

油菜蜂花粉活性成分对体外肝细胞损伤的保护作用

高丽苗¹, 俞斌^{1,2}, 徐响¹, 彭定利^{1,3}, 高蓬勃^{1,2}, 孙丽萍¹

(1. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093) (2. 福建农林大学养蜂学院, 福建福州 350002)

(3. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002)

摘要: 本文通过对油菜蜂花粉的分离纯化, 得到槲皮素苷 QMP、山奈酚苷 KMG 和 KMP 三个化合物。通过体外培养 L-02 细胞, 建立四氯化碳损伤模型, 采用 MTT 实验, 来研究 QMP、KMG 和 KMP 抑制四氯化碳诱导 L-02 细胞损伤的作用。并选用丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和乳酸脱氢酶(LDH)作为特征性指标, 从氧化应激角度探究保肝作用机制。结果表明, 槲皮素苷 QMP 处理组(200 $\mu\text{g/mL}$)细胞相对存活率分别是模型组的 2.64 和 2.66 倍, 说明 QMP 能够明显抑制四氯化碳对 L-02 细胞造成的损伤, 山奈酚苷 KMP 和 KMG 抗 L-02 细胞的损伤作用不明显。QMP、山奈酚和槲皮素显著降低细胞内 MDA 含量, 其中 300 μm 剂量组 MDA 含量分别为模型组的 0.65、0.60、0.59 和 0.52 倍; LDH 漏出率分别降低了 23.82%、27.69%、30.11% 和 32.77%; 同时 SOD 含量分别提高了 1.45、1.61、1.58 和 1.65 倍。这些体外实验证明了 QMP 具有显著的体外抗氧化和保肝作用, 且其抗氧化作用是保肝作用机制之一, 为开发治疗肝损伤性疾病的药物提供了选择。

关键词: 油菜蜂花粉; 保肝活性; 四氯化碳肝损伤模型; 氧化应激; 作用机制

文章编号: 1673-9078(2016)9-8-12

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.002

Hepatoprotective Effects of Bioactive Compounds from Rape Bee Pollen on L-02 Cells Injured by CCl_4

GAO Li-miao¹, YU Bin^{1,2}, XU Xiang¹, PENG Ding-li^{1,3}, GAO Peng-bo^{1,2}, SUN Li-ping¹

(1. Bee Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China)

(2. Fujian Agriculture and Forestry University College of Bee Science, Fuzhou 350002, China)

(3. Fujian Agriculture and Forestry University College of Food Science, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Quercetin-3-O- β -D-glucosyl-(2 \rightarrow 1)- β -glucoside (QMP), kaempferol-3,4'-di-O- β -D-glucoside (KMG), and kaempferol-3-O- β -D-glucosyl-(2 \rightarrow 1)- β -D-glucoside (KMP) were isolated and purified from rape bee pollen. A model of CCl_4 -induced liver injury was established via *in vitro* cultivation of L-02 cells, and the protective effects of QMP, KMG, and KMP on L-02 cells with CCl_4 -induced injury were studied by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The contents of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and lactic dehydrogenase (LDH) were used as the characteristic indicators to study the hepatoprotective effect in terms of oxidative stress. The relative cell survival rate of QMP-treated cells (200 $\mu\text{g/mL}$) was 2.64 and 2.66 times as much as that of the model group, respectively, suggesting that QMP can effectively prevent CCl_4 -induced liver injury in L-02 cells, but the hepatoprotective effects of KMG and KMP were not significant. QMP, kaempferol, and quercetin could significantly reduce intracellular MDA levels; the MDA levels of 300 μM dose groups were 0.65, 0.60, 0.59 and 0.52 times as much as that of the model group, respectively; the corresponding LDH leakage rates were reduced by 23.82%, 27.69%, 30.11%, and 32.77%, respectively; the SOD contents were increased by 1.45, 1.61, 1.58, and 1.65, respectively. The results suggest that QMP possesses significant *in vitro* antioxidant activity and a hepatoprotective effect, the antioxidant activity is one of the mechanisms underlying its hepatoprotective effect. This study provides a basis for developing drugs to treat diseases associated with liver injury.

Key words: rape bee pollen; hepatoprotective effect; CCl_4 -induced liver injury model; oxidative stress; mechanism

收稿日期: 2015-09-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31272509); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2015-IAR)

作者简介: 高丽苗(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 蜂产品功能性研究

通讯作者: 孙丽萍(1963-), 女, 研究员, 研究方向: 功能性食品

肝脏疾病是人类最常见的疾病之一, 严重威胁着人类健康。为此, 研发抗肝脏疾病的有效药物显得尤为重要。肝细胞损伤是各型肝炎的病理基础, 治疗与纠正肝细胞损伤是治疗各种肝病的主要措施之一。油菜蜂花粉是一类营养成分丰富而且具有预防心血管疾病、抗前列腺增生、抗衰老、消炎及提高机体免疫力

等多项生理作用功能^[1-3]。有关蜂花粉保肝活性的研究引起了众多学者的关注,蜂花粉及活性成分对受损肝细胞的保护作用及机理的研究也取得了一定的进展。

四氯化碳肝损伤是一种典型的肝损伤模型,其主要作用机制为四氯化碳经代谢产生的活性自由基导致脂质过氧化,破坏质膜结构,进而引起一系列生理指标的改变,如脂质过氧化作用的代谢产物(MDA等)的累积、抗氧化物酶(SOD等)的耗竭、细胞内源性酶(LDH等)的释放等^[4-8]。

本研究团队前期发现在四氯化碳诱导小鼠脂质过氧化实验中油菜蜂花粉黄酮醇苷组分能显著降低脂质过氧化小鼠肝匀浆和血清中MDA含量,提高小鼠SOD活性和总抗氧化能力(T-AOC),具有很好的保肝活性^[9]。在随后的细胞实验中采用10 mM的四氯化碳对L-02肝细胞进行损伤,从中筛选出保肝活性最好的A2组分^[10]。继而从中分离纯化得到三个化合物并鉴定为槲皮素 3-O- β -D-葡萄糖-(2 \rightarrow 1)- β -D-葡萄糖苷(queracetin-3-O- β -D-glucosyl-(2 \rightarrow 1)- β -glucoside,缩写为QMP)、山奈酚 3,4'-双-O- β -D-葡萄糖苷(kaemferol-3,4'-di-O- β -D-glucoside,缩写为KMG)、山奈酚 3-O- β -D-葡萄糖-(2 \rightarrow 1)- β -D-葡萄糖苷(kaemferol-3-O- β -D-glucosyl-(2 \rightarrow 1)- β -D-glucoside,缩写为KMP),此部分数据另文发表。本实验拟从细胞学水平考察QMP及其苷元槲皮素、KMP和KMG及其苷元山奈酚的保肝活性并从氧化应激角度探讨其保肝机理。

1 材料与方法

1.1 材料试剂与仪器

1.1.1 材料

油菜蜂花粉,产地青海,-20℃保存;人正常肝细胞株L-02,购自北京协和细胞库。

1.1.2 试剂

水飞蓟宾、山奈酚、槲皮素:美国sigma公司;微量丙二醛(MDA)测定试剂盒(批号20121109)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号20121109)、乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒(批号20121109):南京建成生物工程公司;胎牛血清:GIBICO试剂公司;RPMI1640培养基:天津百若克医药生物技术有限公司;胰蛋白酶-EDTA消化液(0.25%)、细胞培养级DMSO、1 \times PBS(pH 7.2~7.4)和MTT试剂盒:北京索莱宝科技有限公司。

1.1.3 主要仪器设备

AL204 电子天平:梅特勒-托利多公司;KQ-500DB型数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有

限公司;Synergy HT 酶标仪:BioTek 基因有限公司;SW-CJ-1FD 洁净工作台:苏州安泰空气技术有限公司;IX71 型荧光倒置显微成像系统:日本OLYMPUS;D-1 型自动蒸气灭菌锅:北京发恩科贸有限公司;HERA-cell 150 CO₂ 培养箱:美国 Thermo 公司;UV-2345 紫外-可见分光光度计:日本岛津公司;BUCHI 旋转蒸发仪:瑞士BUCHI公司;BUCHI 平行蒸发仪:瑞士BUCHI公司。

1.2 方法

1.2.1 L-02 细胞的培养

人正常肝细胞株L-02细胞,用RPMI-1640培养液加10%胎牛血清和100 μ g/mL链霉素或青霉素,于37℃、5%CO₂和95%空气培养箱中培养,每2~3 d传代一次,取处于对数期的细胞用于实验。

1.2.2 四氯化碳急性肝损伤模型及花粉活性化合物的干预

将生长至对数期的L-02细胞随机分为正常组、模型组、阳性药组和样品处理组,分别加入96孔板,培养48 h,除正常组外,各组均加入10 mM四氯化碳损伤液孵育4 h,孵育结束后以PBS清洗三次,模型组更换为RPMI-1640培养基,水飞蓟宾组和各样品处理组分别加入50、100和200 μ g/mL的相应工作液,于37℃、5%CO₂的培养箱中继续培养4 h后检测细胞存活率。

1.2.3 MTT 法检测细胞存活率

在96孔板中加入MTT溶液,每孔20 μ L,置于37℃、5%CO₂和95%空气培养箱内孵育4 h,弃上清,每孔加入150 μ L DMSO,选择490 nm波长,在酶标仪上测定各孔的吸光度。

存活率=(处理组 OD/对照组 OD) \times 100%

1.2.4 活性化合物 IC₅₀ 值的测定

准确称取化合物QMP、山奈酚、槲皮素和水飞蓟宾适量,加入适量DMSO助溶,以RPMI1640培养基配制一系列浓度工作液。将生长至对数期L-02细胞加入96孔板,培养48 h,除正常对照组外,各组均加入10 mM四氯化碳损伤液孵育4 h,孵育结束后以PBS清洗三次,模型组更换为RPMI1640培养基,样品处理组加相应工作液,于37℃、5%CO₂和95%空气培养箱中继续培养4 h后用MTT试剂盒测定细胞相对存活率。

1.2.5 SOD、MDA 和 LDH 的测定

取处理好的细胞,弃培养液,各孔加入0.5 mL 1% Triton-100 裂解细胞,充分吹打混匀后收集,2500 r/min 离心10 min,取上清液按试剂盒说明测定^[11]。然后分别用下述公式计算细胞内MDA含量、SOD活力和

LDH 漏出率。

1.2.5.1 细胞总 MDA 含量计算公式

$$\text{MDA含量(nmol/mg prot)} = \frac{\text{测定管OD值} - \text{测定空白管OD值}}{\text{标准管OD值} - \text{标准管OD}} \times \text{标准品浓度(10 nmol/mL)} \div \text{细胞蛋白含量(mg prot/mL)}$$

1.2.5.2 细胞 SOD 活力计算公式

$$\text{SOD活力(U/mg prot)} = \frac{\text{对照管OD值} - \text{测定管OD值}}{\text{对照管OD值}} \div 50\% \times \frac{\text{反应液总量}}{\text{所取样品量}} \times \text{样品稀释倍数} \div \text{细胞蛋白含量(mg prot/mL)}$$

1.2.5.3 LDH 漏出率计算公式

$$\text{LDH露出率(\%)} = \frac{\text{细胞上清LDH活性}}{\text{细胞上清LDH活性} + \text{细胞裂解液LDH活性}} \times 100\%$$

1.2.6 数据分析

采用 SPSS 17.0 统计软件分析, 实验结果以均值加减标准差表示。多组间均数比较采用 ANOVA 分析, $p < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 A2 及各分离组分的细胞学筛选

从油菜蜂花粉活性组分 A2 中分离纯化得到三个化合物, 分别鉴定为槲皮素苷 QMP 和山奈酚苷 KMG 和 KMP^[12], 采用 1.2.2、1.2.3 的方法对 QMP、KMG、KMP 进行了细胞学筛选, 结果见图 1。

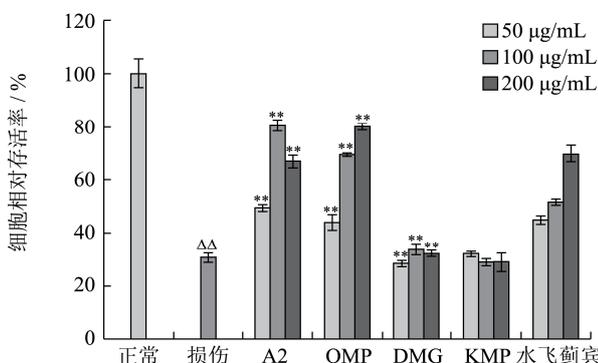


图 1 QMP、KMG、KMP 对四氯化碳诱导损伤的 L-02 细胞活力的影响 (n=3)

Fig.1 Effects of QMP, KMG, KMP on the viability of L-02 cells with CCl₄ induced injury (n=3)

注: ΔΔ 与正常组相比 $p < 0.01$; ** 与模型组相比 $p < 0.01$ 。

由图 1 可知, 模型组细胞存活率为 30.22%, 统计学显示有极显著差异 ($p < 0.01$), 说明四氯化碳急性肝损伤模型造模成功。山奈酚苷 KMP 和 KMG 各个剂量组的细胞存活率与模型组相比, 统计学显示均无显著性差异 ($p > 0.01$), 表明两者对四氯化碳致损肝细胞无明显保护作用, 即无保肝活性; 槲皮素苷 QMP 各个剂量组细胞存活率与模型组相比统计学均显示有显著性差异 ($p < 0.01$), 且细胞存活率与剂量呈正相关, 其中活性最高剂量 (200 μg/mL) 组细胞相对存活率分别是模型组的 2.64 和 2.66 倍。与阳性对照组相比, 作

用剂量为 200 μg/mL 和 100 μg/mL 时, QMP 保肝活性高于阳性品, 低剂量 (50 μg/mL) 时 QMP 活性也与阳性品相当, 因此 QMP 为油菜蜂花粉的保肝活性化合物。

体外细胞实验中山奈酚苷 KMP 和 KMG 未见保肝活性, 考虑到其服用后经机体代谢有可能以苷元形式在体内发挥作用, 因此在下述实验中对花粉黄酮醇苷的苷元-槲皮素和山奈酚进行了活性测定。

2.2 保肝活性 IC₅₀ 值的测定

根据 1.2.3 的方法测定细胞相对存活率, 以供试样品的摩尔浓度为横坐标, 供试样品干预后细胞的相对存活率为纵坐标建立回归曲线, 计算 IC₅₀ 值如表 1 所示。

表 1 QMP、山奈酚、槲皮素、水飞蓟宾的 IC₅₀ 值

Table 1 IC₅₀ values of QMP, kaempferol, quercetin, and silibinin

成分	回归曲线	相关系数 R ²	IC ₅₀ 值/μm
QMP	$y=0.1993\ln(x)-0.3808$	0.9285	132.64
山奈酚	$y=0.1922\ln(x)-0.3894$	0.9521	102.26
槲皮素	$y=0.1529\ln(x)-0.1502$	0.9322	70.28
水飞蓟素	$y=0.1785\ln(x)-0.3054$	0.9441	91.11

槲皮素苷 QMP、槲皮素、山奈酚、水飞蓟宾的 IC₅₀ 值测定结果表明: QMP 可显著改善细胞相对存活率, 其 IC₅₀ 值为 132.64 μm。苷元槲皮素和山奈酚对四氯化碳诱导损伤的 L-02 细胞的保护作用强于 QMP, 其中槲皮素的保护效果最好 (IC₅₀ 值为 70.28 μm), 强于阳性品水飞蓟宾 (IC₅₀ 值为 91.11 μm); 山奈酚 IC₅₀ 值为 102.26 μm 逊于阳性品水飞蓟宾。

2.3 保肝机制的研究

四氯化碳肝损伤发生的重要机制是氧化应激损伤, 大量自由基攻击质膜产生一系列变化, 造成致损细胞脂质过氧化损伤严重。本实验选用丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、乳酸脱氢酶 (LDH) 作为脂质过氧化反应的特征性指标, 从氧化应激角度

探究油菜蜂花粉保肝活性成分的保肝机制。

2.3.1 MDA 含量测定

丙二醛(MDA)是脂质过氧化最重要的产物之一,对细胞质膜具有损伤作用,并可由此引发一系列的细胞结构和功能的破坏,为评价脂质过氧化程度的重要指标,其含量高可反映体内脂质过氧化的程度,间接反映出机体细胞受自由基攻击的严重程度^[13]。按照 1.2.5.1 的方法测定细胞中 MDA 含量,结果见图 2。

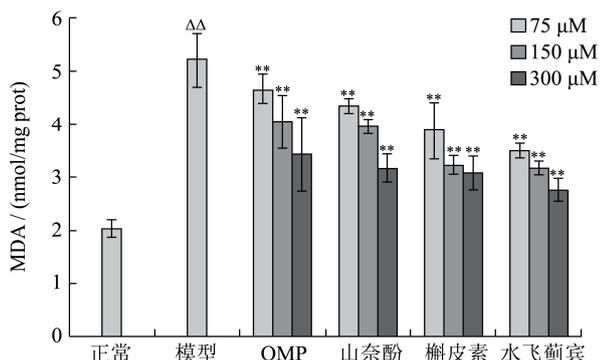


图 2 各组细胞中 MDA 的含量

Fig.2 MDA content of L-02 cells in each treatment group

注: ΔΔ 与正常组相比($p<0.01$); *与模型组相比($p<0.05$); **与模型组相比 ($p<0.01$)。

由图 2 可知,模型组 MDA 含量显著增高,为正常对照组的 2.58 倍,说明四氯化碳致损肝细胞内产生了大量脂质过氧化产物 MDA。QMP、山奈酚、槲皮素以及阳性品水飞蓟素干预后,细胞内脂质过氧化产物 MDA 含量极显著降低 ($p<0.01$),其中 300 μm 剂量组 MDA 含量分别为模型组的 0.65、0.60、0.59 和 0.52 倍,其作用效果与供试样品剂量呈正相关。

2.3.2 SOD 活性测定

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内广泛存在的一种重要的抗氧化酶,能特异性清除生物体内的超氧阴离子自由基,使机体免受氧自由基的损害,SOD 活性高低反映了机体清除氧自由基的能力。按照 1.2.5.2 的方法测定细胞中 SOD 活性,结果见图 3

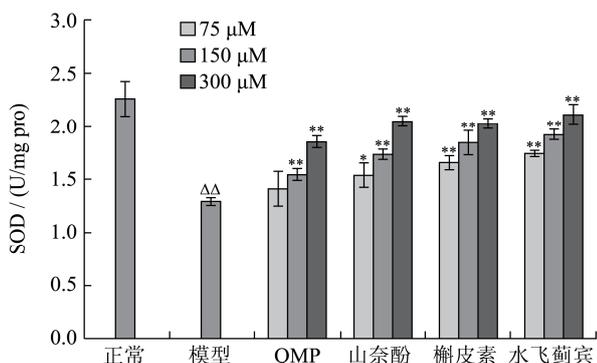


图 3 各组细胞中 SOD 的活力

Fig.3 SOD content of L-02 cells in each treatment group

注: ΔΔ 与正常组相比($p<0.01$); *与模型组相比($p<0.05$); **与模型组相比 ($p<0.01$)。

由图 3 可知,模型组 SOD 活性显著降低至正常组的 0.56 倍,SOD 作为体内清除 ROS 自由基中的超氧阴离子的专一性抗氧化酶大量耗竭^[14],说明四氯化碳致损肝细胞脂质过氧化损伤严重。

QMP、山奈酚、槲皮素以及阳性品水飞蓟素处理组的 SOD 活性明显提高,其中 300 μm 剂量组与模型组相比,SOD 含量分别提高了 1.45、1.61、1.58 和 1.65 倍,统计学显示有极显著差异 ($p<0.01$),并且 SOD 活性与供试样品剂量呈现明显的依赖关系。

2.3.3 LDH 漏出率测

乳酸脱氢酶(LHD)存在于细胞胞浆内,正常情况下活细胞胞浆内含有的 LDH 不能透过细胞膜,当细胞受到外来毒物作用,细胞膜受损后,胞内的乳酸脱氢酶则释放到外液中,使细胞外液的 LDH 活性明显升高。根据 1.2.5.3 的方法测得了各活性成分组细胞中的 LDH 漏出率,结果见图 4。

由图 4 可知,模型组 LDH 漏出率为 61.11%,与正常组相比上升了 43.35%,在统计学上具有极显著差异 ($p<0.01$),说明四氯化碳诱导损伤的细胞细胞膜受到严重损伤,胞内的 LDH 释放到细胞外,使得 LHD 漏出率大幅上升。经过槲皮素苷 QMP、山奈酚、槲皮素以及阳性品水飞蓟素干预后,LDH 漏出率极显著降低 ($p<0.01$),且具有明显的量效关系,其中 300 μm 剂量组与模型组相比,LDH 漏出率分别降低了 23.82%、27.69%、30.11%和 32.77%,说明经供试样品干预后细胞膜的稳定性增强,损伤程度减轻,肝损伤的症状得到缓解。

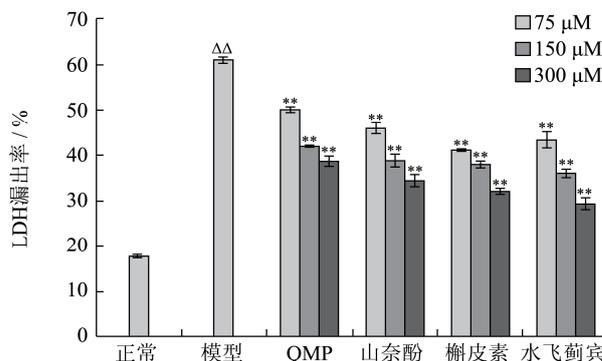


图 4 各组细胞中 LDH 漏出率

Fig.4 LDH leakage rate of L-02 cells in each treatment group

注: ΔΔ 与正常组相比($p<0.01$); **与模型组相比($p<0.01$)。

上述实验结果表明经各活性成分干预后四氯化碳致损细胞的膜结构脂质过氧化损伤减轻,细胞膜稳定性提高。说明槲皮素苷 QMP、山奈酚和槲皮素可以通过清除自由基、抑制脂质过氧化、提高细胞清除超

氧阴离子的能力,从而减轻细胞膜在氧自由基攻击下的损伤程度,起到抗肝损伤的效果。

3 结论

3.1 前期有研究发现,花粉提取物可以显著降低四氯化碳致损小鼠肝脏血清中谷丙转氨酶以及胆红素的水平^[15],并且破壁蜂花粉对 CCl₄ 引起的急性化学性肝损伤的预防作用效果优于未破壁花粉,并存在量效关系^[16]。赵立新^[17]用含花粉的饲料喂养小鼠,发现花粉能明显增加小鼠血清中 SOD、CAT 的活性,降低脑组织中 MDA 含量。

3.2 本实验显示油菜蜂花粉三种黄酮醇苷中槲皮素苷 QMP 及其苷元槲皮素均有很好的保肝活性;山奈酚苷 KMP 和 KMG 无保肝活性,但其苷元山奈酚有很好的保肝活性,山奈酚苷 KMP 和 KMG 在体内是否可以转化为山奈酚从而发挥保肝活性,需动物实验验证。

3.3 本实验从氧化应激角度探究了油菜蜂花粉保肝活性成分的保肝机制。结果表明,四氯化碳致损肝细胞内 MDA 大量累积、SOD 大量消耗,细胞内源性酶 LDH 大量泄漏,细胞损伤严重。经山奈酚、槲皮素苷 QMP 及其苷元槲皮素干预后极大的减轻四氯化碳致损肝细胞的脂质过氧化水平,具体表现在脂质过氧化产物丙二醛 MDA 含量降低;胞内抗氧化体系活力增强,SOD 活力升高;细胞膜稳定性增强使得 LDH 漏出率下降,说明山奈酚、槲皮素苷 QMP 及其苷元槲皮素通过减少氧化应激发挥对肝细胞的保护作用。

参考文献

- [1] 李坤,杨义芳,李永辉.油菜花粉抗前列腺增生与炎症的活性部位研究[J].中草药,2010,41(5):798-802
LI Kun, YANG Yi-fang, LI Yong-hui. Active fraction with anti-prostate hyperplasia and inflammation of rape bee pollen [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(5): 798-802
- [2] 耿越,张静静,张健,等.油菜花粉超临界 CO₂ 萃取物对小鼠免疫因子的影响[J].营养学报,2010,32(6):612-614
GENG Yue, ZHANG Jing-jing, ZHANG Jian, et al. The influences of extract from rape pollen by supercritical CO₂ extraction on immunity in mice [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2010, 32(6): 612-614
- [3] 张星海,龚恕,王岳飞,等.茶多酚与油菜花粉提取物对前列腺癌细胞生长抑制效果比较研究[J].茶叶科学,2010,30(5): 379-383
ZHANG Xing-hai, GONG Shu, WANG Yue-fei, et al. Comparison on the inhibitory effect of tea polyphenols and rape pollen extract on prostate cancer cell [J]. Journal of Tea Science, 2010, 30(5): 379-383
- [4] Germano M P, Angelo V D, Sanogo R, et al. Hepatoprotective and antibacterial effects of extracts from *Trichilia emetica* Vahl [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96(1): 227-232
- [5] Aleynik S L, Leo M A, Ma X, et al. Polyeny lphosphatidylcholine prevents carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation while it attenuates liver fibrosis [J]. Hepatol, 1997, 27(3): 554-561
- [6] Ruch R J, Klaunig J E, Schultz N E, et al. Mechanisms of chloroform and carbon tetrachloride toxicity in primary culture mouse hepatocyte [J]. Environmental Health Perspectives, 1986, 69: 301-305
- [7] Lee J Y, Lee S H, Kim H J, et al. The preventive inhibition of chondroitin sulfate against the CCl₄-induced oxidative stress of subcellular level [J]. Arch. Pharm. Res., 2004, 27(3): 340-345
- [8] Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by anti-oxidant nutrients [J]. Toxicology, 2003, 189(1): 113-127
- [9] 孙丽萍,徐响,廖磊,等.油菜蜂花粉黄酮醇苷的体内外抗氧化研究[J].食品科学,2010,31(19):359-362
SUN Li-ping, XU Xiang, LIAO Lei, et al. Anti-oxidant effect of flavonoid glycosides from rape beepollen [J]. Food Science, 2010, 31(19): 359-362
- [10] 彭定利,孙丽萍,庞杰,等.油菜蜂花粉保肝活性组分的分离及细胞学筛选[J].中国食品学报,2014,14(3):100-105
PENG Ding-li, SUN Li-ping, PANG Jie, et al. The Separation and cytological screening of hepatoprotective components in rape bee pollen [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(3): 100-105
- [11] 刘静波,刘文超,徐梦蕾,等.基于 PC12 细胞模型分析大豆蛋白水解物对神经元氧化损伤的保护作用[J].现代食品科技,2015,1(3):60-61
LIU Jing-bo, LIU Wen-chao, XU Meng-lei, et al. Neuroprotective effects of soybean protein isolate hydrolysates against neuronal oxidative damage in PC12 neuronal cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 1(3): 60-61
- [12] Leal A M, Begona R M, Martinez R, et al. Cytoprotective actions of estrogens against tert-butyl hydroperoxide-induced toxicity in hepatocytes [J]. Biochem Pharmacol, 1998, 56(11): 1463-1469

- [13] 王玉卓.灰树花多糖对四氯化碳肝损伤的保护作用及其机制的研究[D].济南:山东大学,2010
WANG Yu-zhuo. The protective effect of Polysaccharide of grifola frondosa on carbon tetrachloride-induced liver in jury and itsme chanism [D]. Jinan: School of Foreign Languages and Literature, 2010
- [14] 王君明,崔瑛,王峥涛,等.超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):265-269
WANG Jun-ming, CUI Ying, WANG Zheng-tao, et al. Research progress of superoxide dismutase involved in liver injury [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(7): 265-269
- [15] W O Jcicki J, Samochowicz L. Effect of cernilton on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride (CCl₄) in rats [J]. Liver Support: Graminex Flower Pollen Extract, 1984: 1-5
- [16] 郑喜灿,黄志喜,梁爱华,等.蜂花粉对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤保护作用的病理学分析[J].佛山科学技术学院学报(自然科学版),2010,28(3):63-66
ZHENG Xi-can, HUANG Zhi-xi, LIANG Ai-hua, et al. Pathological analysis of bee pollen against acute hepatic injury of rats induced by CCl₄ [J]. Journal of Foshan University (Natural Science Edition), 2010, 28(3): 63-66
- [17] 赵立新,喻陆.松花粉抗衰老作用的实验研究[J].现代医学,2004,32(2):74-74
ZHAO Li-xin, YU Lu. Experimental study on effects of pollenpini on anti-aging [J]. Railway Medical Journal, 2004, 32(2): 74-74