

油茶总皂苷的抗氧化及清除自由基能力初步研究

吕晓玲, 邱松山, 孙晓侠, 李肇奖
(天津科技大学, 天津 300222)

摘要: 本文对所提取的油茶总皂苷进行定性分析并测定其含量, 研究了对由亚铁离子引发的卵磷脂脂质过氧化的抑制作用、清除 Fenton 反应生成的羟自由基的能力、清除超氧阴离子自由基的能力、对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用, 实验结果显示油茶总皂苷具有显著的抗氧化性和对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用, 对化学反应生成的活性氧自由基具有显著的清除作用。

关键词: 油茶总皂苷; 脂质过氧化; 活性氧自由基; 抗氧化作用

Preliminary Study on the Capability of Antioxidation and Scavenging Free Radicals of Sasanquasaponins

LÜ Xiao-ling, QIU Song-shan, SUN Xiao-xia, LI Zhao-jiang
(Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: The experiment analyzed and measured the content of Sasanquasaponins and studied its capability to clear hydroxyl free radical ($\cdot\text{OH}$) produced by Fenton reaction and to clear superoxide anion ($\text{O}_2\cdot^-$). The results manifested that sasanqua have stronger antioxidant capability, inhibition capability of TBARS formation in Fe^{2+} induced liposome and strong inhibition capability of oxidation of 2'-deoxyribose and could clear active oxygen radicals produced by the chemical reactions.

Key words: Sasanquasaponins; lipid peroxide; active oxygen radicals; antioxidation

中图分类号 TS221

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0086-05

近年来, 大量研究报道表明, 体内自由基导致的脂质过氧化与抗氧化的平衡与一些疾病的发生和发展有密切关系, 如机体衰老、肿瘤、心脑血管病等^[1]。超氧阴离子自由基(Superoxide anion, $\text{O}_2\cdot^-$)、羟自由基(Hydroxyl radical, $\cdot\text{OH}$)等是生物体内主要的活性氧自由基, 由它们所引发的体内脂质过氧化, 是人类疾病发生和衰老的重要原因, 因而, 抑制脂质过氧化物或增强抗氧化功能对防御疾病有重大意义。

油茶皂苷(Sasanquasaponins)属于三萜类皂苷, 简称皂苷(saponins), 是一类比较复杂的化合物, 广泛存在于植物界。油茶籽饼中所含为三萜皂苷, 是皂苷元结构糖相连接的多糖苷, 其结构如图 1。

油茶皂苷分子中具有亲水性的糖体和疏水性的配位基团, 是优良天然非离子型表面活性剂, 并具有多种生理活性和生理功能, 可用作杀菌剂、杀虫剂、利

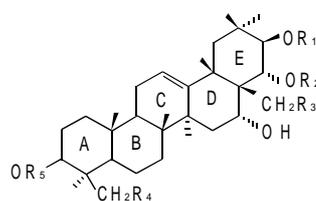


图1 油茶皂苷分子结构

Fig.1 Sasanquasaponins molecule structural

尿剂等^[2,3]。目前国内外对油茶皂苷的分离提取研究的较多, 生理活性方面的研究主要集中在抑菌^[4]、消炎^[5]、杀精子^[6]等方面, 其抗氧化能力等生理功能方面的作用机理的研究报道还不具有系统性, 不利于油茶皂苷的更进一步的开发与应用。

本文研究了油茶总皂苷对由亚铁离子引发的卵磷脂脂质过氧化的抑制作用、清除 Fenton 反应生成的羟自由

收稿日期: 2004-11-26

作者简介: 吕晓玲(1960-), 女, 教授, 研究方向为天然产物研究与开发。

基的能力、清除超氧阴离子自由基的能力、对脱氧核糖氧化损伤抑制作用, 并对其作用机制进行探讨。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

油茶籽饼 购自福建三明 油茶皂苷标准品 购自湖南汉生生物科技公司, 经薄层制备分离而得。

硫代巴比妥酸(简称TBA) 上海恒信化工厂; 2'-脱氧核糖(2'-deoxyribose, Ultra Pure) AMRESCO分; 抗坏血酸 天津科密欧化学试剂开发中心; 三羟甲基氨基甲烷(简称Tris) 天津市瑞金特化学品有限公司 苯甲酸, 没食子酸, 硫脲, 三氯化铁, 六氰合铁酸钾, 三氯醋酸(简称TCA), H_2O_2 , EDTA- Na_2 : 均为国产分析纯; 卵磷脂(lecitin, B.R.) 华东师范大学化工厂, 其余均为实验室常用分析纯试剂。

D4020 大孔吸附树脂、阳离子交换树脂购自天津南开大学化工厂。

1.2 实验仪器

索氏提取器 天津市玻璃仪器厂; Beckman Avanti J-10 离心机 德国Beckman公司; ZFQ A203 旋转薄膜蒸发器 天津市玻璃仪器厂; UV-9100紫外可见分光光度计 北京瑞利分析仪器有限公司 H.H.S11-B电热恒温水浴锅 上海医疗器械五厂; FA2004 分析天平 上海精科天平公司; RF-5301PC 荧光分光光度计 日本岛津制作所等。

1.3 实验方法

1.3.1 油茶总皂苷的制备^[7]

油茶籽饼 105℃干燥2h, 控制水分<5%, 研碎, 过40~60目筛。加20倍量石油醚, 索氏抽提至抽提液无色, 除去油脂, 按液比1:15(W/V)加入, 65%乙醇做提取剂, 在60℃水浴中浸提1.5h, 三次, 合并浸提液并浓缩至原体积的三分之一, 加入1%的硫酸铝, 80℃搅拌1h, 过滤, 滤液过阳离子交换树脂、D4020大孔吸附树脂, 滤液减压浓缩得油茶总皂苷。

1.3.2 Liebermann反应^[8]

取油茶总皂苷少许溶于乙酸酐中, 加入浓硫酸一滴, 观察颜色变化。

1.3.3 油茶总皂苷的含量测定

1.3.3.1 标准曲线的制备

参考文献[7]中的方法, 精密吸取油茶皂苷标准品溶液各0.1、0.15、0.20、0.25、0.30ml, 按文献所述的方法进行测定, 所得的标准曲线为:

$$y=0.3572x-0.0467$$

$$\text{相关系数: } R^2=0.9932$$

式中: x—吸光度; y—浓度, mg/ml。

1.3.3.2 油茶总皂苷的含量测定

精密称取10mg油茶皂苷, 配制成1ml水溶液, 测定方法同1.3.3.1。

1.3.4 抑制脂质体过氧化作用的测定^[9~11]

1.3.4.1 试液的配制

脂质体PBS分散系(LLS): 300mg卵磷脂溶解于30ml 10mmol/L pH7.4 PBS, 冰浴震荡。三氯醋酸(TCA)-硫代巴比妥酸(TBA)-盐酸(HCl)混合液: 15gTCA, 0.375gTBA, 2.1ml浓盐酸依序放入100ml重蒸水中。

1.3.4.2 测定步骤

于样品管中依次加入1.0ml卵磷脂溶液(LLS)、1.0ml 400μmol/L三氯化铁溶液、1.0ml 400μmol/L抗坏血酸和1.0ml样品, 混匀, 避光, 于37℃水浴中培养60min, 再加入2.0ml TCA-TBA-HCl混合液, 90~100℃水浴中反应15min, 冰水中冷却, 以2000r/min转速离心10min, 取上清液在535nm测吸光值 A_s 。空白管以1.0ml重蒸水代替1.0ml样品, 操作方法同样品管, 可测得空白管的吸光度 A_c (以硫脲作为标样, 操作同上)。

1.3.5 清除羟自由基能力的测定^[12,13]

取含30mmol/L苯甲酸的磷酸缓冲液(150mmol/L, pH7.0)2.0ml, 依次加入20mmol/L EDTA和12mmol/L $FeSO_4$ 混合液0.1ml、不同浓度的油茶总皂苷以及100mmol/L H_2O_2 溶液0.1ml, 并用磷酸缓冲液稀释至4ml, 混匀, 置37℃水浴中保温1h后, 以荧光分光光度计($Ex=300nm$; $Em=408nm$; 入射、出射狭缝均为3μm)测其吸光强度, 计算羟自由基清除率。(以抗坏血酸作为标样, 操作同上)

$$\text{清除率(\%)} = \frac{F_c - F_s}{F_c} \times 100$$

F_c : 不含有待测物的反应液的吸光度值

F_s : 含有待测物的反应液的吸光度值

1.3.6 油茶总皂苷的清除超氧阴离子自由基的能力测定^[14,15]

采用邻苯三酚自氧化法。取4.50ml 0.1mol/L Tris-HCl缓冲液(pH8.2), 依次加入1.00ml乙二胺四乙酸钠(EDTA)溶液, 1.00ml样品溶液, 2.40ml水, 混匀, 于25℃水浴中反应10min, 再加入100μl 9mmol/L邻苯三酚, 加入计时, 混匀, 准确反应60min后, 加入50μl 12mol/L HCl溶液, 终止反应, 在325nm处测定吸光度值 A_s 。空白管以1.00ml蒸馏水代替1.00ml样品, 操作方法同样品管, 可测得空白管的吸光度 A_c 。

$$\text{清除率(\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_s : 含有待测物的反应液于325nm的吸光度值;

A_c : 不含有待测物的反应液于325nm的吸光度值。

1.3.7 对脱氧核糖氧化损伤的影响^[10]

取不同浓度的油茶总皂苷溶液各 1.0ml, 依次与 1.0ml 400 μ mol/L 三氯化铁溶液、1.0ml 400 μ mol/L EDTA、1.0ml 20mmol/L (pH7.4) KH₂PO₄-KOH 缓冲液、1.0ml 3mmol/L H₂O₂、1.0ml 6mmol/L 2'-脱氧核糖与 1.0ml 400 μ mol/L 抗坏血酸混合均匀。将此试液于 37 $^{\circ}$ C 条件下水浴中培养 60min, 加入 2.0ml TCA-TBA-HCl (15g TCA, 0.375g TBA 及 2.1ml HCl, 依序放入 100ml 甲醇中), 于 97~100 $^{\circ}$ C 水浴中反应 15min, 冷却后在 532nm 处测其吸光度, 记为 A_s。空白管用 1ml 重蒸水代替 1ml 样品, 操作方法同样品管, 可测得空白管的吸光度 A_c。

$$\text{抑制率 IC}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 油茶总皂苷的定性

Liebermann 反应的颜色反应呈阳性, 说明提取物中含有三萜类皂苷。

2.2 油茶总皂苷的含量

实验中采用建立标准曲线的方法确定油茶总皂苷的含量。按照 1.3.1 方法测定制备的油茶总皂苷含量为 84 \pm 0.21% (质量比)。

2.3 油茶总皂苷抑制脂质过氧化作用

本文选择了常用的由 Fe²⁺ 引发的卵磷脂磷酸缓冲液分散系, 通过检测卵磷脂的氧化产物 - 过氧化物经分解产生的二级产物丙二醛 (MDA) 来衡量脂质体的氧化程度。

在酸性条件下发生如下反应, 生成的粉红色物质 TBARS 在 532nm 的有特征吸收值^[18]。

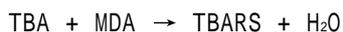


表 1 油茶总皂苷和抗坏血酸抑制脂质过氧化作用的比较

Table 1 Compare of inhibiting lipid peroxide between camellia saponins and Vitamin C

组别	浓度 (mg/L)	抑制率 I (%)
空白	0	0
油茶总皂苷	10	16.85
	50	28.63
	100	35.42
	500	61.54
抗坏血酸	10	3.6
	50	10.24
	100	18.3
	500	37.9

由表 1 可知, 在本实验所测定的浓度范围内, 油茶总皂苷与抗坏血酸对由 Fe²⁺ 引发的卵磷脂分散系过氧化的抑制能力均随其浓度的增大而增大, 在其加入量较小 (浓度较低) 时, 加入量与清除率表现出量效关系, 当浓度增大到一定值时, 清除率几乎不再随浓度的增加而

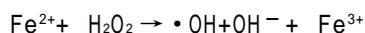
改变, 此时体系中产生的自由基几乎全部被清除。

其可能的反应机理为: Fe²⁺ 促进过氧化脂 (ROOH) 和脂分子 (RH) 的分解和氧分子的活化产生自由基, 从而生成多种可以进入脂质氧化链式反应, 促进反应发生和进行的游离基^[16], 在 Fe²⁺ 的催化作用下, 发生如下均裂反应, 生成自由基传递式反应, 形成新的自由基。



2.4 油茶总皂苷清除羟自由基的能力

为了定量测定油茶皂苷对羟基自由基的清除能力, 利用 Fenton 反应^[17]产生羟基自由基, H₂O₂ 在 Fe²⁺ 存在的情况下可生成 $\cdot\text{OH}$:



由于 $\cdot\text{OH}$ 是反应性很强的自由基, 存在寿命极短, 所以利用苯甲酸捕捉该反应产生的羟基自由基, 可形成具有荧光的羟苯甲酸, 其荧光强度 (F) 可代表 $\cdot\text{OH}$ 生成的相对量。当把油茶总皂苷和抗坏血酸加入这一体系后, $\cdot\text{OH}$ 被不同程度地清除, 测定其荧光强度即可算出其相应的清除能力。

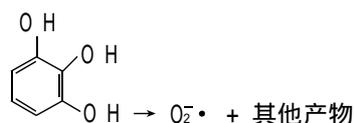
表 2 油茶总皂苷和抗坏血酸清除羟自由基的能力的比较
Table 2 Compare of scavenging hydroxyl radicals between camellia saponins and Vitamin C

组别	浓度 (mg/ml)	n	清除率 I (%)
空白	0	2	0
油茶总皂苷	0.10	3	7.46
	0.20	3	28.63
	0.50	3	40.42
	1.00	3	61.54
抗坏血酸	0.10	3	4.42
	0.20	3	10.24
	0.50	3	23.3
	1.00	3	42.86

由表 2 中数据可以看出油茶总皂苷对这一体系产生的羟基自由基有明显的清除作用, 在 0.50mg/ml 的浓度时, 清除率可达 40%, 其清除能力明显大于 VC, 由此数据说明, 油茶总皂苷具有较强的清除 $\cdot\text{OH}$ 的作用。

2.5 油茶总皂苷的清除超氧阴离子自由基的能力

邻苯三酚在弱碱性 (磷酸盐缓冲液 pH8.2) 环境中自身氧化分解产生 O₂⁻· 的反应为:



该体系常用于测定 SOD 或类似 SOD 活性物质对 O₂⁻· 的歧化活性。随着反应的进行, O₂⁻· 在体系中会不断积累, 导致反应液的吸光度 (325nm 波长) 在反应开始后 5min 之内随时间变化而线性增大。因此在该时间内, 于

325nm 处测定含被测物反应液的吸光度随时间的变化率, 并与抗坏血酸比较便可得出被测物清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力^[18]。

按 1.3.5 方法, 测得油茶总皂苷与抗坏血酸清除超氧阴离子自由基能力如表 3 所示:

表 3 油茶总皂苷和抗坏血酸清除超氧阴离子自由基能力的比较
Table 3 Compare of scavenging superoxide anion between camellia saponins and Vitamin C

组别	浓度(mg/ml)	n	清除率II (%)
空白	0	2	0
油茶总皂苷	0.10	3	2.2
	0.20	3	18.62
	0.40	3	58.21
	0.80	3	97.68
抗坏血酸	0.10	3	1.63
	0.20	3	12.92
	0.40	3	45.64
	0.80	3	91.62

$$\text{清除率 II}(\%) = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100$$

由表 3 可以看出抗坏血酸清除超氧阴离子自由基的能力虽然随浓度的增大而增强, 但低于油茶总皂苷, 油茶总皂苷的清除能力明显强于抗坏血酸, 说明油茶总皂苷具有较强的抗氧化性。

2.6 对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用

氧自由基不但可以引发脂质体的过氧化, 还可以通过攻击核酸, 一方面可直接攻击碱基使其互相结合, 或生成过氧化物, 造成碱基破坏; 另一方面还可以从戊糖部分提取氢(H), 会造成 DNA 主链断裂^[19]。本文采用的实验体系是利用 fenton 反应发生羟自由基, 攻击脱氧核糖, 评估样品保护脱氧核糖免于发生氧化损伤的作用。

表 4 油茶总皂苷和硫脲对脱氧核糖氧化损伤抑制作用的比较
Table 4 Compare of inhibiting deoxyribose oxidative injury between camellia saponins and thiourea

组别	浓度(mg/L)	n	抑制率 IC (%)
空白	0	2	0
油茶总皂苷	10	3	19.2
	50	3	30.47
	100	3	42.6
	500	3	78.22
硫脲	10	3	13.6
	50	3	21.42
	100	3	33.7
	500	3	61.5

由表 4 可知, 在本实验所测定的浓度范围内, 油茶总皂苷与硫脲的对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用均随其浓度的增大而增大, 油茶总皂苷的抑制作用在同样条件下强于硫脲。

但在本实验体系中, 自由基的引发剂为 Fe^{2+}/H_2O_2 ,

所以如果样品具有亚铁离子螯合能力, 可以通过螯合 Fe^{2+} 抑制 fenton 反应的发生来保护脱氧核糖, 而非直接与自由基反应, 通过还原自由基来抑制其对脱氧核糖的破坏, 这将在以后的实验中进一步研究。

3 结论

据报道^[20], 机体内的活性氧及脂质过氧化物(LPO), 可使 DNA 氧化损伤, 从而引发突变和癌症, LPO 还可通过修饰 LDL 等途径加速动脉粥样硬化的形成和发展。因此, 及时清除机体内活性氧和降低 LPO, 即可延缓衰老, 预防多种疾病。本实验中油茶总皂苷对由亚铁离子引发的卵磷脂脂质过氧化具有较好的抑制作用, 从实验结果也可以看出, 油茶总皂苷具有显著的清除羟自由基($\cdot OH$) 的能力、清除超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$) 的能力及对脱氧核糖氧化损伤有显著的抑制作用。

油茶总皂苷的清除羟自由基($\cdot OH$) 和超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$) 的能力较强, 说明油茶总皂苷具有比较强的抗氧化性, 能够较好的清除活性氧自由基, 但是, 本文只研究了其体外抗氧化的部分实验, 下一步将进行动物实验以探讨其在生物体内的清除自由基能力, 总之, 利用油茶皂苷的生物抗氧化性进行进一步的研究开发, 具有很好的前景。

参考文献:

- [1] 李忠. 中药抗氧化剂[J]. 药学通报, 1986, 21(9): 548.
- [2] 柳家祥. 几种山茶属植物中化学及活性研究综述[J]. 茶叶, 1997, 23(1): 22-25.
- [3] Yi lu, Tatsuya Umeda, Akihiro Yagi, et al. Triterpenoid saponins from the roots of tea plant (*Camellia sinensis* var. *assamica*) [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53: 941-946.
- [4] 刘家骏. 茶皂甙抗真菌作用初步观察[J]. 安徽医学, 1989, 10(3): 54-56.
- [5] 王知登, 熊永革. 油茶总皂甙对血清胆固醇浓度的影响[J]. 贵州医药, 1988, 12(4): 222-226.
- [6] 芦金清, 李一敏. 油茶籽杀精子活性的研究[J]. 湖北中医学院学报, 1988, 3(1): 50-52.
- [7] 李肇奖, 吕晓玲, 姚秀玲, 等. 油茶总皂苷提取工艺优化[J]. 中国食品添加剂, 2004, (5): 1-4.
- [8] 陆蕴如. 中药化学[M]. 北京: 学苑出版社, 1995. 244-245.
- [9] Ock-Sook Yi, Annes S. Meyer, Edwin N. Frankel. Antioxidant Activity of Grape Extracts in a Lecithin Liposome System[J]. *JAACS*, 1997, 74(10): 1301-1306.
- [10] 晏文洁, 李家璞, 杜平. 类黄酮抗氧化力与其结构之关系[J]. 台湾农业化学与食品科学, 2000, 38(1): 80-88.
- [11] 张尔贤, 余丽君, 周意淋, 等. Fe^{2+} 诱发脂蛋白PUFA过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物化

生姜超临界 CO₂ 萃取物的抗氧化性研究

张克梅¹, 唐世洪², 余 佶¹, 欧阳辉¹, 吴竹青¹, 袁德保¹

(1. 吉首大学化学化工学院, 湖南 吉首 416000; 2. 吉首大学物电学院, 湖南 吉首 416000)

摘 要: 人们食用生姜有悠久的历史。生姜作为一种常用的辛香料, 具有很好的抗氧化作用, 它对于保障人们的健康、抗老防衰、防止食品腐败具有十分重要的意义。将不同方法提取得到的生姜提取物, 以不同的浓度进行抗氧化性实验。采用 Na₂S₂O₃-I₂ 滴定法及 DPPH 法测定了生姜提取物的抗氧化性。通过实验证明, 生姜超临界 CO₂ 萃取物比生姜乙醇提取物对 DPPH 自由基清除活性要强。生姜超临界 CO₂ 萃取物在最佳浓度为 0.20% (提取物与猪油的质量比) 时对猪油的抗氧化性能最强。与乙醇浸提物相比, 添加浓度相同时, 生姜超临界 CO₂ 萃取物比生姜乙醇提取物最佳浓度为 0.15% (提取物与猪油的质量比) 时对猪油的抗氧化性更强。柠檬酸、酒石酸、抗坏血酸对生姜的超临界 CO₂ 萃取物有比较明显的协同效应, 其中与抗坏血酸的协同作用最强。

关键词: 生姜; 超临界萃取; 油脂; 抗氧化作用; 协同作用

Study on the Anti-Oxidant Effect of Ginger Extracts Obtained by Supercritical CO₂

ZHANG Ke-mei¹, TANG Shi-hong², YU Jie¹, OUYANG Hui¹, WU Zhu-qing¹, YUAN De-bao¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou 416000, China

2. College of Physics and Electronics, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: It has been a long time since people began to eat ginger. Being a commonly used hot flavor, ginger has a great anti-oxidant effect and an important meaning on keeping people's health, resisting senility and preventing food from rotting. Anti-oxidant activities of ginger extracts were measured by DPPH method and Na₂S₂O₃-I₂ titration. The results showed that all the ginger extracts obtained by supercritical CO₂ showed better scavenging effects on DPPH radical than those of ethanol solution. Ginger extracts obtained by supercritical CO₂ showed greatest anti-oxidant effect when their concentration was 0.20% (the quality rate of extracts to lard). At the same level, ginger extracts obtained by supercritical CO₂ had greater anti-oxidant effect than that of ethanol solution when the concentration of the latter was 15% (the quality rate of extracts to lard). Citric acid, tartaric acid and ascorbic acid had significant synergic effects on the ginger extracts obtained by supercritical CO₂. Among them, the synergic effect with

收稿日期: 2005-08-01

作者简介: 张克梅 (1953-), 女, 副教授, 研究方向为天然产物与开发。

学与生物物理学报, 1996, 23(2): 218-222.

[12] 鲁纯素, 付萍, 邹安庆. 阿糖胞苷对羟自由基的清除作用[J]. 药学学报, 1987, 22(7): 337.

[13] 孟庆国, 朱庆磊, 邓淑娥, 等. 薤白水提取物对羟自由基的清除作用[J]. 潍坊医学院学报, 1998, 20(1): 33-34.

[14] 许申鸿, 杭瑚, 李运平. 超氧化物歧化酶邻苯三酚测活法的研究及改进[J]. 化学通报, 2001, (8): 516-519.

[15] 静天玉, 赵晓瑜. 用中止剂改进超氧化物歧化酶邻苯三酚测活法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1995, 22(1): 84-86.

[16] Arti Arora, Muraleedharan GNair, Gale M Strasburg. Structure-activity relationship for antioxidant activities of a series

of flavonoids in a liposomal system[J]. Free Radical Biology & Medicine, 1998, 24(9): 1355-1363.

[17] Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by ion salts[J]. J Proc R Soc A, 1934, 147: 332-351.

[18] 李贵荣. 枸杞多糖的提取及其对活性氧自由基的擒获保护作用[J]. 中国现代应用医学杂志, 2002, 19(2): 94-96.

[19] 赵保路. 氧自由基和天然抗氧化剂[M]. 北京: 科学出版社, 1999, 98-99.

[20] 陈瑗, 周玫. 脂质过氧化作用与动脉粥样硬化[J]. 生物物理与生物学进展, 1989, (4): 278.