

香芹酚抗氧化和抑制酪氨酸酶活性的研究

张灵芝, 徐佳, 舒青龙, 邵文祥, 刘升长, 左爱仁

(江西中医药大学基础医学院, 江西南昌 330006)

摘要: 采用清除 DPPH、ABTS、羟自由基和超氧自由基, 抑制脂质过氧化活性和抑制酪氨酸酶活性的方法, 检测香芹酚的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性。实验结果显示, 香芹酚具有明显的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性, 呈浓度依赖性效应。在清除 DPPH、ABTS、羟自由基、超氧自由基, 抑制脂质过氧化活性和抑制酪氨酸酶活性试验中, 香芹酚的体系终浓度 IC₅₀ 分别为 100 μmol/L、18.18 μmol/L、16 μmol/L、16 μmol/L、12.5 μmol/L 和 6.67 μmol/L。作为阳性对照药物的山奈酚的体系终浓度 IC₅₀ 分别为 80 μmol/L、9.09 μmol/L、12 μmol/L、12 μmol/L、8.33 μmol/L 和 3.33 μmol/L。香芹酚具有 1 个酚羟基, 山奈酚具有 3 个酚羟基, 分子结构的不同, 导致山奈酚和香芹酚抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性不同。研究表明香芹酚具有明显的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性, 是值得进一步研究的抗氧化抗衰老类候选药物、化妆品原料和食品添加剂。

关键词: 香芹酚; 羟自由基; 超氧自由基; 脂质过氧化; 抑制酪氨酸酶

文章编号: 1673-9078(2017)12-84-88

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.013

The Antioxidant and Antityrosinase Activities of Carvacrol

ZHANG Ling-zhi, XU Jia, SHU Qing-long, SHAO Wen-xiang, LIU Sheng-zhang, ZUO Ai-ren

(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

Abstract: The antioxidant and antityrosinase activities of carvacrol was investigated by scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and superoxide radicals, inhibiting lipid peroxidation and inhibiting tyrosinase activity. The experiment results showed that carvacrol had excellent antioxidant and antityrosinase activities in dose-dependent manner. In the experiments of scavenging DPPH, ABTS, $\cdot\text{OH}$ and superoxide radicals, inhibiting lipid peroxidation and inhibiting tyrosinase activity, the IC₅₀ of carvacrol were 100 μmol/L, 18.18 μmol/L, 16 μmol/L, 16 μmol/L, 12.5 μmol/L and 6.67 μmol/L, respectively. The IC₅₀ of kaempferol used as the positive control drug were 80 μmol/L, 9.09 μmol/L, 12 μmol/L, 12 μmol/L, 8.33 μmol/L and 3.33 μmol/L, respectively. Carvacrol had one phenolic hydroxyl group, while kaempferol had three phenolic hydroxyls. The different molecular structures led to the different antioxidant and antityrosinase activities. In a word, carvacrol had good antioxidant and antityrosinase activities, worth being further researched as the new anti-aging candidate drug, cosmetic materials and food additives.

Key words: carvacrol; hydroxyl radical; superoxide radical; lipid peroxidation; antityrosinase

香芹酚 (carvacrol) 是香芹、牛至和百里香的主要多酚类活性成分之一, 由于香芹酚香气怡人, 又有多种功效, 目前已经用于食品添加剂、食用香料、牙膏和香皂等日用品香料、局部麻醉药物、卫生杀虫剂。关于香芹酚的清除 DPPH、ABTS、羟自由基、超氧自由基, 抑制脂质过氧化活性和抑制酪氨酸酶活性, 目前没有文献报道。关于香芹酚的药理学活性, 已经有

收稿日期: 2017-07-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473455、31560038); 江西省卫生计生委中医药基金资助项目 (2015A042); 江西省普通本科高校大学生创新创业教育计划项目 (201410412046、201610412020); 江西中医药大学科技项目 (2014ZR012)

作者简介: 张灵芝 (1970-), 女, 在读硕士研究生, 中西医结合基础专业
通讯作者: 左爱仁 (1976-), 男, 博士, 副教授, 主要从事生物化学、中药药理教学和研究工作

文献报道了香芹酚对大鼠衰老卵巢的保护作用及其相关机制, 香芹酚可通过抗氧化应激和抗卵巢细胞凋亡作用, 抑制和延缓大鼠卵巢衰老。香芹酚在大鼠脑缺血再灌注损伤(CI/R)中的作用及相关的机制。香芹酚和百里香酚单一成分及其联合使用对常见病原菌及常见益生菌的抑杀浓度。香芹酚对大鼠急性肺损伤的作用及其相关作用机制等等。

山奈酚 (kaempferol), 是姜科植物山奈 (*Kaempferol galanga* L) 根茎的主要多酚类活性成分之一, 广泛存在于各种水果、蔬菜、茶叶、巫榛子、蜂胶和柚子等。分子式为C₁₅H₁₀O₆, 微溶于水, 溶于热乙醇、乙醚和碱。因其具有抗癌、抗炎、抗菌和抗病毒等多种功效而受到广泛关注。

包括各种形式的活性氧在内的各种自由基, 对人体危害很大, 具有极为强烈的氧化作用。自由基可以

氧化各种酶和蛋白质的巯基, 改变其功能和结构; 自由基可使 DNA 修饰、氧化、甚至断裂; 自由基还可以损伤生物膜, 氧化细胞膜中的不饱和脂肪酸生成过氧化脂质。体内自由基增多也与组织细胞老化密切相关^[1]。

因此, 本文研究了香芹酚清除 DPPH、ABTS、羟自由基、超氧自由基和抑制脂质过氧化活性, 为将来可能用作抗衰老类候选药物、化妆品原料和食品添加剂提供实验依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

香芹酚、山奈酚标准品、邻苯三酚、邻菲罗啉、DPPH、ABTS、硫代巴比妥酸、3,4-二羟苯丙氨酸(L-多巴)、酪氨酸酶(EC 1.14.18.1, 酶活力为 1888 U/mg)等购买于 sigma aldrich 公司; 三氯乙酸、PBS、过硫酸钾、维生素 C、硫酸亚铁等均为国产分析纯; 自备二次蒸馏水。采用购买于碧云天试剂公司的 C3606 组织线粒体分离试剂盒和江西中医药大学试验动物中心的昆明种小鼠。

1.2 实验仪器

Varioskan Flash 多功能酶标仪(美国 Thermo scientific), UV-2450 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); 数显恒温水浴锅(国华电器公司), 酸度计(上海精益公司)。

1.3 方法

1.3.1 清除 DPPH 自由基试验

参考 Lee YL 等^[2]方法, 修改反应体系为: 在试管中, 依次加入 0.5 mL 的 0.6 mmol/L DPPH 甲醇溶液和 1 mL 不同浓度样品, 再加入 3.5 mL 乙醇, 室温避光反应 30 min 后, 于 517 nm 处测定吸光值。重复 3 次, 结果为平均值±标准差。

$$\text{DPPH清除率(\%)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$$

A_1 为不加样品组的吸光度值; A_2 为加入样品组的吸光度值。

1.3.2 清除 ABTS 自由基试验

参考 Re R^[3]的方法, 略作修改反应体系。混合 $K_2S_2O_8$ 溶液 (2.45 mmol/L) 与 ABTS 水溶液 (7 mmol/L), 暗处室温放置 12~16 h, 此为 ABTS 储备液。再用乙醇稀释 ABT 储备液, 734 nm 测吸光度值, 达到 0.70±0.02 即可。依次加入 5 mL $ABTS^+$ 工作液和

0.5 mL 不同浓度的样品, 避光室温, 反应 6 min, 734 nm 测定吸光值。空白对照是乙醇, 重复 3 次, 结果为平均值±标准差。

$$\text{ABTS}^+ \cdot \text{清除率(\%)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$$

A_1 为加乙醇组的吸光度值; A_2 为加样品组的吸光度值。

1.3.3 清除羟基自由基试验

参考 De Avellar IGJ 等^[4]的方法, 略做修改反应体系。依次加入 1 mL PBS 缓冲液 (pH=7.4), 0.2 mL 的 5 mmol/L 邻菲罗啉, 0.2 mL 的 7.5 mmol/L 硫酸亚铁, 0.2 mL 的 0.05% 的双氧水和 0.2 mL 不同浓度的样品溶液, 再加 3.2 mL 无水乙醇, 37 °C 恒温水浴中反应 20 min, 536 nm 处测吸光值, 重复 3 次。纵坐标为抑制率, 横坐标为样品浓度, 作图, 计算 IC_{50} 。

1.3.4 清除超氧自由基试验

采用邻苯三酚自氧化法测定待测样品清除超氧自由基的能力, 参考 Marklund S^[5]的方法, 略做修改反应体系。使用 Varioskan Flash 多功能酶标仪(美国 Thermo scientific)和 96 孔板。在 264 μ L PBS 缓冲液 (pH=8.2) 中加入 12 μ L 的不同浓度的样品, 25 °C 水浴 10 min, 再加入 24 μ L 的邻苯三酚溶液 (1.25 mmol/L 的), 迅速摇匀, 使用多功能酶标仪, 320 nm 处每隔 30 s 测一次吸光值, 共测 10 次, 持续 5 min。空白组是乙醇。纵坐标为吸光值, 横坐标为时间, 作图, 斜率就是邻苯三酚自氧化速率, 实验重复 3 次。斜率降低, 表明样品清除了反应体系中的超氧自由基。纵坐标为抑制率, 横坐标为样品浓度, 作图, 计算 IC_{50} 。

1.3.5 抑制体外肝线粒体脂质过氧化试验

参考刘敏等^[1]的方法, 使用线粒体分离试剂盒制备小鼠肝脏线粒体, 使用考马斯亮蓝 G-250 测定肝线粒体蛋白含量。准备试管, 依次添加以下试剂。样品组添加 0.5 mL 不同浓度的样品, 1 mL 线粒体悬液, 0.25 mL Fe^{2+} , 0.25 mL Vit C; 参比组添加 1 mL PBS 缓冲液和 1 mL 线粒体悬液。阳性对照组添加 0.5 mL PBS 缓冲液, 1 mL 线粒体悬液, 0.25 mL Fe^{2+} , 0.25 mL Vit C。37 °C 震荡孵育 1 h, 再添加 2 mL 三氯乙酸溶液, 终止反应 10 min, 再添加 2 mL TBA 溶液, 95 °C 水浴显色反应 30 min, 3500 g 离心 10 min, 532 nm 处测定吸光值。重复 3 次, 计算平均值。

脂质过氧化抑制率=(阳性组 OD 值-添加样品组的 OD 值)/阳性组 OD 值

1.3.6 抑制酪氨酸酶二酚酶活性测定

参照刘敏等^[6]的方法, 并作适当的修改。以 L-多巴为底物, 测定样品抑制酪氨酸酶二酚酶活性的能力。酪氨酸酶溶液 (5.33 μ g/mL) 用超纯水配制, 0.5 mmol/L

的多巴溶液用 PBS 缓冲溶液配制 (pH 6.8)。使用 Varioskan Flash 多功能酶标仪(美国 Thermo scientific) 和 96 孔板。在 96 孔板中先加入 0.5 mmol/L 的 L-多巴溶液 280 μL, 再加入 10 μL 不同浓度的样品溶液, 混匀 1 min。再加入酪氨酸酶水溶液 10 μL, 立即摇匀, 水浴 30 °C, 475 nm 处, 测定酶促反应曲线, 即每隔 10 s 测一次吸光值, 持续 200 s。二酚酶的活力相当于曲线线性期部分的斜率。样品浓度作横坐标, 酶相对酶活力作纵坐标, 作图, 得到抑制二酚酶活性曲线。重复测定 3 次, 抑制率为:

$$\text{抑制率}(\%) = [(S_0 - S_1) / S_0] \times 100\%$$

S_0 是无样品组别的斜率, S_1 是添加样品组别的斜率。

1.3.7 数据统计分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理, 数据以平均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析 (analysis of variance, ANOVA), 以 P 值表示统计学差异。

2 结果与分析

2.1 清除 DPPH 自由基试验

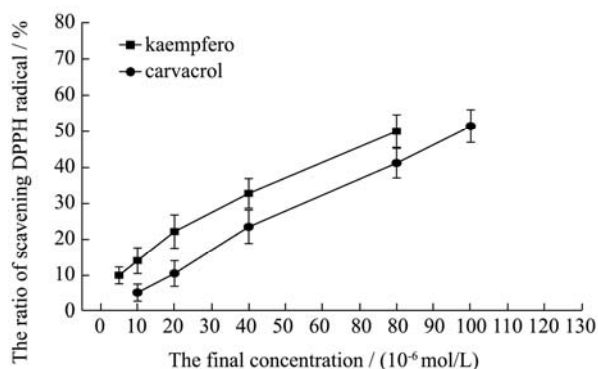


图1 香芹酚和山奈酚体系终浓度与 DPPH 清除率的关系

Fig.1 The relationship between final concentration of carvacrol, kaempferol and the ratio of scavenging DPPH radical

由图 1 可知, 香芹酚具有明显的清除 DPPH 自由基活性, 并且活性和药物浓度正相关。清除 DPPH 自由基试验中, 山奈酚、香芹酚体系终浓度 IC_{50} 分别为 80 μmol/L 和 100 μmol/L。当体系终浓度为 80 μmol/L 时, 山奈酚、香芹酚对 DPPH 自由基清除率分别约为 50.04% 和 41.12%。从分子结构分析, 山奈酚具有 3 个酚羟基, 香芹酚具有 1 个酚羟基, 分子结构的不同, 导致不同的清除 DPPH 自由基能力。

刘敏等^[1]研究表明槲皮素、根皮素、水飞蓟宾具有明显的清除 DPPH 自由基、清除 ABTS 自由基和抑制脂质过氧化活性, 分子结构的不同, 导致不同的清除自由基能力和抑制脂质过氧化活性。而且活性由强到

弱依次为槲皮素、根皮素、水飞蓟宾。王锐等^[7]采用 DPPH 法和碘量法研究了山奈提取物抗氧化性能。结果表明, 山奈的乙酸乙酯提取物(EAK)和正丁醇提取物(BK)具有良好的抗氧化活性。童方念^[8]等研究了山奈酚对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用。实验结果表明, 山奈酚低、高剂量均可明显降低小鼠血清 ALT 和 AST 含量, 降低肝组织 MDA 含量, 增加 SOD 活力。山奈酚对 CCl₄ 致小鼠急性肝损伤有保护作用, 可能是因为减少自由基的生成。

2.2 清除 ABTS 自由基试验

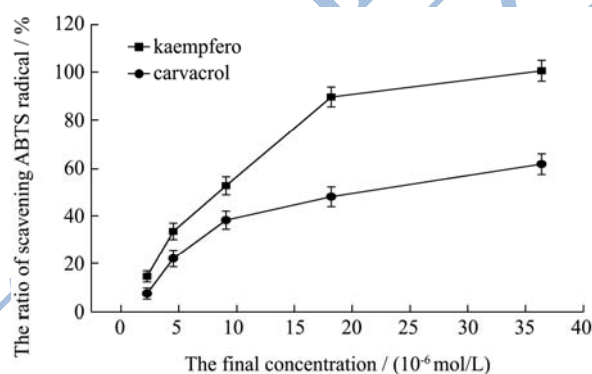


图2 香芹酚和山奈酚体系终浓度与 ABTS 清除率的关系

Fig.2 The relationship between final concentration of carvacrol, kaempferol and the ratio of scavenging ABTS radical

由图 2 可知, 香芹酚具有明显的清除 ABTS 自由基活性, 并且活性和药物浓度正相关。清除 ABTS 自由基试验中, 山奈酚、香芹酚的体系终浓度 IC_{50} 分别为 9.09 μmol/L 和 18.18 μmol/L。当体系终浓度为 9.09 μmol/L 时, 山奈酚、香芹酚对 ABTS 自由基清除率分别约为 52.17% 和 37.85%。分子结构的不同, 导致不同的清除 ABTS 自由基能力。

2.3 清除羟自由基试验

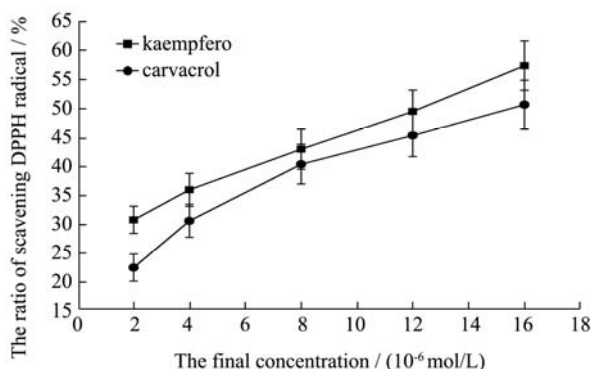


图3 香芹酚和山奈酚体系终浓度与羟自由基清除率的关系

Fig.3 The relationship between final concentration of carvacrol, kaempferol and the ratio of scavenging hydroxyl radical

由图 3 可知, 香芹酚具有明显的清除羟自由基活

性,并且活性和药物浓度正相关。山奈酚、香芹酚清除羟自由基的体系终浓度 IC_{50} 分别为 $12 \mu\text{mol/L}$ 和 $16 \mu\text{mol/L}$ 。当体系终浓度为 $8 \mu\text{mol/L}$ 时,山奈酚、香芹酚对羟自由基清除率分别约为 43.08% 和 40.48% 。

2.4 清除超氧自由基试验

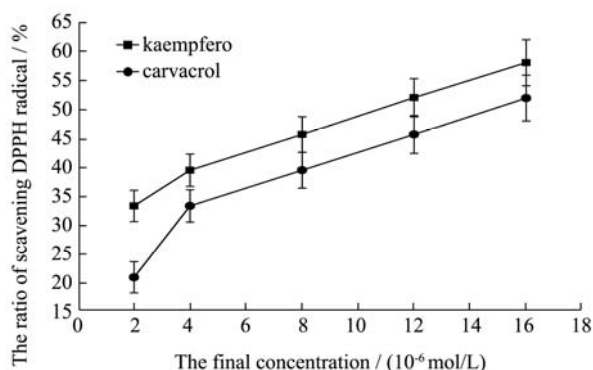


图4 香芹酚和山奈酚体系终浓度与超氧自由基清除率的关系
Fig.4 The relationship between final concentration of carvacrol, kaempferol and the ratio of scavenging superoxide radical

由图4可知,香芹酚具有明显的清除超氧自由基活性,并且活性和药物浓度正相关。山奈酚、香芹酚清除超氧自由基的体系终浓度 IC_{50} 分别为 $12 \mu\text{mol/L}$ 和 $16 \mu\text{mol/L}$ 。当体系终浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时,山奈酚、香芹酚对超氧自由基抑制率分别约为 57.24% 和 50.12% 。

2.5 体外肝脏线粒体脂质过氧化抑制试验

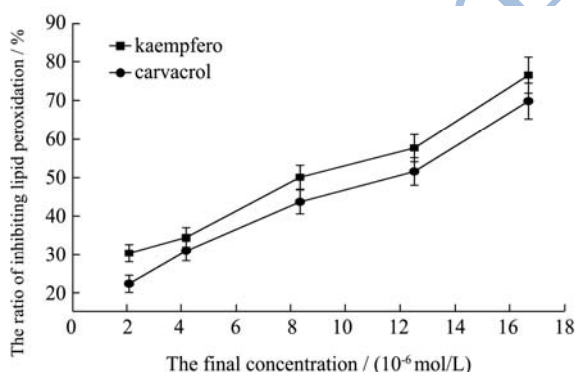


图5 香芹酚和山奈酚体系终浓度与线粒体脂质过氧化抑制率的关系
Fig.5 The relationship between final concentration of carvacrol, kaempferol and the ratio of inhibiting lipid peroxidation

由图5可知,香芹酚具有明显的线粒体脂质过氧化抑制活性,并且活性和药物浓度正相关。在抑制线粒体脂质过氧化试验中,山奈酚、香芹酚的体系终浓度 IC_{50} 分别为 $8.33 \mu\text{mol/L}$ 和 $12.5 \mu\text{mol/L}$ 。当体系终浓度为 $8.33 \mu\text{mol/L}$ 时,山奈酚、香芹酚对线粒体脂质过氧化抑制率分别约为 49.84% 和 43.41% 。

2.6 酪氨酸酶二酚酶活力的抑制试验

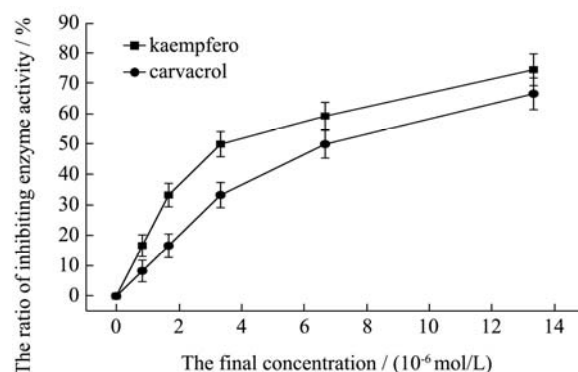


图6 香芹酚和山奈酚体系终浓度与抑制酪氨酸酶二酚酶活力的关系
Fig.6 The relationship between final concentration of carvacrol, kaempferol and inhibition of tyrosinase diphenolase activity

由图6可知,香芹酚具有明显的酪氨酸酶二酚酶抑制活性,并且活性和药物浓度正相关。山奈酚、香芹酚抑制酪氨酸酶二酚酶的体系终浓度 IC_{50} 分别为 $3.33 \mu\text{mol/L}$ 和 $6.67 \mu\text{mol/L}$ 。当体系终浓度为 $3.33 \mu\text{mol/L}$ 时,山奈酚、香芹酚对酪氨酸酶二酚酶活性抑制率分别约为 50% 和 33.33% 。

3 讨论

3.1 关于香芹酚的药理学活性研究,张崇媛等^[9]探讨了香芹酚对大鼠衰老卵巢的保护作用及其相关机制研究。研究表明,香芹酚可通过抗氧化应激和抗卵巢细胞凋亡作用,抑制和延缓大鼠卵巢衰老。南毛球等^[10]探索了香芹酚在大鼠脑缺血再灌注损伤(CI/R)中的作用及相关的机制。研究表明,香芹酚能显著降低氧化应激因子NO含量以及总NOS含量。保护作用可能与抗氧化应激以及抗细胞凋亡作用相关。胡艳芬等^[11]测定香芹酚和百里香酚单一成分及其联合使用对溶常见病原菌及常见益生菌的抑杀浓度。研究表明,在一定的药物浓度下香芹酚和百里香酚能够杀灭常见病原菌,并且对肠道益生菌也有一定的抑杀作用。徐晓鸿等^[12]探讨了香芹酚对大鼠急性肺损伤的作用,及其相关作用机制。研究表明,香芹酚可以抑制氧化应激反应,从而保护大鼠急性肺损伤。

3.2 综上所述,实验结果显示,香芹酚具有明显的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性,并且活性和药物浓度正相关。在清除DPPH、ABTS、羟自由基、超氧自由基,抑制脂质过氧化活性和抑制酪氨酸酶活性试验中,香芹酚的体系终浓度 IC_{50} 分别为 $100 \mu\text{mol/L}$ 、 $18.18 \mu\text{mol/L}$ 、 $16 \mu\text{mol/L}$ 、 $16 \mu\text{mol/L}$ 、 $12.5 \mu\text{mol/L}$ 和 $6.67 \mu\text{mol/L}$ 。作为阳性对照药物的山奈酚的体系终浓度

IC₅₀分别为 80 μmol/L、9.09 μmol/L、12 μmol/L、12 μmol/L、8.33 μmol/L 和 3.33 μmol/L。山奈酚具有 3 个酚羟基,香芹酚具有 1 个酚羟基,分子结构的不同,导致山奈酚和香芹酚抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性能力不同。总之,香芹酚具有很好的抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性,是值得进一步研究的抗衰老类候选药物、化妆品原料和食品添加剂。

参考文献

- [1] 刘敏,肖颖,左爱仁.根皮素、槲皮素、水飞蓟宾清除自由基和抑制脂质过氧化活性研究[J].中成药,2012,28(11):75-77
LIU Min, XIAO Ying, ZUO Ai-ren. The radical scavenging activity, lipid peroxidation inhibition activity of phloretin, quercetin and silybin [J]. Chinese Patent Medicine, 2012, 28(11): 75-77
- [2] Lee Y L, Yang J H, Mau J L. Antioxidant properties of water extracts from *Monascus* fermented soybeans [J]. Food Chem., 2008, 106: 1127-1137
- [3] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Radic. Biol. Med., 1999, 26(9-10): 1231-1237
- [4] De Avellar I G J, Magalhaes M M, Silvan A B, et al. Reevaluating the role of 1,10-phenanthroline in oxidative reactions involving ferrous ions and DNA damage [J]. Biochimica Biophysica Acta General Subjects, 2004, 1675(3): 46-53
- [5] Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase [J]. Eur. J Biochem., 1974, 47(3): 469-474
- [6] 刘敏,邵文祥,张灵芝,等.异鼠李素对蘑菇酪氨酸酶二酚酶活力的抑制机理[J].中国食品添加剂,2016,12:23-27
LIU Min, SHAO Wen-xiang, ZHANG Ling-zhi, et al. The inhibitory mechanism of isorhamnetin on mushroom tyrosinase [J]. Chinese Food Additive, 2016, 12: 23-27
- [7] 王锐,何媚,周云,等.山奈提取物抗氧化性能研究[J].广东农业科学,2011,156(6):156-157
WANG Rui, HE Mei, ZHOU Yun, et al. The antioxidant performance of galangal extract [J]. Journal of Guangdong Agricultural Sciences, 2011, 156(6): 156-157
- [8] 童方念,罗超,罗丹,等.朱名安.山奈酚对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].西安交通大学学报,2014, 35(6): 816-819
TONG Fang-nian, LUO Chao, LUO Dan, et al. Effects of kaempferol on acute liver injury in mice caused by carbon tetrachloride [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University, 2014, 35(6): 816-819
- [9] 张崇媛,胡萍,张红,等.香芹酚通过抗氧化及抗细胞凋亡途径抑制大鼠卵巢衰老[J].临床和实验医学杂志,2016,15: 1468-1471
ZHANG Chong-yuan, HU Ping, ZHANG Hong, et al. Carvacrol inhibits the aging of ovarian senescence in rats by anti-oxidative and anti-apoptotic pathways [J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2016, 15: 1468-1471
- [10] 南毛球,戴军,黄光辉,等.香芹酚通过抑制氧化应激和细胞凋亡保护大鼠脑缺血再灌注损伤[J].临床和实验医学杂志,2016,15(22):2185-2188
NAN Mao-qiu, DAI Jun, HUANG Guang-hui, et al. Carvacrol protect the ischemia reperfusion injury in rats by inhibiting oxidative stress and cell apoptosis [J]. Journal of Clinical and Laboratory Medicine, 2016, 22: 2185-2188
- [11] 胡艳芬,江文斌,蒋琳琳,等.百里香酚和香芹酚体外抑菌作用的研究[J].畜牧兽医科技信息,2010,10:107
HU Yan-fen, JIANG Wen-bin, JIANG Lin-lin, et al. The research on the antimicrobial effect of thymol and carvacrol *in vitro* [J]. Animal Husbandry Veterinary Technology Information, 2010, 10: 107
- [12] 徐晓鸿.香芹酚通过抑制氧化应激反应抑制大鼠急性肺损伤[J].临床和实验医学杂志,2017,16(4):320-322
XU Xiao-hong. Carvacrol inhibits the acute lung damage of rats by inhibiting oxidative stress [J]. Clinical and Experimental Medicine, 2010, 16(4): 320-322