

山苍子果多酚对HepG2细胞氧化应激的缓解作用

范鑫吕慧, 郑必胜*, 徐秋雄, 徐燕婷

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 为探究山苍子果多酚对细胞氧化应激的缓解作用, 该文以山苍子鲜果及干果为原料, 采用福林酚法分析两者多酚含量; 采用 ORAC、PSC 法评估其体外抗氧化活性; 通过 H₂O₂ 诱导的 HepG2 细胞氧化应激模型探究了山苍子果多酚对细胞氧化应激损伤的缓解作用及机制。结果表明, 鲜果总多酚 (2 053.29 mg GAE/100 g) 含量为干果 (411.47 mg GAE/100 g) 的 4.99 倍, 且约 90% 为游离态。鲜果多酚的抗氧化活性比干果更强, 其 ORAC、PSC 值均高于干果多酚。高质量浓度山苍子果多酚将氧化损伤的 HepG2 细胞存活率提高 2~3 倍, 同时显著提升 SOD、CAT、GSH 含量, 降低 LDH 和 ROS 水平。分子机制表明, 山苍子果多酚激活调节 Nrf2/NQO1 信号通路及上调其下游抗氧化酶 SOD1、CAT、GSS 的基因表达来发挥抗氧化应激作用。上述结果为山苍子果多酚在功能性食品中的应用提供了理论基础。

关键词: 山苍子; 多酚; 抗氧化活性; 氧化应激

文章编号: 1673-9078(2026)07-22-29

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.7.0656

Alleviative Effects of *Litsea cubeba* Fruit-derived Polyphenols against Oxidative Stress in HepG2 Cells

FAN Xinlyuhui, ZHENG Bisheng*, XU Qiuxiong, XU Yanting

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The polyphenol content of fresh and dried *Litsea cubeba* fruits was analyzed using the Folin-ciocalteu method, whereas their *in vitro* antioxidant activity was evaluated using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and peroxy radical scavenging capacity (PSC) assays. Additionally, an oxidative stress model was established using H₂O₂-induced HepG2 cells to explore the protective mechanism of *L. cubeba* fruit polyphenols against oxidative damage. The results indicated that the total polyphenol content of fresh fruits (2 053.29 mg GAE/100 g) was 4.99-fold higher than that of dried fruits (411.47 mg GAE/100 g), with approximately 90% existing in free form. The antioxidant activity of fresh fruit polyphenols was significantly stronger than that of dried fruits, with higher ORAC/PSC values. High mass concentrations of *L. cubeba* fruit polyphenols increased the viability of oxidatively damaged HepG2 cells by 2- to 3-fold, significantly enhanced superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione (GSH) levels, and reduced lactate dehydrogenase (LDH) and reactive oxygen species (ROS) levels. At the molecular level, the polyphenols activated the Nrf2/NQO1 signaling pathway and upregulated gene expression of downstream antioxidant enzymes (SOD1, CAT, and GSS) to alleviate oxidative stress effects. These findings provide a theoretical foundation for the application of *L. cubeba* fruit polyphenols in functional foods.

Key words: *Litsea cubeba*; polyphenols; antioxidant activity; oxidative stress

引文格式:

范鑫吕慧, 郑必胜, 徐秋雄, 等. 山苍子果多酚对HepG2细胞氧化应激的缓解作用[J]. 现代食品科技, 2026, 42(7): 22-29.

FAN Xinlyuhui, ZHENG Bisheng, XU Qiuxiong, et al. Alleviative effects of *Litsea cubeba* fruit-derived polyphenols against oxidative stress in HepG2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(7): 22-29.

收稿日期: 2025-05-12; 修回日期: 2025-07-20; 接受日期: 2025-07-25

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (2021A1515012110)

作者简介: 范鑫吕慧 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 山苍子果多酚的活性应用, E-mail: fanxinlvhui@163.com

通讯作者: 郑必胜 (1966-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物及活性研究, E-mail: febzhen@scut.edu.cn

氧化应激是活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)过度积累导致机体氧化与抗氧化系统失衡的病理状态,可引发DNA损伤、脂质过氧化及蛋白质变性,进而导致神经退行性疾病、心血管疾病及癌症等多种疾病^[1]。在针对氧化应激的干预策略中,天然抗氧化剂的开发备受关注,其中植物多酚因强自由基清除能力成为研究热点。人们对植物多酚作为抗氧化剂的潜在健康益处很感兴趣^[2]。

山苍子(*Litsea cubeba*)是樟科木姜子属长青落叶灌木,又名山鸡椒。其一般在2~3月开花,7~8月结果,果实呈球形^[3]。山苍子果实以处方药名荜澄茄入药历史悠久,能祛风散寒、行气止痛^[4]。在国内外研究中,大量文献均证实了山苍子果实具备抗氧化活性。Rakhi等^[5]用梯度极性溶剂对新鲜山苍子果实进行顺序萃取,通过多种自由基清除试验测定发现其醇类提取物显示出显著的自由基清除活性。Bajracharya等^[6]研究指出,源自尼泊尔的山苍子果实经提取后,其乙酸乙酯提取物和二氯甲烷提取物展现出一定水平的自由基清除活性。人肝癌HepG2细胞系因其与肝组织的高度功能相似性、培养便利性及遗传稳定性,被广泛应用于氧化应激模型的构建^[7]。常用诱导剂包括H₂O₂^[8]、D-半乳糖^[9]、酒精^[10]等。山苍子广泛分布于我国长江以南各省区^[3],且自然晒干为湖北当地常用贮存方式。因此,该文以产于湖北宜都的新鲜及自然晒干得到的干燥山苍子果为原料,因此,该研究旨在通过深入开展山苍子果多酚抗氧化活性的研究,着重探究山苍子果多酚对H₂O₂诱导HepG2细胞氧化损伤相关指标、抗氧化酶活性以及抗氧化信号通路相关基因的作用,丰富山苍子果多酚在抗氧化活性领域,尤其是在应对氧化应激损伤方面的研究内容。挖掘山苍子果多酚在食品、日化、保健等领域的潜在应用价值,为山苍子资源的深度开发和综合利用提供新的理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜山苍子果,采摘于湖北宜都市,经华南理工大学食品科学与技术学院郑必胜副教授鉴定为樟科木姜子属植物山苍子[*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.]。经自然晒干得到干燥山苍子果。人肝癌细胞HepG2购自美国模式培养物集存库。丙酮、甲醇、正己烷、乙酸乙酯、福林酚、碳酸钠,购自上海麦克林生化有限公司;细胞DMEM培养基、胎牛血清、胰酶,购自美国

Gibco公司;胰蛋白酶、MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒、过氧化氢酶检测试剂盒、总超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性检测试剂盒、二喹啉甲酸(Bicinchoninic Acid Assay, BCA)蛋白浓度测定试剂盒,购自碧云天生物技术有限公司;乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)测定试剂盒、微量还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)测定试剂盒,购自南京建成生物工程研究所;TRIzol RNA提取试剂盒,购自美国Thermo Fisher公司;Evo M-MLV反转录试剂盒、SYBR Green Premix pro TaqHS qPCR试剂盒,购自艾科瑞生物公司。

1.2 仪器

CS-700型高速多功能粉碎机,武汉海纳电器有限公司;RV10型旋转蒸发仪,德国IKA公司;DK-8D型电热恒温水槽,上海一恒科技有限公司;Filter Max F5型荧光酶标仪,美国Molecular Devices公司;3111型细胞CO₂培养箱,美国Thermo Fisher公司;SG603A-HE-INT型超净工作台,美国The Baker公司;BioPhotometer plus型核酸蛋白测定仪,德国Eppendorf公司;T100型PCR仪、Mini Opticon型实时荧光定量PCR仪,美国BIO-RAD公司。

1.3 实验方法

1.3.1 山苍子果水分测定

称取新鲜、干燥山苍子果各10 g,样品的水分含量采用烘箱干燥法(105℃,16 h)测定。测定得新鲜、干燥山苍子果水分含量分别为78.89%、13.77%。

1.3.2 山苍子果多酚提取制备

山苍子果多酚提取参考Yuan等^[11]的方法并修改。新鲜山苍子果经液氮辅助研磨,干燥山苍子果直接研磨成粉末。5 g样品以体积分数为80%的丙酮溶液均质破碎,离心(8 000 r·min⁻¹, 10 min)收集上清,重复提取5次;合并上清后真空旋蒸浓缩,依次加入等体积甲醇、正己烷脱脂,旋蒸浓缩,复溶后定容到10 mL得到质量浓度为500 mg·mL⁻¹的山苍子鲜果游离酚(Fresh-Free, Fresh-F)及山苍子干果游离酚(Dried-Free, Dried-F)。上述沉淀加入4倍体积的4 mol·L⁻¹的NaOH碱解(充氮搅拌1 h),pH值调至7.0,乙酸乙酯萃取,离心(8 000 r·min⁻¹, 10 min)收集上清,重复5次;合并后旋蒸浓缩,复溶后定容到10 mL得到质量浓度为500 mg·mL⁻¹的山苍子鲜果结合酚(Fresh-Bound, Fresh-B)及山苍子干果结合酚(Dried-Bound, Dried-B),均-20℃保存。

1.3.3 多酚含量测定

山苍子果多酚测定采用福林酚法^[12]。将标品和样品稀释到适当倍数。加入福林酚试剂、 Na_2CO_3 溶液, 避光反应 1.5 h 后在 760 nm 测吸光度。多酚含量以每 100 g 干基山苍子果中所含没食子酸当量 (mg GAE/100 g) 计。

1.3.4 山苍子果多酚抗氧化活性测定

1.3.4.1 ORAC抗氧化活性测定

氧自由基吸收能力 (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) 法参考 Patricia 等^[13]的方法并略改。用 PBS 缓冲液 (75 mmol·L⁻¹、pH 值 7.4) 稀释山苍子果多酚和 Trolox (奎诺二甲基丙烯酸酯) 标准品, 于 96 孔板加样, 先后加入荧光素钠、ABAP。放入 37 °C 荧光酶标仪, 在激发光 485 nm、散射光 535 nm 条件下, 测 2.5 h 内的荧光强度。ORAC 值以每 g 干基山苍子果中所含 Trolox 微摩尔数 ($\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) 计。

1.3.4.2 PSC抗氧化活性测定

过氧自由基清除能力 (Peroxyl Radical Scavenging Capacity, PSC) 法参考 Kwami 等^[14]的方法并略改。用 PBS 缓冲液 (75 mmol·L⁻¹、pH 值 7.4) 稀释山苍子果多酚与 Vc 标准品, 于 96 孔板加样, 依次加入 DCFH-DA、ABAP。放入 37 °C 荧光酶标仪, 在激发光 485 nm、散射光 535 nm 条件下, 测 40 min 内的荧光强度。PSC 值以每 g 干基山苍子果中所含 Vc 微摩尔数 ($\mu\text{mol Vit.C}\cdot\text{g}^{-1}$) 计。

1.3.5 山苍子果多酚对HepG2氧化应激损伤的缓解作用

1.3.5.1 样品筛选

前期抗氧化实验测定显示, 山苍子果多酚具有抗氧化潜力, 且四种样品抗氧化表现各异。考虑到 Fresh-B 和 Dried-B 的多酚含量、ORAC、PSC 值较低, 因此后续实验主要选取 Fresh-F 和 Dried-F 进行测定。

1.3.5.2 确定山苍子果多酚的安全浓度范围

采用 MTT 法测山苍子果多酚安全浓度^[15]。将 HepG2 以每孔 2.5×10^4 个接种于 96 孔板, 37 °C 培养 24 h。弃培养基, PBS 清洗, 每孔加 100 μL 含适当干基质量浓度的样品的培养基, 培养 24 h。在 570 nm 测吸光值, 按照公式 (1) 计算存活率。

$$B = \frac{ODT_{570} - ODB_{570}}{ODC_{570} - ODB_{570}} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

B ——存活率 (CV), %;

OD_{570} ——处理组在 570 nm 处测得的吸光值;

OD_{570} ——对照组在 570 nm 处测得的吸光值;

OD_{570} ——空白组在 570 nm 处测得的吸光值。

1.3.5.3 建立HepG2细胞氧化应激模型

建立 HepG2 细胞氧化应激模型参考张业尼等^[16]的方法, 将 HepG2 以每孔 2.5×10^4 个接种于 96 孔板, 37 °C 培养 24 h。弃培养基, PBS 清洗, 每孔加 100 μL 含浓度梯度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mmol·L⁻¹ H_2O_2 的培养基, 培养 24 h。MTT 法检测细胞存活率。

1.3.5.4 测定氧化损伤细胞存活率

将实验分组为: control 组、model 组、Fresh-F 低、中、高质量浓度组 (干基质量浓度设置为 0.6、0.8、1.0 mg·mL⁻¹)、Dried-F 低、中、高质量浓度组 (干基质量浓度设置为 5、7、9 mg·mL⁻¹)。将 HepG2 以每孔 2.5×10^4 个接种于 96 孔板, 37 °C 培养 24 h。弃培养基, PBS 清洗, 给药处理 24 h 后, 除 control 组外, 其余组均更换为 1.0 mmol·L⁻¹ H_2O_2 无血清培养基诱导 24 h。MTT 法检测细胞存活率。

1.3.5.5 细胞内ROS水平测定

ROS 水平测定采用荧光强度定量方法^[17]。预先在 6 孔板铺上爬片, 以每孔 5×10^5 个浓度接种细胞, 按 1.3.5.4 方法培养分组给药, 每孔 2 mL。 H_2O_2 诱导结束, 吸去上清, PBS 清洗 2 次, 加入含 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DCFH-DA 溶液的无血清培养基, 37 °C 避光孵育 1 h 后用无血清培养基清洗 3 次, 取出爬片, 按压在滴有少量 PBS 的载玻片上, 在荧光显微镜下观察、采集图片, 用 ImageJ 分析。

1.3.5.6 细胞内SOD、CAT、GSH、LDH含量测定

按 1.3.5.5 方法培养分组给药, 每孔 2 mL。 H_2O_2 诱导结束, 收集培养上清液, 离心 (8 000 r·min⁻¹, 5 min) 弃沉淀, 按乳酸脱氢酶 (LDH) 测定试剂盒测定 LDH 酶活性。弃上清后, PBS 清洗, 加裂解液, 冰上充分裂解并适当吹打, 离心 (8 000 r·min⁻¹, 5 min) 收集上清, BCA 法对总蛋白定量, 分别按总 SOD 活性检测试剂盒、过氧化氢酶检测试剂盒、微量还原型谷胱甘肽 (GSH) 试剂盒测细胞中 SOD、CAT 酶活性和 GSH 含量。

1.3.5.7 山苍子果多酚对相关基因的RT-qPCR分析

山苍子果多酚处理细胞同 1.3.5.3。提前用异丙醇处理环境及工具, 用无 RNA 酶耗材, 所有操作在冰盒上进行。TRIzol 法提取 RNA, 逆转录为 cDNA, SYBR Green 染料嵌合法对目的基因进行 RT-qPCR 分析, $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量。所需引物均由上海生工合成, 具体序列如表 1 所示。

1.4 数据统计与分析

所有实验设 3 组平行重复, 所得结果均以平均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD, $n=3$) 形式表示。积分面积用

SigmaPlot 12.5 计算。图片由 GraphPad 8.0.2 绘制并用其单因素方差分析检验数据相关性, $P<0.05$ 为有显著差异, 用不同字母表示。

表 1 RT-qPCR的引物序列
Table 1 Primer Sequences for RT-qPCR

Gene		Primer sequences (5'-3')
GAPDH	F	GAAAGCCTGCCGGTGACTAA
	R	GCCCAATACGACCAATCAGAG
Nrf2	F	AGGTTGCCACATTCCCAA
	R	ACGTAGCCGAAGAAACCTCA
NQO1	F	GCTGGTTTGAGCGAGTGTT
	R	CTGCCTTCTTACTCCGGAAGG
SOD1	F	CAGGCGGTGAACCAGTATGA
	R	TCCACCAACCATCCAGAAAG
CAT	F	TGGAGCTGGTAACCCAGTCC
	R	AGCTCCATGAGGAACAGGA
GSS	F	CCAGCAACATGGTGACTTC
	R	GGTCAGGGTCAGGATGGTGT

2 结果与讨论

2.1 山苍子果多酚含量

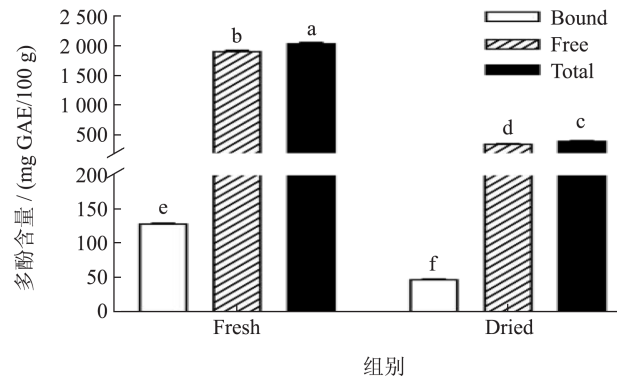


图 1 山苍子果多酚含量

Fig.1 Total polyphenols of *Litsea cubeba* fruits

注: 同一指标标注字母不同代表组间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

经实验得没食子酸标准曲线为 $y=0.0023x+0.0983$, $R^2=0.9982$ 。总酚含量结果见图 1。新鲜与干燥山苍子果总酚含量差异显著, 分别为 2 053.29 和 411.47 mg GAE/100 g。游离酚 (Fresh-F 和 Dried-F) 占比高, 分别为 93.67% 和 88.25%, 是主要贡献者, 表明山苍子果中酚类主要以游离酚形式存在。且无论是游离酚还是结合酚, 新鲜山苍子果含量均显著高于干燥山苍子果 ($P<0.05$), Fresh-F 为 Dried-F 的 5.32 倍, Fresh-B 为 Dried-B 的 2.69 倍。王文婷等^[18]研究表明经过干燥

处理后, 秋葵多酚的含量相较于新鲜秋葵有显著下降。因此推测晒干使山苍子酚类总量大幅下降。

2.2 山苍子果多酚体外抗氧化活性

体外抗氧化活性用 ORAC 和 PSC 法测定, 结果见图 2。结果显示, 新鲜山苍子果具有更强的氧化活性, 其总酚 ORAC 值 ($1\,042.08\,\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) 显著高于干燥山苍子果实 ($340.59\,\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$) ($P<0.05$)。不论是新鲜还是干燥山苍子果实, 游离酚 ORAC 值显著高于结合酚 ($P<0.05$), 分别占总酚 ORAC 值的 88.96% 和 82.51%, 说明游离酚对山苍子抗氧化活性贡献大。

PSC 结果与 ORAC 趋势一致。新鲜山苍子果总酚 PSC 值显著高于干燥山苍子果实, 而结合酚 PSC 值无显著差异, Fresh-F ($55\,\mu\text{mol Vit.C}\cdot\text{g}^{-1}$) 显著高于 Dried-F ($12.06\,\mu\text{mol Vit.C}\cdot\text{g}^{-1}$) ($P<0.05$), 分别占总酚 PSC 值的 90.47% 和 78.88%。综上可得两种方法下新鲜山苍子果总酚抗氧化性能更优, 游离酚是关键抗氧化成分。

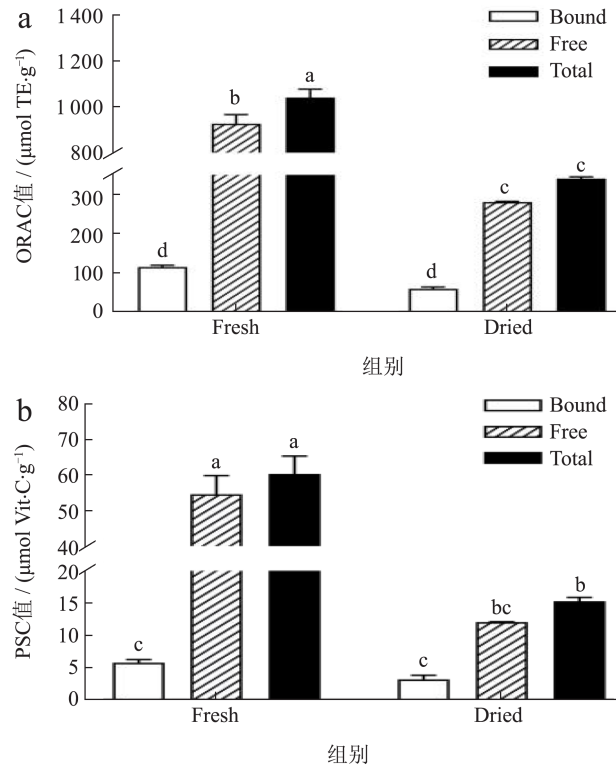


图 2 山苍子果多酚的体外抗氧化活性

Fig.2 Total antioxidant activity of *Litsea cubeba* fruits polyphenols tested by ORAC and PSC assays

2.3 山苍子果多酚对HepG2氧化应激损伤的保护作用及机制

2.3.1 山苍子果多酚的安全质量浓度范围

由图 3 所示, Fresh-F 在干基质量浓度 $0\sim2\,\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$

和 Dried-F 在干基质量浓度 0~15 mg·mL⁻¹ 范围内, HepG2 细胞存活率均 ≥90%, 该质量浓度范围对 HepG2 细胞无毒^[19]。后续实验中, Fresh-F 选干基质量浓度为 0.6、0.8、1.0 mg·mL⁻¹, Dried-F 选干基质量浓度为 5、7、9 mg·mL⁻¹ 为低、中、高质量浓度组。

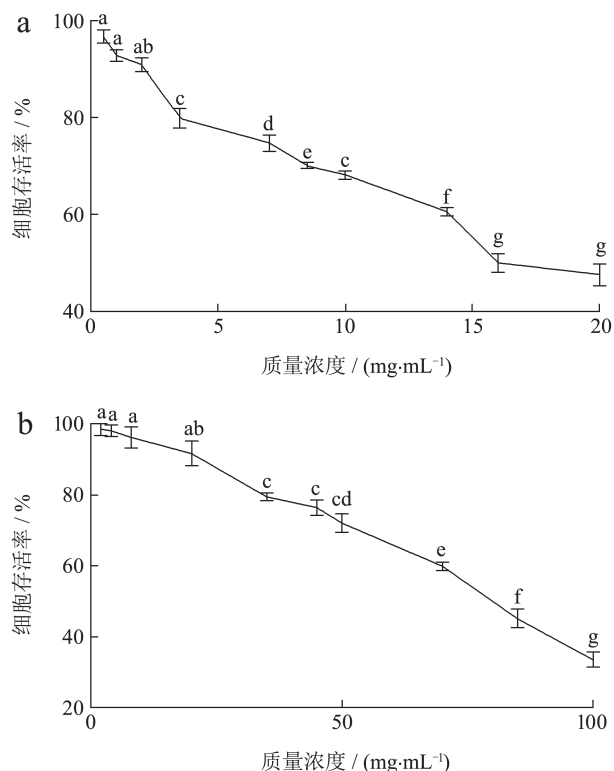


图3 山苍子果游离酚对 HepG2 细胞存活率的影响

Fig.3 Effect of *Litsea cubeba* fruits polyphenols on the viability of HepG2 cell

注: (a) Fresh-F; (b) Dried-F。

2.3.2 HepG2细胞氧化应激模型

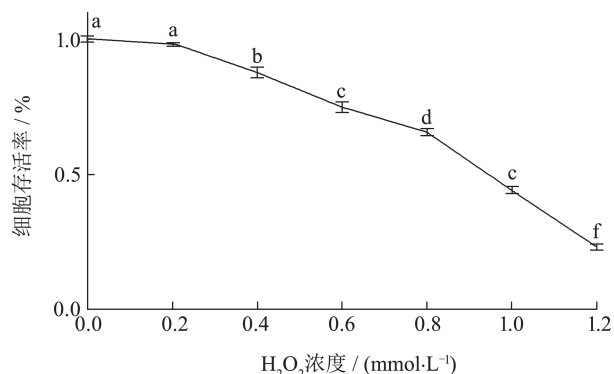


图4 山苍子果游离酚和 H₂O₂ 浓度对 HepG2 细胞存活率的影响

Fig.4 Effects of the concentration of *Litsea cubeba* fruits polyphenols and H₂O₂ on the viability of HepG2

HepG2 细胞存活率 H₂O₂ 浓度关系见图 4。H₂O₂ 浓度升高, 细胞存活率下降。1.2 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 浓度

组中, 细胞存活率为 22.97%, 说明此浓度 H₂O₂ 对细胞造成不可逆损伤; 0.8 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 浓度组中, 细胞存活率为 65.48%, 未达损伤要求。当 H₂O₂ 浓度 1.0 mmol·L⁻¹、诱导 24 h 时, model 组细胞存活率降至 43.96%, 处于构建模型适宜范围^[16]。因此, 选择 H₂O₂ 诱导条件为 1.0 mmol·L⁻¹、24 h, 此条件下诱导细胞建立氧化应激模型可行。

2.3.3 山苍子果多酚对HepG2细胞存活率的保护作用

实验结果如图 5。model 组细胞存活率降至 37.23%, 与 control 组相比差异极显著 ($P < 0.01$)。Fresh-F 和 Dried-F 低、中、高质量浓度组均能显著提高细胞存活率, 且呈现剂量依赖性 ($P < 0.05$)。其中, 山苍子果多酚高质量浓度组细胞存活率相比 model 组, Fresh-F 提高 2.08 倍, Dried-F 提高 2.31 倍。结果表明, 三个质量浓度组的山苍子果多酚预保护处理均能显著提升氧化应激损伤的细胞存活率 ($P < 0.05$)。

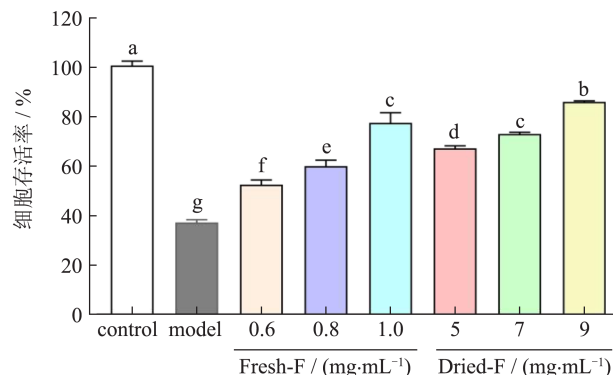


图5 山苍子果多酚对氧化应激损伤细胞存活率的影响

Fig.5 Effect of *Litsea cubeba* fruits on the viability of cells with oxidative stress injury

2.3.4 山苍子果多酚对HepG2细胞抗氧化能力的影响

2.3.4.1 山苍子果多酚对HepG2细胞内ROS含量的影响

在机体氧化还原稳态失衡时, 活性氧 (ROS) 作为关键介质引发损伤级联反应, 成为细胞损伤的核心诱因^[20]。如图 6 所示, model 组的 ROS 相对表达量显著高于 control 组。Fresh-F 和 Dried-F 组 ROS 含量均低于 model 组, 且呈质量浓度依赖。其中高质量浓度组的 Fresh-F 和 Dried-F 抑制效果极为明显 ($P < 0.01$), ROS 含量分别降低 54.03% 和 48.56%。Gao 等^[21]指出, 清除活性氧 (ROS) 是保护生物体、缓解氧化应激损伤的关键路径。Xu 等^[22]研究发现飞燕草素能够减少 H₂O₂ 诱导 HepG2 细胞氧化应激损伤产生的 ROS 含量。说明山苍子果多酚在一定质量浓度下能够降低氧化应激状态下 HepG2 细胞内的 ROS 水平, 对细胞起到一定的保护作用, 减轻氧化损伤。

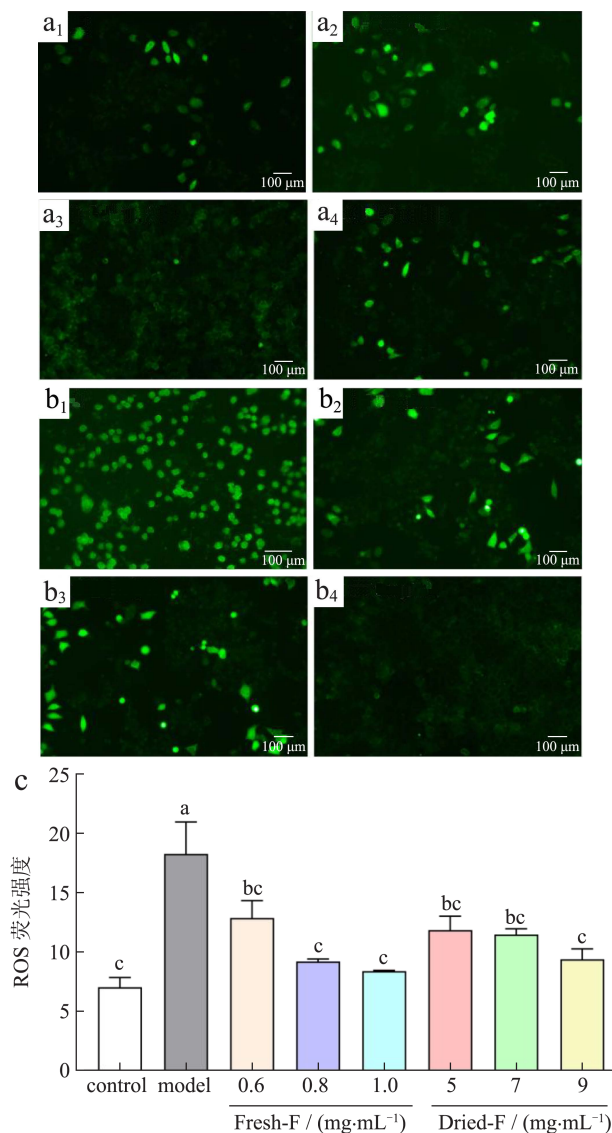


图6 HepG2 细胞中 ROS 荧光强度

Fig.6 ROS fluorescence intensity in HepG2 cell

注: a_1 为 control 组; a_2 为 Fresh-F $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组; a_3 为 Fresh-F $0.8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组; a_4 为 Fresh-F $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组; b_1 为 model 组; b_2 为 Dried-F $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组; b_3 为 Dried-F $7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组; b_4 为 Dried-F $9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组。

2.3.4.2 山苍子果多酚对HepG2细胞SOD、CAT、GSH、LDH的影响

实验结果如图7所示。与 model 组相比,低、中、高质量浓度山苍子果多酚组细胞中 SOD、CAT、GSH 含量显著增加 ($P < 0.05$), 且呈质量浓度依赖。其中高质量浓度下, Fresh-F 提升比为 1.82、1.67、10.96, Dried-F 为 2.17、1.69、12.54。SOD、CAT 是典型抗氧化酶, GSH 细胞内重要的抗氧化剂, 能清除脂质过氧化有害产物, 维持细胞膜结构和功能, 协同构筑生物抗氧化损伤防御体系, 减轻细胞氧化伤害^[23]。郭增旺等^[24]发现小米糠黄酮可提高 SOD、CAT 含量缓解 H_2O_2 诱导 HepG2 细胞氧化应激损伤。因此, 推测

Fresh-F 和 Dried-F 可提高抗氧化酶活性, 缓解氧化应激损伤。model 组 LDH 含量极显著高于 control 组 ($P < 0.01$), 为 $400.67 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ prot}$, 说明 H_2O_2 使细胞受损, LDH 释放增加。各质量浓度 Fresh-F 和 Dried-F 处理组 LDH 含量低于 model 组, 均降低 50% 以上, 高质量浓度的组 Fresh-F 和 Dried-F 分别将 LDH 含量降低至 173.72 和 $152.87 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ prot}$ 。LDH 酶升高会过多催化丙酮酸变成乳酸, 加重组织损伤^[25]。表明山苍子果多酚能减少 LDH 酶的释放, 在一定程度上减轻细胞损伤。

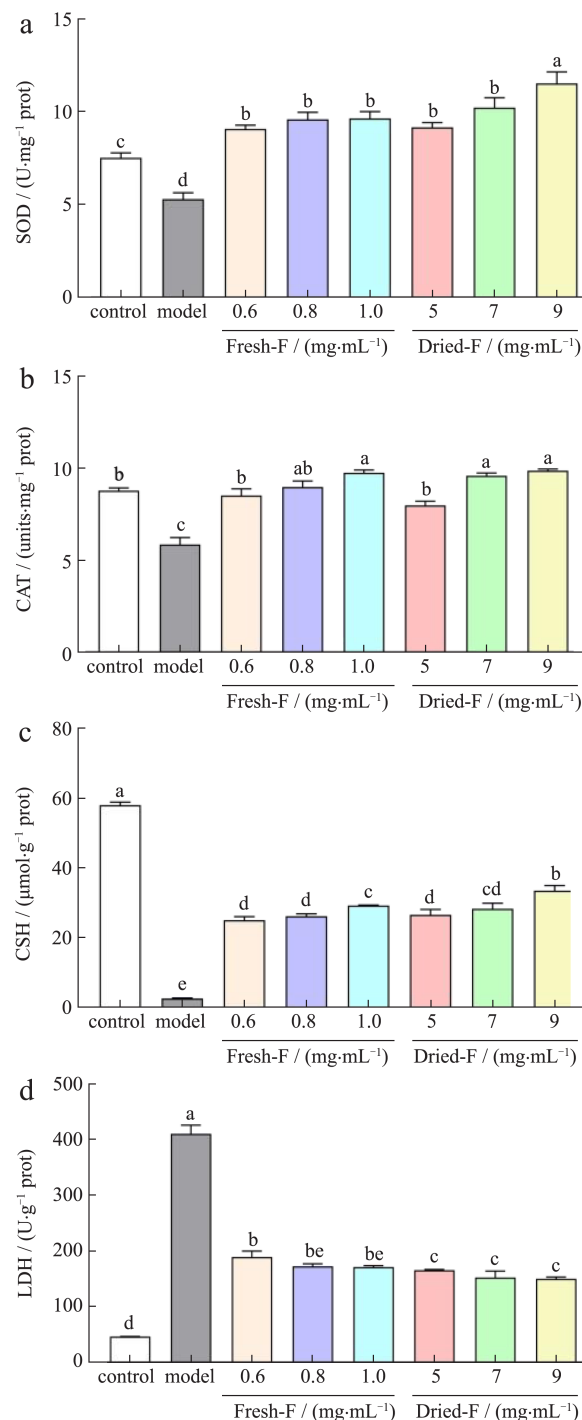


图7 HepG2 细胞中 SOD、CAT、LDH、GSH 含量

Fig.7 Levels of SOD, CAT, LDH and GSH in HepG2 cells

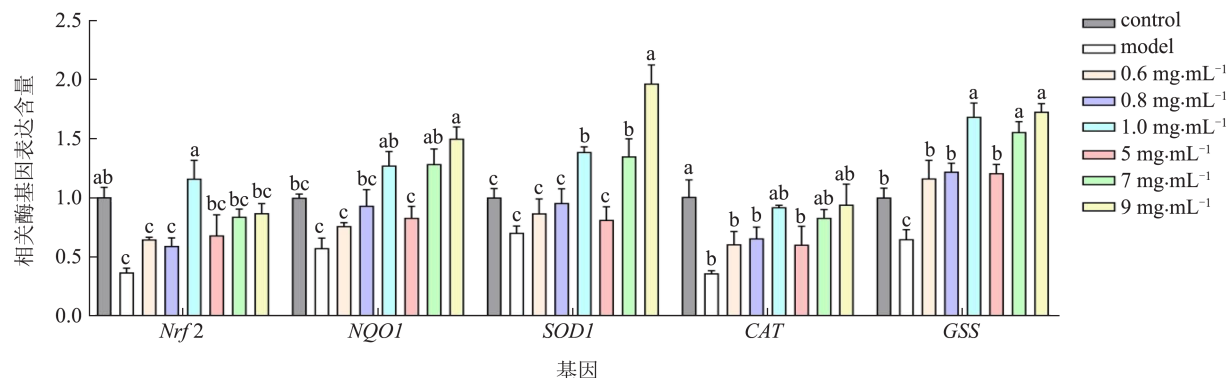


图 8 HepG2 细胞中氧化应激相关基因的 mRNA 相对表达量

Fig.8 Relative mRNA expression levels of oxidative stress-related genes in HepG2 cells

Nrf2/NQO1 信号通路在细胞对氧化应激等环境压力的响应中发挥着关键作用^[26]。对这条通路中一些关键基因进行实时荧光 PCR 实验来进一步探究 Fresh-F 和 Dried-F 发挥氧化应激保护作用的内在机制。*Nrf2* 是氧化应激反应中的关键转录因子，能够调控多种抗氧化酶（如 SOD、CAT 等）和 II 相解毒酶的表达，对其下游的 *NQO1* 靶基因表达具有活化功能，起抗氧化和解毒作用^[27]。HepG2 细胞中 *Nrf2*、*NQO1*、*SOD1*、*CAT*、*GSS* 相对表达含量如图 8 所示。与 model 组相比，*Nrf2*、*NQO1* 的表达均有增加，其中 Fresh-F 和 Dried-F 高质量浓度组的 *Nrf2*、*NQO1* 的表达分别上调了 3.15、2.36 倍和 2.21、2.87 倍，说明 Fresh-F 和 Dried-F 可使 *Nrf2*、*NQO1* 表达上调，可增强细胞抗氧化能力，有助于减轻氧化应激对细胞的损害。同时其下游抗氧化酶 *SOD1*、*CAT*、*GSS* 的基因表达量相对提升。与 model 组相比，不同质量浓度山苍子果多酚处理组 *SOD1*、*CAT*、*GSS* 酶的基因表达量呈质量浓度依赖性升高。高质量浓度组 Fresh-F 和 Dried-F 的提升比分别为 1.98 和 2.80 (*SOD1*)、2.55 和 2.62 (*CAT*)、2.59 和 2.66 (*GSS*)。姚琪等^[28]研究发现虾青素能激活 *Nrf2*/HO-1/*NQO1* 通路发挥抗氧化作用，减轻心肌 I/R 大鼠氧化应激损伤。Jiang 等^[29]研究表明紫锥菊多糖能够提升 *Nrf2*、*NQO1* 于小鼠肝脏内的表达水平，进而对肠道屏障发挥保护效能，有效预防小鼠酒精性肝损伤的发生。这表明 Fresh-F 和 Dried-F 能够上调抗氧化酶基因的表达，有助于恢复细胞内抗氧化酶的含量和活性，增强细胞对氧化应激的抵抗能力。

3 结论

本文对山苍子果多酚的抗氧化作用及作用机制进行了探究。山苍子果中的多酚主要以游离态形式存在，而以结合态形式存在的只占总量的 10% 左右。新鲜山苍子果经阳光自然晒干后其总酚含量和抗氧化活性显

著下降，表明生晒后储藏并非山苍子果的最佳储藏方式。通过构建的 H_2O_2 诱导的细胞氧化应激模型，发现山苍子果多酚能有效保护氧化损伤的 HepG2 细胞，提高细胞存活率，增强 SOD、CAT 抗氧化酶活力，提高 GSH 含量，抑制 LDH 酶活性及 ROS 的产生从而减少细胞损伤。山苍子果多酚通过调节 *Nrf2/NQO1* 信号通路，同时上调抗氧化酶基因表达，增强细胞抗逆性和修复能力。经对比分析发现，相较于山苍子干果多酚，山苍子鲜果多酚在更低质量浓度条件下，实现与之相近的缓解效果。综上，山苍子果多酚（尤其鲜果）具有良好的抗氧化活性及对氧化细胞损伤的保护作用，在食品、保健品等领域有潜在应用价值。

参考文献

- [1] MARAVILLAS M S, VICENTE Á, SILVIA P, et al. Antioxidant effect of a probiotic product on a model of oxidative stress induced by high-intensity and duration physical exercise [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(2): 323.
- [2] OLAOKUN O O. Computational identification of polyphenols from medicinal plant extracts with biological activity against oxidative stress-related diseases: An in silico anti-inflammatory study [J]. *South African Journal of Botany*, 2025, 183: 62-73.
- [3] 王轶钊, 蒋丽娟, 唐扬, 等. 山苍子全基因组 SSR 特征及其 SSR-PCR 反应体系优化 [J]. *南方农业学报*, 2025, 56(3): 720-730.
- [4] 陈霞, 万文娟, 邓章文, 等. 山苍子优良单株选择与综合评价 [J]. *南方林业科学*, 2025, 53(1): 14-21.
- [5] RAKHI C, VIVEKANANDA M. *In vitro* hypoglycemic and antioxidant activities of *Litsea cubeba* (lour.) pers. fruits, traditionally used to cure diabetes in darjeeling hills (India) [J]. *Pharmacognosy Journal*, 2018, 10(6s): s119-s128.
- [6] BAJRACHARYA G B, PRATIGYA K P. A high antibacterial efficacy of fruits of *Litsea cubeba* (lour.) pers from nepal. gc-ms and antioxidative capacity analyses [J]. *Pharmacognosy Journal*, 2019, 11(5): 889-893.
- [7] LI Z Q, GAO Y T, ZHAO C F, et al. Antioxidant and anti-inflammatory function of walnut green husk aqueous extract (WNGH-AE) on human hepatocellular carcinoma cells (HepG2)

- treated with t-BHP [J]. PloS One, 2025, 20(1): e0318005.
- [8] ZHAO Y, LIU S N, SHENG Z L, et al. Effect of pinolenic acid on oxidative stress injury in HepG2 cells induced by H₂O₂ [J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9(10): 5689-5697.
- [9] 李媛,谢岩黎,张伶俐.D-半乳糖诱导HepG2细胞氧化应激模型的建立[J].河南工业大学学报(自然科学版),2016,37(2):55-58,63.
- [10] 杨彬君,冯彩玲,吴岩斌,等.牛樟芝多糖对HepG2细胞酒精性氧化损伤的保护作用[J].菌物学报,2021,40(6):1549-1560.
- [11] YUAN W, ZHENG B S, LI T, et al. Quantification of phytochemicals, cellular antioxidant activities and antiproliferative activities of raw and roasted american pistachios (*Pistacia vera* L.) [J]. Nutrients, 2022, 14(15): 3002.
- [12] 李滨旭.黑莓酚类物质抗氧化活性及体外模拟消化研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [13] BERILLI P, GRAZIANI L G, MEDINA N, et al. Hot and cold infusions of brazilian berries: bioactive potential and storage stability [J]. Natural Product Research, 2025, 1-8.
- [14] ADOM K K, LIU R H. Rapid peroxy radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(17): 6572-6580.
- [15] 褚皓天,赵鹏,田燕歌,等.MTT法用于中药成分细胞毒性和增殖检测的干扰因素及控制措施[J].中国现代中药,2024,26(4):749-756.
- [16] 张业尼,钱磊,陈雪,等.过氧化氢诱导HepG2细胞氧化应激模型的建立[J].食品研究与开发,2018,39(5):160-164.
- [17] 姜盈盈,林连根,吕望,等.胡萝卜苷对H₂O₂诱导的HK-2细胞氧化应激的保护作用研究[J].医学研究杂志,2024,53(10):144-148.
- [18] 王文婷,王秀凤,袁晓蕊,等.不同干燥方式对秋葵多酚生物活性的影响[J].普洱学院学报,2024,40(6):30-35.
- [19] 赵悦竹.芦荟多糖对HepG2细胞氧化应激及小鼠急性肝损伤的保护作用[D].辽宁:锦州医科大学,2023.
- [20] FAN C L, CAI W J, YE M N, et al. Qili qiangxin, a compound herbal medicine formula, alleviates hypoxia-reoxygenation-induced apoptotic and autophagic cell death via suppression of ROS/AMPK/mTOR pathway *in vitro* [J]. Journal of Integrative Medicine, 2022, 20(4): 365-375.
- [21] GAO Y, LIU Y J, MA F L, et al. Lactobacillus plantarum Y44 alleviates oxidative stress by regulating gut microbiota and colonic barrier function in Balb/C mice with subcutaneous D-galactose injection [J]. Food & Functin, 2021, 12: 373-386.
- [22] XU J, ZHANG Y, REN G, et al. Inhibitory effect of delphinidin on oxidative stress induced by H₂O₂ in HepG2 cells [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020, 2020(1): 4694760.
- [23] JIANG J, ZHU Y, WANG M, et al. Protective effect of chinese bayberry (*Myrica rubra* sieb. et zucc.) pomace wine on oxidative stress of hydrogen peroxide by regulating *Keap1/Nrf2* pathway in HepG2 cells [J]. Foods, 2023, 12(9): 1863.
- [24] 郭增旺,樊乃境,田海芝,等.小米糠黄酮对H₂O₂致HepG2氧化应激损伤的保护作用[J].食品科学,2020,41(5):159-165.
- [25] LIANG R, CHENG S, DONG Y, et al. Intracellular antioxidant activity and apoptosis inhibition capacity of PEF-treated KDHCH in HepG2 cells [J]. Food Research International, 2019, 121: 336-347.
- [26] DAVINELLI S, MEDORO A, INTRIERI M, et al. Targeting *NRF2-KEAP1* axis by omega-3 fatty acids and their derivatives: emerging opportunities against aging and diseases [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2022, 193: 736-750.
- [27] HUANG W, ZHONG Y, GAO B, et al. *Nrf2*-mediated therapeutic effects of dietary flavones in different diseases [J]. Frontiers in Pharmacology, 2023, 14: 1240433.
- [28] 姚琪,唐关敏.虾青素调控*Nrf2/HO-1/NQO1*通路减轻心肌缺血再灌注大鼠氧化应激损伤[J].中国老年学杂志,2023,43(8):1953-1957.
- [29] JIANG W H, ZHU H K, XU W Q, et al. Echinacea purpurea polysaccharide prepared by fractional precipitation prevents alcoholic liver injury in mice by protecting the intestinal barrier and regulating liver-related pathways [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 187: 143-156.