

西洋参红景天复配方对氧化损伤模型小鼠的抗氧化作用及机制*

冯颖童 扈覲奎 刘佳琪 刘双巧 贾岚 冯广旭 王景霞**

北京中医药大学中医学院, 北京 100029

[摘要] **目的** 评价西洋参红景天复配方对乙醇诱导的氧化损伤模型小鼠的抗氧化作用, 并探讨其作用机制, 为保健食品的开发提供科学依据。**方法** 小鼠按体质量随机均分为空白对照组、急性氧化损伤模型组、西洋参红景天复配方低剂量 (330 mg/kg)、中剂量 (660 mg/kg)、高剂量 (990 mg/kg) 组, 每组 10 只, 各剂量组经口灌胃给予受试样品, 空白对照组和模型组给予等容量蒸馏水, 连续灌胃 30 d 后, 除空白对照组外各组禁食 16 h 后按 12 mL/kg 灌胃给予 50% 乙醇, 6 h 后取小鼠血、肝。检测小鼠血清的丙二醛 (MDA)、8-表氢氧异前列腺素 (8-Isoprostane)、蛋白质羰基 (PCO)、谷胱甘肽 (GSH)、谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、甘油三酯 (TG)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 含量及超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 肝脏组织的 MDA、PCO、GSH 含量和 SOD 活性, 利用蛋白印迹方法检测 p-p38, p-ERK 和 p-JNK 的蛋白表达。**结果** 与模型组相比较, 西洋参红景天复配方低剂量组小鼠血清中 MDA 含量下降 ($P < 0.05$), 各剂量组 8-Isoprostane、PCO 含量均降低 ($P < 0.05$), 各剂量组 GSH 含量及 GSH-Px、SOD 活力均上升 ($P < 0.05$), 各剂量组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均降低 ($P < 0.05$), 各剂量组 ALT、AST 活力下降 ($P < 0.05$)。低中剂量组小鼠肝脏中 MDA 含量下降 ($P < 0.05$), 各剂量组 PCO、TG 含量均下降 ($P < 0.05$), 低中剂量组 SOD 活性和低剂量组 GSH 含量上升 ($P < 0.05$)。低剂量组能抑制 p-p38 和 p-JNK 的表达 ($P < 0.05$), 中高剂量组能抑制 p-p38、p-ERK 和 p-JNK 的表达 ($P < 0.05$)。**结论** 以红景天、西洋参、针叶樱桃粉及葡萄籽提取物组成的药食同源复配方具有较强的抗氧化保健作用。

[关键词] 抗氧化; 西洋参红景天复配方; 酒精性肝损伤

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.04.003

Antioxidant Effect and Mechanism of American Ginseng Rhodiola Formula on Oxidative Damage Model Mice

Feng Yingtong, Hu Jinxi, Liu Jiaqi, Liu Shuangqiao, Jia Lan, Feng Guangxu, Wang Jingxia**

Beijing University of Traditional Chinese Medicine School of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029

** Corresponding author; Wang Jingxia, email: wjx20131210@163.com

[Abstract] **Objective** To evaluate the antioxidant effect of American ginseng Rhodiola formula on ethanol-induced oxidative damage in model mice, and to explore its mechanism of action, providing a scientific basis for the development of healthy food. **Methods** Mice were randomly divided into blank control group, acute oxidative injury model group, low dose (330 mg/kg), medium dose (660 mg/kg) and high dose (990 mg/kg) groups according to body weight, 10 mice in each group. Each dose group was given test samples by oral gavage. Blank control group and model group were given equal volume of distilled water. After continuous gavage for 30 days, 50% ethanol was intragastrically administered at 12 mL/kg after fasting for 16 h in each group except blank control group. Blood and liver were collected from mice 6 h later. Malondialdehyde (MDA), 8-epoxyisoprostane (8-Isoprostane), protein carbonyl (PCO), glutathione (GSH), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), triglyceride (TG), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) content and superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in mouse serum, MDA, PCO, GSH content and SOD activity in liver tissue were measured, and the protein expression of p-p38, p-ERK and p-JNK was detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the MDA content in the serum of mice in the low-dose group of American ginseng Rhodiola formula decreased ($P < 0.05$), the 8-Isoprostane and PCO contents in each dose group decreased ($P < 0.05$), the GSH content and GSH-Px and SOD activities in each dose group increased ($P < 0.05$), the TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels in each dose group decreased ($P < 0.05$), and the ALT and AST activities in each dose group decreased ($P < 0.05$). The MDA content in the liver of mice in the low and medium dose groups decreased ($P < 0.05$), the PCO and TG contents in each dose group decreased ($P < 0.05$), and the SOD activity in the low and medium dose groups and the GSH content

* 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项 (2018YFC1706803)

** 通讯作者: 王景霞, 电子邮箱 wjx20131210@163.com

in the low dose group increased ($P < 0.05$). The low dose group could inhibit the expression of p-p38 and p-JNK ($P < 0.05$), and the medium and high dose groups could inhibit the expression of p-p38, p-ERK and p-JNK ($P < 0.05$). **Conclusion** Rhodiola rosea, American ginseng, acerola cherry powder and grape seed extract composition of medicinal food homologous complex formula has a strong antioxidant health care effect.

[**Key words**] Antioxidant; American ginseng Rhodiola formula; Alcoholic liver injury

自由基是在人体生命活动中产生的高度活跃的分子或原子, 自由基的产生及清除在正常情况下处于动态平衡状态, 然而当体内自由基产生过多或清除过慢时, 则会破坏这种动态平衡, 导致自由基在体内积累, 这些积累的自由基会对机体造成损伤, 引起机体的氧化应激、炎症等一系列反应^[1]。西洋参红景天复配方源于北京中医药大学高学敏教授的临床经验方, 是在中医基础理论的指导下, 结合现代营养学研究成果, 选用西洋参、红景天、针叶樱桃粉、葡萄籽提取物配方而成, 主要针对气阴两虚型中老年人, 以期达到益气养阴的功效和抗氧化作用。西洋参、红景天、针叶樱桃粉及葡萄籽提取物常用于抗氧化功能的保健食品中, 有研究表明, 四者皆有较强的抗氧化活性, 可有效清除自由基^[2-5]。本研究参照《保健食品功能检验与评价方法》(2023 年版), 采用乙醇氧化损伤小鼠动物模型, 研究西洋参红景天复配方(以下简称复配方)的抗氧化功能, 旨在为此复配方保健食品的开发提供科学的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

KM 小鼠 [斯贝福(北京)生物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京)2019-0010], SPF 级, 雄性, 体质量 25~30 g, 3 周龄。饲养于北京中医药大学动物房, 动物饲养室温度为 20~24 ℃, 相对湿度为 40%~70%, 自由饮水, 自由摄食。伦理审查编号: BUCM-4-2019110201-4032。

丙二醛 (Malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 试剂盒, 均购自南京凯基生物工程研究所 (批号 20210819); 谷丙转氨酶 (Alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶 (Aspartate transaminase, AST)、甘油三酯 (Triglyceride, TG) 试剂盒、蛋白质羰基 (Protein carbonyl, PCO) 试剂盒, 均购自南京建成生物工程研究所 (批号 20210819); 谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px)、8-表氢氧前列腺素 (8-Isoprostane) 试剂盒, 均购自上海酶联生物科技有限公司 (批号 20220219); 肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒 (批号 E-MSEL-M0002)、白细胞介素-1 β (Interleukin-1B, IL-1 β) 试剂盒 (批号 E-MSEL-M0003)、白细胞介素-6 (Blood interleukin-6, IL-6) 试剂盒 (批号 E-MSEL-M0001), 均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 75% 乙醇 (批号 B70001), 购自北京亿泰石油化工有限公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号

P0012), 购自上海碧云天生物技术有限公司; 小鼠单抗 β -actin (批号 66009-1-Ig), 购自武汉三鹰生物技术有限公司; 兔多抗 p-p38 (批号 AF4001)、P-ERK 试剂盒 (批号 AF1015)、P-JNK 试剂盒 (批号 AF3318), 均购自江苏亲科生物研究中心有限公司。

电子天平 (上海浦春计量仪器有限公司, 型号 JY203 型)、冷冻离心机 (长沙平凡仪器仪表有限公司, 型号 TGL-16A 型)、水浴锅 (北京科伟永兴仪器有限公司, 型号 HHS-S4A)、全自动研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司, 型号 KH-III)、酶标分析仪 (无锡华卫德朗仪器有限公司, 型号 DR-200BS); 电转仪、垂直电泳槽 (北京六一仪器厂, 型号 DYCZ-40、DYCZ-24DN)。

1.2 方法

1.2.1 受试样品 西洋参 (珠海市健兴药业有限公司, 批号 201101)、红景天 (亳州市京皖中药饮片厂, 批号 170401)、针叶樱桃粉 (上海百紫生物科技有限公司, 批号 000719PAS)、葡萄籽提取物 (天津尖峰天然产物研究开发有限公司, 批号 002-2011081-18)。西洋参和红景天均按《中国药典》用量下限设为 3.0 g/d; 葡萄籽提取物中原花青素含量为 60%, 剂量为 0.2 g/d; 针叶樱桃粉中 VC 含量为 17%, 剂量为 0.8 g/d, 即西洋参、红景天、葡萄籽提取物、针叶樱桃粉质量之比为 15:15:1:4。

取配方量的西洋参、红景天加 10 倍量水煎煮 3 次, 每次 1.5 h, 过滤, 备用。滤液减压浓缩 [-0.06 ~ -0.10 MPa, ≤ 70 ℃] 至相对密度为 1.05~1.10, (60 \pm 2) ℃ 的清膏, 离心。离心液继续减压浓缩至相对密度为 1.25~1.35, (60 \pm 2) ℃ 的稠膏, 将稠膏减压干燥, 粉碎过 80 目筛, 得浸膏粉, 备用。按配方量称取针叶樱桃粉、异麦芽酮糖醇、微晶纤维素, 与浸膏粉一起置于湿法制粒机中混合 5 min, 以 90% 乙醇 (占处方总量约 12%) 作为润湿剂制软材, 20 目制粒, (50 \pm 5) ℃ 干燥 (颗粒含水量控制在 5% 以下), 18 目整粒, 得干颗粒, 备用; 称取配方量的葡萄籽提取物与干颗粒等量递增混合 2 次, 再加入配方量的硬脂酸镁, 混合 5 min, 得混合粉。

1.2.2 给药与造模 将 50 只小鼠适应性喂养 7 d, 按体质量随机分为五组, 即空白对照组、模型组、西洋参红景天复配方低剂量组 (330 mg/kg)、中剂量组 (660 mg/kg)、高剂量组 (990 mg/kg), 每组 10 只。小鼠灌胃给予受试药物溶液, 每日 1 次, 给药体积为 10 mL/kg, 空白对照组和模型组给予同等剂量的蒸馏水, 给药量根据每周体质量增减调整,

连续灌胃 30 d。30 d 后, 除空白对照组外, 其余各组禁食 16 h (过夜), 按 12 mL/kg 一次性灌胃给予 50% 乙醇, 制备乙醇氧化损伤小鼠模型, 6 h 后眼眶采血, 解剖取下肝组织, 称重并冻存。

1.2.3 指标测定 小鼠眼眶采血置于离心管中, 室温静置 1 h, 4 °C、3 000 r/min 离心 15 min, 按相应试剂盒要求检测小鼠血清中 MDA、8-Isoprostane、PCO、GSH 的含量与 SOD、GSH-Px、AST、ALT 的活力, 以及 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度; 取小鼠肝组织, 经研磨离心后取上清, 采用相应试剂盒检测肝脏中 MDA、PCO、GSH、TG 的含量与 SOD 的活力。

1.2.4 Western Blot 检测丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen activated protein kinases, MAPK) 信号通路蛋白表达 取少量剪碎的肝脏组织, 加入细胞裂解液与蛋白酶抑制剂, 匀浆后于冰上充分裂解, 以离心半径 10 cm, 4 °C, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 样品浓度使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行测定, 蛋白上清液与上样缓冲液进行沸水浴变性。将制备好的蛋白样品进行电泳, 湿法转

膜至活化的 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min, 随后加入一抗 p38 (1:1 000)、p-p38 (1:1 000)、ERK (1:1 000)、P-ERK (1:1 000)、JNK (1:1 000)、P-JNK (1:1 000), 4 °C 过夜孵育, 后洗膜添加二抗 (1:10 000) 孵育 2 h。经显色、曝光, 使用 ImageJ 软件分析检测结果。

1.3 统计学方法

采用 SPSS27.0 统计学软件进行数据分析, 服从正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 两两比较方差齐时采用 LSD-*t* 检验, 方差不齐时采用 Dunnett's T3 检验; 不同时间点体质量比较采用重复测量方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠体质量变化

饲养过程中称量第 1 次给药前及给药后第 1 周、第 2 周、第 3 周、第 4 周小鼠体质量, 小鼠体质量随饲养时间增长而增加, 各组间小鼠体质量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 给药前后小鼠体质量 ($\bar{x} \pm s$, g)

Tab. 1 Weight of mice before and after administration ($\bar{x} \pm s$, g)

| 组别 | 只数 | 给药前 | 第 1 周 | 第 2 周 | 第 3 周 | 第 4 周 |
|-------|----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 空白对照组 | 10 | 32.580 ± 2.290 | 40.320 ± 2.580 | 43.427 ± 3.220 | 45.960 ± 3.396 | 48.007 ± 3.825 |
| 模型组 | 10 | 33.860 ± 3.516 | 39.927 ± 2.192 | 41.873 ± 1.952 | 43.920 ± 2.451 | 46.082 ± 2.604 |
| 低剂量组 | 10 | 32.827 ± 3.469 | 39.007 ± 3.707 | 41.427 ± 3.243 | 42.667 ± 3.236 | 44.679 ± 2.959 |
| 中剂量组 | 10 | 33.767 ± 3.530 | 40.140 ± 3.472 | 43.360 ± 3.584 | 45.980 ± 3.650 | 48.340 ± 3.622 |
| 高剂量组 | 10 | 32.407 ± 3.138 | 37.900 ± 4.396 | 39.573 ± 5.449 | 42.753 ± 5.457 | 44.527 ± 6.221 |

注: $F_{\text{组间}} = 2.291$, $P = 0.068$; $F_{\text{时间}} = 497.166$, $P < 0.001$; $F_{\text{交互}} = 2.169$, $P = 0.044$

2.2 各组小鼠血清 MDA、8-Isoprostane、PCO、GSH 含量及 GSH-Px、SOD 活力比较

与空白对照组比较, 模型组小鼠血清中 8-Isoprostane、PCO 含量均显著上升 ($P < 0.05$), GSH 含量及 GSH-Px、SOD 活力均显著下降 ($P < 0.05$);

与模型组比较, 西洋参红景天复配方低剂量组 MDA 含量有所降低 ($P < 0.05$), 低、中、高剂量组小鼠血清中 8-Isoprostane、PCO 含量均降低 ($P < 0.05$), GSH 含量及 GSH-Px、SOD 活力均显著上升 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 西洋参红景天复配方对小鼠血清 MDA、8-Isoprostane、PCO、GSH 含量及 GSH-Px、SOD 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of American ginseng Rhodiola formula on serum MDA, 8-Isoprostane, PCO, GSH contents and activities of GSH-Px and SOD in mice ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | MDA (nmol/mL) | 8-Isoprostane (pg/mL) | PCO (nmol/mg) | GSH (mg/L) | GSH-Px (U/mL) | SOD (U/mL) |
|------------|----|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 空白对照组 | 10 | 7.373 ± 0.559 | 183.332 ± 30.124 | 19.400 ± 0.353 | 13.268 ± 1.658 | 139.574 ± 19.813 | 194.381 ± 12.182 |
| 模型组 | 10 | 8.605 ± 1.388 | 286.079 ± 29.178 ^a | 20.234 ± 0.543 ^a | 7.857 ± 0.927 ^a | 78.123 ± 18.760 ^a | 147.200 ± 19.688 ^a |
| 低剂量组 | 10 | 6.758 ± 0.488 ^b | 214.441 ± 18.477 ^b | 19.350 ± 0.279 ^b | 12.616 ± 1.818 ^b | 122.660 ± 16.582 ^b | 210.916 ± 23.922 ^b |
| 中剂量组 | 10 | 7.265 ± 0.873 | 213.970 ± 33.146 ^b | 19.522 ± 0.252 ^b | 14.247 ± 1.573 ^b | 115.673 ± 16.042 ^b | 202.143 ± 21.087 ^b |
| 高剂量组 | 10 | 7.285 ± 0.434 | 201.534 ± 26.342 ^b | 19.344 ± 0.288 ^b | 14.123 ± 0.963 ^b | 96.618 ± 11.938 ^b | 208.757 ± 23.281 ^b |
| <i>F</i> 值 | | 4.548 | 19.649 | 11.106 | 33.706 | 19.911 | 16.420 |
| <i>P</i> 值 | | 0.008 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注: 与空白对照组比较^a $P < 0.05$; 与模型组比较^b $P < 0.05$

2.3 各组小鼠肝脏 MDA、PCO、TG、GSH 含量及 SOD 活性比较

与空白对照组比较, 模型组小鼠肝脏 MDA、PCO 和 TG 含量均显著上升 ($P < 0.05$), SOD 活性和 GSH 含量均显著下降 ($P < 0.05$); 与模型组

比较, 西洋参红景天复配方低、中剂量组小鼠肝脏 MDA 含量下降 ($P < 0.05$), 各剂量组肝脏 PCO、TG 含量均下降 ($P < 0.05$), 低、中剂量组 SOD 活性均上升 ($P < 0.05$), 低剂量组 GSH 含量显著上升 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 西洋参红景天复配方对小鼠肝脏 MDA、PCO、TG、GSH 含量及 SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of American ginseng Rhodiola formula on MDA, PCO, TG, GSH content and SOD activity in liver of mice ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | MDA(nmol/mg) | PCO(nmol/mg) | TG(mmol/g) | SOD(U/mg) | GSH(mg/g) |
|-------|----|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 空白对照组 | 10 | 14.347 ± 4.320 | 6.986 ± 2.018 | 0.663 ± 0.116 | 317.030 ± 24.802 | 8.278 ± 1.668 |
| 模型组 | 10 | 27.146 ± 6.967 ^a | 15.466 ± 3.183 ^a | 1.216 ± 0.370 ^a | 227.183 ± 20.609 ^a | 2.246 ± 0.754 ^a |
| 低剂量组 | 10 | 17.877 ± 3.964 ^b | 6.336 ± 1.931 ^b | 0.743 ± 0.158 ^b | 280.478 ± 31.199 ^b | 4.010 ± 1.074 ^b |
| 中剂量组 | 10 | 18.222 ± 3.542 ^b | 8.407 ± 2.689 ^b | 0.687 ± 0.167 ^b | 274.808 ± 22.781 ^b | 1.788 ± 0.525 |
| 高剂量组 | 10 | 20.919 ± 1.822 | 7.979 ± 3.692 ^b | 0.707 ± 0.149 ^b | 225.305 ± 11.517 | 1.502 ± 0.274 |
| F 值 | 10 | 8.023 | 17.514 | 4.801 | 28.373 | 47.397 |
| P 值 | 10 | <0.001 | <0.001 | 0.006 | <0.001 | <0.001 |

注: 与空白对照组比较^a $P < 0.05$; 与模型组比较^b $P < 0.05$

2.4 各组小鼠血清中 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度及 AST、ALT 活力比较

与空白对照组比较, 模型组小鼠血清中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平均上升 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 西洋参红景天复配方低、中、高剂量组 TNF-α、IL-

1β、IL-6 水平均降低 ($P < 0.05$)。提示复配方可抑制促炎因子的表达, 改善酒精性肝损伤引起的炎症反应。与空白对照组比较, 模型组小鼠血清 ALT、AST 活力均升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 各剂量组血清 ALT、AST 活力均下降 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 西洋参红景天复配方对小鼠血清中 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度及 AST、ALT 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effect of American ginseng Rhodiola formula on TNF-α, IL-1β, IL-6 concentration and AST, ALT activity in serum of mice ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 只数 | TNF-α(pg/mL) | IL-1β(pg/mL) | IL-6(pg/mL) | ALT(U/L) | AST(U/L) |
|-------|----|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 空白对照组 | 10 | 38.822 ± 5.500 | 31.767 ± 4.556 | 94.151 ± 9.396 | 16.856 ± 4.876 | 8.745 ± 2.423 |
| 模型组 | 10 | 131.465 ± 7.706 ^a | 126.091 ± 7.437 ^a | 354.780 ± 27.205 ^a | 25.418 ± 3.026 ^a | 15.304 ± 4.820 ^a |
| 低剂量组 | 10 | 115.809 ± 4.686 ^b | 113.603 ± 6.304 ^b | 298.892 ± 24.086 ^b | 19.573 ± 5.143 ^b | 8.231 ± 3.295 ^b |
| 中剂量组 | 10 | 80.818 ± 6.518 ^b | 71.898 ± 7.282 ^b | 210.671 ± 18.720 ^b | 20.579 ± 3.637 ^b | 6.317 ± 2.519 ^b |
| 高剂量组 | 10 | 68.538 ± 6.531 ^b | 57.743 ± 6.304 ^b | 167.535 ± 16.491 ^b | 18.850 ± 3.485 ^b | 5.029 ± 3.298 ^b |
| F 值 | | 349.918 | 368.028 | 322.298 | 6.010 | 13.772 |
| P 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.001 | <0.001 |

注: 与空白对照组比较^a $P < 0.05$; 与模型组比较^b $P < 0.05$

2.5 西洋参红景天复配方对小鼠肝脏 MAPK 信号通路的影响

每组随机选取 3 个样本平行进行 Western blot 检测, 结果表明, 与空白对照组比较, 模型组中 p-p38、

p-ERK 和 p-JNK 的水平明显增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 低剂量组 p-p38 和 p-JNK 的表达显著降低 ($P < 0.05$), 中、高剂量组 p-p38、p-ERK 和 p-JNK 的表达显著降低 ($P < 0.05$), 见表 5、图 1。

表 5 西洋参红景天复配方对小鼠肝脏中 p-p38, p-ERK 和 p-JNK 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Effect of American ginseng Rhodiola formula on expression of p-p38, p-ERK and p-JNK in liver of mice ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 样本数 | p-p38/β-actin | P-ERK(44KD)/β-actin | P-JNK(46KD)/β-actin |
|-------|-----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 空白对照组 | 3 | 0.141 ± 0.031 | 0.108 ± 0.060 | 0.111 ± 0.048 |
| 模型组 | 3 | 0.550 ± 0.020 ^a | 0.442 ± 0.089 ^a | 0.513 ± 0.050 ^a |
| 低剂量组 | 3 | 0.439 ± 0.032 ^b | 0.362 ± 0.077 | 0.412 ± 0.035 ^b |
| 中剂量组 | 3 | 0.337 ± 0.060 ^b | 0.292 ± 0.061 ^b | 0.342 ± 0.050 ^b |
| 高剂量组 | 3 | 0.238 ± 0.045 ^b | 0.203 ± 0.053 ^b | 0.232 ± 0.026 ^b |
| F 值 | | 178.021 | 182.060 | 71.244 |
| P 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注: 与空白对照组比较^a $P < 0.05$; 与模型组比较^b $P < 0.05$

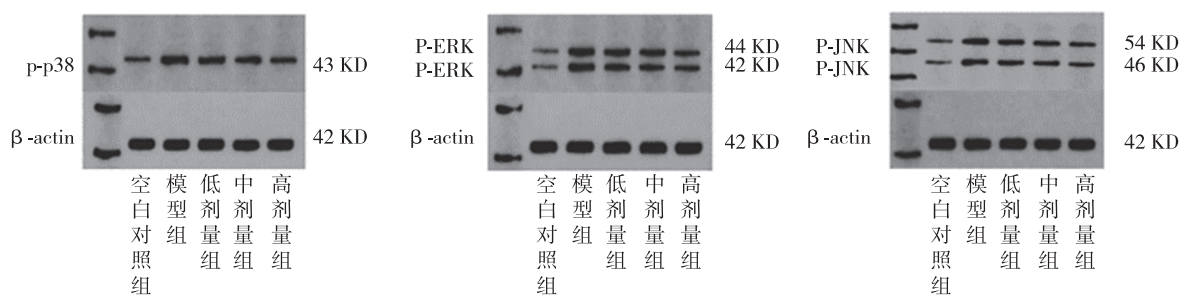


图 1 西洋参红景天复配方对 MAPK 信号通路中 p-p38, p-ERK 和 p-JNK 的影响

Fig. 1 Effect of American ginseng Rhodiola formula on p-p38, p-ERK and p-JNK in MAPK signaling pathway

3 讨论

过量乙醇的摄入会引起体内自由基反应发生失衡, 过氧化产物增加。脂质过氧化终末产物 MDA、8-Isoprostane 的含量可以反映过氧化损伤和细胞受损程度; 碳水化合物和脂质的氧化可产生反应性羰基, 活性氧和反应性羰基与蛋白质结合导致血浆和组织中羰基化功能障碍蛋白质形成, PCO 含量升高标志着氧化应激依赖性细胞损伤^[6]。氧化损伤是酒精性肝损伤的重要机制之一, 乙醇经肝脏代谢时, 细胞内产生 ROS, 消耗大量还原性物质 SOD、GSH-Px、GSH, 造成抗氧化能力下降, 无法清除过多自由基, 从而引起氧化应激, 导致细胞脂质过氧化产物迅速增加, 肝细胞膜受损^[7-9]。酒精性肝损伤的发展与异常释放的炎症细胞因子及异常激活的炎症反应密切相关^[10]。TNF- α 主要由活化的巨噬细胞或单核细胞分泌, 可导致肝细胞坏死, TNF- α 还可激活 NF- κ B 增加 IL-1 β 和 IL-6 的释放, 使炎症反应程度明显加重, 加速肝细胞坏死, 推进酒精性肝病进展^[11-12]。ALT 与 AST 是评估肝脏功能的重要指标, 当肝组织损伤时, 细胞的胞浆及线粒体分别将 ALT、AST 释放入血中, 造成 ALT、AST 在血清中的含量有不同程度的升高^[13]。乙醇还会影响脂肪代谢, 造成 TG 在肝细胞内沉积, TG 的大量蓄积导致病变^[8,14]。

p38-MAPK、JNK 和 ERK 是组成 MAPK 信号通路的三条途径, 在炎症因子和氧化应激的刺激下可被磷酸化激活, 增加炎症因子的释放, 在酒精性肝炎的炎症反应中发挥重要作用^[15]。NF- κ B P65 作为转录因子, 可被 p-p38 MAPK 激活, 在炎症进程中起着核心作用, 能调节 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子的转录与合成, 在体内引发炎症反应^[16]。另有研究表明, 酒精性肝炎发病时, p38 的活化明显增强, p38 MAPK 由氧化应激或内质网应激引起肝细胞细胞外囊泡 (Extracellular Vesicles, Evs) 的分泌, Evs 的释放引起中性粒细胞的炎症及 ROS 的产生, 导致肝脏的损伤^[17]。本实验结果表明西洋参红景天复配方可以通过调节 MAPK 通路来增加机体抗氧化酶活性, 减轻脂质和蛋白质的过氧化, 同时还能抑制炎症反应, 对肝损伤起

到保护作用。

综上所述, 西洋参红景天复配方可以通过抑制 MAPK 通路的活化, 提高抗氧化能力、拮抗氧化损伤, 抑制促炎因子的表达, 起到抗衰老作用, 具有进一步开发为保健食品的价值。

参考文献

- [1] 侯文娟. 荞麦球蛋白酶法水解制备抗氧化活性肽的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.
Hou W J, Enzymatic hydrolysis of buckwheat globulin to prepare antioxidant peptides [D]. Huhehot: Inner Mongolia Agricultural University, 2009.
- [2] 王国明, 徐清华, 谢丽娟, 等. 人参、西洋参中多糖成分分析及其抗氧化活性研究 [J]. 粮食与油脂, 2022, 35 (6): 143-146, 150.
Wang G M, Xu Q H, Xie L J, et al. Analysis of polysaccharide from ginseng and Panax quiquefolium L. and their antioxidant activity [J]. Cereals & Oils, 2022, 35 (6): 143-146, 150.
- [3] 林晓月, 孙新. 红景天抗衰老作用机制研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38 (13): 3299-3300.
Lin X Y, Sun X. Research progress on anti-aging mechanism of Rhodiola [J]. J Gerontology, 2018, 38 (13): 3299-3300.
- [4] 王领, 何聪芬, 董银卯, 等. 西印度樱桃冻干粉水提液抗氧化性的研究 [J]. 香料香精化妆品, 2009 (6): 14-16.
Wang L, He C F, Dong Y M, et al. Antioxidant activity of Malpighia glabra freeze-dried powder [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2009, (6): 14-16.
- [5] 梅瀚, 曹金凤, 刘世巍, 等. 超声辅助提取葡萄籽中原花青素工艺及抗氧化活性研究 [J]. 广东化工, 2023, 50 (5): 38-41.
Mei H, Cao J F, Liu S W, et al. Study on ultrasound-assisted extraction of procyanidins from grape seed husks and antioxidant activity [J]. Guangdong Chem Ind, 2023, 50 (5): 38-41.
- [6] 罗祁, 李霞. 高通量与低通量血液透析对血清 β -2 微球蛋白、晚期氧化蛋白产物和蛋白质羰基的影响 [J]. 实用临床护理学电子杂志, 2017, 2 (9): 194-196, 198.
Luo Q, Li X. Effects of high-flux and low-flux hemodi-

- alysis on serum β -2-microglobulin, advanced oxidation protein products and protein carbonyl [J]. *Electron J Pract Clin Nurs*, 2017, 2 (9): 194–196, 198.
- [7] Sugimoto K, Takei Y. Pathogenesis of alcoholic liver disease [J]. *Hepatol Res*, 2017, 47 (1): 70–79.
- [8] Zhang Y, Jiang M, Cui B W, et al. P2X7 receptor-targeted regulation by tetrahydroxystilbene glucoside in alcoholic hepatosteatosis; a new strategy towards macrophage-hepatocyte crosstalk [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177 (12): 2793–2811.
- [9] 陈发菊, 彭梅, 王丽, 等. 藤茶总黄酮对酒精性肝损伤小鼠的保护作用 [J]. *中成药*, 2021, 43 (1): 200–203.
- Chen F J, Peng M, Wang L, et al. Protective effect of total flavonoids from *Ampelopsis grossedentata* on alcoholic liver injury in mice [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43 (1): 200–203.
- [10] 冯玉娥, 万敏. 三黄茵赤汤治疗湿热蕴结型酒精性肝损伤临床研究 [J]. *现代中医药*, 2022, 42 (3): 123–127.
- Feng Y E, Wang M. Clinical study on the treatment of alcoholic liver injury with damp-heat accumulation type by Sanhuang Yinchi Decoction [J]. *Mod Chin Med*, 2022, 42 (3): 123–127.
- [11] 李志超, 曹庆生, 曹俊杰. 矮地茶黄酮对大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用研究 [J]. *贵州中医药大学学报*, 2021, 43 (1): 24–28.
- Li Z C, Cao Q S, Cao J J. Study on the protective effect of flavonoids from *Ardisia japonica* on acute alcoholic liver injury in rats [J]. *J Guizhou Univ Tradit Chin Med*, 2021, 43 (1): 24–28.
- [12] 高宏, 文楠, 徐雪松, 等. 内质网应激介导的 Kupffer 细胞源性 TNF- α 经 TNFR/caspase 8 途径诱导肝星状细胞凋亡 [J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40 (5): 632–639.
- Gao H, Wen N, Xu X S, et al. Endoplasmic reticulum stress enhances tumor necrosis factor- α expression in rat Kupffer cells to trigger hepatic stellate apoptosis cell through TNFR/caspase-8 pathway [J]. *J Southern Med Univ*, 2020, 40 (5): 632–639.
- [13] 杨牧祥, 田元祥, 姚树坤, 等. 解酒护肝饮对酒精性肝损伤大鼠血清和肝组织 ALT、AST 的影响 [J]. *河北中医*, 2000, 22 (10): 793–796.
- Yang M X, Tian Y X, Yao S K, et al. The effect of relieving alcoholism and protecting liver drink on the blood serum, liver tissue ALT and AST of alcoholic liver injury rat [J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2000, 22 (10): 793–796.
- [14] Li M, Wu C, Guo H, et al. Mangiferin improves hepatic damage-associated molecular patterns, lipid metabolic disorder and mitochondrial dysfunction in alcohol hepatitis-rats [J]. *Food Funct*, 2019, 10 (6): 3514–3534.
- [15] 韩晓晴, 吴景东, 侯殿东, 等. 枇杷清肺饮基于 MAPK/NF- κ B 信号通路调控 HaCaT 细胞炎症损伤机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38 (10): 1189–1195.
- Han X Q, Wu J D, Hou D D, et al. Mechanism of PI-PA Qingfei Yin regulating inflammatory injury of HaCaT cells based on MAPK/NF- κ B signal pathway [J]. *Chin J Immunol*, 2022, 38 (10): 1189–1195.
- [16] Kaur U, Banerjee P, Bir A, et al. Reactive oxygen species, redox signaling and neuroinflammation in Alzheimer's disease: the NF- κ B connection [J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15 (5): 446–457.
- [17] 马静. 慢加急性酒精摄入通过 ASK1-p38MAPK α 依赖途径促进小鼠酒精性肝炎进展的机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- Ma J. The mechanism of acute-on-chronic alcohol intake promoting the progression of alcoholic hepatitis in mice through ASK1-p38MAPK α -dependent pathway [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2020.