

# 恰玛古不同极性萃取部位体外抗氧化及护肝活性研究

梁钦兰<sup>1</sup>, 胡梦颖<sup>2</sup>, 陈莉<sup>1</sup>,

王凡<sup>1</sup>, 王欣茹<sup>1</sup>, 杨晓君<sup>1\*</sup>, 哈木拉提·哈斯木<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>新疆农业大学食品科学与药学学院, 乌鲁木齐 830052; <sup>2</sup>新疆维吾尔自治区药物研究院, 乌鲁木齐 830034

**摘要:** 研究恰玛古不同极性萃取部位体内外抗氧化及肝保护活性, 并初步评价其安全性, 从而筛选最佳活性部位, 为恰玛古的开发利用提供科学参考。本研究通过检测 DPPH、ABTS 自由基清除能力以及总抗氧化能力 (total antioxidative capability, T-AOC); 建立四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>, 0.15%, 0.06 mL/10 g) 致小鼠肝损伤模型, 测定血清中天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 与肝脏匀浆中超氧化物歧化酶 (superoxide dsmutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性, 考察恰玛古不同极性萃取部位的体外和体内抗氧化及护肝活性; 通过给予小鼠不同极性萃取部位浸膏溶液, 连续观察 14 d 小鼠体征与死亡情况, 在实验结束时统计小鼠体重增长, 并解剖观察各脏器, 评价其毒性反应。结果显示, 不同极性萃取部位 DPPH、ABTS 自由基清除率的 IC<sub>50</sub> 值大小顺序为: 水混悬萃取部位>石油醚萃取部位>正丁醇萃取部位>乙酸乙酯萃取部位。铁离子抗氧化能力法测定乙酸乙酯与正丁醇萃取部位 T-AOC 最强。体内实验结果表明, 乙酸乙酯和正丁醇萃取部位可明显降低 CCl<sub>4</sub> 致小鼠肝损伤模型血清中 AST、ALT 水平 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 可显著提高小鼠体内 SOD、GSH-Px 活性, 与模型组比较有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 病理结果显示, 阳性药 (联苯双酯滴丸)、乙酸乙酯和正丁醇萃取部位能有效减轻 CCl<sub>4</sub> 导致的小鼠急性肝损伤。且小鼠给予恰玛古不同极性萃取部位后, 未见急性毒性, 提示安全无毒。综上所述, 恰玛古不同极性萃取部位中, 正丁醇与乙酸乙酯萃取部位体外抗氧化活性较好, 且具有良好的体内外抗氧化及护肝效果。

**关键词:** 恰玛古; 不同极性萃取部位; 抗氧化活性; 护肝活性; 四氯化碳肝损伤

中图分类号: R151

文献标识码: A

## Antioxidant and hepatoprotective activities of different polar parts of *Brassica rapa* L. *in vitro* and *in vivo*

LIANG Qin-lan<sup>1</sup>, HU Meng-ying<sup>2</sup>, CHEN Li<sup>1</sup>,

WANG Fan<sup>1</sup>, WANG Xin-ru<sup>1</sup>, YANG Xiao-jun<sup>1\*</sup>, HASIMU Hamulati<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; <sup>2</sup>Xinjiang

Institute of Materia Medica, Urumqi 830034, China

**Abstract:** This study aims to investigate the antioxidant and hepatoprotective activities of different polar extraction parts of *Brassica rapa* L. *in vitro* and *in vivo*, and to preliminarily evaluate its safety, so as to screen the best active parts and provide scientific reference for the development and utilization of *B. rapa*. DPPH, ABTS free radical scavenging ability and total antioxidant capacity (T-AOC) were detected; a mouse model of liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>, 0.15%, 0.06 mL/10 g) was established. The activities of aspartate transaminase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in serum and superoxide dsmutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in liver homogenate were determined, and the antioxidant and hepatoprotective activities of

different polar extracts of *B. rapa* *in vitro* and *in vivo* were investigated. The signs and death of mice were observed continuously for 14 days by giving the extract solution of different polar extraction parts of mice. At the end of the experiment, the weight gain of mice was counted, and the organs were dissected and observed to evaluate their toxic reactions. The results showed that the order of IC<sub>50</sub> values of DPPH and ABTS free radical scavenging rates of different polar extraction parts was: water suspension extraction part > petroleum ether extraction part > n-butanol extraction part > ethyl acetate extraction part. Ferric reducing ability of plasma method was used to determine the T-AOC of ethyl acetate and n-butanol extracts. The results of *in vivo* experiments showed that the ethyl acetate and n-butanol extracts could significantly reduce the levels of AST and ALT in the serum of mice with liver injury induced by CCl<sub>4</sub> ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and significantly increase the activities of SOD and GSH-Px in mice. Compared with the model group, there was a significant difference ( $P < 0.05$ ). The pathological results showed that the positive drug (bifendate dropping pills), ethyl acetate and n-butanol extracts could effectively reduce the acute liver injury induced by CCl<sub>4</sub> in mice. After mice were given different polar extraction parts of *B. rapa*, no acute toxicity was observed, suggesting that it was safe and non-toxic. In summary, among the different polar extracts of *B. rapa*, n-butanol and ethyl acetate extracts have better antioxidant activity *in vitro*, and have good antioxidant and liver protection effects *in vivo* and *in vitro*.

**Key words:** *Brassica rapa* L.; different polar fractions; antioxidant activity; hepatoprotective activity; CCl<sub>4</sub>-induced liver injury

肝脏是人体内最大的实质器官，对人体的消化、排泄、营养储存、代谢稳态、新物质的合成、有害化学物质的解毒等生理功能起着至关重要的作用。肝脏易受多种因素引起的毒性影响，导致代谢功能改变和严重的健康问题<sup>[1-2]</sup>。氧化应激（oxidative stress, OS）是导致肝脏病变的主要因素之一。主要归因于活性氧（reactive oxygen species, ROS）的产生和内源性抗氧化防御的降低<sup>[1]</sup>。肝脏在代谢和解毒过程中通过线粒体呼吸链产生大量活性氧，使细胞内氧化还原稳态失衡，发生氧化应激，导致肝细胞死亡和肝损伤<sup>[3]</sup>。正常肝细胞可依靠强大的抗氧化防御机制，包括酶和非酶成分，使 ROS 保持在生理水平。肝细胞中的酶促抗氧化剂如超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）、胞质谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase, GSH-Px）和过氧化氢酶（catalase, CAT）等通过酶促反应代谢 ROS，而非酶促抗氧化剂如维生素 E、C、多糖和类黄酮等可通过中和自由基和非自由基氧化剂来预防或减轻氧化损伤<sup>[4]</sup>。

恰玛古学名为芜菁（*Brassica rapa* L.），是一种传统的药食两用植物。其肉质多汁微甜，略带辣味，具有开胃消食，下气宽中，止咳化痰，利湿解毒，温和脾胃的作用<sup>[5]</sup>。研究发现，恰玛古在抗炎，抗肿瘤、抗氧化、减缓疲劳、降血糖、免疫调节、护肝方面具有良好的药理活性<sup>[6]</sup>。现代研究表明，恰玛古中含有多糖、皂苷、黄酮、硫代葡萄糖苷、酚酸类、挥发油等多种活性成分。其中，多糖<sup>[7]</sup>、皂苷<sup>[8]</sup>、黄酮类<sup>[9]</sup>化学成分具有良好的抗氧化活性。研究表明，从恰玛古中提取的多糖、皂苷、黄酮对体外 DPPH、ABTS 和羟（OH）自由基有较好的清除能力<sup>[10-12]</sup>。

天然产物极性萃取部位是其对疾病发挥预防保护作用的物质基础，是有效成分的富集群，与单一类别有效成分相比，生物活性更强<sup>[12]</sup>。本研究通过初步评价恰玛古不同极性萃取部位的急性毒性、测定恰玛古不同极性萃取部位 DPPH、ABTS 自由基清除能力以及总抗氧化

能力 (total antioxidative capability, T-AOC)；并建立四氯化碳致小鼠肝损伤模型，考察恰玛古不同极性萃取部位的急性毒性、体内外抗氧化活性及护肝作用，旨在筛选出具有安全有效的恰玛古极性萃取部位，为进一步开发利用恰玛古产品提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

恰玛古冻干粉 (新疆艾力努尔农业科技开发有限公司，批号：20230506)；无水乙醇、甲醇、石油醚、乙酸乙酯、四氯化碳 (天津市致远化学试剂有限公司，批号：20231016、20231206、20240126、20240221，分析纯)；1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 试剂盒、2, 2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (ABTS) 试剂盒、T-AOC 试剂盒 (苏州格瑞斯生物科技有限公司，批号：G020240528R01/02、20240325、20240625)；天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST) 试剂盒、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 试剂盒 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司，批号：140223016、140124001)；SOD 试剂盒、GSH-Px 试剂盒 (苏州格瑞斯生物科技有限公司，批号：G020240703R01/2、20231216)；联苯双酯滴丸 (万邦德制药集团有限公司，批号：19J221123)。

### 1.2 仪器

752-紫外分光光度计 (上海菁华科技仪器有限公司)；BS-480 血生化仪 (迈瑞生物科技有限公司)；Hei-vap/LR20-旋转蒸发仪 (海尔道夫仪器设备 (上海) 有限公司)；LEICA-RM2016 病理切片机、DM4000 显微镜、LEICA-RM2016 切片机 (德国 LEICA 公司)；BMJ-A 包埋机 (常州中威电子仪器有限公司)；TP1020 组织脱水机 (武汉天之瑞医疗科技有限公司)；KZPJ-1A 摊片烤片机 (上海精密仪器仪表有限公司)。

### 1.3 实验动物

急性毒性试验选用健康成年 SPF 级昆明小鼠，雌雄各半，动物体重雌性为 19.1~20.9 g，雄性为 19.5~20.9 g，护肝活性实验动物选用健康成年 SPF 级雌性昆明小鼠，动物体重为 19.1~22.0 g 由新疆医科大学动物中心提供，生产许可证号：SCXK (新) 2023-0001。实验动物在温度为 20.0~26.0 °C、相对湿度为 40%~70% 的屏障系统中饲养。实验动物使用许可证号：SYXK (新) 2022-0002。鼠饲料 (SPF 级)，由北京科奥协力饲料有限公司，生产许可证号：SCXK (津) 2020-0004。本实验经新疆维吾尔自治区药物研究院动物伦理委员会审查，遵循国家实验动物福利相关的规定。伦理批准号：XJIMM-20240406。

### 1.4 恰玛古不同极性萃取部位的制备

#### 1.4.1 恰玛古乙醇提取物的制备

取恰玛古冻干粉，以 95% 乙醇为提取溶剂，溶剂依次按料液比 1 : 10 (6 000 mL)、1 : 8 (4 800 mL)、1 : 6 (3 600 mL) (m/V) 加入至圆底烧瓶，然后用加热回流法分别回流提取 2、1.5、1 h 后合并 3 次滤液，减压浓缩成浸膏。

#### 1.4.2 恰玛古水、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取部位制备

取浸膏加水混悬，再依次用等量石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别进行萃取，同一方向振荡后，静置分层，上层为水混悬萃取部位，下层为有机溶剂层。不同极性溶剂分别萃取3次，分别合并萃取液，减压浓缩成得到水混悬部位（E1）、石油醚萃取部位（E2）、乙酸乙酯萃取部位（E3）、正丁醇萃取部位浸膏（E4），得率分别为43.81%、1.62%、0.24%、1.32%。

## 1.5 恰玛古不同极性萃取部位体外抗氧化能力测定

### 1.5.1 DPPH 自由基清除能力测定

参考国家标准<sup>[13]</sup>进行实验，分别取不同极性萃取部位浸膏适量，以80%甲醇配制成不同质量浓度的水混悬萃取部位和石油醚萃取部位（1.00、3.00、5.00、7.00、9.00 mg/mL）、乙酸乙酯萃取部位（0.04、0.12、0.36、1.08、3.34 mg/mL）、正丁醇萃取部位（0.40、0.80、1.60、3.20、6.40 mg/mL）的供试品溶液，同时设置空白组和对照组，计算DPPH自由基的清除率和IC<sub>50</sub>值。

### 1.5.2 ABTS 自由基清除能力测定

K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>和ABTS反应后会生成ABTS自由基，其最大吸收波长为734 nm。以80%甲醇配制成不同质量浓度的水混悬部位和石油醚萃取部位（1.25、2.50、5.00、10.00、20.00 mg/mL）、乙酸乙酯萃取部位（0.04、0.12、0.36、1.08、3.34 mg/mL）、正丁醇萃取部位（0.40、0.80、1.60、3.20、6.40 mg/mL）的供试品溶液，同时设置空白组和对照组，室温避光静置6 min后，在734 nm处测定吸光度值，并计算ABTS自由基的清除率和IC<sub>50</sub>值<sup>[14]</sup>。

### 1.5.3 T-AOC 测定

将2.00 mg的水溶性维生素E（trolox）溶解在2.00 mL乙醇中得到母液，然后用乙醇稀释母液至不同浓度的标准品（0.0、0.16、0.32、0.48、0.64、0.80 μmol/L），将这些标准品加入反应混匀后，同时配置水混悬部位、石油醚萃取部位、乙酸乙酯萃取部位、正丁醇萃取部位浓度（0.10、0.30、0.50、0.70、0.90 mg/mL），室温25℃，反应10 min，在590 nm处读取标准品组与样本组吸光度值。以标准品浓度×加样体积（75 μL）为横坐标，以标准品OD值为纵坐标，绘制标准曲线（ $y=0.0256x+0.0019$ ， $R^2=0.9955$ ），并计算样本组的T-AOC值<sup>[15]</sup>。

## 1.6 不同极性萃取部位体内护肝活性筛选

### 1.6.1 动物分组及给药

取56只雌性昆明小鼠，分为正常组（normal, Nor）、模型组（model, Mod）、联苯双酯滴丸组（bifendate pills, BP）、水混悬部位组（E1）、石油醚萃取部位组（E2）、乙酸乙酯萃取部位组（E3）、正丁醇萃取部位组（E4），每组8只；其中，Nor给予蒸馏水，不同极性萃取部位根据临床剂量折算给药剂量为BP（0.034 mg/10g）、E1（10.00 g/kg）、E2（5.00 g/kg）、E3（0.12 g/kg）、E4（0.78 g/kg），给药体积为0.20 mL/10 g，连续给药7 d，第7 d一次性给予四氯化碳造模剂。

### 1.6.2 四氯化碳致肝损伤模型复制

将四氯化碳溶液溶解于橄榄油中，浓度为 0.15%，除 Nor 外，每组动物按 0.06 mL/10 g 进行腹腔注射，复制四氯化碳致小鼠肝损伤模型。禁食不禁水 14 h 后眼球采血<sup>[16]</sup>。

### 1.6.3 指标检测

眼球采血，3 000 r/min 离心 15 min 后，取血清在 BS-480 全自动血生化仪检测 AST、ALT 水平，取肝脏匀浆并检测 SOD、GSH-Px 水平。

### 1.6.4 肝组织病理切片染色

实验结束，解剖摘取小鼠肝脏，取肝脏一叶在 10%福尔马林中固定，流水冲洗过夜，然后进行脱水、包埋、切片、烤片以及染色，光镜检查。

## 1.7 不同极性萃取部位安全性试验

参考食品安全国家标准<sup>[17]</sup>进行小鼠急性毒性试验。动物检疫 3 d，试验前动物禁食 14 h、自由饮水。动物分为 E1 组、E2 组、E3 组、E4 组和 Nor 组，每组 10 只，雌雄对半，给药体积按 0.4 mL/10 g 经口一次给药，按最大溶解度设计剂量分别为 64.0、26.6、2.0、3.8 g/kg。给药后连续观察 14 d，记录体重和异常行为及死亡情况。

## 1.8 数据处理

用 Excel 记录整理数据，在 GraphPad 中以浓度对数为横坐标，自由基清除率为纵坐标，进行线性拟合，将 50%清除率代入线性方程计算，即得到  $\lg C$ ，反对数获得  $C$  即为  $IC_{50}$ 。显著性采用 SPSS 27.0 软件统计分析，GraphPad 作图，数据均以平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，组间两两比较采用非参数检验， $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同极性萃取部位 DPPH 自由基清除能力

由图 1 和表 1 可知，不同极性萃取部位清除 DPPH 自由基的能力都随其浓度的增加而增强，并且量效呈线性关系。表 1 为不同极性萃取部位清除 DPPH 的  $IC_{50}$  值，其大小为水混悬萃取部位 (E1) > 石油醚萃取部位 (E2) > 正丁醇萃取部位 (E4) > 乙酸乙酯萃取部位 (E3)，表明乙酸乙酯萃取部位 (E3) 对 DPPH 自由基清除能力最强。

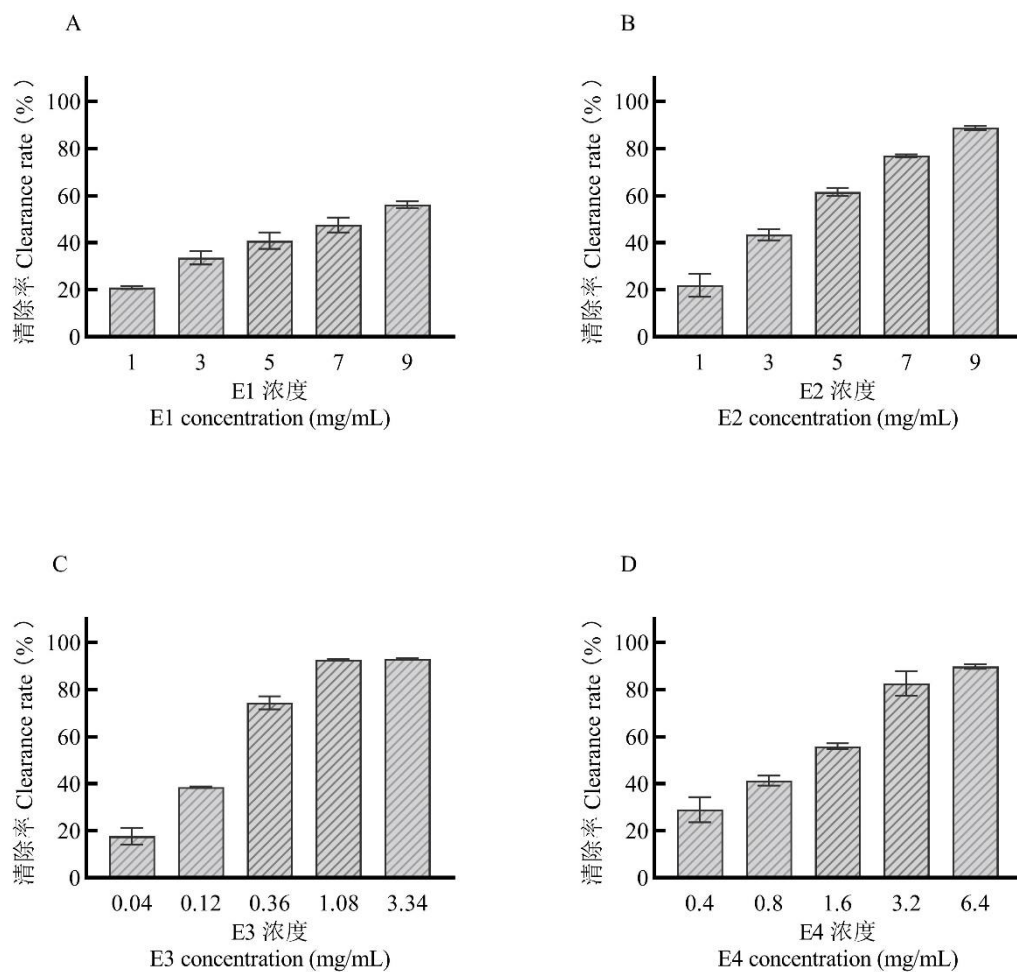


图 1 不同极性萃取部位 DPPH 自由基清除率

Fig. 1 DPPH free radical scavenging rate of different polar extraction parts

表 1 不同极性萃取部位清除 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  值

Table 1  $IC_{50}$  values of DPPH free radical scavenging of different polar extraction parts

样品 Sample	$IC_{50}$ (mg/mL)
E1	7.71
E2	2.96
E3	0.18
E4	1.06

## 2.2 不同极性萃取部位 ABTS 自由基清除能力

由图 2 可知，恰玛古不同极性萃取部位提取物对 ABTS 自由基均有较强的清除作用，不同极性萃取部位提取物对 ABTS 自由基清除活性随质量浓度的增加而增强。由表 2 可知，不同极性萃取部位  $IC_{50}$  值大小顺序为乙酸乙酯萃取部位 (E3) < 正丁醇萃取部位 (E4) < 石油醚萃取部位 (E2) < 水混悬萃取部位 (E1)，结果表明乙酸乙酯 (E3) 和正丁醇萃取部位 (E4) 的 ABTS 自由基清除能力最强。

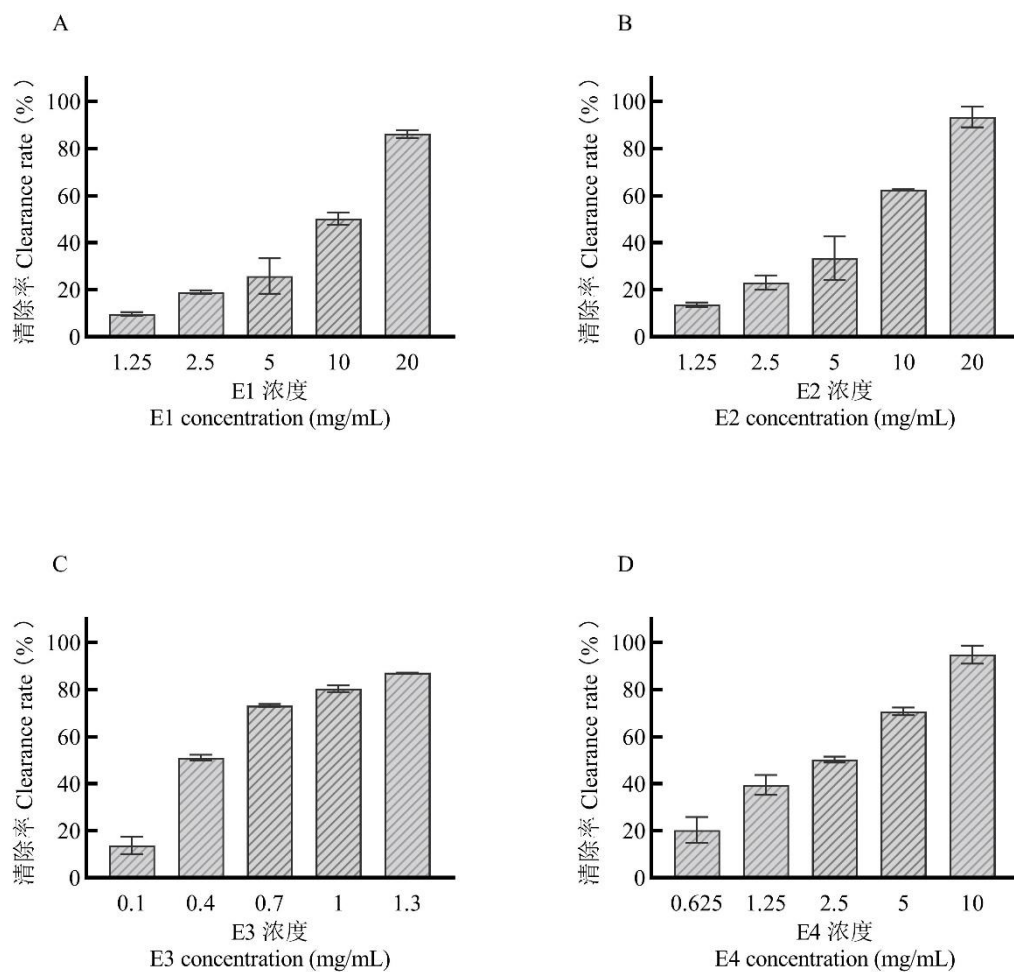


图 2 不同极性萃取部位的 ABTS 自由基清除率

Fig. 2 ABTS free radical scavenging rate of different polar extraction parts

表 2 不同极性萃取部位清除 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 值

Table 2 IC<sub>50</sub> values of ABTS free radical scavenging of different polar extraction parts

样品 Sample	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
E1	7.79
E2	5.95
E3	0.33
E4	2.05

### 2.3 T-AOC 测定

结果显示, 各极性萃取部位的还原能力均随浓度的增加而增强。从图 3 可以看出, 乙酸乙酯萃取部位的还原能力显著强于其他三个部位 ( $P < 0.01$ ), 还原力大小顺序为乙酸乙酯萃取部位 (E3) > 正丁醇萃取部位 (E4) > 石油醚萃取部位 (E2) > 水混悬萃取部位 (E1)。

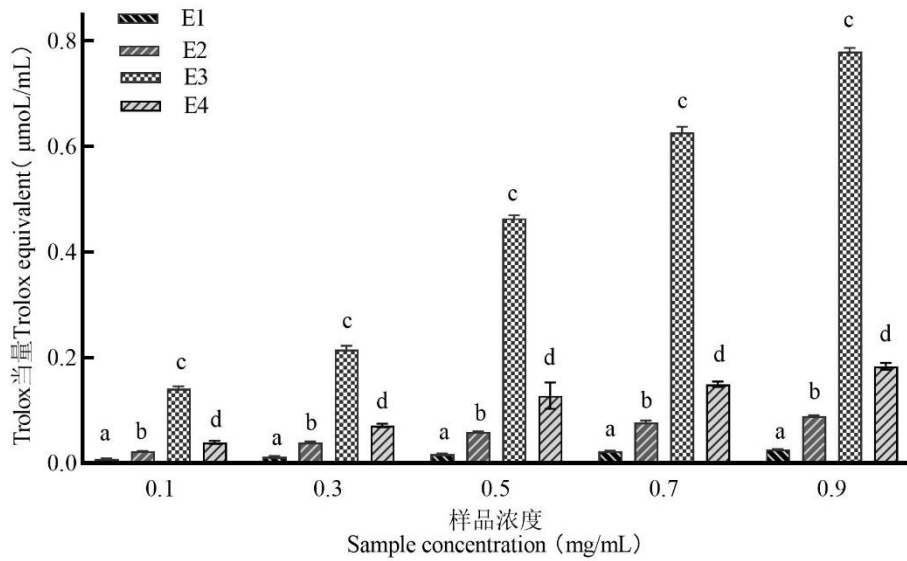


图 3 不同极性萃取部位的 A-TOC

Fig. 3 A-TOC of different polarity extraction parts

注：同浓度不同样本标注字母不同表示有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。

Note: Different letters in different samples with the same concentration indicated significant differences ( $P < 0.01$ ).

#### 2.4 生化结果分析

如表 3 所示，Mod 组与 Nor 组相比，AST、ALT 具有极显著性差异 ( $P < 0.01$ )，证明模型成功。与 Mod 相比，E3 和 E4 能显著 ( $P < 0.01$ ) 降低四氯化碳致小鼠肝损伤的标志物含量。此外，E3 和 E4 均可提高小鼠体内 GSH-Px、SOD 活性，与 Mod 组比较有显著差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 3 不同极性萃取部位对小鼠生化指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3 Effects of different polar extraction parts on biochemical indexes of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别 Group	AST (U/L)	ALT (U/L)	GSH-Px (nmol/g)	SOD (U/g)
Nor	164.08±37.13	36.09±5.99	3874.64±386.91	4726.70±2280.50
Mod	563.04±292.97 <sup>##</sup>	941.10±622.87 <sup>##</sup>	3523.80±211.18 <sup>#</sup>	3031.79±972.57 <sup>#</sup>
BP	313.28±100.55	365.35±192.85	3871.89±358.96 <sup>*</sup>	4729.89±1370.57 <sup>*</sup>
E1	296.70±83.48	317.40±121.04	3729.18±330.44	3921.96±2025.15
E2	333.33±122.37	397.40±252.36	3887.12±313.17 <sup>*</sup>	3414.60±1567.99
E3	231.73±77.07 <sup>**</sup>	150.64±84.73 <sup>**</sup>	3933.67±379.06 <sup>**</sup>	6310.04±1773.42 <sup>**</sup>
E4	233.78±63.49 <sup>**</sup>	145.89±90.51 <sup>**</sup>	3918.09±395.12 <sup>**</sup>	6234.51±589.15 <sup>**</sup>

注：与正常组比较，<sup>#</sup> $P < 0.05$ ，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。



Note: Compared with Nor, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; Compared with Mod, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

## 2.5 肝组织病理切片结果分析

解剖可见 Nor 组小鼠肝脏呈暗红色，湿润有光泽，质地柔软有弹性；Mod 组和 E1 组以及 E2 组小鼠肝脏土黄色，质地变硬，有明显黄色颗粒状脂肪点；BP 组及 E3 组小鼠肝脏形态趋于正常，E4 组介于 Nor 组与 Mod 组之间。显微镜下，Mod 组可见肝脏部分肝细胞凝固性坏死，散在肝细胞空泡变性（见图 4），表明造模成功。E1 组、E2 组小鼠肝脏少部分肝细胞凝固性坏死，散在肝细胞空泡变性。Nor 组小鼠肝脏结构清晰，肝小叶细胞排列整齐致密，轮廓清晰，未见变性坏死等改变；E4 组肝细胞空泡范围较模型组缩小，有少量散在肝细胞坏死。BP 组、E3 组小鼠肝脏细胞镜下表现和 Nor 组相类似，肝小叶结构及肝细胞形态基本恢复正常。说明 BP 组、E3 组、E4 组小鼠与 Mod 组相比，细胞病变程度有所减轻。综上所述，BP 以及 E3 和 E4 能有效减轻 CCl<sub>4</sub> 导致的小鼠急性肝损伤。

图 4 各组小鼠肝脏组织病理切片（HE，×200）

Fig. 4 Liver tissue of mice in each group (HE,×200)

## 2.6 急性经口毒性试验

急性毒性试验过程中，一次性给予恰玛古不同极性萃取部位浸膏后，在 14 d 观察时间内，雌雄小鼠均未出现异常行为，且小鼠饮食正常，皮毛光滑，精神状态良好，观察期内未出现小鼠死亡。小鼠体质量变化如图 5 所示，与正常组相比，给药组小鼠各时段体重无明显差异。

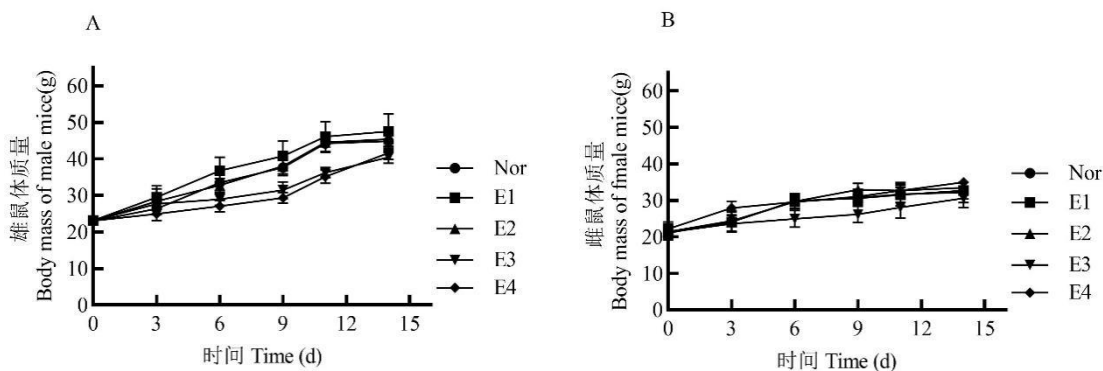


图 5 恰玛古不同极性萃取部位经口给药对小鼠体质量的影响

Fig. 5 Effect of oral administration of different polar extraction parts of *B. rapa* on body weight of mice

### 3 讨论与结论

本研究采用 T-AOC、ABTS、DPPH 法综合评价恰玛古不同极性萃取部位的体外抗氧化能力。结果显示，不同极性萃取部位 DPPH、ABTS 自由基清除率  $IC_{50}$  值大小顺序为：水混悬萃取部位>石油醚萃取部位>正丁醇萃取部位>乙酸乙酯萃取部位。此外，随着不同极性萃取部位浸膏浓度增加，T-AOC 越强，在相同浓度下，乙酸乙酯与正丁醇萃取部位 T-AOC 最强，表明恰玛古正丁醇和乙酸乙酯萃取部位具有良好的自由基清除能力。人体疾病的发生和自由基有密切的关系，人体内 95%以上的自由基是氧自由基，氧自由基化学性质很活泼，极易与肝细胞中的蛋白质、核酸和脂质发生反应，导致组织损伤<sup>[18-19]</sup>。而本研究结果表明恰玛古乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位具有良好的清除自由基的能力，具有良好的体外抗氧化作用。

本研究通过检测恰玛古不同极性萃取部位对  $CCl_4$  致小鼠肝损伤的标志物以及相关抗氧化指标的影响，进一步探究其体内抗氧化以及护肝作用。 $CCl_4$  作为实验动物研究中最常用的诱导肝损伤的毒素，其通过细胞色素 P450 的代谢产生氯离子和  $CCl_3$  离子，导致细胞膜完整性丧失、氧化应激及脂质过氧化反应，最终导致肝细胞的变性和坏死以及肝功能标志物异常<sup>[20]</sup>。ALT、AST 是临床应用最广泛的反映肝功能损伤的标志物，ALT 主要存在于肝细胞质中，AST 主要存在于肝细胞线粒体中，当活性氧 (ROS) 增多，导致肝细胞受损，血清中 ALT、AST 水平升高<sup>[17]</sup>。因此，我们选择血清 ALT 和 AST 水平来评价  $CCl_4$  致肝损伤小鼠的肝损伤程度。结果表明，阳性组 (联苯双酯)、乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位可明显降低小鼠肝脏 AST、ALT 水平 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。说明阳性组 (联苯双酯) 和恰玛古乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位可减轻四氯化碳引起的肝损伤。

抗氧化剂按作用方式可分为酶促抗氧化剂和非酶促抗氧化剂<sup>[21]</sup>。酶促抗氧化剂包括 GSH-Px、SOD 等，非酶促抗氧化剂如谷胱甘肽、维生素、类胡萝卜素、多酚、类黄酮等可通过氢原子转移、单电子转移和金属螯合机制实现抗氧化<sup>[22]</sup>。即当肝细胞受损，导致 ROS 稳态失衡时，酶促抗氧化剂作为第一线防御将活性超氧化物和过氧化氢转化为水和氧，非酶促抗氧化剂则通过快速灭活自由基和氧化剂作为对抗 ROS 的第二线防御，酶促抗氧化剂作

为第三道防线进一步解毒和清除自由基从而保护氧化性肝损伤<sup>[23]</sup>。在本研究中,与模型组相比,阳性组(联苯双酯)、乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位显著提高了CCl<sub>4</sub>损伤肝脏中的GSH-Px、SOD活性( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。

上述结果表明,恰玛古乙酸乙酯和正丁醇萃取部位具有良好的体外和体内抗氧化能力,对CCl<sub>4</sub>导致的小鼠肝损伤具有保护作用,且安全无毒。为进一步开发利用恰玛古提供了理论依据。

#### 参考文献

- 1 Aghemo A,Alekseeva OP,Angelico F,et al.Role of silymarin as antioxidant in clinical management of chronic liver diseases:a narrative review[J].Ann Med,2022,54:1548-1560.
- 2 Zhang HY,Wang HL,Zhong GY,et al.Molecular mechanism and research progress on pharmacology of traditional Chinese medicine in liver injury[J].Pharm Biol,2018,56:594-611.
- 3 Chen P,Yao L,Yua M,et al.Mitochondrial dysfunction:a promising therapeutic target for liver diseases[J].Genes Diseases,2024,11:101115.
- 4 Allameh A,Nlayesh MR,Alarab A,et al.Oxidative Stress in liver pathophysiology and disease[J].Antioxidants,2023,12:1653.
- 5 Liu H.Study on quality detection method and activity of plateau plants(turnip and highland barley seedlings)[D].Nanjing:Nanjing University of Chinese Medicine(南京中医药大学),2019.
- 6 Wang ZD,Ping C,Ra QJ,Liu Y,et al.Research progress in chemical constituents and biological activities of *Brassica rapa* L[J].Cent South Pharm(中南药学),2023,21:2391-2399.
- 7 Li YT,Bakasi A,Li G,et al.Isolation, purification, antioxidant activity exploration and infrared characterization of acidic polysaccharide from Xinjiang *Brassica rapa* L.[J].J.Food Saf Qual Detect(食品安全质量检测学报),2022,13:1050-1057.
- 8 Yang BQ,Ma FJ,Pu YF.*In vivo* antioxidant activity of saponins extracted from *Brassica campestris* L[J].Food Res Dev(食品研究与开发),2016,37:6-10.
- 9 Ma J.Study on the extraction,purification and the microencapsulation of Xinjiang Qiamagu[D].Shihezi:Shihezi University(石河子大学),2012.
- 10 Zhang LJ,Fu M,Zhang WH,et al.Enzyme-assisted ultrasonic extraction of total flavonoids from *Brassica rapa* L. optimization and its antioxidant activity analysis[J].Food Ind Sci Technol(食品工业科技),2021,42:174-180.
- 11 Li GB.Study on optimization of saponins extraction and its inhibition of acute hypobaric hypoxia of *Brassica rapa* L[D].Chengdu:Southwest Jiaotong University(西南交通大学),2020.
- 12 Wang LY.Study on anti-HBV effects and the chemical constituents of different polar parts of ethyl acetate extract active fractions extracted from *Folium Artemisiae Argyi*[D].Zhengzhou:Zhengzhou University(郑州大学),2015.
- 13 State Administration of Market Supervision and Administration, National Standardization Management Committee. Determination of antioxidant activity for polypeptides—DPPH and ABTS methods:GB/T 39100—2020[S].Beijing:Standards Press of China,2020.
- 14 Zheng L,Hu JG,Zhang JZ,et al.To investigate the *in vivo* and *in vitro* antioxidant effects of extract from *Euonymus fortunei*(Turcz.)Hand.-Mazz[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:742-748.
- 15 Rumpe J,Burger R,Schulze M.Statistical evaluation of DPPH,ABTS,FRAP,and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins[J].Int J Biol Macromol,2023,233:123470.

- 16 Hou JY,Wu JR,Xu D,et al.Integration of transcriptomics and system pharmacology to reveal the therapeutic mechanism underlying qingfei xiaoyan wan to treat allergic asthma[J].J Ethnopharmacol,2021,278:114302.
- 17 National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China.National food safety standard for acute oral toxicity test(食品安全国家标准急性经口毒性试验):GB15193.3-2014[S].Beijing:Standards Press of China,2014
- 18 Jo YJ,Cho HS,Chun JY.Antioxidant activity of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes containing *trans*-cinnamaldehyde by DPPH,ABTS and FRAP[J].Food Sci Biotechnol,2021,30:807-814.
- 19 Bale AT,Salar U,Khan KM,et al.Chalcones and bis-chalcones analogs as DPPH and ABTS radical scavengers[J].Lett Drug Des Discov,2021,18:249-257.
- 20 Lü DX,Zhang F,Qin JQ,et al.Current status and advance of diagnosis of herb-induced liver injury[J].Chin Herb Med(中草药),2024,55:1761-1769.
- 21 Ren X,Xin LT,Zhang MQ,et al.Hepatoprotective effects of a traditional Chinese medicine formula against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity *in vivo* and *in vitro*[J].Biom Pharmacother,2019,117:109190.
- 22 Mironczuk CI,Witkowska AM,Zujko ME.Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body[J].Adv Med Sci,2018,63:68-78.
- 23 Kotha RR,Tareq FS,Yildiz E,et al.Oxidative stress and antioxidants-a critical review on *in vitro* antioxidant assays[J].Antioxidants,2022,11:2388.

收稿日期: 2024-08-26            接受日期:

基金项目: 自治区重点研发计划项目 (2022B02037-2)

\*通信作者 Tel: 15276826522; E-mail: xjxiaojuny@163.com, hamulati@sina.com