

牛蒡提取物对四氯化碳诱导肝损伤小鼠的保护作用

贺菊萍^{1,2}, 潘迎捷², 赵勇²

(1. 徐州工程学院食品学院, 江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室, 江苏徐州 221111)

(2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 研究牛蒡提取物对 CCl₄ 诱导肝损伤小鼠的保护作用及可能作用机制。以乙醇和水分别提取牛蒡皮和去皮牛蒡根, 得牛蒡皮乙醇 (LP)、牛蒡皮水 (PW)、去皮牛蒡根乙醇 (MA) 和去皮牛蒡根水 (MW) 提取物。生化法测定小鼠血清中 ALT、AST、ALP、LDH 活性、TB 含量和肝脏中 MDA 含量、SOD、GSH 活性, 蛋白印迹法测定肝组织中 XOD、SOD1、SOD2 表达量, 观察小鼠肝组织病变程度。LP 组小鼠血清中 ALT、AST、ALP、LDH 活力, TB 含量显著升高, 最高达 97% 以上; 肝脏中 MDA 含量显著下降, GSH 和 SOD 活力显著升高, 最高达 45%; 肝脏中 SOD2 表达量升高、XOD 表达量下降; 肝组织病变程度好于 CCl₄ 组。与 CCl₄ 组相比较, PW、MA 和 MW 组小鼠血清中 ALT 和 AST 活力显著下降, 但其他生化指标及肝组织病变程度与 CCl₄ 组比较无统计学差异。LP 对 CCl₄ 诱导肝损伤小鼠的保护机制可能为通过对体内氧自由基的清除, 维持肝细胞的稳定性。

关键词: 牛蒡; 四氯化碳; 肝损伤; 保护作用

文章编号: 1673-9078(2014)11-6-11

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.11.002

Hepatoprotective Effect of Burdock Extracts against Carbon Tetrachloride-induced Liver Damage in Mice

HE Ju-ping^{1,2}, PAN Ying-jie², ZHAO Yong²

(1. Food Department of Xuzhou Institute of Technology, Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou 221111, China) (2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The hepatoprotective effects of four burdock extracts on CCl₄-induced liver damage in mice, as well as the possible underlying mechanism, were studied. Ethanol and water were used to extract burdock peel and peeled burdock root to yield an ethanolic extract of burdock peel (LP), a water extract of burdock peel (PW), an ethanolic extract of peeled burdock root (MA), and a water extract of peeled burdock root (MW). Biochemical methods were used to measure aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), and lactic dehydrogenase (LDH) activities, total bilirubin (TB) level in the serum, as well as malondialdehyde (MDA) level, and superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH) activities in the liver in mice. The expression levels of SOD1, SOD2, and xanthine oxidase (XOD) in liver tissues were determined by western blot analysis, and the severity of hepatic lesions in mice was observed. In the LP group, the activities of ALT, AST, ALP, LDH, and the TB level in mouse serum were significantly increased (up to >97%). The MDA level in the liver decreased significantly, whereas the GSH and SOD activities increased significantly (up to 45%). In the liver, SOD2 expression increased, but XOD expression decreased. Hepatic lesions were less severe in the LP group than in the CCl₄ group. Serum ALT and AST activities were significantly lower in the PW, MA, and MW groups than in the CCl₄ group, but no significant differences were observed in other biochemical indicators or in the severity of hepatic lesions. The hepatoprotective effect of LP against CCl₄-induced liver damage in mice may be achieved by *in vivo* scavenging of free radicals to maintain the stability of hepatocytes.

Key words: *Arctium lappa* L.; carbon tetrachloride; liver injury; protective effects

牛蒡 [*Arctium lappa* L.], 是菊科牛蒡属直根系二年生大型草本植物。牛蒡原产于我国, 以野生为主, 公

收稿日期: 2014-04-23

基金项目: 江苏省教育厅面上项目 (13KJ550004); 江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室开放项目 (SPKF201304)

作者简介: 贺菊萍 (1979-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品生物技术

元 940 年前后传入日本, 被培育出多个优良品种, 成为日本人喜食的蔬菜。牛蒡是我国传统中药, 在《名医别录》、《药性论》、《本草拾遗》等著作中均有关于牛蒡药理作用的记载。牛蒡根中富含菊糖、纤维素、蛋白质、氨基酸以及钙、磷、铁等人体所需的多种营养物质和矿物质^[1-2], 且具有多种生物、生理活性,

它能清除体内垃圾,改善体循环,尤其对糖尿病、性机能减退、肥胖症、风湿、类风湿、解肝毒、便秘、内外痔等病症有明显效果^[3-6]。

肝脏疾病已成为世界上危害性最为广泛的疾病之一,尽管现代医学的迅猛发展,然而肝病的预防和治疗仍然存在局限。四氯化碳(CCl₄)诱导啮齿类动物肝损伤模型被广泛用于评价保肝药物的评价,其机理主要是由于四氯化碳通过肝微粒体细胞色素P₄₅₀代谢激活生成自由基,进而引发的链式脂质过氧化反应,代谢产物与生物大分子的不可逆共价结合导致肝细胞的损伤。

草本植物被广泛用于肝病的治疗,并且具有良好的效果。国内外已有关于牛蒡护肝功效的相关报道,牛蒡寡糖可以改善由酒精引起的小鼠肝损伤,牛蒡子提取物对高脂血症性脂肪肝大鼠具有保护作用,牛蒡提取物可以显著增加肝损伤小鼠细胞色素P-450和NADPH-细胞色素还原酶,减低甘油三酯水平和脂质过氧化,修复谷胱甘肽含量,改善病理组织状况。我们前期研究了牛蒡皮乙醇提取物对Con A致免疫性肝损伤小鼠的保护作用。牛蒡皮提取物牛蒡提取物对Con A诱导肝损伤小鼠具有保护作用,其作用机制可能与抑制T淋巴细胞的活化和相关炎症因子的释放相关^[7]。

同种植物不同组织部位以及同种原料采用不同的提取方式所得到的提取物在组成和含量上存在差异,所以原材料不同、处理方式不同所得到的植物提取物的生理活性也不尽相同。为进一步对牛蒡进行综合开发,本实验比较了不同提取方式所得牛蒡提取物的抗氧化活性和其对四氯化碳诱导肝损伤小鼠的保护作用进行了研究,对其可能机制进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

牛蒡,购于徐州市丰县。

水飞蓟素, Sigma 中国;谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、总胆红素(TB)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、还原性谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;β-actin 鼠抗人单克隆抗体、山羊抗鼠二抗、山羊抗兔二抗,北京中杉金桥生物工程公司;SOD1、SOD2、XOD 兔抗人单克隆抗体, abcom 公司;其他试剂,国产分析纯。

1.2 实验动物

昆明种小鼠,健康雄性,清洁级,由徐州医学院

实验动物中心提供,生产许可证 SCXK(苏)2003-003,使用证 SYXK(苏)2002-0038。按照国家啮齿类实验动物喂养条件,在 12 h 节律下喂养,室温和湿度分别维持在 20 °C 和 50%,自由进食和饮水。

1.3 主要仪器设备

YXQ-SG41.280 型电热手提蒸汽消毒器,上海医用核子仪器厂;高速冷冻离心机、7221V 可见光分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;电动匀浆器, Cole-Parmer 公司;垂直板凝胶电泳系统、凝胶电转移系统, Bio-Rad 公司;128ce 酶标仪,澳大利亚 Clinibio 公司;石蜡切片机 MICROMHM315。

1.4 试验方法

1.4.1 牛蒡提取物制备

新鲜牛蒡皮于 45 °C 干燥后粉碎,分别以 80% 乙醇(pH 3.0)和水为提取溶剂,以料液比 1:10 于 60 °C 水浴中浸提 4 h,过滤后收集滤液,滤渣后粉碎,分别以 80% 乙醇(pH 3.0)和水为提取溶剂以料液比 1:10 于 60 °C 水浴中浸提 4 h,过滤后收集滤液,滤渣在同样条件下再次浸提之后,合并两次滤液,真空浓缩、冷冻干燥,两种提取物分别命名为 MA 和 MW,于 4 °C 冰箱保存备用。

1.4.2 四氯化碳(CCl₄)诱导肝损伤小鼠分组及处理方式

小鼠随机分为 7 组,其中空白组(control)、模型组(CCl₄)、阳性对照组(silymarine)组、受试药品组(LP、PW、MA 和 MW)各 12 只。受试药品组每日分别灌胃小鼠 LP、PW、MA 和 MW 各 1000 mg/kg·bw,标准品组每天灌胃水飞蓟素 100 mg/kg·bw,连续灌胃 7 d。空白组与模型组给予等体积生理盐水。模型组、阳性组和各受试药品组均于末次给药后 1 h 按 5 mL/kg·bw 以 0.1% CCl₄ 矿物油灌胃,空白组灌胃等体积的矿物油。末次灌胃 24 h 后,从小鼠眼眶取血,断颈脱臼处死,剖腹取出肝脏。小鼠处死前 16 h 禁食不禁水。

1.4.3 小鼠各脏器指数的计算

$$\text{脏器指数(mg/10g)} = \frac{\text{小鼠脏器重量(g)} \times 1000}{\text{小鼠体重(g)} \times 10}$$

1.4.4 小鼠血清中各项生化指标的测定

小鼠血液取出后立即于 37 °C 水浴中温浴 30 min,以 3000 r/min 离心 20 min 后,取血清。各项生化指标的测定按照试剂盒说明进行。

1.4.5 小鼠肝脏中各项生化指标的测定

小鼠肝脏准确称重,制备 10% 肝脏生理盐水匀浆

悬液,离心后取上清液。各项生化指标的测定按照试剂盒说明进行。

1.4.6 肝组织病理学检测

肝组织取出后立即用 10% 福尔马林溶液固定,取最大肝叶进行常规石蜡包埋切片,厚度 5 μm , H-E 染色,于光镜下观察肝组织变化,显微图像处理仪观察记录实验结果。

1.4.7 Western Blot 分析

取肝组织加入 PBS (含蛋白酶抑制剂) 缓冲液,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜后匀浆,10000 r/min 离心 15 min,定量上清蛋白,取 50 μg 蛋白变性,聚丙烯酰胺凝胶电泳,后转移至硝酸纤维膜,于 6% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,洗涤后膜分别和 β -actin 抗体 (1:1000)、SOD1 抗体 (1:500)、SOD2 (1:2000) 和 XOD (1:500) 作用,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,洗涤后分别相应加入辣根过氧化酶结合的抗鼠 IgG (1:5000)、抗兔 IgG (1:5000)、抗兔 IgG (1:10000) 和抗兔 IgG (1:5000),化学发光试剂检测,X 光片显影,采用 Image 5.5 图像分析系统对 Western

印迹结果进行分析,计算各组的 OD 值,以目的蛋白与 β -actin 灰度的比值表示目的蛋白的相对表达量。

1.4.8 统计方法

采用 SPSS18.0 软件包对实验结果进行统计分析,所有数据采用均数 \pm 标准差表示,各组数据间比较采用方差分析检验。

2 结果与分析

2.1 小鼠血清中各项生化指标的变化

CCl₄ 组小鼠血清中 ALT、AST、ALP 和 LDH 活力及 TB 含量显著高于 ($p < 0.01 \sim 0.05$) 空白组,说明小鼠造模成功。LP 组小鼠血清中 ALT、AST、ALP 和 LDH 活力及 TB 含量显著低于 ($p < 0.01 \sim 0.05$) CCl₄ 组。MW、PW 和 MA 组小鼠血清中 ALT 和 AST 活性显著低于 ($p < 0.05$) CCl₄ 组,但是 ALP 和 LDH 活力及 TB 含量与空白组相比较无显著性差异(表 1)。

表 1 牛蒡提取物对小鼠血清中 ALT、AST、ALP、LDH 活力及 TB 含量的影响

Table 1 Effect of burdock peel extracts on ALT, AST, ALP, and LDH activities and TB level in mouse serum

	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	ALP (IU/L)	TB ($\mu\text{mol/L}$)	LDH (IU/L)
Control	28.38 \pm 13.13	120.00 \pm 16.25	149.00 \pm 20.20	0.53 \pm 0.30	1505.50 \pm 252.23
CCl ₄	839.13 \pm 149.22 ^{###}	564.63 \pm 66.14 ^{###}	269.00 \pm 66.83 [#]	0.94 \pm 0.09 ^{###}	2001.50 \pm 179.50 ^{###}
CCl ₄ +Silymarin	219.88 \pm 67.22 ^{**}	363.88 \pm 53.72 ^{**}	193.17 \pm 16.65 [*]	0.61 \pm 0.16 ^{**}	1422.00 \pm 113.07 ^{**}
CCl ₄ +MW	37.38 \pm 10.18 ^{**}	144.00 \pm 15.63 ^{**}	263.17 \pm 8.45	0.79 \pm 0.19	1808.33 \pm 47.43
CCl ₄ +PW	40.63 \pm 10.03 ^{**}	127.75 \pm 9.16 ^{**}	287.67 \pm 11.62	0.83 \pm 0.14	1908.33 \pm 64.44
CCl ₄ +MA	62.50 \pm 10.78 ^{**}	167.50 \pm 14.27 ^{**}	290.00 \pm 15.13	0.76 \pm 0.22	1808.33 \pm 44.45
CCl ₄ +LP	23.66 \pm 7.98 ^{**}	120.44 \pm 9.736 ^{**}	184.33 \pm 12.96 [*]	0.49 \pm 0.08 ^{**}	1508.33 \pm 42.46 ^{**}

注: # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$, 与空白组相比较; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 与 CCl₄ 组相比较, n=12。

肝脏内转氨酶含量约为血液中含量的 100 倍,如肝组织释放的酶全部保持活性,只要 1% 的肝细胞发生坏死,便足以使血清中的酶活性增加 1 倍。ALT 和 AST 活性是肝细胞损伤的敏感指标,可以根据血清中酶活力水平来判断肝细胞的损伤程度。ALP 是 ALT 和 AST 的原型,可以反映肝内胆道胆汁排泄病理学改变^[135]。当肝脏受到损伤或者障碍时,ALP 经淋巴道和肝窦进入血液,同时由于肝内胆道胆汁排泄障碍,反流入血而引起血清碱性磷酸酶明显升高。LDH 是无氧酵解和糖异生的重要酶系之一,任何原因引起的肝细胞损伤均可因乳酸脱氢酶逸出,可以根据乳酸脱氢酶浓度来反映肝损伤情况,乳酸脱氢酶浓度增加将导致细胞周期减慢,细胞增殖活性降低^[137]。本实验中 LP 组小鼠血清中 ALT、AST、ALP 和 LDH 活力显著低于 CCl₄ 组,说明由 CCl₄ 引起的肝细胞损伤发生一

定程度逆转,提示 LP 具有促进 CCl₄ 诱导肝损伤小鼠正常肝细胞活性增殖的作用。

肝脏对胆红素有摄取和分泌作用,肝脏发生疾病时,肝细胞通透性增强、细胞破裂或胆管梗阻都可导致胆红素在血清中的浓度升高。因此,如果血清中胆红素水平升高,则提示肝脏功能已经受到一定程度的损害。然而,胆红素容易形成稳定的胆红素自由基,体外实验表明,当胆红素自由基达到一定数量时,即使尚不足以进入体循环造成广泛损害,也足以对肝细胞造成明显的脂质过氧化^[8],肝细胞的脂质过氧化会进一步加重肝细胞的损伤。本实验中 LP 组小鼠血清中 TB 含量显著低于 CCl₄ 组,亦说明 LP 对小鼠正常肝细胞增殖具有促进作用,同时由于 TB 含量的下降,胆红素自由基含量随之下降,肝细胞膜脂质过氧化程度减轻。

2.2 小鼠肝脏中各项生化指标的变化

与空白组相比较, CCl₄ 组小鼠肝脏中 MDA 含量显著高于 ($p < 0.05$) CCl₄ 组, SOD、GSH 活力显著低于 ($p < 0.05$) CCl₄ 组, 亦说明小鼠造模成功。LP 组小鼠肝脏中 MDA 含量显著高于 ($p < 0.05$) CCl₄ 组, SOD、GSH 活力显著高于 ($p < 0.05$) CCl₄ 组; MW、PW 和 MA 组小鼠肝脏中 MDA 含量和 SOD 活力与 CCl₄ 组相比无统计学差异。

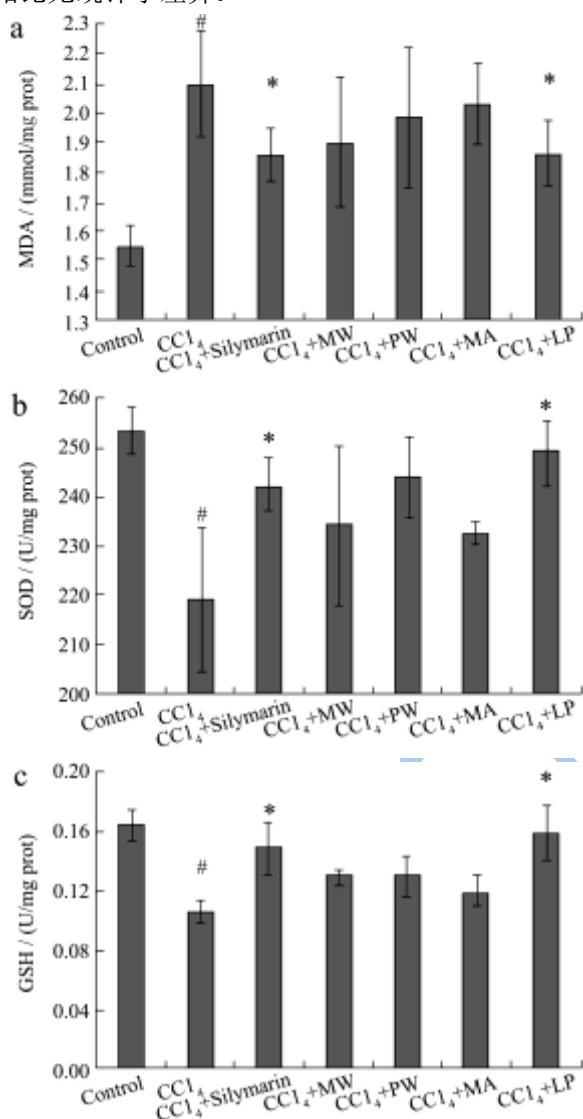


图1 牛蒡提取物对小鼠肝组织中 MDA (a) 含量、SOD (b) 和 GSH (c) 活力的影响

Fig.1 Effect of burdock extracts on MDA content, and on SOD and GSH activities in mouse liver

注: # $p < 0.05$, 与空白组相比较; * $p < 0.05$, 与 CCl₄ 组相比较, $n = 12$ 。

活性氧自由基是生物体氧化还原反应的代谢产物。在正常生理情况下, 体内氧自由基的产生和清除维持一个平衡状态, 过多或过少都会给机体造成损害

[8]。机体可以通过酶系统与非酶系统产生活性氧自由基, 氧自由基可以攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸引发脂质过氧化作用, 并因此形成脂质过氧化物。MDA 是脂质过氧化的最终产物, 可破坏细胞膜的结构, 导致细胞肿胀、坏死, MDA 含量反映了组织氧化的损伤程度。SOD 是氧自由基的清除剂, 可抑制自由基启动的脂质过氧化反应, 细胞受到自由基攻击时, SOD 可因其过度消耗而减少。机体内 SOD 活性越高, 自由基被清除的速度越快。氧自由基是肝损伤的一个主要原因。GSH 是低分子自由基清除剂, 可清除 O₂⁻、H₂O₂ 等自由基。GSH 也具有使维生素 E 恢复到还原态的作用, 缺乏或耗竭 GSH 会促使或加重许多化学物质或环境因素引起的中毒作用, 这可能与增加氧化损伤有关, 因而 GSH 量的多少也是衡量机体抗氧化能力大小的重要指标之一。

通过测定 MDA、SOD 和 GSH 可以反应机体过氧化损伤程度。本实验中 LP 组小鼠肝组织中 MDA 含量显著低于 CCl₄ 阳性对照组, SOD 和 GSH 活力显著高于 CCl₄ 组显著升高, 说明 LP 可以清除细胞内自由基, 激活体内具自由基清除作用的酶类 SOD 和 GSH, 使自由基对细胞的破坏作用降低。

2.3 组织病理学观察肝脏变化

肉眼观察可见四氯化碳组小鼠的肝脏肿大, 瘀血明显, 肝脏表面出现点状出血。光镜下观察 (图 2) 可见阴性对照组小鼠肝小叶结构清晰, 肝细胞索排列整齐, 肝窦正常, 胞核结构清晰; CCl₄ 组小鼠肝细胞索紊乱, 肝细胞明显变形, 细胞有浸润现象, 细胞核数量明显减少, 细胞中出项大量脂滴, 胞浆淡染。MW、PW 和 MA 组小鼠细胞中脂滴较 CCl₄ 组减少, 胞浆淡染现象减轻, 但肝细胞索仍然紊乱, 细胞核肿胀, 胞浆凝聚; silymarin 和 LP 组小鼠肝细胞排列较整齐, 肝细胞索排列较为整齐, 细胞内脂滴明显减少, 细胞核数量多, 形态完整。

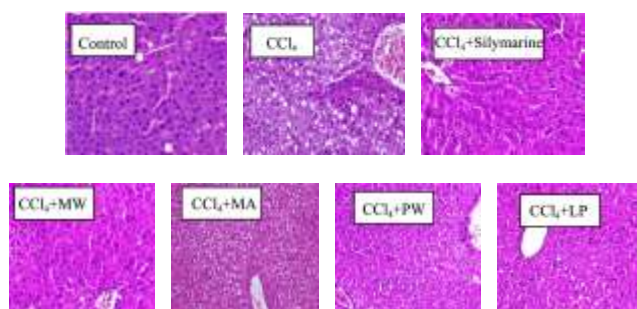


图2 CCl₄诱导肝损伤小鼠肝组织病理学观察结果
Fig.2 Histopathological examination of damaged liver tissues from CCl₄-treated mice

综合小鼠血清和肝脏中各项生化指标、肝脏中 SOD2 和 XOD 的表达量以及肝组织病理学观察结果, LP 对 CCl₄ 诱导的肝损伤小鼠具有保护作用。CCl₄ 引起的肝损伤主要是由于三氯甲烷自由基 CCl₃ 的生成, 使得肝脏脂肪组织中脂膜过氧化降解, 进而产生大量脂质过氧化物, 最终导致细胞病变。结合体外与体内抗氧化实验结果, LP 对 CCl₄ 诱导的肝损伤小鼠的保护机制为: 通过对小鼠体内氧自由基的清除, 保护生物膜中的多不饱和脂肪酸免受其攻击而发生脂质过氧化作用; 脂质过氧化物生成量降低, 使小鼠肝细胞保持稳定; 肝脏中各种酶的泄露程度降低, 血清中各项生化指标恢复正常^[9]。LP 抗氧化作用是其具有抗 CCl₄ 肝损伤作用的主要原因。

2.4 Western Blot 分析肝组织中 SOD1、SOD2 和 XOD 表达量变化

CCl₄ 阳性对照组肝脏中 SOD1、SOD2 和 XOD 表达量与正常组比较均有统计学差异。LP 组小鼠肝脏中 SOD2 和 XOD 表达量与 CCl₄ 组比较具有统计学差异, 经 LP 预先干预后, 小鼠肝脏中 SOD2 表达量显著 ($p < 0.05$) 高于 CCl₄ 组, XOD 表达量显著 ($p < 0.05$) 低于 CCl₄ 组。

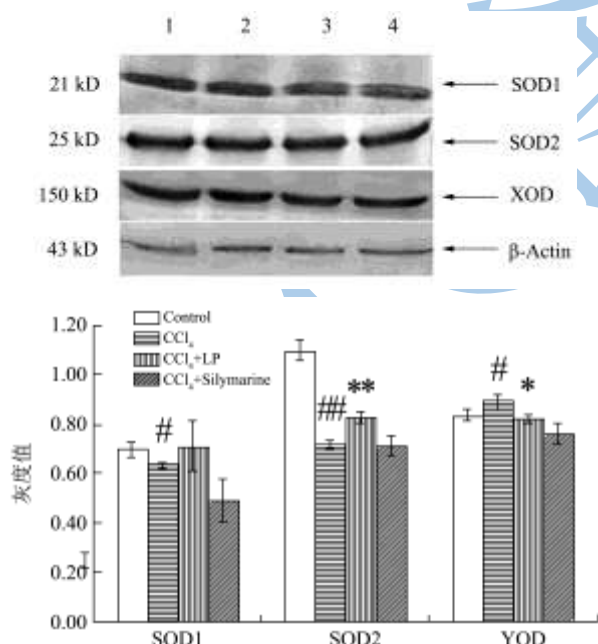


图3 SOD1、SOD2 和 XOD Western blot 分析

Fig.3 Western blot analysis of SOD1, SOD2, and XOD (1: control, 2: CCl₄, 3: CCl₄ + LP, 4: CCl₄ + Silymarine) (n = 3)

注: # $p < 0.05$, ## $p < 0.05$, 与对照组相比较; * $p < 0.05$, ** $p < 0.05$, 与 CCl₄ 组相比较, n=12。

SOD1 的活性位点含有铜和锌, 定位于细胞质中;

SOD2 则含有锰, 位于线粒体; 它们在体内均具有清除自由基的作用。XOD 是催化次黄嘌呤氧化为黄嘌呤并可继续催化黄嘌呤被氧化为尿酸的酶, XOD 除可以嘌呤衍生物为电子供体外, 还可以蝶啶衍生物、醛为电子供体, 生成羟基化合物, 体内分子氧、硝酸盐、苯醌、硝基化合物、NAD、铁氧还蛋白等可以作为电子受体, 在反应时生成过氧化物, 引起连锁反应。实验结果表明, LP 的护肝机理是通过增加肝脏中 SOD1 表达量, 降低 XOD 的表达量, 实现对氧自由基的清除作用而实现, 与肝脏中生化指标结果相一致。

3 结论

3.1 根据实验结果, 采用牛蒡皮乙醇提取物 (LP) 对 CCl₄ 诱导化学性和 ConA 诱导免疫性肝损伤小鼠均表现出了良好的保护作用, 而 PW、MA 和 MW 在本实验中对两种类型肝损伤均未表现出保护作用。

3.2 MW 是去皮牛蒡根的水提物, 其中主要为牛蒡中低聚糖类物质。有学者^[10-11]研究表明牛蒡菊糖对亚慢性酒精肝损伤的保护作用, 原因可能为牛蒡菊糖具有使双歧杆菌等肠道益生菌大量增殖的作用, 而双歧杆菌能提高动物血清中 SOD 和 GSH-Px 两种酶的水平, 降低 MDA 的含量以及能显著提高机体内 GSH 水平。牛蒡菊糖对亚慢性酒精肝损伤的保护作用是通过促进小鼠肠道益生菌的增殖而实现。而本实验中 MW 中糖类物质含量虽高, 但是由于两种实验模型均为急性肝损伤模型, 饲喂时间较短, 分别为 7 d 和 8 d (牛蒡菊糖对亚慢性酒精肝损伤的保护作用实验期限为 15 d~20 d), 在此时间段内菊糖对益生菌的增殖作用尚未表现出来, 因此 MW 在两种肝损伤模型中未表现出保肝作用。

参考文献

- [1] HAN Zhi-wu, WANG Mei-zhi, Wang Long-yuan, et al. Chemical analysis of burdock root constituents [J]. Asian Journal of Chemistry, 2013, 25(5): 2573-2780
- [2] WANG Ching-hui, CHUNG Fu-yen, TSAI Tong-rong, et al. Development of great burdock essence compounds [J]. Genomic Medicine, Biomarkers, and Health Sciences, 2012, 4: 45-47
- [3] LOU Zai-xiang, WANG Hong-xin, LV Wen-ping, et al. Assessment of antibacterial activity of fractions from burdock leaf against food-related bacteria [J]. Food Control, 2010, 21: 1272-1278
- [4] LIU He, Yupu Zhang, Yantao Sun, et al. Determination of the major constituents in fruit of *Arctium lappa* L. by matrix

- solid-phase dispersion extraction coupled with HPLC separation and fluorescence detection [J]. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878: 2707-2711
- [5] 贺菊萍,韩彩云.牛蒡乳酸菌饮料工艺响应面法优化[J].徐州工程学院学报(自然科学版),2013,28(3):53-59
HE Ju-ping, HAN Cai-yun. Process optimization of burdock lactobacillus beverage by response surface methodology [J]. *Journal of Xuzhou Institute of Technology (Natural Sciences Edition)*, 2013, 28(3): 53-59
- [6] WEBER LW, BOLL M, STAMPFL A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model [J]. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2003, 33(2): 105-136
- [7] 贺菊萍,潘迎捷,赵勇,等.牛蒡提取物对刀豆蛋白A诱导肝损伤小鼠的保护作用[J].食品工业科技,2013,34(9): 344-347
HE Ju-ping, PAN Ying-jie, ZHAO Yong, et al. Hepatoprotective effect of burdock concentrate against Con A induced liver damage in rats [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(9): 344-347
- [8] 陈瑗,周玫.自由基医学[Z].北京:人民军医出版社,1991
CHEN Yuan, ZHOU Mei. *Free radical medicine* [Z]. Beijing: People's military medical press, 1991
- [9] HE Hui, HE Ju-ping, SUI Yu-jie, et al. The hepatoprotective effects of ganoderma lucidum peptides against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2008, 32: 628-641
- [10] 张波,徐永杰.牛蒡菊糖对亚慢性酒精肝损伤作用的研究[J].食品工业科技,2010,31(8):329-331
ZHANG Bo, XU Yong-jie. Preventive effects of burdock oligo-saccharide on alcoholic liver injury [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2010, 31(8): 329-331
- [11] 鲁政,张静,高兆兰,等.牛蒡菊糖和菊芋菊糖对酒精诱导大鼠慢性氧化损伤的防治作用[J].食品科学,2010,31(5): 270-273
LU Zheng, ZHANG Jing, GAO Zhao-lan, et al. Protective effect of burdock inulin and jerusalem artichoke inulin against chronic alcohol-induced oxidative injury in mice [J]. *Food Science*, 2010, 31(5): 270-273