

五味子油超声辅助提取工艺优化及其护肝作用

Study on the ultrasonic-assisted extraction process of *Fructus Schizandrae* oil and the hepatic protection effect

王小宁 郝晶 刘子晨 闫梦茹 张存劳

WANG Xiao-ning HAO Jing LIU Zi-chen YAN Meng-ru ZHANG Cun-lao

(西安医学院药学院, 陕西 西安 710021)

(College of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710021, China)

摘要:以提油率为指标,通过单因素试验及正交试验对五味子种籽油的超声提取工艺进行筛选;采用高效液相色谱法分析五味子种籽油中五味子甲素、五味子乙素和五味子醇甲的含量;建造小鼠 CCl_4 肝损伤模型,测定小鼠肝组织中 GSH、MDA、SOD 指标,HE 染色观察肝脏病理学改变。结果表明,五味子种籽油的最佳提取工艺为:料液比 1:15 (g/mL)、超声功率 80 W,提取时间 2 h,提取温度 50 $^{\circ}\text{C}$,五味子种籽油提取率为 29.94%;油中五味子甲素含量为 4.00%,五味子乙素含量为 1.95%,五味子醇甲含量为 0.13%;五味子种籽油高、中、低剂量组均可显著降低肝组织 MDA 含量 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),升高 SOD 和 GSH 水平 ($P<0.01$),HE 染色结果显示五味子种籽油可显著改善小鼠肝细胞水肿、坏死等病理损伤。

关键词:五味子;籽仁油;超声辅助提取;木脂素;保肝

Abstract: Using the extraction yield of *Fructus Schizandrae* seed oil as an index, the ultrasonic extraction process of it was optimized by single factor and orthogonal design. HPLC was used to analyze the content of schizandrin A, B, and schizandrin in the seeds. The mice liver injured model was established by administration with CCl_4 and the contents of GSH, MDA and SOD in mice liver tissue were determined. HE staining was used to observe the pathological changes of liver. The results showed that the optimum process was as follows: the extraction solvent was n-hexane with the ratio of solid to liquid was 1:15 (g/mL), treated by the ultrasonic power at 80 W for 2 h at 50 $^{\circ}\text{C}$. The extraction rate of *Fructus Schizandrae* Seed Oil was 29.94%. The content of different components was detected as 4.0% of schizandrin A, 1.95% of schizandrin B and 0.13% of schizandrin.

基金项目:陕西省缺血性心血管疾病重点实验室开放基金(编号:2017ZDKF09);西安医学院大学生创新基金项目(编号:2016DXS1-19)

作者简介:王小宁(1987—),女,西安医学院讲师,硕士。

E-mail: wangxn_0508@126.com

收稿日期:2017-10-12

The injury of the mice livers could be successfully induced by administration with 0.2% concentrations of CCl_4 . The high, medium and low doses of *Fructus Schizandrae* Seed Oil could significantly reduce the MDA ($P<0.05$ or $P<0.01$) and increase the levels of SOD and GSH ($P<0.05$). The HE staining results showed that schizandra seed oil could significantly inhibit the edema and necrosis of the mice livers.

Keywords: *Fructus Schizandrae*; seed oil; ultrasound-assisted extraction; lignans; hepatic protection

肝损伤是常见的临床疾病之一。中国是肝病大国,多种急慢性肝病在中国均有较广分布,并且发病率呈逐年上升的趋势^[1]。近年来,从植物中提取天然性成分护肝成为研究的热点^[2]。五味子为木兰科植物五味子或华中五味子的干燥果实,具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功能^[3]。研究^[4-5]表明,五味子对化学性、药物性、酒精性等不同类型的肝损伤具有不同程度的保护作用。白慧媛等^[6]研究了五味子对氯氮平致小鼠肝损伤的保护作用,结果表明,五味子能减轻肝细胞的损伤,降低由氯氮平引起的 AST 和 ALT 增高。张锦楠等^[7]的研究表明五味子果汁可以显著提高大鼠肝微粒体 CYP450 水平,增强肝脏代谢功能。汪丽君等^[8]研究表明,五味子中的木脂素成分(包括五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素和五味子乙素等)具有改善肝功能、减轻肝细胞脂质过氧化损伤的作用,是保肝作用的主要物质基础。丁传波等^[9]从五味子藤茎中提取的木脂素能够有效缓解 CCl_4 造成的小鼠急性肝损伤,其高剂量组的改善作用与联苯双酯相近。宋影影等^[10]对五味子籽压榨油的成分及对酒精肝损伤的保护作用进行了研究,但关于五味子种籽油的提取工艺及种籽油对急性肝损伤的保护作用鲜有报道。本试验以五味子种籽为原料,用单因素和正交试验筛选最优种籽油的超声辅助提取工艺,高效液相色谱法分析其中木脂素成分的含量,并考察五味子种籽油对小鼠

急性肝损伤的保护作用,为五味子的进一步开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

五味子:北五味子,陕西镇安瑞琪药材有限公司;

昆明小白鼠:SPF级,中国人民解放军第四军医大学实验动物中心;

五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素对照品:纯度99.46%,成都曼斯特生物科技有限公司;

甲醇:色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司;

乙酸乙酯、无水乙醇、正己烷、石油醚、四氯化碳:分析纯,天津富宇精细化工有限公司;

花生油:压榨一级,山东鲁花集团有限公司;

GSH、MDA、SOD试剂盒:南京建成科技有限公司;

肝泰乐:每片100 mg,北京太平洋药业有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

万分之一电子分析天平:ALC-210.4型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

超声波清洗器:KQ5200E型,昆山市超声仪器有限公司;

低速大容量离心机:TDL-5-A型,上海安亭科学仪器制造厂;

高效液相色谱仪:Agilent Tech-1260型,安捷伦科技有限公司;

旋转蒸发仪:R201L型,上海申生科技有限公司;

酶标仪:Multiskan Go型,赛默飞世尔科技有限公司;

循环水式真空泵:SHZ-D(Ⅲ)型,巩义市予华仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:CARY-60型,安捷伦科技(中国)有限公司。

1.2 五味子种籽油超声辅助提取工艺的优化

1.2.1 五味子种籽的前处理 将干燥的五味子果实放入80℃的热水中浸泡2 h,搓出种籽去除果肉并清洗干净,阴干,将适量五味子种籽粉碎过16目筛,备用。

1.2.2 五味子种籽油的提取及提油率的测定 精密称取粉碎后的已称重五味子种籽(记为 m)加入100 mL锥形瓶中,加入提取溶剂,超声一定时间。取一已称重(记为 m_1)的干燥洁净的圆底烧瓶,将提取得到的溶液抽滤后转移至圆底烧瓶中,旋转蒸发除去溶剂得五味子种籽油,并将烧瓶和油称重,记为 m_2 ,提油率按式(1)计算:

$$ER = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

ER——提油率,%;

m_1 ——烧瓶和油总质量,g;

m_2 ——烧瓶质量,g;

m ——五味子种籽的质量,g。

1.2.3 提取工艺的优化

(1) 单因素试验:以提油率为指标,依次考察溶剂种类(无水乙醇、乙酸乙酯、石油醚、正己烷)、料液比[1:10,1:12,1:15,1:18,1:20(g/mL)]、提取时间(0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 h)、提取温度(20,30,40,50,60℃)、超声功率(40,60,80,100,120 W)5个因素对提油率的影响。当选定某一因素进行单因素试验时,其余各个因素的条件为:提取溶剂为正己烷,料液比1:15(g/mL),提取时间2 h,提取温度30℃,超声功率80 W。

(2) 正交试验设计:根据单因素试验的结果,以提油率为考察指标,采用四因素三水平的正交试验优化提取工艺。

1.2.4 五味子种籽油中木脂素含量的测定 采用高效液相色谱法测定木脂素含量,测定方法根据文献[11]修改如下:绘制标准曲线:分别制备57.00 μg/mL的五味子甲素对照液、26.25 μg/mL的五味子乙素对照液、4.80 μg/mL的五味子醇甲对照液,各精密吸取上述3份对照品液0.0,1.0,2.0,3.0,4.0 mL于5 mL容量瓶中,用甲醇定容,得一系列浓度的对照品溶液。吸取上述溶液20 μL注入高效液相色谱仪,色谱条件为:Diamond C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相甲醇-水(体积比为80:20);流速1.0 mL/min;检测波长254 nm;进样量20 μL;柱温30℃。记录色谱图,进行线性回归,计算样品中木脂素的含量。

1.3 保肝作用及机制研究

1.3.1 试验分组 昆明小白鼠48只,体重18~22 g,随机分为6组,每组8只,雌雄各半。试验分组:五味子种籽油高剂量组(五味子种籽油2 g/kg)、中剂量组(五味子种籽油1 g/kg)、低剂量组(五味子种籽油0.5 g/kg)、阳性药物对照组(肝泰乐5.7 mg/mL)、肝损伤模型组以及正常对照组。

1.3.2 试药的配制

(1) 0.2% CCl₄花生油溶液的配制:精密量取CCl₄0.2 g于100 mL烧杯中,加花生油定容,得0.2% CCl₄花生油溶液。

(2) 24 mg/mL肝泰乐混悬液的配制:取肝泰乐片剂20片(重量为1.427 g),研成细粉。精密称取肝泰乐粉末342.5 mg于10 mL容量瓶中,用蒸馏水定容,用前充分摇匀,得浓度为24 mg/mL的药物溶液。

(3) 五味子种籽油花生油溶液的配制:分别称取五味子种籽油2.0,1.0,0.5 g于10 mL容量瓶中,加入花生油定容,摇匀,得浓度分别为200,100,50 mg/mL的五味子种籽油花生油溶液。

1.3.3 肝损伤模型的建立 在人工控制昼夜12 h,温度20.3~23.1℃,压差20 Pa(进风180 Pa,出风160 Pa),相对湿度40%~60%的饲养条件下,先将小鼠进行1周的适应性喂养,然后进行连续7 d的给药,于给药的第1、4、7天灌喂0.2% CCl₄花生油溶液造肝损伤模型,灌喂量为第1、7天10 mL/kg,第4天为5 mL/kg。

1.3.4 给药方案

(1) 五味子种籽油高、中、低剂量组给药方法:分别每天灌喂200,100,50 mg/mL五味子种籽油花生油溶液,灌喂量为10 mL/kg,按10 mL/kg灌喂蒸馏水作为空白组,并于给

药的第 1、4、7 天灌喂 0.2% CCl_4 花生油溶液。

(2) 阳性药物对照组给药方法:每天灌喂 24 mg/mL 肝泰乐混悬液 10 mL/kg,每次灌喂时充分摇匀,同时灌喂花生油 10 mL/kg 作为对照,并于给药的第 1、4、7 天灌喂 0.2% CCl_4 花生油溶液。

(3) 肝损伤模型组:每天灌喂花生油 10 mL/kg、蒸馏水 10 mL/kg 作对照,并于给药的第 1、4、7 天灌喂 0.2% CCl_4 花生油溶液。

(4) 正常对照组:每天灌喂花生油 10 mL/kg,蒸馏水 10 mL/kg,并于给药的第 1、4、7 天补灌其他组 0.2% CCl_4 花生油溶液等量的花生油。

1.3.5 组织匀浆制备 最后一次灌喂 CCl_4 ,16 h 后将小鼠断颈处死取出肝脏,于 0.9% 生理盐水中清洗去除剩余血液,切一小部分称重,按 1:9 (g/mL) 比例加入生理盐水,在冰水浴中匀浆,充分匀浆后转移至离心管中 5 000 r/min 离心 10 min,取上清液备用。

1.3.6 谷胱甘肽(GSH)含量测定 采用微量酶标法。通过谷胱甘肽还原酶把氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原成还原型谷胱甘肽(GSH),而 GSH 可以和生色底物 DTNB 反应产生黄色的 TNB 和 GSSG^[12]。于 405 nm 处测定吸收度,计算 GSH 含量。

1.3.7 丙二醛(MDA)含量测定 过氧化物脂质降解产物中的 MDA 可与硫代巴比妥酸缩合,形成红色复合物,分光光度计 532 nm 处比色,计算 MDA 含量^[12]。

1.3.8 超氧化歧化酶(SOD)活性测定 黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子,后者氧化羟氨形成亚硝酸盐,在显色剂作用下呈现紫红色,而 SOD 则抑制此反应,分光光度计 550 nm 处比色,计算 SOD 活性^[13]。

1.3.9 肝脏病理检测 将标本进行石蜡包埋,制成 4 m 石蜡切片。经二甲苯脱蜡及梯度乙醇复水后,进行苏木素-伊红(HE)染色,再进行梯度乙醇脱水,脱水后将组织切片中的乙醇用二甲苯置换出来。最后滴加中性树胶封片,显微镜下观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 提取工艺的优化结果

2.1.1 溶剂种类对五味子种籽油提取率的影响 图 1 结果表明,以正己烷为溶剂时五味子种籽油的提取率最高,因此选定正己烷为提取溶剂进行后续研究。

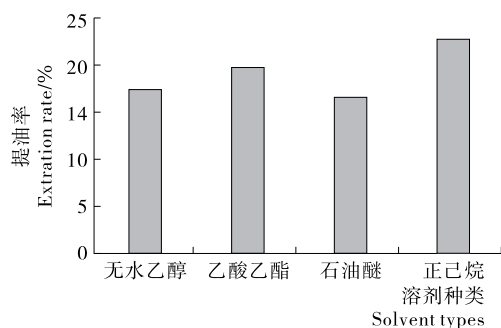


图 1 溶剂种类对提取率的影响

Figure 1 Effect of solvent types on extraction rate of seed oil

2.1.2 料液比对五味子种籽油提取率的影响 由图 2 可知,当溶剂达到饱和量和量后,提取率不再上升,继续增加溶剂量只会造成溶剂的浪费,因此,选定料液比为 1:15 (g/mL) 进行后续研究。

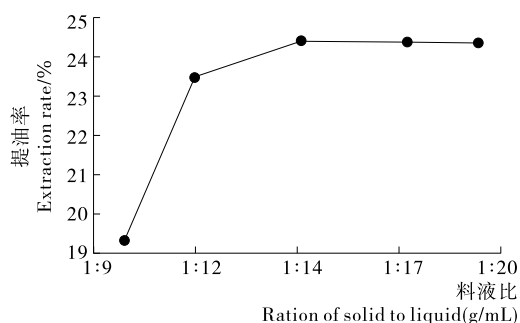


图 2 料液比对提取率的影响

Figure 2 Effect of the ratio of solid to liquid on extraction rate of seed oil

2.1.3 超声功率对五味子种籽油提取率的影响 由图 3 可知,随着超声功率的增大,提取率逐渐增大,但当超声功率达到一定限度后,提取率下降。推测原因是超声功率过大,使得很多无效成分被提出,这些成分对油可能具有吸附作用,使油难以被提出。选择超声功率 80 W 进行后续研究。

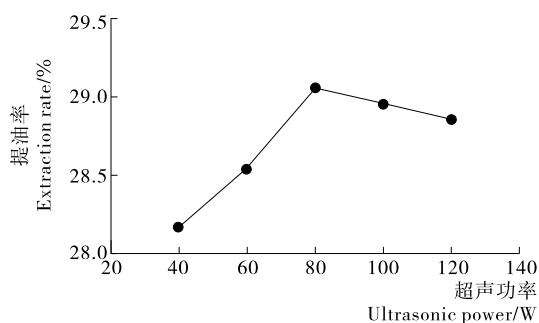


图 3 超声功率对提取率的影响

Figure 3 Effect of the ultrasonic power on extraction rate of seed oil

2.1.4 提取时间对五味子种籽油提取率的影响 由图 4 可知,超声时间对提取率影响较明显,但当提取时间到达一定限度后,继续延长提取时间提取率不再上升,因此选择提取时间为 2 h 进行后续研究。

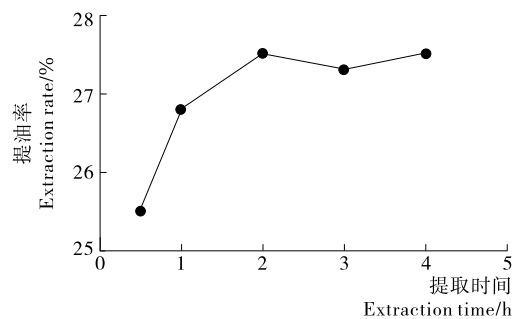


图 4 提取时间对提取率的影响

Figure 4 Effect of the extraction time on extraction rate of seed oil

2.1.5 提取温度对五味子种籽油提取率的影响 由图 5 可知,在整个温度范围内,五味子种籽油的提取率变化不大,从提油率结果和实际应用角度考虑,选择 40 ℃ 为最优提取温度。

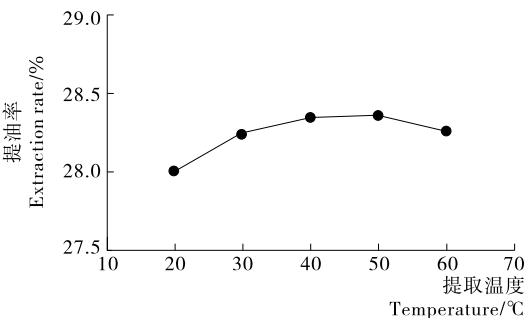


图 5 提取温度对提油率的影响

Figure 5 Effect of the temperature on extraction rate of seed oil

2.1.6 正交试验 根据单因素筛选得到的最优条件,以料液比、超声功率、提取时间、提取温度为因素,建立四因素三水平的正交试验,因素水平表见表 1,正交试验及结果见表 2,方差分析见表 3。

由表 2 可知,影响超声提取五味子种籽油提取效果的因素排序为 B>A>D>C;由方差分析结果可知,超声功率对

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	A 料液比 (g/mL)	B 超声功率/ W	C 提取时间/ h	D 提取温度/ ℃
1	1:12	60	1	30
2	1:15	80	2	40
3	1:18	100	3	50

表 2 正交试验及结果

Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal test and data processing

编号	A	B	C	D	提油率/%
1	1	1	1	1	24.0
2	1	2	2	2	26.8
3	1	3	3	3	28.3
4	2	1	2	3	26.0
5	2	2	3	1	26.4
6	2	3	1	2	28.8
7	3	1	3	2	26.0
8	3	2	1	3	27.4
9	3	3	2	1	29.1
k_1	26.367	25.333	26.733	26.500	
k_2	27.067	26.867	27.300	27.200	
k_3	27.500	28.733	26.900	27.233	
R	1.133	3.400	0.567	0.733	

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	0.020	2	4.000	19.000	
B	0.174	2	34.800	19.000	*
C	0.005	2	1.000	19.000	
D	0.010	2	2.000	19.000	

提油率具有显著影响($P<0.05$);最佳的工艺条件为 $A_3B_3C_2D_3$,即料液比 1:18 (g/mL)、超声功率 80 W、提取时间 2 h、提取温度 50 ℃。

2.1.7 验证实验 精密称取 2 g 同一批五味子种籽 3 份,分别置于 3 个锥形瓶中,按上述最优提取工艺,得到提油率分别为 29.86%,30.0%,29.95%,平均提油率为 29.94%,RSD 值为 0.25%,提取率高,工艺稳定。五味子种籽油中五味子甲素含量为 4.00%,五味子乙素含量为 1.95%,五味子醇甲含量为 0.13%,与文献[14]中报道的数据相比,木脂素总含量高于五味子果实,具有较高的商业开发价值。

2.2 护肝作用研究

2.2.1 五味子种籽油对小鼠肝组织 GSH、SOD 及 MDA 活性的影响 CCl_4 在肝细胞色素 P450 氧化酶作用下,生成 $CCl_3 \cdot$ 和 $Cl \cdot$, $CCl_3 \cdot$ 导致的脂质过氧化过程,被认为是引发肝损伤的主要机制[15]。自由基过度累积会引起细胞膜完整性和功能的丧失。SOD 和 GSH-Px 是组成生物体内酶促防御体系重要的抗氧化酶,它们能有效地清除活性氧自由基并终止自由基链式反应[16]。当肝细胞受到自由基攻击时,SOD、GSH 会因过度消耗而逐渐减少。MDA 是体内自由基攻击脂质产生脂质过氧化物的代谢终产物,MDA 水平的高低可以反映细胞氧化损伤的程度[17]。由表 4 可知,与空白对照组比较,肝损伤模型组小鼠肝组织 GSH 和 SOD 水平显著降低($P<0.01$),MDA 水平显著升高($P<0.01$),表明 CCl_4 肝损伤模型造模成功,小鼠肝脏抗氧化能力降低,氧化应激增加。与肝损伤模型组比较,五味子种籽油低、中、高剂量和肝泰乐保肝药均可显著降低肝组织 MDA 含量($P<0.01$),升高 SOD 和 GSH 水平($P<0.01$),提示五味子种籽油可显著改善小鼠肝脏的氧化应激状况,推测其保护作用的机制是通过清除氧自由基实现的。

2.2.2 五味子种籽油对小鼠肝脏病理形态的影响 由图 6 可知,空白对照组肝组织结构正常,肝小叶结构完整,肝细胞条索排列规则,细胞形态正常,细胞质均匀红染,细胞核清晰,未见明显肿胀变性,枯否氏细胞分布均匀,未见周围大量聚集[图 6(a)]。 CCl_4 模型组肝小叶界限模糊,肝细胞索紊乱,肝细胞轮廓模糊,肝上皮细胞细胞核浓缩、溶解,有一些大片状肝细胞坏死灶[图 6(b)]。阳性对照组肝细胞形态基本恢复正常[图 6(c)],细胞轮廓较为清晰。低剂量组肝细胞形态较为正常,但仍有部分肝细胞轮廓模糊,门管区仍能观测到炎症细胞浸润[图 6(d)];中、高剂量组大多数肝脏结构较 CCl_4 模型组恢复明显,肝小叶结构完整,细胞排列紧密,肝细胞形态基本接近于空白对照组,肝窦恢复正常,肝索呈放射状排列[图 6(e)、(f)]。

表 4 SOD、MDA、GSH 含量测定结果[†]
Table 4 Results of SOD, MDA, GSH content

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	GSH/ (U·mg ⁻¹ ·Prot)	SOD/ (U·mg ⁻¹ ·Prot)	MDA/ (mmol·mg ⁻¹ ·Prot)
空白对照组		127.38±17.23	79.34±7.60	7.45±0.93
肝损伤模型组		50.23±6.44 ^a	13.11±1.98 ^a	17.55±1.67 ^a
阳性对照组		105.56±15.05 ^c	68.34±7.87 ^c	9.67±0.95 ^c
五味子种籽油低剂量组	500	94.45±10.21 ^c	53.96±8.53 ^c	14.44±1.45 ^b
五味子种籽油中剂量组	1 000	103.56±12.85 ^c	59.48±6.55 ^c	11.34±0.88 ^c
五味子种籽油高剂量组	2 000	111.87±13.95 ^c	66.45±5.67 ^c	9.65±0.49 ^c

[†] a. 与正常对照组相比,差异极显著(P<0.01);b. 与肝损伤模型组相比,差异显著(P<0.05);c. 与肝损伤模型组相比,差异极显著(P<0.01)。

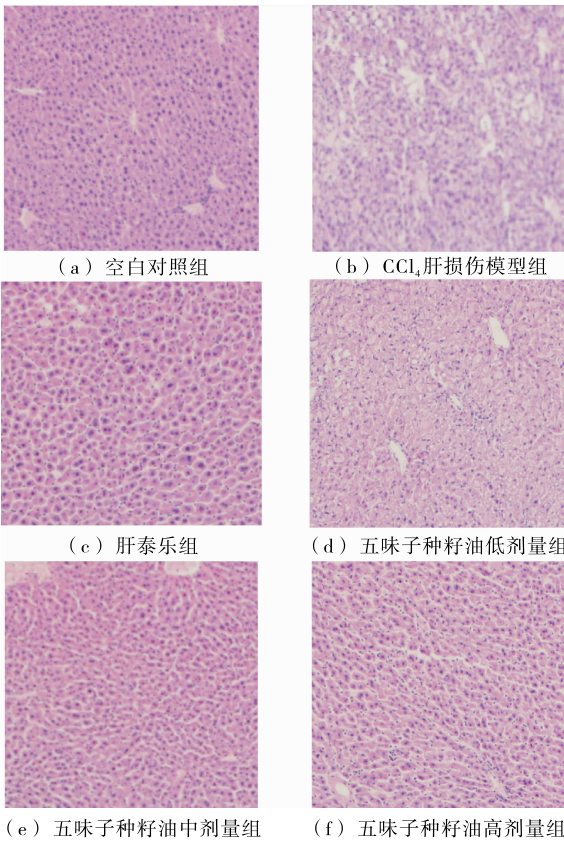


图 6 小鼠肝脏病理形态图(HE 染色,×20)

Figure 6 The pathological figures of liver
(HE staining, ×20)

3 结论

采用单因素试验及正交试验对五味子种籽油的超声提取工艺进行优化,得最佳提取工艺为:料液比 1 : 15 (g/mL)、超声功率 80 W,提取时间 2 h,提取温度 50 ℃,验证实验表明工艺稳定,提油率高。HPLC 法分析五味子种籽油中木脂素成分的含量,得五味子甲素含量为 4.00%,五味子乙素含量为 1.95%,五味子醇甲含量为 0.13%。保肝试验结果表明,五味子种籽油高、中、低剂量组均可显著降低肝组织 MDA 含量(P<0.05 或 P<0.01),升高 SOD 和 GSH 水平(P<0.01),说明五味子种籽油可显著改善小鼠肝脏的氧化

应激状况。HE 染色结果显示五味子种籽油可改善小鼠肝细胞水肿、坏死,修复肝损伤。与肝功能相关的血液生化学指标的变化及超声辅助提取工艺的中试放大试验还有待进一步研究。

参考文献

[1] 彭飞,林丽,熊瑞芳. 肝损伤机制的研究[J]. 科技资讯, 2012 (33): 236-237.
[2] 隋菱,郑静彬,蔡国弟,等. 姜黄素对四氯化碳诱导大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(11): 1 517-1 521.
[3] 刘宇灵,付赛,樊丽姣,等. 南北五味子化学成分、药理作用等方面差异的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 228-234.
[4] 王春梅,李贺,李生,等. 北五味子木脂素对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2014, 35(13): 262-265.
[5] 孔华丽,闫亮,段惠娟. 五味子醇提取物保肝作用成分分析[J]. 解放军药学报, 2010, 26(1): 27-29, 62.
[6] 白慧媛,俸珊. 五味子乙素对氯氮平致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 药学报, 2017, 52(3): 390-396.
[7] 刘长姣,于徊萍,孟宪梅,等. 五味子果汁对四氯化碳致大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2014, 35 (18): 355-369.
[8] 汪丽君,刘淑敏,毛春芹,等. 一测多评法同时测定五味子中 8 个木脂素类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(7): 1 191-1 197.
[9] 丁传波,刘群,董岭,等. 五味子藤茎中木脂素和多糖对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 华西药学报, 2014, 29 (6): 648-650.
[10] 宋影影,冯婷婷,李洪发,等. 五味子籽压榨油中 3 种木脂素含量的测定及对酒精肝损伤的保护作用研究[J]. 延边大学学报: 自然科学版, 2014, 40(4): 328-331.
[11] 王建华. 高效液相色谱法测定参芪降糖颗粒中五味子甲素、五味子乙素含量[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10 (18): 289-291.
[12] CHECKER R, PATWARDHAN R S, SHARMA D, et al. Schisandrin B exhibits anti-inflammatory activity through modulation of the redox-sensitive transcription factors Nrf2 and NF-kB [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2012, 53(7): 1 421-1 430.

(下转第 172 页)

- Pharmacology, 2007, 150(2): 209-219.
- [45] RAO Yerra-koteswara, FANG Shih-hua, WU Wen-shi, et al. Constituents isolated from *Cordyceps militaris* suppress enhanced inflammatory mediator's production and human cancer cell proliferation[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 131(2): 363-367.
- [46] ZHAO Zhen-zhu, CHEN He-ping, HUANG Ying, et al. Bioactive polyketides and 8,14-seco-ergosterol from fruiting bodies of the ascomycete *Daldinia childiae*[J]. Phytochemistry, 2017, 142: 68-75.
- [47] 樊晓飞. 食药用菌中麦角甾醇的免疫活性及其VD转化[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013: 20-30.
- [48] ZHANG An-ling, LIU La-ping, WANG Min, et al. Bioactive ergosterol derivatives isolated from the fungus *Lactarius hatsudake*[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2007, 43(5): 637-638.
- [49] KIM S W, PARK S S, MIN T J, et al. Antioxidant activity of ergosterol peroxide (5,8-epidioxy-5 α ,8 α -ergosta-6,22E-dien-3 β -ol) in *Armillariella mellea* [J]. Bulletin-Korean Chemical Society, 1999, 20(7): 819-823.
- [50] 高虹, 史德芳, 杨德, 等. 巴西菇麦角甾醇抗肿瘤活性及作用机理初探[J]. 中国食用菌, 2011, 30(6): 35-39.
- [51] FUJII N. Antimicrobial activity of soy sauce oil[J]. Journal of the Brewing Society of Japan, 1997, 92(10): 719-724.
- [52] GAO Jing-ming. New biologically active metabolites from Chinese higher fungi[J]. Current Organic Chemistry, 2006, 10: 849-871.
- [53] MATTILA P H, PIIRONEN V I, UUSIRAUVA E J, et al. Vitamin D contents in edible mushrooms[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1994, 42(11): 2 449-2 453.
- [54] BELLIK Y, BOUKRA L, ALZAHRANI H A, et al. Molecular mechanism underlying anti-inflammatory and anti-allergic activities of phytochemicals: an update[J]. Molecules, 2012, 18(1): 322-353.
- [55] CHOI S, NGUYEN V T, TAE N, et al. Anti-inflammatory and heme oxygenase-1 inducing activities of lanostane triterpenes isolated from mushroom *Ganoderma lucidum* in RAW 264.7 cells[J]. Toxicology & Applied Pharmacology, 2014, 280(3): 434-442.
- [56] TAOFIQ O, CALHELHA R C, HELENO S, et al. The contribution of phenolic acids to the anti-inflammatory activity of mushrooms: Screening in phenolic extracts, individual parent molecules and synthesized glucuronated and methylated derivatives[J]. Food Research International, 2015, 76: 821-827.
- [57] SUGUNA P, GEETHA A, ARUNA R, et al. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antioxidant activities of polysaccharide-rich extract from fungi *Caripia montagnei*[J]. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2014, 4(2): 121-129.
- [58] FANGKRATHOK N, JUNLATAT J, SRIPANIDKULCHAI B. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Lentinus polychrous* extract[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 147(3): 631-637.
- [59] CIRINO G, DISTRUTTI E, WALLACE J L. Nitric oxide and inflammation[J]. Acta Ophthalmologica, 2006, 5: 115-119.
- [60] HABTEMARIAM S. Targeting the production of monocytes/macrophages-derived cytokines by anti-inflammatory herbal drugs[J]. Research Gate, 2013, 1: 131-148.
- [61] BRADLEY J R. TNF - mediated inflammatory disease[J]. Journal of Pathology, 2008, 214(2): 149-160.
- [62] WU Shu-jing, LU Tzy-ming, LAI Min-nan, et al. Immunomodulatory activities of medicinal mushroom *Grifola frondosa* extract and its bioactive constituent[J]. American Journal of Chinese Medicine, 2013, 41(1): 131-144.
- [63] HASNAT M A, PERVIN M, CHA K M, et al. Anti-inflammatory activity on mice of extract of *Ganoderma lucidum* grown on rice via modulation of MAPK and NF- κ B pathways[J]. Phytochemistry, 2015, 114: 125-136.
- [64] KIM K M, KWON Y G, CHUNG H T, et al. Methanol extract of *Cordyceps pruinosa* inhibits in vitro and in vivo inflammatory mediators by suppressing NF- κ B activation[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2003, 190(1): 1-8.
- [65] FITZGERALD G A. Coxibs cardiovascular disease[J]. New England Journal of Medicine, 2004, 351(17): 1 709-1 711.
- [66] ELSAYED E A, EL E H, WADAAN M A, et al. Mushrooms: a potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications[J]. Mediators of Inflammation, 2014, 2014: 15.
- [67] GUNAWARDENA D, BENNETT L, SHANMUGAM K, et al. Anti-inflammatory effects of five commercially available mushroom species determined in lipopolysaccharide and interferon- γ activated murine macrophages[J]. Food Chemistry, 2014, 148: 92-96.
- [68] WANG Xiao-xiao, HU Di, ZHANG Jia-li, et al. Gomisins A inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in N9 microglia via blocking the NF- κ B/MAPKs pathway[J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2014, 63: 119-127.
-
- (上接第139页)
- [13] TOORI M A, JOODI B, SADEGHI H, et al. Hepatoprotective activity of aerial parts of *Otostegia persica* against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats[J]. Avicenna Journal of Phytomed, 2015, 5(3): 238-246.
- [14] 王慧竹, 杨英杰, 关铭, 等. 五味子果实、藤茎及藤皮的木质素成分分析[J]. 吉林化工学院学报, 2011, 28(9): 32-34.
- [15] 王建青. 内质网应激在四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤中的作用及部分机制[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2012.
- [16] 周琼, 刘芳萍, 刘颖姝, 等. 四氯化碳致小鼠急性肝损伤动物模型建立方法的研究[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(6): 77-81.
- [17] JUNG J C, LEE Y H, KIM S H, et al. Hepatoprotective effect of licorice, the root of *licyrrhiza uralensis*, Fischer, in alcohol-induced fatty liver disease[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2015, 16(1): 1-10.