

薤白多糖体外抗氧化活性及其对小鼠急性肝损伤的保护作用研究

张占军^{1,2}, 王富花³, 曾晓雄²

(1. 扬州市职业大学生物与化工工程学院, 江苏扬州 225009) (2. 南京农业大学食品科技学院, 江苏南京 210095)
(3. 扬州工业职业技术学院, 江苏扬州 225127)

摘要: 本文研究了薤白多糖清除各种自由基及其对小鼠急性肝损伤的保护作用。采用浸提、分步醇沉法提取了三种薤白多糖, 利用红外光谱初步分析了其结构组成。结果表明: AMP40 在清除羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2\cdot^-$) 等抗氧化评价体系中比 AMP60 及 AMP80 具有更强的清除自由基活性, 在实验最大浓度时清除率可分别达到 40.96% 和 49.84%; 在对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用研究中, 发现通过预先灌胃 200、400 和 800 mg/kg BW 的薤白多糖 AMP40, 可以抑制肝损伤小鼠血清中谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 活性的升高, 同时能使小鼠肝脏中 SOD 活性、CAT 活性、GSH 活性以及 T-AOC 水平显著增加, 而 MDA 含量显著减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且这种变化对 AMP40 呈现一定的剂量依赖关系, 表明 AMP40 具有一定的肝保护作用。研究表明了薤白多糖的抗氧化活性与其分子量大小及糖醛酸含量密切相关。

关键词: 薤白; 多糖; 清除自由基; 抗氧化; 肝损伤

文章编号: 1673-9078(2014)1-1-6

In Vitro Antioxidant Activities and Hepatoprotective Effects of Polysaccharides from *Allium macrostemon* Bunge

ZHANG Zhan-jun^{1,2}, WANG Fu-hua³, ZENG Xiao-xiong²

(1. College of biological and chemical engineering, Yangzhou Vocational University, Yangzhou 225009, China)
(2. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)
(3. Yangzhou Polytechnique Institute, Yangzhou 225127, China)

Abstract: The *in vitro* antioxidant activities of polysaccharides from *Allium macrostemon* Bunge were evaluated by radical scavenging activity, and three kinds of polysaccharides were extracted from fractional alcohol precipitation. The preliminary structures and compositions were analyzed by infrared spectroscopy. During *in vitro* antioxidant assay, AMP40 exhibited the strongest scavenging activity than the others in scavenging hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and superoxide radical ($\text{O}_2\cdot^-$). The *in vivo* antioxidant activities of crude AMP were investigated that against CCl_4 -induced acute liver damage in Kunming mice. The results showed that pretreatment with AMP40 could markedly improve the activities of those antioxidant enzymes in CCl_4 -treated mice. The antioxidative system tended to be normalized by the protective action of AMP40, and scavenging activity of AMP40 was in a dose-dependent manner. It also showed that antioxidant properties directly related to the molecular weight and the uronic acid content of polysaccharide.

Key words: *Allium macrostemon* Bunge; polysaccharides; radical scavenging; antioxidant activities; liver injury

正常情况下, 机体在生命活动的氧化过程中, 均可产生活性氧自由基 (Reactive oxygen species, ROS), 它是有氧代谢的氧化还原反应所产生的中间产物, 主要包括超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2\cdot^-$)、羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、过氧化氢 (H_2O_2)、脂质过氧化自由基 $\text{ROO}\cdot$ 、一氧化氮 (NO) 等。现代医学研究表明, 人体的多种疾病如

作者简介: 张占军 (1977-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为食品生物技术。白内障的形成和视网膜的损伤、癌症、糖尿病、风湿性关节炎、心血管疾病、炎症等的发生, 是由于体内过多的氧自由基 (游离基) 将正常细胞中的 DNA、蛋白质、脂质及小分子物质氧化破坏造成的^[1]。目前, 人工合成的抗氧化剂已广泛应用于食品、药品中。但由于合成抗氧化剂具有潜在的致癌性及可能导致的肝损伤, 使其应用受到一定的限制。近年来, 从植物等天然资源中寻找抗氧化物质引起人们极大的兴趣, 已

收稿日期: 2013-06-22

基金项目: 江苏省高校“青蓝工程”资助 (苏教师 [2012] 39 号)

从中发现了大量的具有抗氧化活性和自由基清除能力的粗提物及纯化物质^[2]。

随着对多糖研究的不断深入,发现多糖具有广泛的生物活性,加之多糖本身低毒、来源广泛,有关多糖的研究已成为近年来的热点。研究发现多数多糖在不同实验体系中对物理、化学及生物来源的多种活性氧具有清除作用,表现出了明显的抗氧化活性^[3]。研究还发现多糖的抗氧化性强弱与提取方法、多糖的浓度、分子量大小、硫酸基含量及糖醛酸的含量、单糖组成以及干燥方法等因素有关。但是目前关于其抗氧化作用的研究还停留在表面阶段,有关多糖抗氧化活性的构效关系研究比较少,有待进一步深入。总之研究多糖的抗氧化活性,对于天然抗氧化剂开发,具有重要的现实意义。

研究已证实薤白中多糖含量高,其提取物对超氧阴离子自由基($O_2\cdot^-$)和羟基自由基($\cdot OH$)具有一定的清除能力^[4]。但有关薤白多糖更深入、更系统的抗氧化研究尚未见文献报道,本研究拟从薤白多糖对各种自由基的清除作用以及结合对小鼠急性肝损伤的保护作用来评价其抗氧化作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

雄性昆明种小鼠(SPF级、6-8周龄、体重 18 ± 2 g)购于中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心(北京),许可证号:SCXK-(军)2007-004。水飞蓟素(利加隆,德国马博士大药厂); CCl_4 (AR,批号20090218,广东光华化学厂有限公司);谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、考马斯亮蓝蛋白测定、谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒,均购于南京建成生物工程研究所。1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)、菲咯嗪、氯化硝基四氮唑蓝(NBT)、吩嗪硫酸甲酯(PMS)、还原型辅酶I(NADH),购自美国Sigma公司。

1.2 仪器与设备

AY-120型、BL-220H型电子天平,日本SHIMADZU公司;DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;HH-4型数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;722S型可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;HYQ-2121A型旋涡混匀器,苏州捷美电子有限公司;TDL-5型台式离心机,上海安亭科学仪器厂;UV-2450型紫外可见分光光度计,日本SHIMADZU公司;Alpha 1-2型冷冻干燥机,

英国LABCONCO公司;IR 200型傅立叶红外光谱仪,美国Nicolet公司。

1.3 实验方法

1.3.1 薤白多糖的分步醇沉

取薤白鳞茎189.0g,经烘箱 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干,粉碎后过筛(孔筛0.5mm),置圆底烧瓶中,同时加入3倍量石油醚电热套加热回流脱脂3h, $55\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干后用80%乙醇回流3h,以除去部分色素及低聚糖,挥干乙醇后粉碎,得经预处理的薤白粉末149.6g,加入12倍体积蒸馏水, $87\text{ }^\circ\text{C}$ 浸提100min,重复提取三次,合并提取液并浓缩,浓缩液加乙醇至终浓度为40%,5000r/min离心10min,冻干得粗多糖AMP40及上清液;将以上上清液浓缩至无醇后,加乙醇至终浓度为60%,离心冻干得粗多糖AMP60及上清液;将该上清液浓缩至无醇后,加乙醇至乙醇终浓度为80%,离心冻干得粗多糖AMP80及上清液,该上清液弃去;具体提取流程见图1。



图1 薤白多糖提取及分级沉淀流程图

Fig.1 The flow diagram for the extraction and fractionation of polysaccharides from *Allium macrostemon* Bunge

1.3.2 红外光谱分析

多糖样品的红外采用KBr压片法,在傅立叶红外光谱仪Nicolet IR 200上进行。称取2mg左右经 P_2O_5 干燥的多糖样品,与已干燥的适量KBr粉末在玛瑙研钵中充分研磨均匀,用压片机压成薄片,进行红外光谱测定,扫描范围为 $4000\text{ cm}^{-1}\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 。测定样品前用不加多糖样品的KBr薄片进行背景基线扫描。

1.3.3 薤白多糖体外抗氧化活性研究

1.3.3.1 薤白多糖清除1,1-二苯基-2-苦肼基自由基(DPPH·)能力的测定

DPPH·是一类较为稳定的自由基,是评价抗氧化物清除自由基活性的常用自由基。依次移取50

$\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、250 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 、1000 $\mu\text{g/mL}$ 、1500 $\mu\text{g/mL}$ 和 2000 $\mu\text{g/mL}$ 七个不同浓度的薤白粗多糖 (AMP40、AMP60 和 AMP80) 样品溶液 1.0 mL 于试管中, 分别加入 0.4 mmol/L DPPH·, 无水乙醇溶液 0.5 mL, 再加水 2.0 mL。混匀反应体系, 30 °C 暗处反应 30 min 后于 517 nm 处测定吸光值。另以水代替 AMP 溶液、无水乙醇代替 DPPH· 溶液, 作空白实验调零用。

清除效果依下面公式计算:

$$\text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \times 100\%$$

注: A_0 为对照实验 (水代替 AMP 溶液) 的吸光值; A_1 为样品实验的吸光值; A_2 为样品干扰实验 (无水乙醇代替 DPPH· 溶液) 的吸光值。

1.3.3.2 薤白多糖清除羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 能力的测定

取 pH 7.4、0.15 mol/L 的磷酸缓冲液 1.5 mL 和 4.0 mL 蒸馏水于试管中, 混匀作空白管; 在反应体系中分别加入 1 mL 邻二氮菲 (0.75 mmol/L), 1.5 mL PBS 缓冲液 (pH=7.4, 0.15 mol/L), 充分混匀后, 加入 1.0 mL 0.75 mmol/L 的 FeSO_4 溶液, 立即混匀, 再向反应体系中加入不同浓度 (0.5 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL、6 mg/mL) 的样品 (薤白粗多糖以及阳性对照 Vc) 溶液 1 mL, 混匀。阴性对照管再加入 1 mL 0.01% 的 H_2O_2 溶液和 1 mL 水, 正常管不加 H_2O_2 溶液, 以等体积蒸馏水补齐体积。在 37 °C 水浴中反应 30 min, 用分光光度计在 536 nm 下测定吸光值。按下式计算羟基自由基清除率:

$$\cdot\text{OH} \text{清除率}(\%) = [(A_2 - A_1) / (A_0 - A_1)] \times 100\%$$

注: A_0 为正常管吸光值: 1 mL 邻二氮菲+1.5 mL PBS+1 mL FeSO_4 +2 mL H_2O ; A_1 为阴性对照管吸光值: 1 mL 邻二氮菲+1.5 mL PBS+1 mL FeSO_4 +1 mL H_2O_2 ; A_2 为样品管吸光值: 1 mL 邻二氮菲+1.5 mL PBS+1 mL FeSO_4 +1 mL 多糖+1 mL H_2O_2 。

1.3.3.3 清除超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2\cdot^-$) 能力测定

取不同浓度的样品 (AMP40、AMP60、AMP80 及阳性对照 Vc) 溶液 1.0 mL 于试管中, 分别加入 1.0 mL NBT 溶液 (156 $\mu\text{mol/L}$)、1.0 mL NADH 溶液 (468 $\mu\text{mol/L}$) 和 1.0 mL PMS 溶液 (60 $\mu\text{mol/L}$)。混匀反应体系, 25 °C 水浴 5 min, 于分光光度计 560 nm 处测吸光值。以水代替 AMP 溶液、0.1 M pH=7.4 磷酸盐缓冲液代替 NBT 溶液, 作空白实验调零用。清除效果依下面公式计算:

$$\text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \times 100\%$$

注: A_0 为对照实验 (水代替 AMP 溶液) 的吸光值; A_1 为样品实验的吸光值; A_2 为样品干扰实验 (0.1 M pH=7.4 磷酸盐缓冲液代替 NBT 溶液) 的吸光值。

1.3.4 薤白多糖对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用研究

1.3.4.1 肝损伤动物模型设计及方法

昆明种雄性小鼠适应性饲养一周后随机分为 8 组 (每组 8 只)。第 I 组: 正常对照组 (饲喂正常饲料); 第 II 组: 肝损伤模型组 (正常饲料+ CCl_4); 第 III 组: 阳性药对照组 (正常饲料+200 mg/kg 水飞蓟素片溶液+ CCl_4); 第 IV 组: AMP40 低剂量组 (正常饲料+200 mg/kg AMP40 溶液+ CCl_4); 第 V 组: AMP40 中剂量组 (正常饲料+400 mg/kg AMP40 溶液+ CCl_4); 第 VI 组: AMP40 高剂量组 (正常饲料+600 mg/kg AMP40 溶液+ CCl_4); 第 VII 组: AMP60 中剂量组 (正常饲料+400 mg/kg AMP60 溶液+ CCl_4); 及第 VIII 组: AMP80 中剂量组 (正常饲料+400 mg/kg AMP80 溶液+ CCl_4)。第 III-VIII 组分别以不同浓度多糖溶液预防性灌胃 10 d, 第 III 组阳性对照组以水飞蓟素溶液 (以生理盐水溶液按 20 mg/mL 浓度配制) 灌胃, 第 I 组正常对照组和第 II 组肝损伤模型组分别给予等体积的生理盐水。实验期间小鼠饲养环境保持温度 20 ± 2 °C, 相对湿度 50~60%, 昼夜循环, 采用定量摄食 (250 g/kg), 自由饮水。

1.3.4.2 生化指标测定

以上各组动物于末次给药后 2 h, 除正常组外, 其余 7 组均按 10 mL/kg 腹腔注射 0.2% CCl_4 的橄榄油溶液, 造成小鼠急性肝损伤, 禁食不禁水, 24 h 后处死, 摘眼球取血, 血液样品离心制备血清; 小鼠解剖取肝脏加生理盐水制备成 10% 肝匀浆。按试剂盒中说明书所述赖氏法, 用分光光度法分别测定血清中谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 含量, 测定肝组织中丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、GSH (谷胱甘肽)、CAT (过氧化氢酶) 和 T-AOC (总抗氧化能力) 含量。

1.3.5 数据统计分析

所有数据都以平均值 (mean) \pm 标准差 (sd) 表示, 应用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理。采用单因素方差分析 (ANOVA) 和多重比较进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 认为具有显著差异。

2 结果与讨论

2.1 红外光谱分析

采用 KBr 压片法, 借助于 Nicolet IR 200 红外光谱仪对薤白分级沉淀多糖 AMP40、AMP60 及 AMP80 进行红外光谱分析, 其结果如图 2 所示。从图 2 可以看出, 在 $3500 \sim 3300 \text{ cm}^{-1}$ 范围内出现了宽而强的多糖羟基 O-H 伸缩振动峰, 其值小于 3400 cm^{-1} , 说明为

分子间氢键, 3000~2800 cm^{-1} 范围内出现多糖的 C-H 强伸缩振动峰, 这两个吸收峰均为多糖类物质的特征峰^[5]。其中 AMP40 在 1747.191 cm^{-1} 处, 出现的强吸收峰是羧基的 C=O 非对称伸缩振动, 说明 AMP40 含有羧基基团, 可能存在一定量的糖醛酸^[6], 这与薤白多糖的糖醛酸含量理化分析结果一致 (理化分析结果表明 AMP40 糖醛酸含量为 12.56%, 在 AMP40、AMP60 及 AMP80 三种薤白多糖中为最高)。

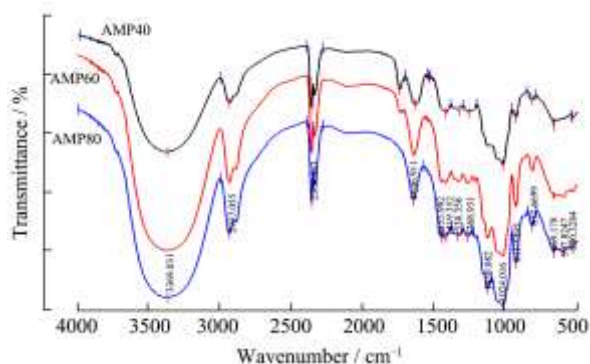


图2 薤白粗多糖 AMP40、AMP60 及 AMP80 的傅立叶变换红外光谱图

Fig.2 FT-IR spectra of crude polysaccharides of AMP40, AMP60 and AMP80

2.2 薤白多糖体外抗氧化活性

2.2.1 薤白多糖清除 1,1-二苯基-2-苦肼基自由基 (DPPH·) 活性

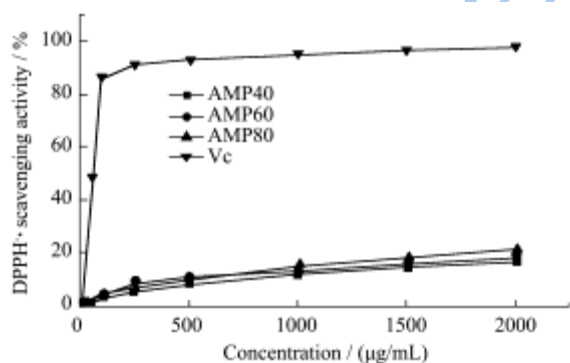


图3 薤白粗多糖 AMP 清除 DPPH· 活性

Fig.3 Scavenging activity of crude AMP on DPPH·

DPPH 自由基清除模型广泛用于评价各类天然产物的自由基清除能力, 它是一种稳定的的质子自由基, 在 517 nm 处有最大吸收, 其乙醇溶液呈紫色, 普遍认为抗氧化剂清除 DPPH 自由基是由于抗氧化剂的供氢能力, 抗氧化剂通过提供氢形成稳定的 DPPH 分子来清除 DPPH 自由基。当有抗氧化剂存在时, 其将提供电子与 DPPH· 孤对电子配对, 其在 517 nm 处的吸光度将显著减小, 其变化程度与自由基清除程度呈正比关系^[7-8]。从图3可以看出, 不同浓度的三种薤白粗

多糖 AMP40、AMP60 及 AMP80 对 DPPH 自由基都

具有一定的清除能力, 但清除能力较弱。随着多糖浓度的增加, 清除率逐渐升高, 呈现明显的量效关系。方差分析表明三种粗多糖之间在清除 DPPH 自由基方面无显著差异性。

2.2.2 薤白多糖清除羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 活性

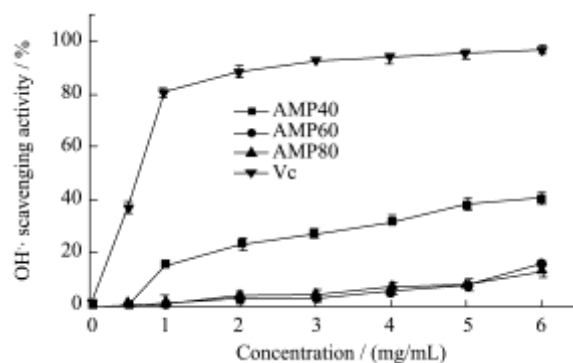


图4 薤白粗多糖 AMP 清除 $\cdot\text{OH}$ 活性

Fig.4 Scavenging activity of crude AMP on $\text{OH}\cdot$

羟基自由基是活性氧中最活泼的自由基之一, 也是毒性最大的自由基, 它比高锰酸钾和重铬酸钾的氧化性还强, 它的反应性极强, 寿命极短, 对机体的破坏作用最大, 是造成生物有机体过氧化损伤的主要因素, 它可以引发组织细胞病变, 从而导致各种疾病的发生和加速机体的衰老^[9]。研究证实有两种途径的抗氧化途径: 抑制羟基自由基的产生和清除羟基自由基^[10]。前者机制与过渡金属离子有关, 当缺少过渡金属离子时, 羟基自由基是相当稳定的, 但在超氧化反应中羟基自由基易被带有 Fe 或 Cu 等金属离子的过氧化氢激活, 在 Fenton 反应中多糖分子能整合金属离子从而具有清除羟基自由基的能力^[11]。这也在金属离子螯合实验中得到了验证, 薤白多糖的金属离子螯合能力强弱与其对羟基自由基的清除能力具有一定的相似性。图4表明 AMP40 对羟基自由基的清除能力较强, 明显强于 AMP60 和 AMP80, 且呈一定的量效关系。AMP60 和 AMP80 对羟基自由基的清除能力较弱, 且两者无明显差异 ($P>0.05$)。

2.2.3 薤白多糖清除超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2\cdot^-$) 活性

尽管超氧化物是一种相对较弱的氧化剂, 但它可以降解形成更强的活性氧自由基, 诸如羟基自由基或者纯态氧, 其能启动脂质过氧化反应。此外, 研究认为超氧化物还能间接启动脂质过氧化导致 H_2O_2 形成, 其作为羟基自由基的前体。因此评价抗氧化剂对 $\text{O}_2\cdot^-$ 的清除潜力是非常重要的^[12]。从图5可以看出, 不同浓度的粗多糖对 $\text{O}_2\cdot^-$ 都具有一定的清除作用, 且

呈现明显的量效关系。粗多糖清除活性的大小次序依

次为: AMP40>AMP60>AMP80 (P<0.05)。

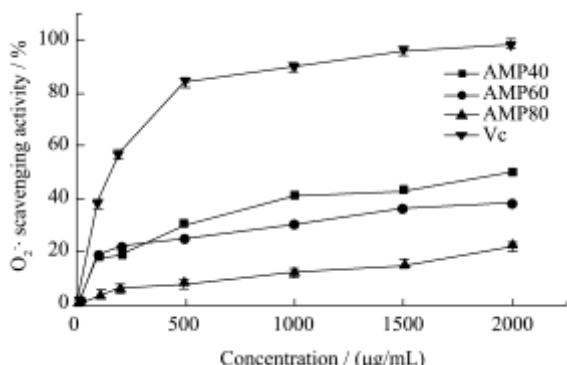


图5 薤白粗多糖 AMP 清除 O₂·⁻ 活性

Fig.5 Scavenging activity of crude AMP on O₂·⁻

2.3 薤白多糖对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用研究

肝脏是人体重要的生命器官,尤其在机体中毒情况下扮演着非常重要的作用。四氯化碳、亚硝酸胺类、多环芳烃等对肝有毒性的物质容易转变成活性氧自由基,从而表现出对实验动物的肝损伤作用^[13]。表1列出了薤白多糖 AMP 对小鼠 CCl₄ 肝损伤血清中谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 的影响。从中可以看出,与正常对照组比较,肝损伤模型组小鼠其血清中 ALT 及 AST 活性均显著升高 (P<0.01),表明成功制备肝损伤模型, Zimmerman 等人认为 CCl₄ 诱导了血清中 AST 和 ALT 水平的升高起因于肝细胞中细胞膜和线粒体损伤^[14]。与肝损伤模型组相比,阳性药物组,AMP40 高剂量组能显著抑制小鼠血清中 ALT 活性的升高 (P<0.01);而阳性药物组,AMP40 高、中、低剂量组能显著抑制小鼠血清中 AST 活性的升高 (P<0.01),且 AMP40 组呈一定的剂量依赖效应。而 AMP60 组和 AMP80 组的 ALT 及 AST 活性与模型组相比均无显著差异 (P>0.05),说明其对 CCl₄ 诱导的

小鼠急性肝损伤没有保护作用。

薤白粗多糖对小鼠肝脏中 MDA、SOD、GSH、CAT 和 T-AOC 的影响列于表 2,从表 2 可以看出,CCl₄ 处理小鼠可显著的增加肝脏中 MDA 含量和显著的减少肝脏中 SOD 活性、GSH 活性、CAT 活性和 T-AOC 值 (P<0.01)。与模型组相比,阳性药对照组和薤白多糖 AMP40 (低、中、高剂量) 组肝脏中 SOD 活性、CAT 活性、GSH 活性以及 T-AOC 水平显著增加 (P<0.05 或 P<0.01),而 MDA 含量显著减少 (P<0.05 或 P<0.01),且这种变化对 AMP40 呈现一定的剂量依赖关系。相比模型对照组而言,AMP60 组在增高肝脏中 SOD 活性、GSH 活性及 T-AOC 水平方面并无明显差异 (P>0.05),AMP80 组在增高肝脏中 GSH 活性及 T-AOC 水平方面与模型对照组并无明显差异 (P>0.05),说明薤白多糖 AMP60 及 AMP80 对 CCl₄ 造成的急性肝损伤的保护作用不如 AMP40 强。

表 1 薤白多糖 AMP 对小鼠 CCl₄ 肝损伤血清中 ALT 和 AST 转氨酶的影响

Table 1 Effects of AMP on the activities of ALT and AST in serum of CCl₄-induced liver injury mice

组别	n	剂量/(mg/kg)	ALT/(IU/L)	AST/(IU/L)
I	8	-	39.07±3.66	56.21±2.91
II	7	-	96.62±5.53 ^a	120.02±12.36 ^a
III	8	200	65.44±6.92 ^{b,c}	71.67±2.90 ^c
IV	8	200	87.87±8.57 ^a	90.90±4.05 ^{a,c}
V	8	400	80.36±3.00 ^a	85.31±4.08 ^{a,c}
VI	7	800	72.05±6.52 ^{a,c}	83.71±2.97 ^{a,c}
VII	8	400	95.56±8.41 ^a	122.19±6.16 ^a
VIII	8	400	86.46±7.34 ^a	129.55±8.78 ^a

注: I, 正常对照组; II, CCl₄ 急性肝损伤模型组; III, 阳性药对照组; IV, V, VI, 分别为 200, 400 和 800 mg/kg BW 的 AMP40 组; VII, VIII, 分别为 400 mg/kg BW 的 AMP60 和 AMP80 组。^aP<0.01, ^bP<0.05 为与正常对照组相比的显著性差异; ^cP<0.01, ^dP<0.05 为与模型组相比的显著性差异。

表 2 薤白多糖 AMP 对小鼠 CCl₄ 肝损伤肝脏中 MDA、SOD、GSH、CAT 和 T-AOC 的影响

Table 2 Effects of AMP on the activities of SOD, CAT and levels of GSH, MDA and TAC in livers of CCl₄-induced liver injury mice

组别	MDA/(nmol/mg port)	SOD/(U/mg prot)	GSH/(mg/g prot)	CAT/(U/mg prot)	T-AOC/(U/mg prot)
I	1.68±0.32	203.28±15.35	3.01±0.14	251.92±16.08	2.88±0.45
II	6.85±0.71 ^a	122.26±11.13 ^a	1.42±0.17 ^a	163.40±7.56 ^a	1.42±0.27 ^a
III	2.41±0.39 ^c	186.35±13.83 ^c	3.04±0.25 ^c	228.84±10.44 ^c	2.92±0.10 ^c
IV	4.92±0.29 ^{a,c}	147.92±11.02 ^a	1.57±0.11 ^a	182.00±5.70 ^a	2.24±0.06 ^d
V	4.25±0.47 ^{a,c}	148.97±18.74 ^a	1.89±0.14 ^a	193.00±12.72 ^a	2.66±0.16 ^c
VI	3.22±0.33 ^{b,c}	155.78±12.80 ^b	2.59±0.20 ^c	212.88±11.28 ^{b,c}	2.76±0.36 ^c
VII	5.54±0.34 ^{a,d}	128.10±14.26 ^a	1.46±0.15 ^a	191.68±10.08 ^a	1.50±0.08 ^a

VIII	6.01±0.36 ^a	147.59±8.48 ^a	2.34±0.39 ^{b,c}	179.92±19.20 ^a	1.54±0.22 ^a
------	------------------------	--------------------------	--------------------------	---------------------------	------------------------

注: I, 正常对照组; II, CCl₄ 急性肝损伤模型组; III, 阳性药对照组; IV, V, VI, 分别为 200, 400 和 800 mg/kg BW 的 AMP40 组; VII, VIII, 分别为 400 mg/kg BW 的 AMP60 和 AMP80 组。aP<0.01, bP<0.05 为与正常对照组相比的显著性差异; cP<0.01, dP<0.05 为与模型组相比的显著性差异。

3 结论

研究表明, 多糖及其复合物的生物活性可能受到其化学组成、分子量、结构、构象甚至提取分离的方法等诸多因素的影响^[15]。本实验研究结果表明, AMP40 在大多数抗氧化评价体系中比 AMP60 及 AMP80 具有更强的抗氧化活性, 而通过预先灌胃不同剂量的薤白多糖 AMP40, 可以抑制小鼠化学性急性肝损伤的发生使肝中毒的各项生化指标趋于正常值, 表明 AMP40 还具有一定的肝保护作用。多糖的抗氧化性与多糖的组成、糖醛酸含量、分子量大小以及构象密切相关, 与 AMP60 及 AMP80 相比, AMP40 在所含多糖分子量大小及糖醛酸含量方面均存在明显差异, 这也进一步验证了多糖的抗氧化活性与上述因素密切相关。

参考文献

- [1] He L, Ji P, Gong X, et al. Physico-chemical characterization, antioxidant and anticancer activities in vitro of a novel polysaccharide from *Melia toosendan* Sieb. Et Zucc fruit [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 49(3): 422-427
- [2] Tian L, Zhao Y, Guo C, et al. A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata* [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(2): 537-544
- [3] 朱振元, 原静, 李盛峰, 等. 古尼虫草多糖硫酸酯化修饰及其抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2011, 27(1): 1-5
ZHU Zhen-yuan, YUAN Jing, LI Sheng-feng, et al. Preparation of Sulfured Polysaccharides from *Cordyceps gunnii* and its Anti-oxidation Activity [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(1): 1-5
- [4] 夏新奎, 张建新. 薤白多糖抗氧化活性研究[J]. 信阳农业高等专科学校学报, 2007, 4: 138-139
XIA Xin-kui, ZHANG Jian-xin. Study on the antioxidative activities of polysaccharides from *Allium macrostemon* Bge. [J]. Journal of Xinyang Agricultural College, 2007, 4: 138-139
- [5] V P Kodali, S Das, R Sen. An exopolysaccharide from a probiotic: Biosynthesis dynamics, composition and emulsifying activity [J]. Food Research International, 2009, 42(5-6): 695-699
- [6] Z M Wang, X A Peng, K L D Lee, et al. Structural characterisation and immunomodulatory property of an acidic polysaccharide from mycelial culture of *Cordyceps sinensis* fungus Cs-HK1 [J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 637-643
- [7] A Luo, X He, S Zhou, et al. In vitro antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide derived from *Dendrobium nobile* Lindl. Extracts [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2009, 45(4): 359-363
- [8] H X Chen, M Zhang, Z S Qu, et al. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide conjugates from green tea (*Camellia Sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2008, 106: 559-563
- [9] L Hong, Z Jing. Study on the scavenging effect of different pumpkin polysaccharide on hydroxide free radicals in vitro [J]. Wuhan Zhiwuxue Yanjiu, 2007, 25(4): 356-359
- [10] B Halliwell, J M C Gutteridge, O I Aruoma. The deoxyribose method-A simple test-tube assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals [J]. Analytical Biochemistry, 1987, 165(1): 215-219
- [11] J Macdonald, H F Galley, N R Webster. Oxidative stress and gene expression in sepsis [J]. British Journal of Anaesthesia, 2003, 90(2): 221-232
- [12] R E Xing, S Liu, Z Y Guo, et al. The antioxidant activity of glucosamine hydrochloride in vitro [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006, 14(6): 1706-1709
- [13] R Gonzalez, I Corcho, D Ramirez, et al. Hepatoprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver-injury in rats [J]. Phytotherapy Research, 1995, 9(2): 114-117
- [14] H J Zimmerman, Y Kodera, M West. Rate of increase in plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatotoxicity [J]. The Journal of laboratory and clinical medicine, 1965, 66: 315-323
- [15] H Chen, M Zhang, Z Qu, et al. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide conjugates from green tea (*Camellia Sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 559-563