

枸杞多糖对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用研究

李永盛^{1,2}, 王茂鹤^{2,3}, 刘建飞², 邸多隆², 刘晔玮^{1*}, 魏鉴腾^{2*}

¹兰州大学公共卫生学院 营养与食品卫生学研究所; ²中国科学院兰州化学物理研究所
中科院西北特色植物资源化学重点实验室; ³甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000

摘要:为探讨枸杞多糖(LBPs)对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用。枸杞样品经提取分离得到粗多糖(LBPs0)和不同分子量范围LBPs(LBPs1~LBPs4),利用人正常肝细胞(L-02细胞)评价LBPs对乙醇诱导肝细胞损伤的保护活性;MTT法测定细胞活力,比色法测定细胞培养液中ALT、AST和LDH的释放,DCFH-DA法测定细胞内活性氧(ROS)水平。结果显示,LBPs在0~200 μg/mL间对细胞增殖无抑制或促进作用,其可通过提高细胞活力、降低ALT、AST、LDH的释放和抑制细胞内ROS的产生而发挥对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用。不同分子量范围LBPs的活性不同,LBPs3最强,其次为LBPs4和LBPs2,LBPs1最弱。综上,LBPs可保护乙醇诱导的肝细胞损伤,分子量范围为5~10 kDa的LBPs3的活性最高,本实验结果可为LBPs保护肝损伤功能食品及药物的应用开发提供实验基础和理论指导。

关键词:枸杞多糖;分子量范围;乙醇;肝细胞损伤

中图分类号:R151.3

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)4-0549-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.4.002

Protective effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on ethanol-induced hepatocyte injury

LI Yong-sheng^{1,2}, WANG Mao-he^{2,3}, LIU Jian-fei², DI Duo-long², LIU Ye-wei^{1*}, WEI Jian-teng^{2*}

¹Institute of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Lanzhou University;

²CAS Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, Lanzhou
Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences (CAS);

³College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: To explore the protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides (LBPs) on ethanol-induced hepatocyte injury. Crude polysaccharides (LBPs0) and different molecular weight ranges LBPs (LBPs1-LBPs4) were extracted and separated from *Lycium barbarum* samples, human normal hepatocytes (L-02 cells) were used to evaluate the protective activity of LBPs on ethanol-induced hepatocyte injury; Cell activity was detected by MTT assay, the release of ALT, AST and LDH in cell culture was detected by colorimetry, and intracellular reactive oxygen species (ROS) were detected by DCFH-DA assay. The results showed that LBPs had no inhibition or promotion effect on cell proliferation between 0-200 μg/mL, and could protect ethanol-induced hepatocyte injury by increasing cell activity, reducing the release of ALT, AST and LDH, and inhibiting intracellular ROS production. The activity of LBPs in different molecular weight ranges was different, LBPs3 was the strongest, followed by LBPs4 and LBPs2, and LBPs1 was the weakest. In conclusion, LBPs can protect ethanol-induced hepatocyte injury, and LBPs3 with a molecular weight range of 5-10 kDa has the highest activity, the results of this experiment can provide experimental basis and theoretical guidance for the application and development of LBPs to protect liver injury functional food and drug.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharides; molecular weight range; ethanol; hepatocyte injury

收稿日期:2019-08-12

接受日期:2020-04-01

基金项目:甘肃省科技计划(18YF1FA126);甘肃省自然科学基金(18JR3RA381);宁夏回族自治区科技计划(2019BEF03003)

宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)是茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium* L.)多年生落叶灌木,其果实(枸杞子)作为常用的药食同源品种被列入“药食

*通信作者 Tel:86-931-8915011; E-mail:liuyw@lzu.edu.cn

同源物品目录”^[1,2]。枸杞多糖 (*Lycium barbarum polysaccharides*, LBP) 是从枸杞子中提取分离得到的一类活性多糖, 现代医学研究表明: LBP 具有抗氧化、预防和修复肝细胞损伤、降血糖、降血脂、抗肿瘤、抗炎等多种药理和生理活性, 在预防和治疗各种慢性疾病方面发挥着重要的作用^[3]。同时, LBP 已被证明在多种肝损伤模型中具有保护作用, 如 CCl_4 诱导的化学性肝损伤^[4]、药物性肝损伤^[5]、酒精性肝损伤^[6] 以及非酒精性脂肪肝^[7]。

近年来的研究表明, LBP 是一组水溶性糖复合物, 其种类繁多, 结构复杂, 含量约占干果总重量的 5% ~ 8%, 其分子量范围为 2 ~ 241 kDa^[8]。影响 LBP 活性的因素很多, 其中分子量是重要因素之一。如 Zhang 等^[9] 利用膜分离技术分离得到的平均分子量为 10.2 kDa 的 LBP-a4 表现出抑制 SMMC-7721 细胞增殖的活性, 但平均分子量为 6.50×10^3 kDa 的 LBP-p8 的作用相反, 其认为分子量是影响 LBP 凋亡诱导活性的关键因素。Tang 等^[10] 利用膜分离技术分离得到两种不同分子量范围 LBP, 其中平均分子量为 4.92 kDa 的 LBP 具有降糖活性。目前, LBP 保护乙醇诱导肝损伤活性的最佳分子量范围没有明确报道, 因此, 我们通过体外培养人正常肝细胞 (L-02 细胞) 建立乙醇诱导肝细胞损伤模型, 研究不同分子量范围 LBP 对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用, 得出 LBP 最佳分子量范围, 研究结果可为 LBP 保肝功能食品及药物的应用开发提供实验基础和理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验中所用样品为 2017 年采自我国宁夏中宁产区的宁杞 I 号枸杞, 经鉴定为宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实。LBP 由中科院西北特色植物资源化学重点实验室制备, 采用苯酚-硫酸比色法测定多糖含量^[11]。称取枸杞粉末 200.00 g, 以料液比 1:12 (g/g) 在 60 °C 下高速剪切 1 h (8 000 rpm), 抽滤后 70% 醇沉, 经冷冻干燥得粗多糖 (LBP₀), 其含量 (得率) 为 65.19% (8.92%)。LBP₀ 经水溶解、膜过滤、冷冻干燥得分子量截留值 (MWCO) 分别为 30、10、5、2 kDa 的不同分子量范围 LBP (LBP₁、LBP₂、LBP₃、LBP₄), 其含量 (得率) 依次为 74.90% (28.65%)、56.18% (21.55%)、62.42% (25.22%)、59.30% (16.75%)。

1.2 试剂与仪器

Hyclone RPMI 1640 培养基 (美国 Thermo Fisher 公司); 胎牛血清 (以色列 Biological Industries 公司); 无水乙醇 (分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 二甲基亚砜、噻唑蓝 (MTT)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性检测试剂盒和活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司); 谷丙转氨酶 (ALT) 试剂盒和谷草转氨酶 (AST) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

CCL-170T-8 型 ESCO CelCulture 二氧化碳恒温培养箱 (新加坡 ESCO 公司); SW-CJ-2FD 型单人单面净化工作台 (苏州净化设备有限公司); XD-30A 型倒置生物显微镜 (舜宇光学科技 (集团) 有限公司); XL-12K 型微量离心机 (湖南湘立科学仪器有限公司); DNM-9602G 型酶标分析仪 (北京普朗新技术有限公司); TU-1901 双光束紫外可见光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); FLUOROMAX-4P 瞬态荧光光谱仪 (日本 HORIBA 集团); FV1200 型激光扫描共聚焦显微镜 (日本 Olympus 集团)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

将人正常肝细胞 (L-02 细胞) 培养于含 10% FBS、1% 青-链霉素混合溶液的 RPMI-1640 培养基中, 在含有 5% CO_2 的 37 °C 恒温加湿培养箱中培养。

1.3.2 乙醇诱导肝细胞损伤模型的构建和 LBP 对肝细胞活力的影响

用 MTT 法筛选乙醇损伤浓度以构建乙醇诱导肝细胞损伤模型, 并考察不同分子量范围 LBP 对肝细胞活力的影响, 乙醇和 LBP 处理时间分别设定为 4 和 24 h^[12]。取对数生长期的 L-02 细胞, 接种于 96 孔板中 (5×10^3 个细胞/200 μL /孔), 37 °C 孵育 24 h。吸弃原有培养基, 分别加入含不同浓度乙醇 (0%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8% (V/V)) 的培养基培养 4 h、分别加入含不同浓度不同分子量范围 LBP (12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的培养基培养 24h, 每组设 6 个复孔。加入 MTT 溶液 (5 mg/mL, 20 μL /孔), 继续培养 3.5 h。吸弃原培养基, 加入二甲基亚砜 (DMSO, 150 μL /孔), 震荡 10 min, 待结晶物完全融解后, 用酶标仪在 495 nm 处测定各孔吸光度 (absorbance, A), 细胞活力计算公式:

$$\text{细胞活力} = \frac{A_{\text{干预组}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白孔}}} \times 100\%$$

1.3.3 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞活力的影响

取对数生长期的 L-02 细胞,接种于 96 孔板中 (5×10^3 个细胞/200 μL /孔),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h。实验设立正常对照组,乙醇损伤组,LBP_s 保护组,每组设 6 个复孔。吸弃原培养基,正常对照组加入新鲜培养基,乙醇损伤组和 LBP_s 保护组加入含适当浓度乙醇的培养基,培养 4 h。吸弃培养基,对照组和乙醇损伤组加入新鲜培养基,LBP_s 保护组加入含不同浓度不同分子量范围 LBP_s 的培养基,培养 24 h。用 MTT 法测定细胞活力。

1.3.4 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞培养液中 ALT、AST 和 LDH 释放的影响

为评价 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞中酶释放的影响程度,测定不同分子量范围 LBP_s 干预后培养细胞上清液中谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 的酶活力^[6]。取对数生长期的 L-02 细胞接种于 12 孔板中 (2.4×10^5 个细胞/2 mL/孔),每组设 3 个复孔,分组及干预方法同“1.3.3”,取培养细胞上清液待测。严格按照 ALT、AST 和 LDH 测定试剂盒说明书操作,根据标准曲线计算各组转氨酶活力。

1.3.5 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞内活性氧水平的影响

定性和定量检测 LBP_s 干预后细胞内活性氧

(ROS) 水平的变化,观察不同分子量范围 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞内 ROS 水平的影响^[12]。取对数生长期的 L-02 细胞接种于预先放置有 $\varphi 20$ mm 细胞爬片的 12 孔板中,每组设 3 个复孔,分组及干预条件同“1.3.3”。装载荧光探针:吸弃培养基后,各组加入 1 mL 含 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 探针的无血清培养基,孵育 20 min 后,用 PBS 洗涤细胞三次。在激发波长 488 nm 和发射波长 525 nm 条件下,用激光扫描共聚焦荧光显微镜定性观察各组细胞内荧光水平,用荧光光谱仪定量检测细胞内荧光强度,即 ROS 水平。

1.3.6 数据分析

利用 IBM SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析,使用 Dunnett 检验和 Tukey 检验进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 乙醇诱导肝细胞损伤模型的构建和 LBP_s 对肝细胞活力的影响

如图 1(A) 所示,细胞活力随乙醇浓度升高而逐渐降低,具有剂量依赖性。当乙醇损伤浓度为 5% 时,细胞活力为 $79.46\% \pm 2.95\%$,显著低于浓度为 0% 时的细胞活力 ($P < 0.01$),选择 5% 乙醇损伤细胞 4 h 构建乙醇诱导肝损伤模型。如图 1(B) 所示,LBP_s 浓度在 (0 ~ 200) $\mu\text{g/mL}$ 间的细胞活力无显著性差异 ($P > 0.05$),可知不同分子量范围 LBP_s 均对细胞增殖没有抑制和促进作用。

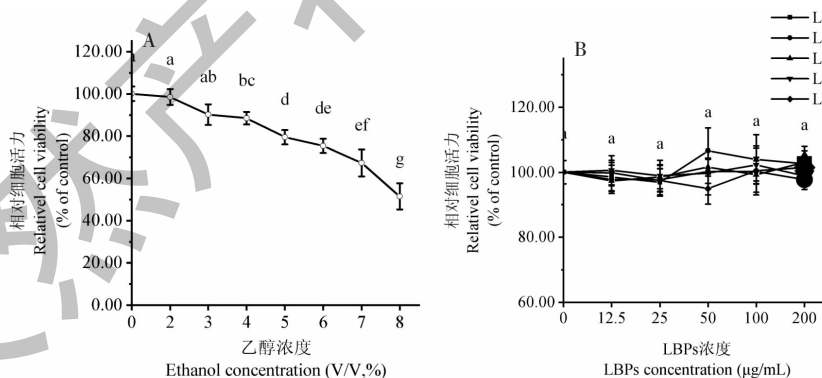


图 1 乙醇和 LBP_s 对肝细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effects of ethanol and LBP_s on hepatocyte viability ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:字母相同代表各数据之间无显著差异 ($P > 0.05$),字母不同表示各数据之间有显著差异 ($P < 0.05$)。Note: The same letters means that here is no significant difference among the data ($P > 0.05$), while different letters means that there is significant difference among the data ($P < 0.05$).

2.2 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞活力的影响

如图 2 所示,与对照组相比,乙醇损伤组细胞活力显著降低 ($P < 0.01$),细胞活力为 $72.02\% \pm 3.80\%$ 。与乙醇损伤组相比,当 LBP_s 浓度在 25 ~

100 $\mu\text{g/mL}$ 时,LBP_s0、LBP_s2、LBP_s3、LBP_s4 保护组的细胞活力均显著高于乙醇损伤组 ($P < 0.05$),在 LBP_s0 12.5 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 、LBP_s2 12.5 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$ 、LBP_s3 12.5 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 、LBP_s4 12.5 ~ 200 $\mu\text{g/mL}$

时的细胞活力随浓度增加而升高;LBP_s1 浓度在 12.5 ~ 200 μg/mL 间的细胞活力均与乙醇损伤组相比无统计学差异 ($P > 0.05$),且均低于其他分子量范围 LBP_s。除 LBP_s1 外,不同分子量范围 LBP_s 均在较低浓度 (25 μg/mL) 时即产生保护作用,故选取 25 μg/mL LBP_s 作用 24 h 进行后续酶活力和细胞内

ROS 水平测定。此外,由两两比较结果可知,LBP_s3 保护组在不同浓度下的细胞活力均高于其他 LBP_s 保护组。以上结果提示不同分子量范围 LBP_s 对乙醇诱导肝细胞损伤细胞活力的保护作用不同,LBP_s3 的保护作用最强。

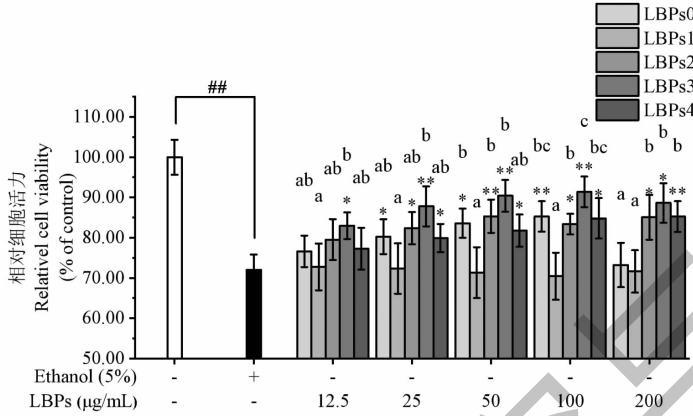


图2 LBP_s对乙醇诱导肝细胞损伤细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 The effect of LBP_s on the cell viability of ethanol-induced hepatocyte injury ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:与正常对照组相比## $P < 0.01$;与乙醇损伤组相比* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。同浓度不同分子量范围 LBP_s 的字母相同代表各数据之间无显著差异 ($P > 0.05$),字母不同表示各数据之间有显著差异 ($P < 0.05$)。Note:## $P < 0.01$ vs the control group;* $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ vs the ethanol group. The same letters of LBP_s in different molecular weight ranges at the same concentration means that there is no significant difference among the data ($P > 0.05$), while the different letters means that there is significant difference among the data ($P < 0.05$).

2.3 LBP_s对乙醇诱导肝细胞损伤细胞培养液中ALT、AST和LDH释放的影响

细胞培养液中ALT、AST和LDH酶活力水平测定结果见图3(A、B、C),乙醇损伤组细胞培养液中ALT、AST和LDH酶活力水平显著高于正常对照组 ($P < 0.01$),分别为正常对照组的3.10、3.25和1.86倍。经25 μg/mL LBP_s处理后,细胞培养液中

ALT、AST和LDH酶活力水平均显著低于乙醇损伤组 ($P < 0.05$),其中LBP_s3保护组酶活力最低,分别为乙醇损伤组的0.50、0.42和0.67倍。结果表明,乙醇可使细胞膜受损而使胞内大量的酶释放入细胞培养液,不同分子量范围LBP_s均可修复由乙醇引起胞内酶的释放,LBP_s3的修复作用最强。

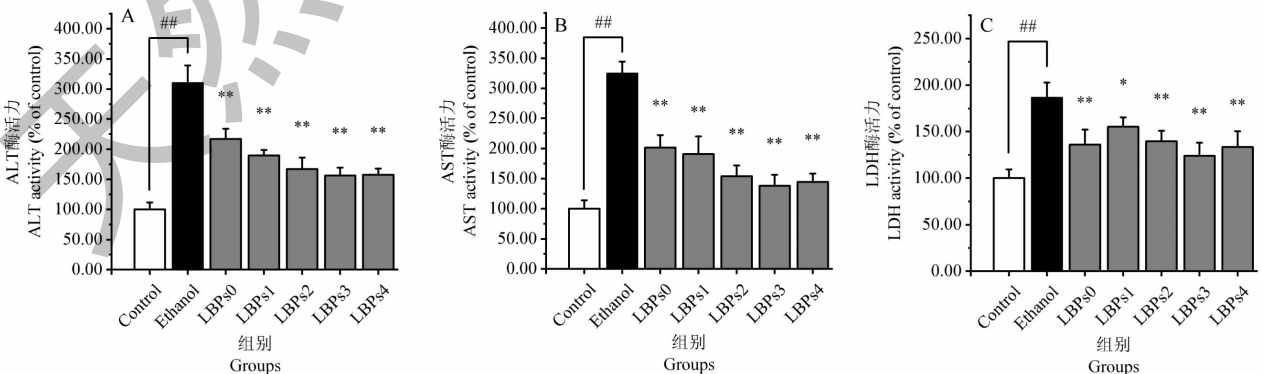
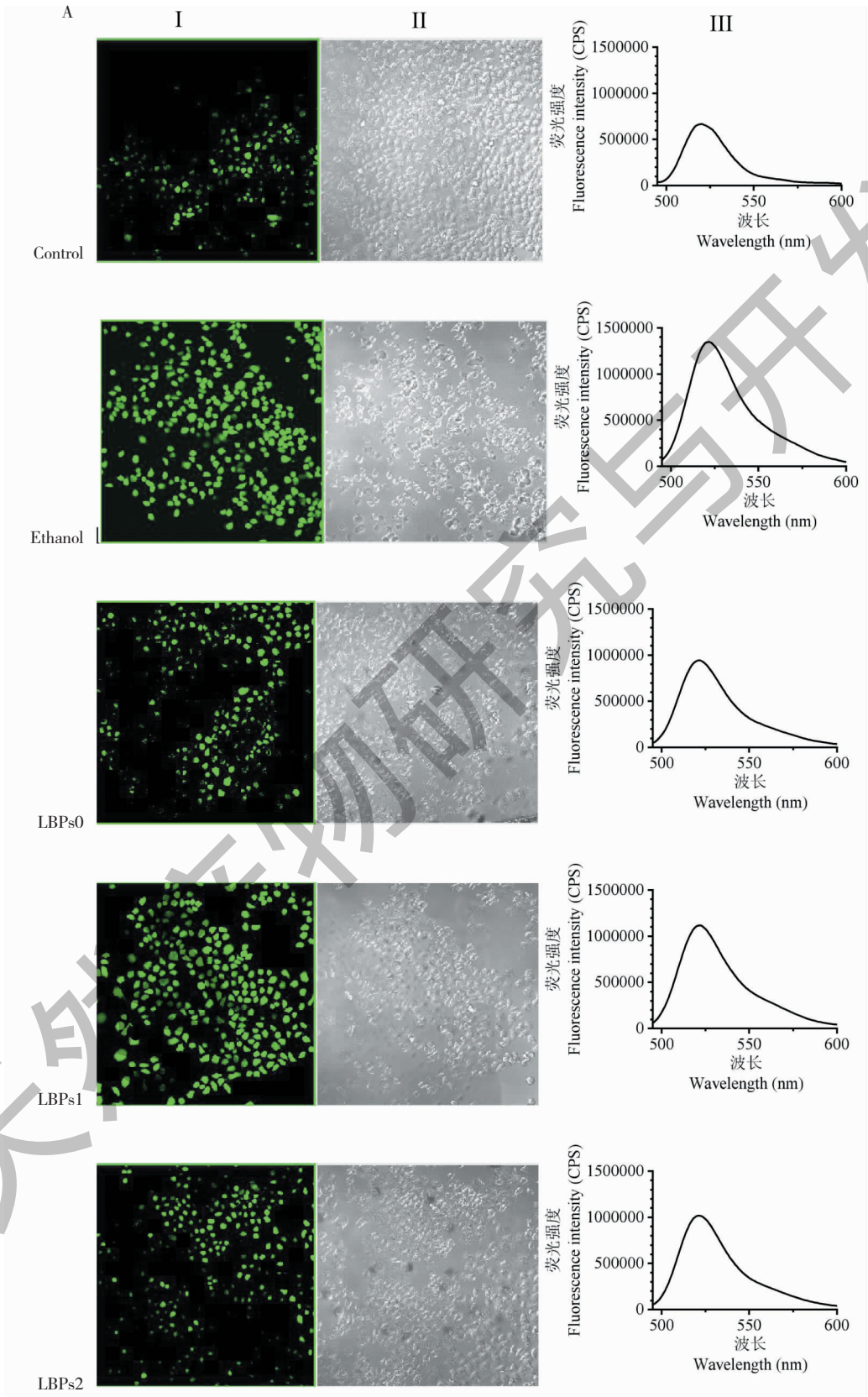


图3 LBP_s对乙醇诱导肝细胞损伤细胞培养液中ALT(A)、AST(B)和LDH(C)释放的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effects of LBP_s on the release of ALT (A),AST (B) and LDH (C) in ethanol-induced hepatocyte injury ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与正常对照组相比,## $P < 0.01$,与乙醇损伤组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。Note:## $P < 0.01$ vs the control group;* $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ vs the ethanol group.



续图 4(Continued Fig.4)

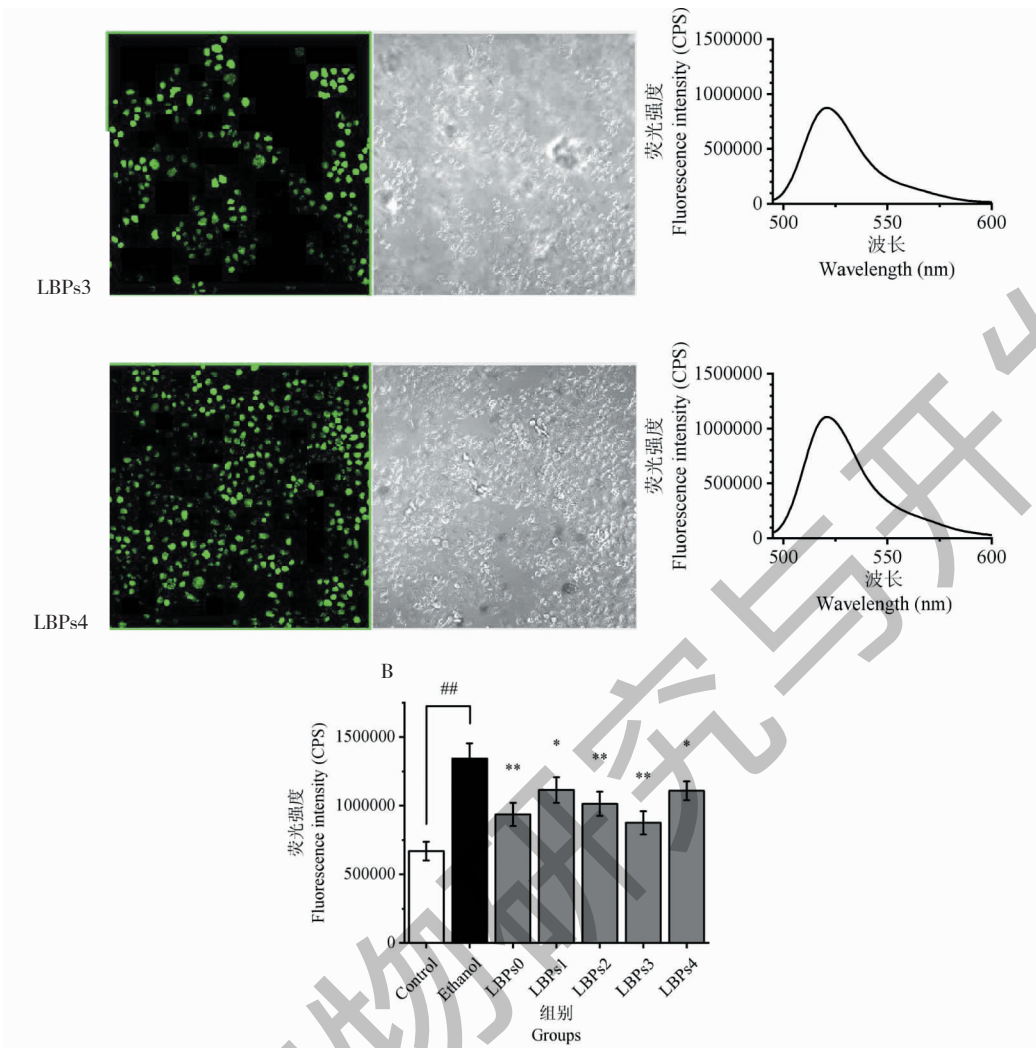


图4 LBP对乙醇诱导肝细胞损伤细胞内ROS水平的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effects of LBP on ROS levels in ethanol-induced hepatocyte injury ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注: 荧光染色通道镜下图(A-I); 正常镜下图(A-II); 细胞内荧光强度定量图(A-III); 细胞内荧光强度的柱状统计图(B); 与正常对照组相比 $^{##}P < 0.01$, 与乙醇损伤组相比 $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。Note: Fluorescence staining channel micrograph below (A-I); Normal micrograph below (A-II); Intracellular fluorescence intensity quantitative chart (A-III); Histogram of intracellular fluorescence intensity (B); $^{##}P < 0.01$ vs the control group; $^{*}P < 0.05$ and $^{**}P < 0.01$ vs the ethanol group.

2.4 LBP对乙醇诱导肝细胞损伤细胞内ROS水平的影响

由图4(A-I)可见,乙醇损伤组荧光强度较正常对照组明显升高,而LBP1、LBP2、LBP3、LBP4组明显低于乙醇损伤组。由图4(A-III)和图4(B)可知,与正常对照组相比,乙醇损伤组的荧光强度显著升高($P < 0.01$),与乙醇损伤组相比,LBP1、LBP2、LBP3和LBP4保护组的荧光强度值显著降低($P < 0.05$),分别较乙醇损伤组降低了17.11%、24.64%、34.87%、17.59%。结果表明,不同分子量范围LBP均对乙醇诱导的细胞内ROS水平升高有显著的抑制作用,LBP3的抑制作用最强。

3 讨论与结论

本研究利用MTT法对不同浓度不同分子量范围LBP的乙醇诱导肝损伤保护活性进行初步筛选,结果发现LBP0、LBP2、LBP3、LBP4对乙醇诱导肝细胞损伤的细胞活力随浓度增加而增高,且在较低浓度 $25 \mu\text{g/mL}$ 时即具有保护作用,与Zhang^[12]的研究一致,故使用 $25 \mu\text{g/mL}$ LBP作为干预条件进行后续研究。

诸多研究^[13,14]证实乙醇诱导的肝损伤依赖于ROS的生成,线粒体产生过量的ROS介导了氧化应激、细胞功能丧失并最终导致细胞凋亡或坏死。过量的ROS能促使细胞发生脂质过氧化使细胞器膜

或细胞膜受损,从而使胞内酶类(如转氨酶等)释放到细胞外^[15],肝转氨酶的释放水平与肝细胞损伤程度有密切联系,其释放是肝细胞受损的主要敏感指标^[16];过量的 ROS 还可损伤线粒体本身,从而介导线粒体凋亡途径,细胞内 LDH 则响应凋亡信号从细胞中释放出来,LDH 的释放是细胞凋亡的主要指标^[17]。LBP 是枸杞子主要的活性成分之一,大量研究发现 LBP 具有抗氧化活性^[3,18]。本研究表明,LBP 主要通过以下三方面作用发挥保护作用:扭转乙醇诱导的肝细胞活力降低;防止乙醇对肝细胞膜的损伤作用而使 ALT、AST、LDH 的释放降低;抑制乙醇所致肝细胞内 ROS 的产生。本研究发现 LBP 可显著降低乙醇诱导的肝细胞 ROS 水平,推测 LBP 对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用是通过抑制氧化应激而发挥的,与 Xiao 等^[7]和 Varoni 等^[5]的研究一致,后期应结合 LBP 的单糖组成、糖苷键和功能基团等结构特征深入探讨其抗氧化应激的分子机制。

近年的研究发现,多糖的生物活性与单糖组成、连接方式、分子量和构象等结构特征有关,分子量对生物活性的影响显著且复杂^[19,20]。研究显示,不同来源多糖其最佳活性的分子量范围不同;Deng 等^[11]利用膜分离技术分离得到 5 种 LBP,经动物实验发现 5 种 LBP 均对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长有抑制作用,且分子量范围为 40 ~ 350 kDa 的 LBP3 具有最佳活性;分子量范围为 15.2 ~ 40.1 kDa 的黄芪多糖具有显著的免疫活性^[21],平均分子量为 6.53 kDa 的紫球藻多糖的免疫调节活性和抗肿瘤活性最强^[22],平均分子量为 306.2 kDa 的香菇多糖具有最强的体内抗氧化活性^[23],平均分子量为 5.5 kDa 的红景天多糖的抗氧化活性及保肝活性比 425.7 kDa 的红景天多糖更强^[24]。本研究发现不同分子量范围 LBP 有不同程度的肝保护活性:分子量范围为 5 ~ 10 kDa 的 LBP3 的肝保护活性最强,其多糖含量和得率高(仅次于 LBP1,均高于 LBP4 和 LBP2);分子量范围分别为 2 ~ 5 kDa 和 10 ~ 30 kDa 的 LBP4 和 LBP2 的肝保护活性次之(二者的多糖含量和得率低);分子量范围为 > 30 kDa 的 LBP1 肝保护活性最弱。高分子量范围 LBP 活性低,可能是由于其具有较高的表观粘度和较差的水溶性,难以通过生物膜屏障和进入生物体细胞内发挥其功能,但其分子量范围过低,则难以形成有活性的聚合物构象^[23],本研究提示分子量范围适中的 LBP3 具

有较高的开发利用价值,结果与 Minjares 和 You 等^[23,25]的报道一致。

本研究表明:LBP 在 0 ~ 200 μg/mL 间对肝细胞增殖无抑制或促进作用,其可通过提高细胞活力,降低 ALT、AST、LDH 的释放和抑制细胞内 ROS 的产生而发挥对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用。不同分子量范围 LBP 对乙醇诱导肝细胞损伤的保护活性不同,分子量范围为 5 ~ 10 kDa 的 LBP3 最强,其次为 2 ~ 5 kDa 的 LBP4 和 10 ~ 30 kDa 的 LBP2, > 30 kDa 的 LBP1 最弱。本实验结果可为 LBP 保护肝细胞损伤功能食品及药物的应用开发提供实验基础和理论指导。

参考文献

- 1 Chinese Academy of Sciences "Flora of China" Editorial board. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Sci Press, 1978:13.
- 2 Chinese Ministry of Health. Ministry of health announced Medicinal and Edible items can be used in health food items list [N]. Chin News Tradit Chin Med (中国中医药报), 2002-03-11.
- 3 Jin M, Huang Q, Zhao K, et al. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L. [J]. Int J Biol Macromol, 2013, 54: 16-23.
- 4 Ciang YY, Chao JC. Olive oil combined with *Lycium barbarum* polysaccharides attenuates liver apoptosis and inflammation induced by carbon tetrachloride in rats [J]. J Funct Food, 2018, 48: 329-336.
- 5 Varoni MV, Pasciu V, Gadau SD, et al. Possible antioxidant effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on hepatic cadmium-induced oxidative stress in rats [J]. Environ Sci Pollut Res, 2016, 24: 2946-2955.
- 6 Wang F, Tipoe GL, Yang CQ, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide supplementation improves alcoholic liver injury in female mice by inhibiting stearoyl-CoA desaturase 1 [J]. Mol Nutr Food Res, 2018: 1800144.
- 7 Xiao J, Liang EC, Ching YP, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides protect rat liver from non-alcoholic steatohepatitis-induced injury [J]. Nutr Diabetes, 2013, 3(7): e81.
- 8 Amagase H, Farnsworth NR. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji) [J]. Food Res Int, 2011, 44: 1702-1717.
- 9 Zhang M, Tang X, Wang F, et al. Characterization of *Lycium barbarum* polysaccharide and its effect on human hepatoma

- cells[J]. *Int J Biol Macromol*,2013,61:270-275.
- 10 Tang HL, Chen C, Wang SK, et al. Biochemical analysis and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L[J]. *Int J Biol Macromol*,2015,77:235-242.
 - 11 Deng X, Li X, Luo S, et al. Antitumor activity of *Lycium barbarum* polysaccharides with different molecular weights; an *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Food Nutr Res*,2017,61(1):1399770.
 - 12 Zhang LH. Protective effect and mechanism of *Lycium barbarum* polysaccharides on alcoholic liver injury[D]. Lanzhou: Lanzhou University(兰州大学),2019.
 - 13 Dong F, Wu Q, Li XY, et al. Role of ROS in cadmium-induced oxidative damage and apoptosis in HK-2 cells[J]. *Chin J Cell Biol(中国细胞生物学学报)*,2018,40:1662-1669.
 - 14 Wu GF, Yang JC, Lv H, et al. Taurine prevents ethanol-induced apoptosis mediated by mitochondrial or death receptor pathways in liver cells[J]. *Amino Acids*,2018,50:863-875.
 - 15 Huang ZQ, Chen P, Su WW, et al. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of quercetin 7-rhamnoside *in vitro* and *in vivo*[J]. *Molecules*,2018,23:1188.
 - 16 Lee J, Yang J, Jeon J, et al. Hepatoprotective effect of esculetin on ethanol-induced liver injury in human HepG2 cells and C57BL/6J mice[J]. *J Funct Foods*,2018,40:536-543.
 - 17 Cui GT, Zhang WX, Zhang A, et al. Variation in antioxidant activities of polysaccharides from *Fructus Jujubae* in South Xinjiang area[J]. *Int J Biol Macromol*,2013,57:278-284.
 - 18 Li WJ, Wang CZ, Ye JZ, et al. Effect of different extraction order on the yield of *Lycium barbarum* pigment and polysaccharides and their antioxidant activities[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*,2019,31:932-939.
 - 19 Sheng J, Sun Y. Antioxidant properties of different molecular weight polysaccharides from *Athyrium multidentatum*(Doll.) Ching[J]. *Carbohydr Polym*,2014,108:41-45.
 - 20 YagI A, Hegazy S, Kabbash A, et al. Possible hypoglycemic effect of *Aloe vera* L. high molecular weight fractions on type 2 diabetic patients[J]. *Saudi Pharm J*,2009,17:209-215.
 - 21 Jiang Y, Qi X, Gao K, et al. Relationship between molecular weight, monosaccharide composition and immunobiologic activity of *Astragalus* polysaccharides[J]. *Glycoconjugate J*,2016,33:755-761.
 - 22 Sun L, Wang L, Zhou Y. Immunomodulation and antitumor activities of different-molecular-weight polysaccharides from *Porphyridium cruentum* [J]. *Carbohydr Polym*,2012,87:1206-1210.
 - 23 You R, Wang K, Liu J, et al. A comparison study between different molecular weight polysaccharides derived from *Leninus edodes* and their antioxidant activities *in vivo*[J]. *Pharm Biol*,2011,49:1298-1305.
 - 24 Xu Y, Jiang H, Sun C, et al. Antioxidant and hepatoprotective effects of purified *Rhodiola rosea* polysaccharides[J]. *Int J Biol Macromol*,2018,117:167-178.
 - 25 Minjares-Fuenteros R, Femenia A, Comas-Serra F, et al. Compositional and structural features of the main bioactive polysaccharides present in the *Aloe vera* plant[J]. *J AOAC Int*,2018,101:1711-1719.

(上接第 566 页)

- 12 Rasham SUD, Mujahid F, Rashid S, et al. Citric acid enhanced the antioxidant defense system and chromium uptake by *Lemna minor* L. grown in hydroponics under Cr stress[J]. *Environ Sci Pollut R*,2017,24(21):87-98.
- 13 Ma GC, Zhao LN, Bai HJ, Study on scavenging DPPH free radical activity of total flavonoids from *Allium vulgare* [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*,2015,27:1616-1619.
- 14 Lela K, Andrea R, Manuela C, et al. Assortative mating for telomere length and antioxidant capacity in barn swallows (*Hirundo rustica*) [J]. *Behav Ecol Sociobiol*,2017,71(8):121-143.
- 15 Dou ZH, Qiao J, Bian L, et al. A quality control method of rhubarb based on fingerprint and one measurement and multiple evaluation [J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*,2015,50:442-448.
- 16 Chen S, Wang HZ, Xue JF, et al. HPLC fingerprint analysis of gardenia golden flower pill and its correlation with its antioxidant activity *in vitro* [J]. *Chin Pharm(中国药房)*,2016,27:3077-3080.
- 17 Li MS, Liu L, Tian R, et al. The consistency of HPLC fingerprint and the relationship between antioxidant activity and activity [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*,2016,22(11):43-48.
- 18 YU P, LI K. Use Microsoft Excel to conduct grey correlation analysis of data[J]. *Microcomputer Appl(微型电脑应用)*,2011,27(3):29-33.
- 19 Faten B, Beligh M, Samia D, et al. The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations[J]. *Ind Crops Prod*,2012,38:146-152.