

二苯乙烯苷联合 PDTC 抗 H₂O₂ 诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡

龙石银, 杨滢, 高细强, 刘英, 乔新惠, 张彩平, 陈志军, 田英*
(南华大学生物化学与分子生物学教研室, 湖南 衡阳 421001)

[摘要] **目的:** 研究二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside, TSG)联合吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)对过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡的作用及机制。**方法:** 体外培养人脐静脉内皮细胞, 实验分为正常对照组、模型组(300 μmol·L⁻¹H₂O₂)、TSG组(10 μmol·L⁻¹TSG + 300 μmol·L⁻¹H₂O₂)、联合预处理组(75 μmol·L⁻¹PDTC + 10 μmol·L⁻¹TSG + 300 μmol·L⁻¹H₂O₂)、PDTC组(75 μmol·L⁻¹PDTC + 300 μmol·L⁻¹H₂O₂)。采用MTT法检测细胞增殖率, Hoechst 33258染色观察凋亡细胞形态, 流式细胞术检测细胞凋亡率, Western blot检测Caspase-3, 核因子-κB(NF-κB)蛋白的表达。**结果:** 与正常对照组比较, 模型组细胞凋亡率增加, 细胞增殖率降低; Caspase-3, NF-κB蛋白表达增加, 差异均有显著性(P < 0.01)。与模型组相比, 经TSG或PDTC预处理后, 细胞的增殖率增加, 细胞凋亡率降低; Caspase-3, NF-κB蛋白表达显著减少(P < 0.01)。联合预处理组与PDTC组或TSG组相比, 细胞活力增加, 细胞凋亡率下降; Caspase-3, NF-κB蛋白表达进一步减少(P < 0.01)。**结论:** PDTC或TSG预处理可抑制H₂O₂诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡, PDTC可联合TSG协同发挥抗H₂O₂诱导的内皮细胞凋亡, 其机制与抑制NF-κB、Caspase-3的表达有关。

[关键词] 二苯乙烯苷; 人脐静脉内皮细胞; 细胞凋亡; 核因子-κB

[中图分类号] R284. 1; R322. 12; R392. 11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0213-05

[doi] 10.11653/syfy201310213

Effect of TSG and PDTC on Apoptosis of HUVECs Induced by H₂O₂

LONG Shi-yin, YANG Ying, GAO Xi-qiang, LIU Ying, QIAO Xin-hui,
ZHANG Cai-ping, CHEN Zhi-jun, TIAN Ying*

(Dept of Biochemistry and Molecular Biology, University of South China, Hengyang 421001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-apoptotic effect and mechanism of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside (TSG) combined with pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on the apoptosis of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) induced by H₂O₂. **Method:** HUVECs were divided into five groups: control group, H₂O₂ group (300 μmol·L⁻¹), TSG group (10 μmol·L⁻¹TSG + 300 μmol·L⁻¹H₂O₂), TSG and PDTC combination group (75 μmol·L⁻¹PDTC + 10 μmol·L⁻¹TSG + 300 μmol·L⁻¹H₂O₂ group), PDTC group (75 μmol·L⁻¹PDTC + 300 μmol·L⁻¹H₂O₂). The viability of HUVECs was detected by MTT assay. The morphology of apoptosis was observed by Hoechst 33258 staining and the rate of apoptosis was determined by flow cytometry. The protein expressions of NF-κB, Caspase-3 were detected by Western-blot. **Result:** Compared with control group, H₂O₂ significantly increased the apoptosis, reduced the cell viability, and enhanced the expressions of NF-κB and Caspase-3 (P < 0.01). The proliferation rate increased significantly (P < 0.01) while the apoptosis rate decreased obviously in TSG or PDTC pretreatment group, and the expression of NF-κB and Caspase-3 down regulated (P < 0.05) compared with H₂O₂ group (P < 0.01). Combination of PDTC and

[收稿日期] 20130108(026)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30800474);湖南省教育厅重点项目(11A104);湖南省科技厅项目(2010SK3037);湖南省研究生创新项目(CX2010B385, CX2011B378)

[第一作者] 龙石银, 教授, 从事脂蛋白与动脉粥样硬化研究, Tel: 0734-8282847, E-mail: longshiyin@126.com

[通讯作者] * 田英, 教授, E-mail: uscty@163.com

TSG raised the cell viability and attenuated the cell apoptosis rates than pretreatment of TSG or PDTC alone, and the expression of NF- κ B and Caspase-3 decreased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Both PDTC and TSG pretreatment could inhibit HUVECs apoptosis induced by H_2O_2 , and the combination of PDTC and TSG can lead to the synergistic effect. The mechanism was associated with the expressions of NF- κ B and Caspase-3.

[**Key words**] TSG; HUVECs; apoptosis; NF- κ B

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种慢性炎症性疾病,在 AS 形成的早期及其发展过程中血管内皮细胞功能的损伤及炎症反应发挥着重要作用。在氧化应激,炎症因子等因素刺激下,血管内皮细胞受损,功能发生障碍,随后加速平滑肌细胞增殖、迁移进程,因此内膜损伤是动脉粥样硬化事件的始动环节。何首乌的水溶性成分二苯乙烯苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside, TSG)具有抗氧化、降脂、抗 AS 等作用^[1]。NF- κ B 是一种氧化还原敏感转录因子,与细胞凋亡及炎症反应^[2]相关。在静息状态下,NF- κ B 与其抑制蛋白 I- κ B 以无活性复合物形式存在,当细胞受到外界因素如氧化应激等刺激时,I- κ B 蛋白激酶被激活,I- κ B 磷酸化后与 NF- κ B 解离,NF- κ B 发生核易位,活化的 NF- κ B 与靶基因(如 Bcl-2 等)结合并调节参与细胞活动相关基因的表达,如可通过激活 Akt/PI3K,MAPK 通路诱发炎症反应^[3-5]。本课题组前期已成功构建 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 诱导的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)凋亡模型,前期研究结果显示:TSG 对 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 诱导的 HUVECs 细胞凋亡具有保护作用, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSG 能够明显抑制 H_2O_2 对人脐静脉内皮细胞 NF- κ B 的活化作用^[6]。为进一步探讨 TSG 保护 HUVECs 的作用机制,本研究采用 NF- κ B 阻断剂吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(pyrrrolidine dithiocarbamate, PDTC)作用细胞,观察细胞凋亡情况并检测凋亡相关蛋白的表达水平。

1 材料

1.1 细胞株 人脐静脉内皮细胞株 HUVEC-304(编号 C-003-5C)购自中国科学院细胞生物学研究所上海细胞库。

1.2 药品与试剂 TSG(中国药品生物制品检定所产品,编号 110844)。DMEM 培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清购自杭州四季青公司,胰蛋白酶购自 Amreso 公司, Hoechst33258 购自碧云天生物技术研究,逆转录试剂盒购自 MBI 公司,MTT 购自 Sigma 公司, Caspase-3 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司, GAPDH NF- κ B 抗体购自 Santa Cruz

Biotechnology, Inc 公司, H_2O_2 为天津北联精细化学品开发有限公司分析纯产品,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器 天寒 TH-86-340-LA 型超低温冰箱, 2300 型 CO_2 培养箱(SHEL LAB 公司); SW-CI-1F 型洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司), SHIMADZU 公司电子天平(Olympus 公司倒置显微镜), D-37520 Osterode 高速冷冻离心机(美国热电公司), DYY-6C 型电泳仪(北京六一仪器厂)。

2 方法

2.1 细胞培养及分组 人脐静脉内皮细胞接种于无菌培养瓶中,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基在 37°C , 5% CO_2 , 95% 饱和湿度条件下培养。按 5×10^7 个/L 为接种密度,平均接种到培养瓶中, 5mL/瓶,待细胞融合度为 70% 时,弃培养基, PBS 洗 2 遍,然后用无血清培养基同步 12 h 后随机分为:①正常对照组(10% 胎牛血清培养基培养),②模型组(含 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 的 10% 胎牛血清培养基诱导处理 24 h),③TSG 组(含 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSG 的 10% 胎牛血清培养基预处理 24 h,再用 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 诱导处理 24 h),④联合预处理组(先用含 $75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PDTC 的 10% 胎牛血清培养基预处理 1 h,再用含 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSG 的 10% 胎牛血清培养基预处理 24 h,最后用含 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 的 10% 胎牛血清培养基诱导处理 24 h),⑤PDTC 组(含 $75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PDTC 的 10% 胎牛血清培养基预处理 1 h,再用含 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 的 10% 胎牛血清培养基诱导处理 24 h)。正常对照组换新鲜培养基,每组设 3 个平行组。

2.2 Hoechst 33258 染色观察内皮细胞凋亡形态 取对数生长期的 HUVECs 进行实验,接种到 6 孔板中,接种密度为 5×10^7 个/L。细胞融合度达到 70% 时,用无血清培养基同步 12 h。用 PBS 缓冲液洗 1~2 遍,按分组要求处理各组细胞,每组设 3 个平行组。去培养液,用 4% 多聚甲醛 4°C 固定 20 min,吸出固定液, PBS 缓冲液漂洗 3 次,摇床震荡,每次 5 min。然后用 Hoechst 33258 染色 15 min,避光条件下漂洗 3 次,摇床震荡,每次 5 min。荧光显

显微镜下观察细胞形态并拍照。

2.3 检测细胞活力 取对数生长期的 HUVECs,细胞融合度达到 70% 时,无血清培养基同步 12 h,按分组要求处理细胞,每组设 3 个平行对照。每孔加入 150 μL 培养基,再加 5 g·L⁻¹ 的 MTT 20 μL,培养 4 h 后弃上清,加 DMSO 150 μL,震荡 10 min 后用测 A₄₉₀。

$$\text{细胞存活率} = \frac{\text{实验组 } A_{490}}{\text{对照组 } A_{490}} \times 100\%$$

2.4 内皮细胞凋亡率 取对数生长期的 HUVECs,按照 5 × 10⁷ 个/L 的接种密度接种到培养瓶中。细胞融合度达到 70%,无血清培养基同步 12 h,用 PBS 缓冲液洗 1 ~ 2 遍,按分组要求处理细胞,每组设 3 个平行组。用 0.25% 胰酶消化 5 min,将细胞吹打成细胞悬液,800 r·min⁻¹ 离心 5 min,弃上清。用 PBS 缓冲液吹打成悬液,800 r·min⁻¹ 离心 5 min,弃上清,重复 2 次。用 4 °C 预冷的 70% 冰乙醇固定,使细胞悬浮于其中,4 °C 固定 18 h 以上,PI 单染检测细胞凋亡。

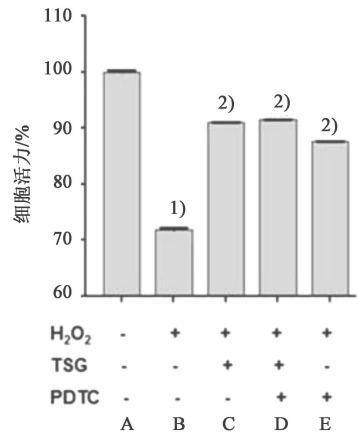
2.5 Western blot 检测蛋白表达 各组细胞经相应处理后,用细胞裂解液裂解细胞后提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白质含量。每组取 60 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳分离,转移到 PVDF 膜上,用含 5% 牛奶的封闭液封闭 1 ~ 2 h,加入 1:1 000 稀释的一抗(兔抗人 NF-κB 单克隆抗体、兔抗人 Caspase-3 单克隆抗体、兔抗人 GAPDH 多克隆抗体)4 °C 孵育过夜,TBST 缓冲液(0.05% Tween-20 的 TBS 缓冲液)洗膜 3 次,每次 10 min,以 1:5 000 稀释 HRP 标记的二抗,室温孵育 1 ~ 2 h,TBST 洗膜 3 次,每次 15 min,化学发光试剂显色,胶片显影,扫描胶片后用凝胶图像分析系统测 A。

2.6 统计学分析 所有数据采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行处理,所得到的数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,有统计学差异为 $P < 0.05$,多组间均数比较用单因素方差分析。

3 结果

3.1 TSG 改善 H₂O₂ 对 HUVECs 细胞活力的抑制作用 MTT 检测结果如图 1 所示,与正常对照组比较,模型组细胞的活力明显下降 ($P < 0.01$);TSG 组、PDTC 组以及联合预处理组的细胞活力较模型组均有显著升高 ($P < 0.01$),表明 TSG 或 PDTC 预处理均能显著减轻 H₂O₂ 对 HUVECs 生长活力的抑制作用。

3.2 TSG 联合 PDTC 改善 H₂O₂ 诱导的内皮细胞损伤 Hoechst 33258 染色后,在荧光倒置显微镜下观



与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$

A. 正常对照组; B. 模型组; C. TSG 10 μmol·L⁻¹ 组;

D. 联合预处理 10 μmol·L⁻¹ TSG + 75 μmol·L⁻¹ PDTC 组;

E. PDTC 75 μmol·L⁻¹ 组(图 2 ~ 4 同)

图 1 不同处理因素对 HUVEC 细胞活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

察 HUVECs 的凋亡情况,结果如图 2 所示,正常细胞的细胞核呈浅蓝淡染的椭圆形,模型组可见凋亡的细胞核固缩,呈致密浓染、亮蓝色的颗粒状结构。TSG 组、PDTC 组及联合预处理组,亮蓝致密浓染的颗粒状结构减少。流式细胞仪检测细胞凋亡,结果如表 1 所示,模型组凋亡率较正常对照组显著增加;TSG 组、PDTC 组及联合预处理组细胞的凋亡率均较模型组明显降低 ($P < 0.01$),其中联合预处理组较 TSG 组或 PDTC 组细胞凋亡率更低。

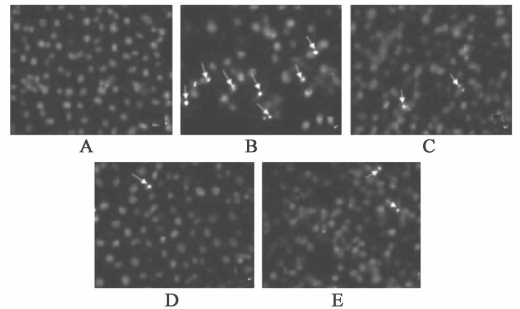


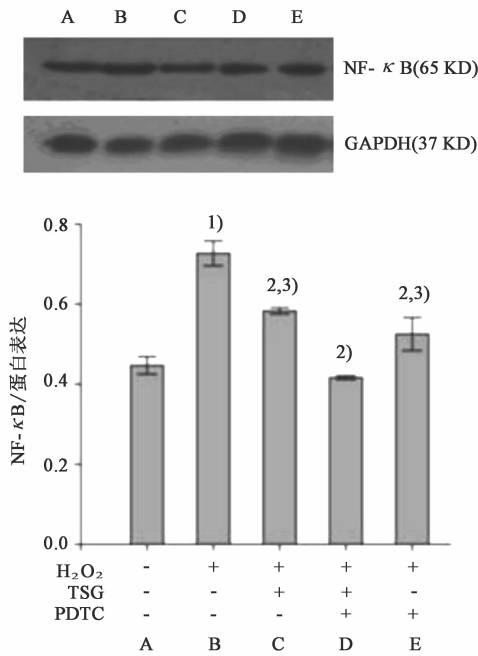
图 2 TSG、PDTC 对 H₂O₂ 诱导的 HUVECs 细胞凋亡的影响(×200)

3.3 NF-κB 抑制剂 PDTC 与 TSG 协同发挥 HUVEC 保护作用 Western-blot 检测结果如图 3,4 所示,与正常对照组比较,模型组 NF-κB, Caspase-3 蛋白的表达均显著升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,TSG 组、PDTC 组以及联合预处理组 NF-κB, Caspase-3 蛋白水平均显著降低 ($P < 0.01$)。联合预处理组与 TSG 组或 PDTC 组比较,NF-κB, Caspase-3 蛋白表达均明显降低 ($P < 0.01$)。

表 1 二苯乙烯苷联合 PDTC 对 H₂O₂ 诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分组	浓度	G ₁	S	G ₂	细胞凋亡率
正常对照	-	49.2 ± 3.2	39.6 ± 1.1	11.1 ± 1.2	0.07 ± 0.0
模型	-	15.3 ± 5.1	59.4 ± 3.1	25.4 ± 4.7	27.5 ± 3.9 ¹⁾
TSG	10 μmol·L ⁻¹	19.6 ± 3.5	49.7 ± 8.1	30.8 ± 5.4	1.5 ± 0.3 ²⁾
联合预处理	10 μmol·L ⁻¹ TSG + 75 μmol·L ⁻¹ PDTC	18.6 ± 3.8	44.7 ± 7.0	16.8 ± 2.0	1.3 ± 0.3 ²⁾
PDTC	75 μmol·L ⁻¹	34.6 ± 5.6	49.3 ± 7.8	16.1 ± 2.0	6.0 ± 0.4 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ P < 0.01; 与模型组比较²⁾ P < 0.01。



与正常对照组比较¹⁾ P < 0.01; 与模型组比较²⁾ P < 0.01;
与联合预处理组比较³⁾ P < 0.01 (图 4 同)
图 3 TSG, PDTC 预处理对 NF-κB 蛋白
表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

动脉粥样硬化是动脉硬化的血管病中常见的最重要的一种,其特点是受累动脉病变从内膜开始在动脉壁上沉积了一层脂类,使动脉弹性减低、管腔变窄。NF-κB 是具有重要生理功能的转录因子, NF-κB 的激活与炎症反应,细胞凋亡及血管生成和凋亡相关^[7]。早在 1996 年就有研究表明 NF-κB 的激活参与了动脉硬化的形成^[8]。另有研究显示在 AS 斑块中存在明显的 NF-κB 激活及其抑制蛋白 I-κB 的降解^[9]。近年来研究发现炎症细胞因子如 TNF-α^[10]或晚期糖基化终末产物 (AGEs) 可通过激活 NF-κB 通路来加速动脉硬化进程^[11]。PDTC 是 NF-κB 的特异性抑制剂,也是一种强抗氧化剂,既能直接清除 ROS,又具有螯合金属离子的作用,能特异性抑制 NF-κB 表达或抑制 I-κB 降解,减少

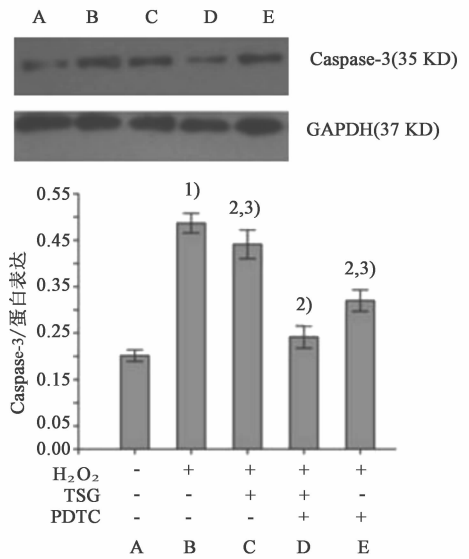


图 4 TSG, PDTC 预处理对 Caspase-3 蛋白
表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

NF-κB 的核移位,从而抑制其活性^[12]。从中药何首乌中提取得到的水溶性活性成分 TSG 具有抗氧化,抗炎,抗 AS 等作用。有研究表明 TSG 能够通过调节 JNK 通路并减少 ROS 的生成,从而发挥抗 MPP⁺ 诱导的 PC12 细胞凋亡作用^[13]。NF-κB 的下游靶基因 P-selectin 表达的增多预示冠状动脉粥样硬化程度的加重, MCP-1 的增高提示动脉粥样斑块的不稳定性。经 TSG 预处理后可减轻 H₂O₂ 对人脐静脉内皮细胞 P-selectin、MCP-1 mRNA 表达的促进作用^[14]。AGEs 与内皮细胞表面受体的结合可使内皮层的通透性增加,降低血管的舒张功能从而增加血栓的形成机会。TSG 作用 24 h 60% 的 AGEs 的前体丙酮醛 (MGO) 可被清除^[15]。本研究结果显示, 300 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 作用 HUVECs 24 h 后,能显著抑制细胞增殖,细胞凋亡率明显增加;并上调内皮细胞中 NF-κB, Caspase-3 蛋白水平,提示在内皮细胞凋亡的过程中, H₂O₂ 可能通过促进 I-κB 的降解,使 NF-κB 信号通路激活,诱发细胞凋亡。TSG 预处理后细胞形态明显改善,

细胞活力明显增强,细胞凋亡明显抑制,同时降低 NF- κ B, Caspase-3 蛋白表达水平。表明在 H₂O₂ 诱导的内皮细胞凋亡模型中, TSG 可能通过调节内皮细胞 NF- κ B/ I- κ B 信号通路, 抑制 NF- κ B 活化而发挥抗内皮细胞凋亡作用。用 NF- κ B 阻断剂 PDTC 预处理后, 经 H₂O₂ 氧化损伤后的内皮细胞的增殖率有所升高、凋亡率降低, Caspase-3 表达减少, 表明阻断 NF- κ B 通路后, Caspase-3 表达受抑制, 内皮细胞损伤现象明显改善。与 PDTC 组或 TSG 组相比, PDTC 和 TSG 联合预处理组的细胞凋亡率有所降低, 且 NF- κ B, Caspase-3 的蛋白表达水平进一步下降 ($P < 0.01$), 说明 PDTC 和 TSG 联合预处理较单独预处理有更好的细胞保护效果。综合以上结果, TSG, PDTC 预处理以及两者联合预处理均能减轻 H₂O₂ 对内皮细胞的损伤作用, 且两者联合预处理比 TSG 或 PDTC 单独预处理有更显著的细胞保护作用, 表明 TSG 和 PDTC 协同抗 H₂O₂ 诱导的内皮细胞凋亡。

[参考文献]

- [1] 崔慧辉, 田英, 龙石银, 等. 二苯乙烯苷抗动脉粥样硬化的作用和机制[J]. 现代生物医学进展, 2009, 20(9):3968.
- [2] Lan W, Petznick A, Heryati S, et al. Nuclear factor- κ B: central regulator in ocular surface inflammation and diseases [J]. Ocul Surf, 2012, 10(3):137.
- [3] O'Donnell R A, Richter A, Ward J, et al. Expression of ErbB receptors and mucins in the airways of long term current smokers[J]. Thorax, 2004, 59(12):1032.
- [4] Shao M X, Nakanaga T, Nadel J A. Cigarette smoke induces MUC5AC mucin overproduction via tumor necrosis factor- α -converting enzyme in human airway epithelial (NCI-H292) cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 287(2):420.
- [5] Takeyama K, Jung B, Shim J J, et al. Activation of epidermal growth factor receptors is responsible for mucin synthesis induced by cigarette smoke [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001, 280(1):165.
- [6] 龙石银, 张彩平, 高细强, 等. NF- κ B/I- κ B 在二苯乙

烯苷抑制过氧化诱导内皮细胞凋亡中的表达变化 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(10):1353.

- [7] Mistry P, Deacon K, Mistry S, et al. NF- κ B promotes survival during mitotic cell cycle arrest [J]. J Biol Chem, 2004, 279(2):1482.
- [8] Brand K, Page S, Rogler G, et al. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion [J]. J Clin Invest, 1996, 97(7):1715.
- [9] Chen H, Li D, Mehta J L. Modulation of matrix metalloproteinase-1, its tissue inhibitor, and nuclear factor-kappa B by losartan in hypercholesterolemic rabbits [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2002, 39(3):332.
- [10] Lee C W, Lin C C, Lee I T, et al. Activation and induction of cytosolic phospholipase A2 by TNF- α mediated through Nox2, MAPKs, NF- κ B, and p300 in human tracheal smooth muscle cells [J]. J Cell Physiol, 2011, 226(8):2103.
- [11] Yoon S J, Yoon Y W, Lee B K, et al. Potential role of HMG CoA reductase inhibitor on oxidative stress induced by advanced glycation endproducts in vascular smooth muscle cells of diabetic vasculopathy [J]. Exp Mol Med, 2009, 41(11):802.
- [12] Nuutinen U, Simelius N, Ropponen A, et al. PDTC enables type I TRAIL signaling in type II follicular lymphoma cells [J]. Leuk Res, 2009, 33(6):829.
- [13] Li X, Li Y, Chen J, et al. Tetrahydroxystilbene glucoside attenuates MPP+ -induced apoptosis in PC12 cells by inhibiting ROS generation and modulating JNK activation [J]. Neurosci Lett, 2010, 483(1):1.
- [14] 张彩平, 杨滢, 田英, 等. 二苯乙烯苷对 H₂O₂ 诱导血管内皮细胞粘附分子表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(8):1088.
- [15] LV L, Shao X, Wang L, et al. Stilbene glucoside from polygonum multiflorum thunb: A novel natural inhibitor of advanced glycation end product formation by trapping of methylglyoxal [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(4):2239.

[责任编辑 聂淑琴]