

## 论 著

## 康欣口服液对衰老大鼠氧化应激和肠道菌群的影响\*

刘麟轩<sup>1</sup> 王嘉<sup>1</sup> 刘玉伟<sup>1</sup> 张臻荣<sup>1</sup> 李生<sup>2,3</sup> 王放<sup>2</sup> 刘金平<sup>1</sup> 高鹏<sup>1\*\*</sup><sup>1</sup>吉林大学药学院, 吉林 长春 130021; <sup>2</sup>吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021;<sup>3</sup>吉林华康药业股份有限公司, 吉林 敦化 130012

**[摘要]** **目的** 通过研究康欣口服液对衰老大鼠氧化应激及肠道菌群的影响, 初步探讨其抗衰老机制。**方法** 建立 D-半乳糖诱导的衰老大鼠模型, 灌胃给予康欣口服液, 监测体质量及测定脑、脾、肝和肾脏器指数; 测定血清和各脏器中氧化应激指标超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 和活性氧 (ROS) 水平; 取结肠内容物进行 16S rRNA 测序, 研究康欣口服液对衰老所致肠道菌群改变的影响; 分析肠道菌群与氧化应激指标间的相关性。**结果** 康欣口服液能够明显增加衰老大鼠的体质量及各脏器指数; 减少血清和各脏器中氧化应激因子水平; 升高 *Pseudoflavonifractor*, *Ruminococcaceae* 等有益菌丰度, 降低 *Clostridiales* 等有害菌丰度, 维持衰老相关的肠道菌群稳态; *Clostridiales*、*Pseudoflavonifractor* 和 *Ruminococcaceae* 丰度与 SOD、MDA 和 ROS 水平呈显著相关。**结论** 康欣口服液可能通过减轻氧化应激损伤, 调节肠道菌群改变, 进而发挥抗衰老作用。

**[关键词]** 康欣口服液; 衰老; D-半乳糖; 氧化应激; 肠道菌群

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2026.02.002

**Effect of Kangxin Oral Liquid on aging rat antioxidant and intervention imbalance of gut microbiota**Liu Linxuan<sup>1</sup>, Wang Jia<sup>1</sup>, Liu Yuwei<sup>1</sup>, Zhang Liurong<sup>1</sup>, Li Sheng<sup>2,3</sup>,  
Wang Fang<sup>2</sup>, Liu Jinping<sup>1</sup>, Gao Peng<sup>1\*\*</sup><sup>1</sup>School of Pharmaceutical Sciences Jilin University, Changchun 130021, China; <sup>2</sup>College of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China; <sup>3</sup>Jilin Huakang Pharmaceutical Co. Ltd., Dunhua 130012, China<sup>\*\*</sup> Corresponding author; Gao Peng, penggao25@mails.jlu.edu.cn

**[Abstract]** **Objective** This study preliminarily discussed the anti-aging mechanism of Kangxin Oral Liquid by studying its effects on oxidative stress and intestinal flora in aging rats. **Methods** The aging rat model was established by D-galactose induction, and Kangxin Oral Liquid was given by gavage at the same time. The body weight was monitored and the indexes of the brain, spleen, liver and kidney were measured. The levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and reactive oxygen species (ROS) in serum and organs were measured. The effect of Kangxin oral liquid on the changes in gut microbiota caused by aging was studied by 16S rRNA sequencing. The correlation between intestinal flora and oxidative stress indexes was analyzed. **Results** Kangxin oral liquid could significantly increase the body weight and organ index of aging rats, reduce the levels of oxidative stress factors in serum and organs, increase the abundance of beneficial bacteria such as *Pseudoflavonifractor* and *Ruminococcaceae*, reduce the abundance of harmful bacteria such as *Clostridiales*, and maintain the homeostasis of aging-related gut microbiota; the abundance of *Clostridiales*, *Pseudoflavonifractor* and *Ruminococcaceae* was significantly correlated with SOD, MDA and ROS levels. **Conclusion** Kangxin Oral Liquid can anti-aging by reducing oxidative stress injury and regulating intestinal microbial changes.

**[Key words]** Kangxin Oral Liquid; Aging; D-galactose; Oxidative stress; Gut microbiota

衰老指随时间推移, 机体在多个层面逐渐发生的功能衰退与适应能力下降的现象。在传统医学理论中, 认为衰老是先天精气渐衰、脏腑功能减退、气血

阴阳失衡的渐进过程。在现代医学理论中衰老通常伴随着体质量波动甚至降低、脏器萎缩、氧化应激反应增多、胃肠菌群和肠道免疫系统的紊乱等问题<sup>[1-3]</sup>。

收稿日期: 2024-03-18 修回日期: 2024-04-16 录用日期: 2024-04-30

\* 吉林省科技发展计划项目 (20220401061YY)

\*\* 通信作者: 高鹏, 电子邮箱 penggao25@mails.jlu.edu.cn

有研究表明, 机体氧化应激反应和肠道菌群内稳态会互相产生影响, 活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 的过度积累会破坏菌群结构, 使其多样性下降, 同时通过影响肠道通透性等改变肠道微环境<sup>[4-5]</sup>。肠道菌群产生的代谢产物也会对氧化应激产生调控<sup>[6]</sup>。

康欣口服液源于古方“神仙不老丸”, 处方包括菟丝子、黄精、菊花、黄芪、山楂、当归、枸杞子、制何首乌、淫羊藿、女贞子、丹参、酸枣仁和地骨皮<sup>[7]</sup>。具有补肾填精、健脾益气、养血活血的功效, 临床上用于脾肾两虚、气血不足所致的神疲、腰膝酸软、失眠健忘、病后体弱等症。临床研究主要集中在联合用药方面, 其与阿托伐他汀联用能延缓动脉粥样硬化斑块的发展, 回调中老年糖尿病患者血糖及血脂, 治疗中老年冠心病心肌缺血<sup>[8-9]</sup>。此外, 还可抑制自然衰老小鼠多个部位线粒体 DNA 的缺失, 改善老龄小鼠的睾丸和大鼠海马的结构损伤, 抑制大鼠脑一氧化氮合酶、B 型单胺氧化酶活性, 提高谷胱甘肽过氧化物酶活性, 增加一氧化氮含量从而提高学习记忆能力延缓脑衰老<sup>[10-16]</sup>。但是, 康欣口服液对衰老相关的氧化应激损伤及肠道菌群失调的影响尚未见文献报道。因此, 本研究采用 D-半乳糖诱导建立衰老大鼠模型, 探究康欣口服液对衰老相关的氧化应激损伤和肠道菌群失衡的影响, 为其临床应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

PTX-FA210S 型电子天平 (福建华志电子科技有限公司), R210D 型恒温水浴锅 (上海豫康科教仪器设备有限公司), VM-3D 型涡旋混合器 (常德比克曼生物科技有限公司), TDZ5-WS 型超速离心机 (长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司), ZK-128 型动物恒温解剖台 (河南智科弘润环保科技有限公司), DM-86L626 型医用低温保存箱 (青岛海尔生物医疗股份有限公司), EPOCH 型酶标仪 (Bio Tek 公司)。

### 1.2 材料与试剂

康欣口服液由吉林华康药业股份有限公司提供 (生产批号 B20020031); D-半乳糖购自 Solarbio 有限公司 (生产批号 5230428001); 盐酸二甲双胍片购自江苏默克制药有限公司 (生产批号 ACJ1733); 阿佛丁小动物专用麻醉剂购自北京景颐和明生物科技有限公司 (生产批号 JT0781); 大鼠超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) (生产批号 202312)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) ELISA 试剂盒购自江苏菲亚生物科技有限公司 (生产批号 202311); 磷酸盐缓冲液购自欧玛仕 (上海) 生物科技有限公司 (货号 MD20231128), 多聚甲醛固定液购自北京百奥莱博科技有限公司 (货号 YTB1299); 苏木素-伊红 (Hematoxylin-eosin, H&E) 染色液购自翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司 (货号 60502ES60)。

### 1.3 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 (雄性, 6 月龄, 体质量 180~220 g),

购自长春亿斯实验动物技术有限责任公司 (合格证号 202200044263)。采用自然光循环照明 (12 h 明暗交替), 温度为 23 °C~27 °C, 相对湿度为 55%~65%<sup>[17]</sup>。动物实验经过吉林大学药学院实验动物福利伦理委员会批准 (批件号 20230076), 参照《Guide for the care and use of laboratory animals》<sup>[18]</sup> 和吉林大学药学院伦理道德委员会要求进行相关动物实验。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 动物分组、造模、给药及处理** 以均衡随机化法将大鼠随机分为六组 (各 10 只): 正常对照组、衰老模型组 (D-半乳糖, 腹腔注射, 400 mg/kg)、阳性药组 (D-半乳糖, 腹腔注射, 400 mg/kg + 二甲双胍, 灌胃给药, 250 mg/kg)、康欣口服液低剂量组 (D-半乳糖, 腹腔注射, 400 mg/kg + 康欣口服液, 灌胃给药, 2.3 mL/kg)、康欣口服液中剂量组 (D-半乳糖, 腹腔注射, 400 mg/kg + 康欣口服液, 灌胃给药, 4.6 mL/kg)、康欣口服液高剂量组 (D-半乳糖, 腹腔注射, 400 mg/kg + 康欣口服液, 灌胃给药, 9.2 mL/kg)。其中, 康欣口服液大鼠灌胃给药剂量是按照临床用量 (1 次 10 mL, 1 日 2 次) 体表面积等效折算的 1 倍、2 倍和 4 倍进行设计。

正常对照组腹腔注射生理盐水并灌胃蒸馏水, 其余各组均腹腔注射 40 mg/mL 的 D-半乳糖生理盐水溶液以诱导衰老模型, 同时灌胃给予二甲双胍水溶液 (25 mg/mL) 或康欣口服液干预。腹腔注射和灌胃给药体积均为 10 mL/kg, 其中康欣口服液加蒸馏水补至 10 mL/kg。每日上午腹腔注射后进行灌胃给药, 每日 1 次, 连续 8 周。每周给药之前对各组大鼠进行称重, 记录体质量。末次给药后, 禁食不禁水 12 h, 麻醉后, 腹主动脉取血, 取脑、脾、肝、肾组织, 再于无菌无酶条件下取出正常对照组、衰老模型组、康欣口服液高剂量组大鼠的结肠内容物, 液氮速冻后置 -80 °C 暂存。

### 1.4.2 观察指标

**1.4.2.1 体质量** 在腹腔注射之前对大鼠进行称重, 每周 1 次, 绘制体质量曲线以评价衰老相关的体质量减轻程度。

**1.4.2.2 氧化应激指标因子** 各组大鼠全血室温静置 30 min, 3 000 r/min, 离心 10 min, 留取上清。各脑、脾、肝、肾组织加 9 倍体积生理盐水, 于 4 °C 匀浆, 10 000 r/min, 4 °C, 离心 10 min, 留取上清。采用双抗法, 测定以上上清液中氧化应激指标因子 SOD、MDA 和 ROS 的水平, 以评价氧化应激损伤程度, 具体测试步骤依照试剂盒说明书进行。

**1.4.2.3 脏器指数** 按照下列公式计算各组大鼠的脑、脾、肝、肾指数, 以评价脑衰老程度、免疫力、肝肾代谢能力。脏器指数 (%) = 脏器湿重量 (g) / 体质量 (g) × 100%

**1.4.2.4 肝、肾病理形态学分析** 取各组大鼠肝、肾组织在福尔马林溶液中固定, 进行石蜡包埋,

切片, H&E 染色, 光镜下观察组织病理改变, 拍摄照片, 以评价衰老相关的肝、肾病理改变。

**1.4.2.5 肠道菌群** 取正常对照组、衰老模型组、康欣口服液高剂量组大鼠的结肠内容物, 委托北京青莲百奥生物科技有限公司采用 16S rRNA 测序法测定。肠道菌群分析方法如下: 微生物学实验双端测序保留长度大于 200 bp 的序列用于操作分类单元分析, 对代表性序列作物种分类学分析, 并在门、属等分类水平下统计每个样本的群落组成。基于分类单元 (Operational taxonomic units, OTU) 分析结果, 分别计算香农指数 (Shannon index) 等多样性指数反映群落的物种丰度和多样性, 并进行 PCoA 分析和 Metastats 差异分析<sup>[17]</sup>。

**1.5 统计学方法**

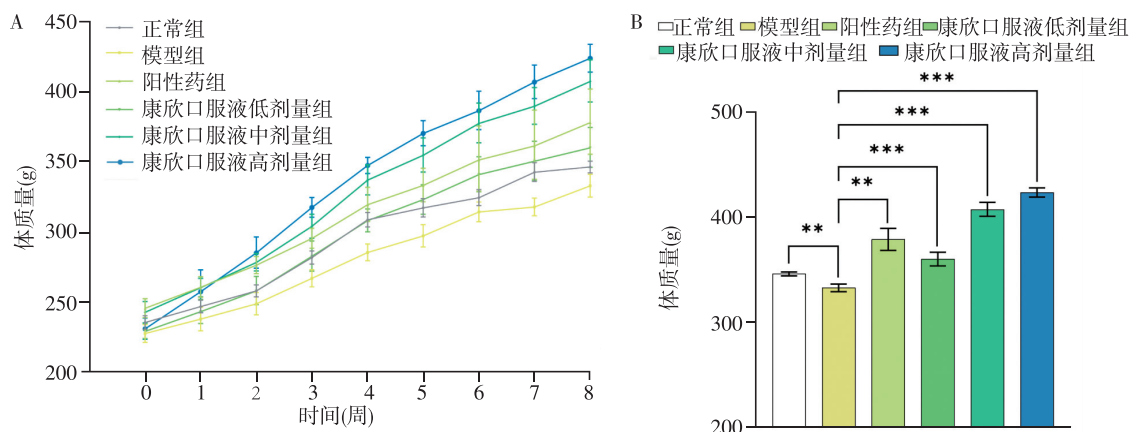
应用 GraphPad Prism 10.0 软件进行数据分析。

服从正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。在 Mantel 检验框架下, 使用 Pearson 相关系数法分析肠道菌群与氧化应激指标之间的相关性。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

**2 结果**

**2.1 各组体质量比较**

给药 8 周内, 各组体质量均呈增长趋势。但第 8 周末, 模型组体质量明显低于正常组大鼠 ( $P<0.01$ ), 提示模型组体质量增长缓慢; 阳性药组体质量明显高于模型组大鼠 ( $P<0.01$ ), 提示阳性药组体质量增长较快; 康欣口服液低、中、高剂量组体质量呈剂量依赖性地高于模型组大鼠 ( $P<0.001$ ), 其中高剂量组体质量最大, 提示康欣口服液能够显著增加大鼠体质量, 见图 1。



注: A 为给药 8 周内大鼠体质量变化趋势, B 为第 8 周末大鼠体质量; 与模型组比较 \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ 。

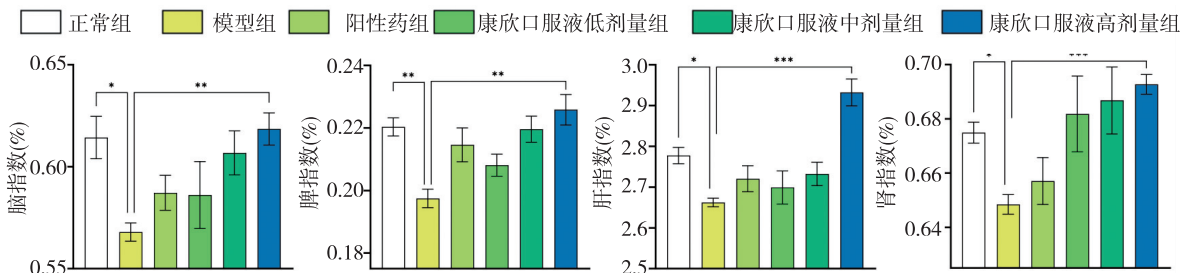
图 1 康欣口服液对大鼠体质量的影响

Fig. 1 Effect of Kangxin Oral Liquid on weight in rats

**2.2 各组脏器指数比较**

与正常组比较, 模型组脑、脾、肝和肾指数均出现了降低 ( $P<0.05$ ), 提示衰老大鼠出现器官萎缩或退行性病变。与模型组比较, 阳性药组和各康

欣口服液组均能不同程度地提高各脏器指数 ( $P<0.05$ ), 但仅康欣口服液高剂量组明显增加了各脏器指数, 见图 2。提示高剂量康欣口服液可以有效缓解衰老所造成的器官萎缩或退行性病变的状况。



注: 与模型组比较 \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ 。

图 2 康欣口服液对大鼠脏器指数的影响

Fig. 2 Effect of Kangxin Oral Liquid on organ index in rats

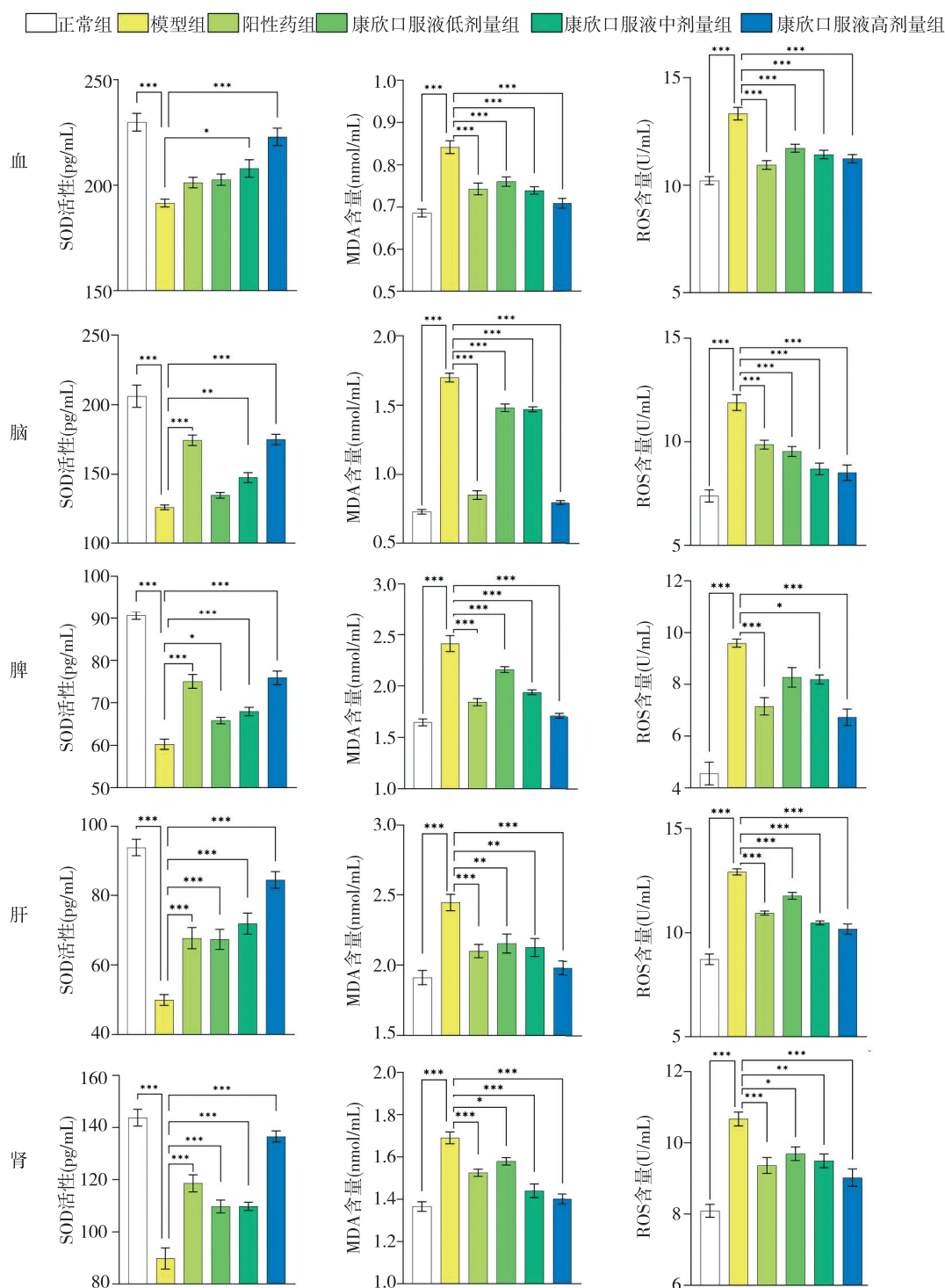
**2.3 两组氧化应激因子比较**

与正常对照组比较, 模型组血清、脑、脾、

肝和肾组织中 SOD 含量均显著下降 ( $P<0.001$ ), MDA 和 ROS 含量均显著上升 ( $P<0.001$ ), 提示

衰老大鼠出现氧化应激损伤。与模型组比较, 阳性药组和各康欣口服液组均能回调各氧化应激因子水平, 其中康欣口服液高剂量组效果最为显著

( $P < 0.001$ ), 提示康欣口服液可以有效缓解衰老所造成的氧化应激损伤, 且具有剂量依赖性, 见图 3。



注: 与模型组比较 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

图 3 各组大鼠各部位氧化应激指标水平

Fig. 3 The levels of oxidative stress indexes in tissues of rats in each group

#### 2.4 肝、肾病理形态学分析

与正常对照组比较: 衰老模型组肝脏肝小叶

分界模糊不清, 肝窦扩张瘀血, 肝窦缝隙变窄; 肝细胞板索排列紊乱、体积增大、肿胀、坏死、

浑浊、空泡变性, 胞核固缩或碎裂溶解; 肾脏呈现结构萎缩坏死状, 肾盂部位出现囊肿, 肾小管上皮萎缩、肾小管管腔出现空泡样变形; 肾小球上皮细胞坏死, 细胞碎片脱落, 边缘轻度模糊; 肾小球萎缩, 系膜细胞大量增生, 见图 4。提示衰老大鼠肝肾结构破坏, 出现代谢紊乱的情况。

与模型组比较: 阳性药组和各康欣口服液组均能

不同程度地改善上述情况, 其中康欣口服液各剂量组可明显看出肝脏组织纤维结构正常, 肝细胞板索结构正常, 肝小叶分界清楚, 细胞分布均匀有致、呈多边形, 细胞膜完整, 细胞核清晰排列可见; 肾脏组织纤维结构正常、边缘致密完整, 髓质和皮质分界清晰、肾小管上皮完整、细胞形态正常; 集合管、鲍曼囊均无异常、细胞核清晰排列可见, 见图 4。

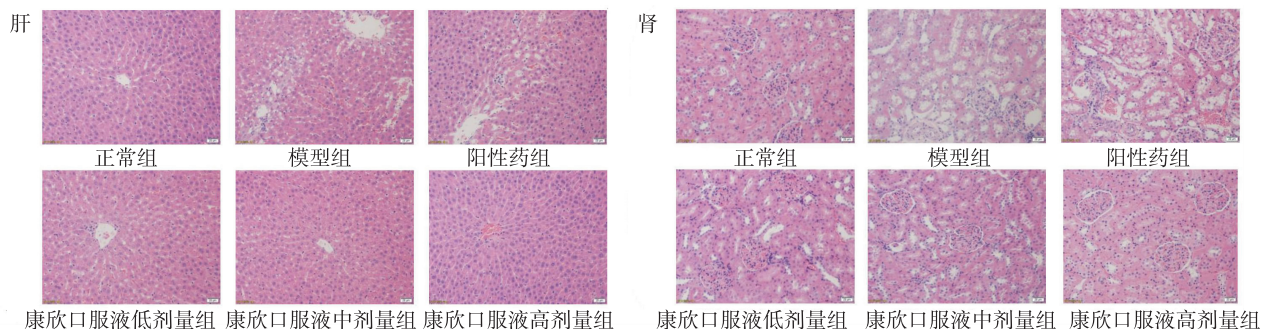


图 4 各组大鼠的肝脏和肾脏病理形态

Fig. 4 Pathological morphology of liver and kidney in rats of each group

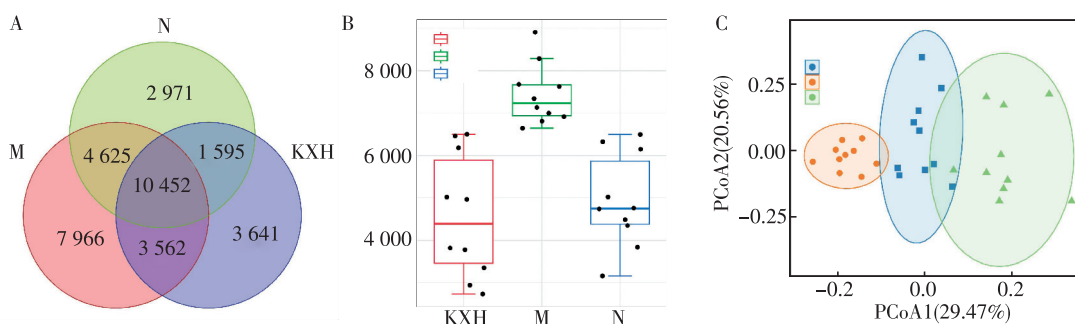
## 2.5 大鼠肠道菌群变化分析

### 2.5.1 物种多样性分析

如图 5A 所示, 模型组 OUT 数量与正常对照组比较多了 4 325 个, 说明衰老过程中可能会导致大鼠肠道中有害菌群的数量增多。康欣口服液高剂量组和正常对照组交集的相同菌群, 以及康欣口服液高剂量组较模型组比较有差异的菌群, 是后续重点关注的菌群, 可能是康欣口服液通过调节衰老大鼠肠道菌群延缓衰老的具体调节种类。

如图 5B 所示, Shannon 指数分析结果, 康欣口服液高剂量组和正常对照组的 OUT 水平较模型组偏高, 表明衰老可能会造成大鼠肠道内菌群的数量减少, 而康欣口服液可能通过增加衰老大鼠的肠道菌群比例和种类来发挥抗衰老活性。

如图 5C 的 PCoA1 结果表明, 不同组间的个样本处于不同部位, 模型组与正常对照组距离较远, 康欣口服液高剂量组距离正常对照组更近, 表明经康欣口服液干预后, 衰老大鼠的肠道菌群健康度有所回调。



注: A 为韦恩图, B 为 Shannon 指数分析图, C 为 PCoA 分析图, N 为正常组、M 为模型组、KXH 为康欣口服液高剂量组。

图 5 各组大鼠肠道菌群多样性变化

Fig. 5 Changes in gut microflora diversity of rats in each group

### 2.5.2 门、属水平物种相对丰度分析

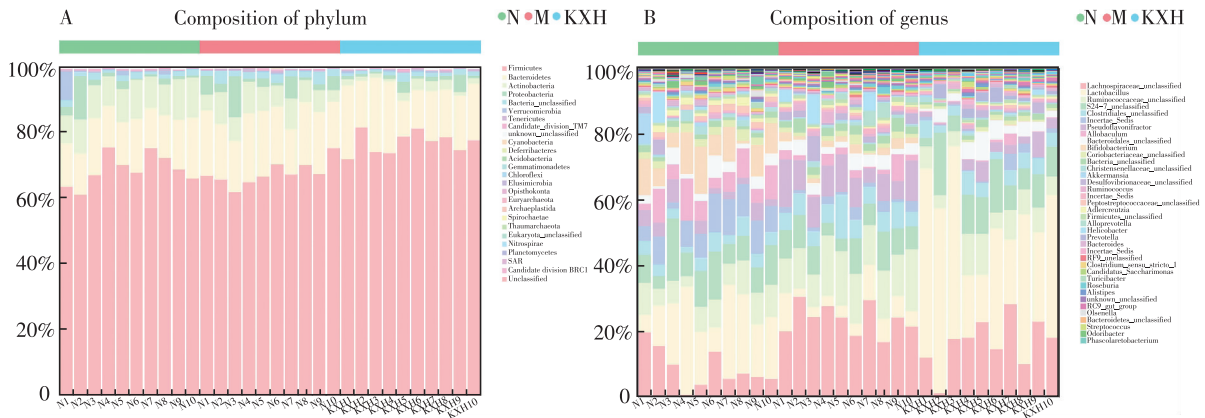
如图 6 所示, 各组肠道菌群在门水平上主要是 Firmicutes、Bacteroidetes、Actinobacteria、Proteobacteria、Verrucomicrobia 等。与正常对照组比较, 模型组共有 3 个差异菌门, 其中 Firmicutes、Bacteroidetes 丰度升高, Actinobacteria 丰度降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 康欣口服液高剂量组共有 2 个差异菌门, 其中 Firmicutes 和 Bacte-

roidetes 丰度降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

各组肠道菌群在属水平上主要是 *Lactobacillus*、*Clostridiales*、*Pseudoflavonifractor*、*Allobaculum*、*Bifidobacterium*、*Coriobacteriaceae*、*Christensenellaceae*、*Akkermansia*、*Desulfonivibrionaceae* 等。与正常对照组比较, 模型组共有 8 个差异菌属, 其中 *Lactobacillus*、*Bifidobacterium*、*Coriobacteriaceae*、*Christensenellaceae* 和 *Akkermansia* 丰度降低, *Pseudoflavonifractor*、*Clostridiales*

和 *Desulfovibrionaceae* 丰度升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 康欣口服液高剂量组共有 6 个差异菌属, 其中 *Lactobacillus*、*Coriobacteriaceae*、*Pseudoflavonifractor* 和 *Akkermansia* 丰度升高,

*Clostridiales*、*Desulfovibrionaceae* 丰度降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。表明康欣口服液可以通过降低有害菌相对丰度的同时提高有益菌的相对丰度, 从而调整衰老大鼠体内的肠道菌群稳态以达到抗衰老目的。



注: N 为正常组、M 为模型组、KXH 为康欣口服液高剂量组; A 为门水平、B 为属水平。

图 6 各组大鼠肠道菌群门、属水平物种相对丰度变化

Fig. 6 Changes of relative abundance of gut microflora at the levels of phylum and genus of rats among each group

### 2.6 衰老大鼠体内氧化应激指标与肠道菌群相关性分析

利用 Pearson 相关性分析法分析肠道菌群变化与氧化应激生化指标的相关性, 结合相关系数绘制出相关性热图, 直观反映肠道菌群之间的相互作用, 以及与血清 MDA、SOD 和 ROS 氧化应激生化指标的关系。如图 7 所示, 康欣口服液高剂量组显著差异的 *Pseudoflavonifractor* 和 *Bacteria*、*Clostridia*、*Desulfovibrionales*、*vadinBB60*、*Ruminococcaceae* 相互影响, *Clostridiales* 和 *Desulfovibrionales*、

*vadinBB60*、*Bacteria*、*Pseudoflavonifractor*、*Hydrogenoanaerobacterium* 相互影响; 同时 *Bacteroidetes* 与 SOD 和 MDA 水平呈显著相关 ( $r = -0.629, 0.594$ , 均  $P < 0.05$ ), *Clostridiales* 与 SOD、MDA 和 ROS 水平呈显著相关 ( $r = -0.585, 0.679, 0.685$ , 均  $P < 0.05$ ); *Pseudoflavonifractor* 与 SOD、MDA 和 ROS 水平呈显著相关 ( $r = 0.566, -0.605, -0.484$ , 均  $P < 0.05$ ); *Ruminococcaceae* 与 SOD、MDA 和 ROS 水平呈显著相关 ( $r = 0.669, -0.746, -0.706$ , 均  $P < 0.05$ )。

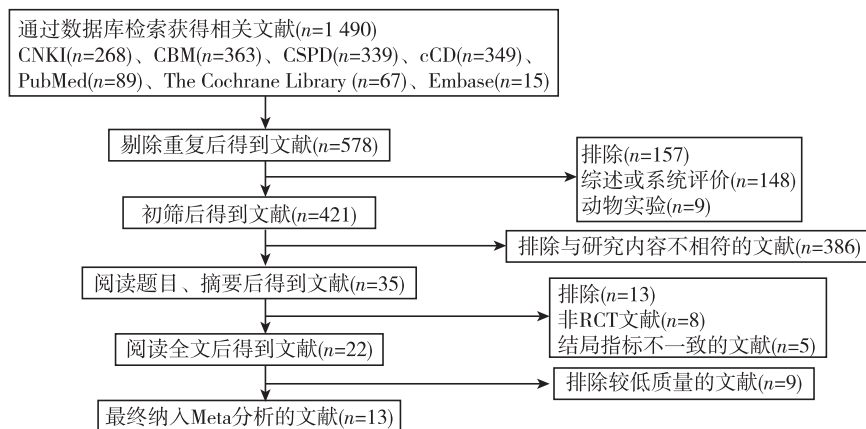


图 7 各组大鼠肠道菌群与氧化应激因子 Pearson 相关分析

Fig. 7 Pearson correlation analysis of gut microbiota and oxidative stress factors in each group of rats

### 3 讨论

衰老是一个复杂的生物学过程, 会影响多个方面, 比如伴随多器官功能减退和分子水平损伤的累积。脏器指数常作为评估器官萎缩或退行性

改变的指标, 其下降可能反映衰老相关的组织萎缩或功能衰退<sup>[19]</sup>。在分子层面, 氧化应激被认为是衰老的核心机制之一。模型组各部位的 ROS 和 MDA 水平均有不同程度的升高, 同时伴随着 SOD

的降低, 而氧化应激失衡表现即为抗氧化酶 (如 SOD) 活性降低, 以及脂质过氧化产物 (如 MDA) 的积累<sup>[20]</sup>。SOD 是清除自由基的关键酶, 其活性下降导致 ROS 过量, 加速细胞损伤; 而 MDA 水平升高则直接反映氧化损伤程度, 同时还可能会激发免疫调控因子, 如核因子  $\kappa$ B 等, 加速细胞衰老和器官功能紊乱<sup>[21]</sup>。在微生物学方面, 易造成肠道菌群的紊乱, 如模型组具有促氧化作用的 *Clostridiales* 和 *Desulfovibrionaceae* 丰度升高, 而这些方面可能还会相互影响。三者可能形成恶性循环, 共同推动衰老进程。因此, 了解氧化应激与肠道菌群的相互关系可能成为延缓衰老的潜在策略。

在对大鼠灌胃康欣口服液后, 发现其可以直接对大鼠的多个器官部位的氧化应激相关指标进行调节, 对血、脑、脾、肝、肾多个部位均呈剂量依赖性的上调 SOD, 下调 MDA 和 ROS, 以及缓解衰老所造成的肝肾结构破坏和代谢紊乱。表明康欣口服液可以直接抑制衰老大鼠体内多个器官中过多的氧化应激反应, 还发现对肠道菌群也具有调节作用, 使其 Shannon 指数分析和 PCoA1 分析均更趋近于正常对照组, 多种菌群丰度也发生了变化, 其中具有调节脂质功能的 *Pseudoflavonifactor* 和 *vadinBB60*、*Ruminococcaceae*、*Desulfovibrionales* 等均升高。可能是由于这些菌群共同参与碳水化合物代谢, 与此同时 *Desulfovibrionales* 可能通过参与硫循环和厌氧代谢来调节肠道微环境, 影响 *Pseudoflavonifactor* 的丰度<sup>[21-22]</sup>。因此在康欣口服液高剂量组这些菌群均呈升高, 同时产生丁酸盐和短链脂肪酸以及抗氧化酶, 这些物质也可发挥抗氧化作用<sup>[23-24]</sup>。本研究还发现 *Clostridiales* 和 *Desulfovibrionales* 在康欣口服液高剂量组均降低。可能是因为 *Clostridiales* 和 *Desulfovibrionales* 彼此产生的代谢产物可以互相利用从而影响代谢过程, 因此在丰度上相互影响, 共同降低, 另有研究表明这两种菌群均与年龄呈正相关<sup>[25-27]</sup>。由此可见康欣口服液可以通过调节多个菌群丰度和菌群之间的相互作用, 维持肠道菌群稳态以发挥抗氧化活性。康欣口服液除了调节一些具有相互影响的菌群共同维持肠道菌群稳态外, 还可能通过调节菌群间接调节氧化应激因子, 比如 *Bacteroidetes* 的丰度与 MDA 水平呈正相关, 与 SOD 的活性呈负相关, 可能是由于其产生的短链脂肪酸可以影响肠道屏障功能, 增加氧化应激损伤<sup>[28]</sup>。同时还发现 *Clostridiales* 的丰度与 ROS、MDA 水平呈正相关, 和 SOD 的活性呈负相关。有研究表明 *Clostridiales* 与低密度脂蛋白胆固醇和 MDA 呈正相关, 其某些菌种产生的毒素 TcdA 和 TcdB 通过 NADPH 氧化酶依赖的途径还会产生 ROS<sup>[29-30]</sup>。本研究发现, 康欣口服液除了降低了一些会导致过氧化应激的菌种外, 还提高了一些有益菌种, 比如其中 *Pseudoflavonifactor* 和 *Ruminococcaceae* 均与 SOD 水平呈正相关, 与 MDA 和 ROS 水平呈负相关。有研究表明, *Pseudoflavonifrac-*

*tor* 的代谢活动可能通过影响黄酮类化合物水平并增强其抗氧化活性从而间接影响抗氧化的水平, 而 *Ruminococcaceae* 也可以通过产生活性硫黄分子来增强其抗氧化活性<sup>[31-32]</sup>。因此这两个菌群可能通过自身产生代谢物间接调节氧化应激相关指标。

综上所述, 本研究首次探究了康欣口服液缓解衰老大鼠脑、肝脏、肾脏、脾脏和血清中的氧化应激损伤及维持肠道菌群稳态的调节机制, 是对康欣口服液补肾填精、健脾益气、养血活血功效的补充, 为其临床应用提供了理论基础。

### 参考文献

- [1] Alley D E, Ferrucci L, Barbagallo M, et al. A research agenda: the changing relationship between body weight and health in aging[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2008,63(11):1257-1259.
- [2] Harman D. Aging; a theory based on free radical and radiation chemistry[J]. J Gerontol, 1956,11(3):298-300.
- [3] Saffrey M J. Aging of the mammalian gastrointestinal tract;a complex organ system [J]. Age (Dordr), 2014, 36(3):9603.
- [4] Berrios L, Rentsch J D. Linking Reactive oxygen species (ROS) to abiotic and biotic feedbacks in plant microbiomes; the dose makes the poison [J]. Int J Mol Sci, 2022,23(8):4402.
- [5] Wang N, Han Q, Wang G, et al. Resveratrol protects oxidative stress-induced intestinal epithelial barrier dysfunction by upregulating heme oxygenase-1 expression [J]. Dig Dis Sci, 2016,61(9):2522-2534.
- [6] Ke Y, Li D, Zhao M, et al. Gut flora-dependent metabolite Trimethylamine-N-oxide accelerates endothelial cell senescence and vascular aging through oxidative stress [J]. Free Radic Biol Med, 2018,116:88-100.
- [7] 张敏. 古代抗衰老方剂用药规律研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2018.  
Zhang M. Study on the medication rule of an ancient anti-senile prescriptions[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2018.
- [8] 张秀艳. 康欣口服液联合阿托伐他汀对中老年糖尿病患者糖脂代谢与动脉粥样硬化斑块形成的影响[J]. 中外医药研究, 2023,2(36):108-110.  
Zhang X M. Effects of Kangxin Oral Liquid combined with atorvastatin on glycolipid metabolism and atherosclerotic plaque formation in middle-aged and elderly diabetic patients[J]. J Chin Foreign Med, Pharm. Res, 2023,2(36):108-110.
- [9] 高琛, 陈恒文, 张跃. 康欣口服液联合阿托伐他汀治疗中老年冠心病心缺血的效果分析[J]. 中国社区医师, 2024,40(9):116-118.  
Gao C, Chen H W, Zhang Y. Effect analysis of Kangxin Oral Liquid combined with atorvastatin in treatment of middle-aged and elderly patients with coronary heart disease and myocardial Ischemia [J]. Chin Community Doct, 2024,40(9):116-118.

- [10] 吴晓平. 康欣口服液对老年小鼠肝线粒体 DNA 缺失突变影响的实验研究[D]. 福州: 福建中医学院, 2003.  
Wu X P. A experimental study on the effect of Kangxin Liquid on liver mitochondrial DNA deletion in aged Blab/c mice [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2003.
- [11] 梁海凌. 康欣口服液对老年小鼠脑线粒体 DNA 缺失突变影响的实验研究[D]. 福州: 福建中医学院, 2006.  
Liang H L. A Experimental study on the effect of KangXin Liquid on brain mitochondrial DNA deletion mutation in aged Balb/c mice [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2006.
- [12] 张小如, 王正引, 兰风华. 康欣口服液对老年小鼠肾线粒体 DNA 缺失突变的影响[C]. 北京: 中国老年学学会 2006 年老年学学术高峰论坛, 2006: 233-234.  
Zhang X R, Wang Z Y, Lan F H. The effect of Kangxin Ora Liquid on kidney mitochondrial DNA deletion in aged mice[C]. Beijing: 2006 Gerontology Academic Summit Forum by China Aging Science Society, 2006: 233-234.
- [13] 曹芳莉. 小鼠线粒体 DNA 缺失突变的实时定量 PCR 检测及康欣口服液对其影响的研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2010.  
Cao F L. Detection of deletion mutation of mitochondria DNA(mtDNA)in mice by real-time fluorescent quantitative PCR and effect of KangXin Liquid[D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2010.
- [14] 张小如, 张艳, 叶苓, 等. 康欣口服液对亚急性衰老大鼠行为学及海马超微结构的影响[J]. 光明中医, 2007,22(6):73-77.  
Zhang X R, Zhang Y, Ye L, et al. The effect of Kangxin Oral Liquid on behavior and ultramicro fabric in hippocampus of aging rats[J]. *Guangming J Chin Med*, 2007, 22(6):73-77.
- [15] 张小如, 周林瑛, 吴晓平, 等. 康欣口服液对老年小鼠睾丸超微结构的影响[J]. 中国老年学杂志, 2007(13):1247-1249.  
Zhang X R, Zhou L Y, Wu X P, et al. Effect of Kangxin Oral Liquid on ultrastructure of testis in aged mice [J]. *Chin J Geriatr*, 2007(13):1247-1249.
- [16] 张小如, 张艳, 叶苓, 等. 康欣口服液抗脑衰老的实验研究[J]. 中国老年学杂志, 2006,(12):1681-1683.  
Zhang X R, Zhang Y, Ye L, et al. Study on the Anti-Brain Aging Effects of Kangxin Oral Liquid[J]. *Chin J Geriatr*, 2006,(12):1681-1683.
- [17] 高鹏. 康欣口服液抗衰老作用机制及药效物质基础研究[D]. 长春: 吉林大学, 2024.  
Gao P. Study on the mechanism and pharmacological substances of the anti-aging effect of Kangxin Oral Liquid [D]. Changchun: Jilin University, 2024.
- [18] Mason T J, Matthews M. Aquatic environment, housing, and management in the eighth edition of the guide for the Care and use of laboratory animals: additional considerations and recommendations (review) [J]. *J Am Assoc Lab Anim*, 2012,51(3):329-332.
- [19] Bao H N, Cao J N, Chen M T, et al. Biomarkers of aging[J]. *Sci. China Life Sci*, 2023,66(5):893-1066.
- [20] Floyd R A, Towner R A, He T, et al. Translational research involving oxidative stress and diseases of aging [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011,51(5):931-941.
- [21] Lee C C, Liao Y C, Lee M C, et al. *Lactobacillus plantarum* TWK10 attenuates aging-associated muscle weakness, bone loss, and cognitive impairment by modulating the gut microbiome in mice[J]. *Front Nutr*, 2021,8:708096.
- [22] Zhao H, Jiang F, Gu H, et al. Seasonal variation of gut microbial composition and metabolism in tibetan antelopes in hoh xil national nature reserve[J]. *Animals (Basel)*, 2023,13(22):3569.
- [23] Ma Y, Wang W, Zhang H, et al. Supplemental *Bacillus subtilis* DSM 32315 manipulates intestinal structure and microbial composition in broiler chickens [J]. *Sci Rep*, 2018,8(1):15358.
- [24] Carlson H K, Mullan M R, Deutschbauer A M, et al. Systems biology studies on the response of *desulfovibrio Alaskensis* G20 to perchlorate, chlorate, oxidative and nitrosative stress[M]. Berkeley CA: University of California, 94720 USA, 2013:826.
- [25] Benomar S, Ranava D, Cárdenas M L, et al. Nutritional stress induces exchange of cell material and energetic coupling between bacterial species [J]. *Nat Commun*, 2015,6:6283.
- [26] Conley M N, Wong C P, Duyck K M, et al. Aging and serum MCP-1 are associated with gut microbiome composition in a murine model[J]. *Peer J*, 2016,4: e1854.
- [27] Liu X Y, Liu D, Lin G P, et al. Anti-ageing and antioxidant effects of sulfate oligosaccharides from green algae *Ulva lactuca* and *Enteromorpha prolifera* in SAMP8 mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019,139:342-351.
- [28] 董雯, 孙杰, 刘奔, 等. 富硒植物乳植杆菌 SAL 干预衰老小鼠氧化应激损伤及肠道菌群失调[J]. 中国微生物学杂志, 2025,37(1):10-19.  
Dong W, Sun J, Liu B, et al. Intervention of selenium-enriched *Lactiplantibacillus plantarum* SAL on oxidative stress injury and intestinal microbiota dysbiosis in aging mice[J]. *Chin J Microecol*, 2025,37(1):10-19.
- [29] Qin S, He Z, Wu Y, et al. Instant dark tea alleviates hyperlipidaemia in high-fat diet-fed rat: from molecular evidence to redox balance and beyond [J]. *Front Nutr*, 2022,9:819980.
- [30] Frädrieh C, Beer L A, Gerhard R. Reactive oxygen species as additional determinants for cytotoxicity of *clostridium difficile* toxins A and B[J]. *Toxins (Basel)*, 2016,8(1):25.
- [31] Zhou W, Peng C, Wang D, et al. Interaction mechanism between ova and flavonoids with different hydroxyl groups on B-ring and effect on antioxidant activity [J]. *Foods*, 2022,11(9):1302.
- [32] Uchiyama J, Akiyama M, Hase K, et al. Gut microbiota reinforce host antioxidant capacity via the generation of reactive sulfur species [J]. *Cell Rep*, 2022, 38(10):110479.