和自由基碰撞的概率大, 容易捕捉到自由基。

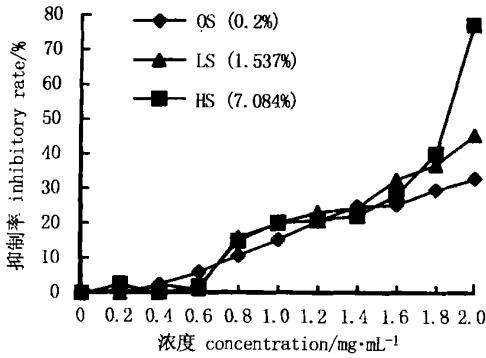


图6 不同含硫量的琼胶低聚糖清除 $O_2^{\cdot-}$ 效果

Fig. 6 The comparison between agar oligomers with different content of sulfate on scavenging superoxide anion radical

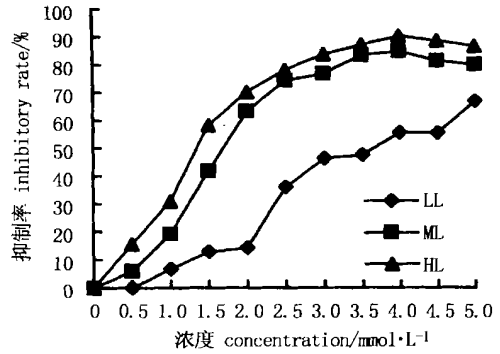


图7 不同摩尔浓度的琼胶低聚糖清除 $O_2^{\cdot-}$ 效果

Fig. 7 The comparison between agar oligomers with different concentration on scavenging superoxide anion radical

2.5 琼胶低聚糖体内清除自由基效果

LPS+ D- GalN 诱发的肝损伤模型类似于临床上的病毒性肝炎, D- GalN 可经很多途径对肝细胞起损伤作用, 其中诱生自由基^[10], 降低抗氧化系统中的 SOD 和 GSH- Px 的活性, 引起肝细胞脂质过氧化^[11], 从而导致肝细胞变性坏死, 是重要的致病途径。

2.5.1 LPS+ D- GalN 所致肝损伤小鼠建模评价

肝细胞受损破裂, GPT 酶被释放到血清中, 使血清中此酶活力上升; MDA 是脂质过氧化的最终产物, 是脂质被自由基损伤的标志产物; SOD、GSH- Px 酶是体内清除自由基酶系中的两种有代表性的酶, 酶活力下降是造成损伤的原因之一。如表 1 所示, 经 LPS+ D- GalN 损伤的阴性组小鼠血清 GPT、MDA 比正常组明显上升, 说明存在肝细胞破坏, 脂质过氧化等损伤, 而 SOD、GSH- Px 酶活力则明显下降, 说明小鼠机体中自身的自由基清除酶系受到抑制或损伤。各指标与正常组对比差异非常显著 ($P < 0.01$), 说明 LPS+ D- GalN 所致肝损伤小鼠建模成功。阳性组因采用 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量 DG 灌胃, 血清 GPT ($P < 0.01$)、MDA ($P < 0.05$) 含量比阴性组低, SOD ($P < 0.05$)、GSH- Px ($P < 0.05$) 酶活力比阴性组高, 差异显著, 说明该模型能体现药物对肝损伤的保护作用。

2.5.2 琼胶低聚糖 ML 对 LPS+ D- GalN 所致肝损伤小鼠的血清 GPT 的影响

表 1 结果表明, 在注射 LPS 和 D- GalN 前先按 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃 ML 10d, 可以防止小鼠的血清 GPT 的活性升高, 与阴性组对照差异显著 ($P < 0.05$), 说明琼胶低聚糖 ML 能够较好的保护肝细胞, 减少 LPS+ D- GalN 造成的肝细胞坏死, 但效果不如阳性药物 DG。

2.5.3 琼胶低聚糖 ML 对 LPS+ D- GalN 所致肝损伤小鼠的血清 MDA 的影响

MDA 是脂质过氧化的最终产物, 是肝损伤中衡量脂质过氧化的重要指标。表 1 结果表明, 给药组 MDA 含量虽然比阴性组小, 但差异并不显著 ($P > 0.05$), 说明 ML 保护脂质过氧化损伤的效果不明显。这一结果与体外清除自由基实验中 ML 不能很好清除脂溶性 DPPH 自由基的结果类似, 原因可能是 ML 在脂质中溶解性不好所致。

2.5.4 琼胶低聚糖 ML 对 LPS+ D- GalN 所致肝损伤小鼠的血清 SOD 和 GSH- Px 活性的影响

正常机体存在一套健全的抗氧化系统, 包括超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH- Px)等, 它们在体内具有清除有害过氧化物、减轻和阻断脂质过氧化连锁反应等作用。由表 1 可见, 提前 ML 灌胃可以维持 SOD 和 GSH- Px 的活力, 接近正常组水平, 显著高于阴性组 ($P < 0.05$), 接近阳性药物 DG 的疗效, 其中对 SOD 活力的维持甚至好于 DG。说明 ML 可以保护机体和肝细胞的抗氧化系统不受 LPS+ D- GalN 破坏, 维持机体内抗氧化酶系的活力, 有助于清除肝损伤中产生的自由基, 保护肝细

胞不受自由基进一步破坏。

表 1 琼胶低聚糖 ML 对 LPS+ D- GalN 损伤小鼠血清 GPT、MDA 浓度及 SOD、GSH- Px 酶活力影响

Tab. 1 The effects of agar oligomers ML on the serum GPT, MDA and SOD, GSH-Px activities of liver damaged mice induced by LPS+ D- GalN

动物分组 groups	GPT U·L ⁻¹	MDA nmol·mL ⁻¹	SOD UN·mL ⁻¹	GSH- Px nmol·mL ⁻¹
正常组 normal group	26.00±7.75	11.09±5.15	296.51±25.92	258.60±40.45
阴性组 negative group	1097.83±212.18 ^①	27.17±6.65 ^①	155.26±66.75 ^①	181.33±16.67 ^①
阳性组 positive group	446.00±348.55 ^③	17.30±5.93 ^②	233.40±40.60 ^②	219.80±32.12 ^②
给药组 medicine group	776.67±58.24 ^②	21.01±2.90	279.42±46.02 ^②	210.33±19.55 ^②

注: ①、③相对于正常组 $P < 0.01$, ②相对于阴性组 $P < 0.05$

Notes: ①、③ $P < 0.01$ compared with the normal group, ② $P < 0.05$ compared with the negative group

3 结论

琼胶低聚糖能较好的在水相中清除自由基,对 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除的 IC_{50} 分别为 $0.05\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.7\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,清除效果接近肌肽。大分子低聚糖和含硫酸基高的组分在清除自由基的作用中发挥主要作用。而对于醇溶性、脂溶性的 DPPH 自由基效果不理想。体内抗氧化实验表明,琼胶低聚糖 ML 对肝细胞有很好的保护作用,能够有效抑制 LPS+ D- GalN 引起的肝细胞损伤,同时维持体内抗氧化酶 SOD 和 GSH- Px 的活性。可以推测 ML 的保肝护肝功能与抗氧化活性有关,它可能是通过清除自由基,减轻抗氧化酶清除自由基的负担来保护机体,也可能直接提高抗氧化酶活性来消除过多的氧自由基。部分指标接近或超过阳性对照组,说明琼胶低聚糖 ML 有较好的保肝护肝作用,具有很好的应用价值。

参考文献:

- [1] Fang Z Y, Shen W Y. Studies of the relation between free radical injury and blood sugar, blood lipid and age[J]. Journal of Geriatrics, 1992, 12(1): 20- 22. [房征宇, 沈文梅. 自由基损伤与血糖、血脂及年龄关系的研究[J]. 老年学杂志, 1992, 12(1): 20- 22.]
- [2] Hu B L, Meng J, Hu Y F, et al. Scavenging free radical with thirty species of Chinese herb medicines[J]. J Qingdao Univ, 2000, 13(2), 38- 40 [胡博路, 孟洁, 胡迎芬, 等. 30 种中草药清除自由基的研究[J]. 青岛大学学报, 2000, 13(2): 38- 40.]
- [3] Li Z J, Xue C H, Chen L, et al. Scavenging effects of fucoidan fractions of low molecular weight extracted from *Laminaria japonica* on radicals of active oxygen and antioxidation *in vivo*[J]. J Fish China, 2001, 25(1): 64- 68. [李兆杰, 薛长湖, 陈磊, 等. 低分子海带岩藻聚糖硫酸酯的清除活性氧自由基和体内抗氧化的作用[J]. 水产学报, 2001, 25(1): 64- 68.]
- [4] Zuo S Y, Luo H J, Zhu Z Y. Effect of polysaccharide from *Spirulina platensis* on anti-oxidation in experimental diabetic mice[J]. Pharmaceutical Biotechnology, 2001, 8(1): 36- 38. [左绍远, 罗华君, 朱振宇. 螺旋藻多糖对糖尿病小鼠抗氧化能力的影响[J]. 药物生物技术, 2001, 8(1): 36- 38.]
- [5] Hu J F, Geng M Y, Yu G L. Study on the antioxidant effect of chitin derivative (916) *in vitro*[J]. Chinese J Mar Drug, 2001, 20(1): 25- 27. [胡金凤, 耿美玉, 于广利. 甲壳质衍生物 916 体外抗氧化作用的研究[J]. 中国海洋药物, 2001, 20(1): 25- 27.]
- [6] Xu Q, Xue C H, Zhao X, et al. Preparation of agar oligosaccharides by acide hydrolysis and determination of their antioxidative effect[J]. Chinese J Mar Drug, 2002, 21(1): 19- 22 [徐强, 薛长湖, 赵雪, 等. 酸解法制备琼胶低聚糖及其抗氧化性评价[J]. 中国海洋药物, 2002, 21(1): 19- 22.]
- [7] Zhang E X, Yu L J. Study of scavenging effects on reactive free radicals of water soluble polysaccharide from *Sargassum thunbergii*[J]. Chinese J Mar Drug, 1995, 14(1): 1- 4. [张尔贤, 俞丽君. 鼠尾藻多糖清除氧自由基作用的研究[J]. 中国海洋药物, 1995, 14(1): 1- 4.]
- [8] Moon J H, Terao J J. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein[J]. J Agric Food Chem, 1998, (46): 5062- 5065.
- [9] Keppler D, Lesch R, Reutter W. Experimental hepatitis induced by D- galactosamine[J]. Exp Mol pathol, 1968, (2): 279- 283.
- [10] Hu Z L, Zhang J P, Yu X B. Effect of matrine on lipopolysaccharides D- galactosamine-induced hepatitis and tumor necrosis factor release from macrophages *in vitro*[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 1996, 17(4): 351- 358. [胡振林, 张俊平, 余祥彬. 苦参碱对脂多糖 D- 氨基半乳糖诱导的肝炎及离体巨噬细胞释放肿瘤坏死因子的影响[J]. 中国药理学报, 1996, 17(4): 351- 358.]
- [11] Hu H L, Chen R D, Ma L H. Peroxidation mechanism and protective effect of zinc on D- galactosamine-induced liver injury in rats[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 1993, 7(2): 81- 86. [胡恒龙, 陈仁淳, 马莲虎, 等. D- 氨基半乳糖诱导肝损伤的过氧化机理和锌的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1993, 7(2): 81- 86.]