

## 柚皮苷对酒精诱导急性肝损伤的保护作用

张淑霞<sup>1</sup>, 张雪涟<sup>1</sup>, 卢珊<sup>2</sup>, 罗云<sup>1\*</sup>, 孙晓波<sup>1\*</sup>

(1. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193;

2. 北京盈科瑞创新医药股份有限公司, 北京 102206)

**[摘要]** **目的:**探究柚皮苷对酒精诱导的急性肝损伤小鼠的药效学作用,为柚皮苷开发为解酒保肝药物提供数据支撑。**方法:**根据体质量将60只Balb/C小鼠随机分为正常组、模型组、柚皮苷低、高剂量组(25、50 mg·kg<sup>-1</sup>),海王金樽片组(2 g·kg<sup>-1</sup>)及纳洛酮组(2 mg·kg<sup>-1</sup>)。各组小鼠灌胃或腹腔注射相应药物,正常组与模型组灌胃等体积0.5%羧甲基纤维素钠,每天给药1次,连续14 d。除正常组外,其他组在给药同时连续灌胃给予56°红星二锅头(13 mL·kg<sup>-1</sup>)14 d诱导酒精性肝损伤模型。末次给药前1 d禁食不禁水12 h,末次灌胃白酒后2 h后摘眼球取血,解剖取得肝脏并称重。全自动生化仪检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性水平;苏木素-伊红(HE)染色检测比较小鼠肝脏组织病理变化;末端标记法(TUNEL)/二氨基联苯胺(DAB)双染法观察阳性细胞数的比例判断细胞凋亡情况;蛋白免疫印迹法检测凋亡相关蛋白Bcl-2/Bax和细胞色素-C(Cyt-C)蛋白的表达。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠肝体比显著增加( $P<0.01$ ),血清ALT和AST活性水平显著增加( $P<0.01$ ),肝细胞胞浆显著疏松、水肿,脂肪变性较严重,有明显的出血现象,肝脏细胞凋亡增加,Bal-2表达水平与Bax表达水平比值降低( $P<0.01$ ),促凋亡蛋白Cyt-C水平增加( $P<0.01$ )。与模型组比较,柚皮苷低、高剂量组能明显降低肝体比( $P<0.05, P<0.01$ ),柚皮苷高、低剂量组明显降低小鼠血清中ALT、AST活性( $P<0.05, P<0.01$ ),肝细胞脂肪变性显著减轻,肝细胞水肿消失,出血得到改善,肝细胞TUNEL阳性率显著降低;柚皮苷高、低剂量组均能明显降低Bal-2/Bax水平( $P<0.05, P<0.01$ ),提升了Cyt-C水平( $P<0.05$ )。**结论:**柚皮苷通过调节血清中ALT和AST的表达水平、减少肝脏脂肪病变和肝细胞凋亡,改善酒精引起的急性肝损伤。

**[关键词]** 柚皮苷; 酒精性肝损伤; 肝损伤酶; 肝细胞凋亡

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)01-0061-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20221703

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220901.1526.006.html>

**[网络出版日期]** 2022-09-02 9:17

### Protective Effect of Naringin on Alcohol-induced Acute Liver Injury

ZHANG Shuxia<sup>1</sup>, ZHANG Xuelian<sup>1</sup>, LU Shan<sup>2</sup>, LUO Yun<sup>1\*</sup>, SUN Xiaobo<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China; 2. Beijing Increasepharm Corporation Limited, Beijing 102206, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the pharmacodynamic effect of naringin on mice with alcohol-induced liver injury and provide data support for the development of naringin as an anti-alcoholic and liver-protecting drug. **Method:** Sixty Balb/c mice were randomly divided into six groups according to body weight, namely, the control group, the model group, the naringin low and high-dose group (25, 50 mg·kg<sup>-1</sup>), Haiwang Jinzun tablet positive control group (2 g·kg<sup>-1</sup>), and naloxone positive control group (2 mg·kg<sup>-1</sup>). Each group was given corresponding drugs by injection or gavage, and the control group and the model group were given

**[收稿日期]** 2022-06-05

**[基金项目]** 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2018YFC1706704)

**[第一作者]** 张淑霞,在读博士,从事中药药理学研究,E-mail:zhangshuxia1999@163.com

**[通信作者]** \* 罗云,博士,副研究员,从事中药药理方向研究,E-mail:ly20040423@126.com;

\* 孙晓波,博士,研究员,从事中药药理方向研究,E-mail:sun\_xiaobo163@163.com

equal volume of 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution by gavage, once a day for 14 consecutive days. Except those in the control group, mice in other groups were additionally given 56° Chinese Baijiu (13 mL·kg<sup>-1</sup>) for 14 days to induce the mouse model of alcoholic liver injury. One day before the last administration, mice were fasted for 12 h. Eyeballs were removed for blood after the last administration of Chinese Baijiu, and the livers were collected and weighed. The activity levels of alanine transaminases (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected by automatic biochemical analyzer. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to determine and compare the pathological changes in liver tissues of mice, and the ratio of positive cells were observed by TUNEL/DAB dual staining method. Western blot was used to determine the expression of apoptosis-related proteins including B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), and Cytochrome-C (Cyt-C). **Result:** As compared with the control group, the liver/body ratio of the model group was significantly increased ( $P<0.01$ ), and the expression of ALT and AST in the serum was obviously increased ( $P<0.01$ ). Further, the model group showed severe loosing of hepatocyte cytoplasm, edematous, steatosis, and apoptosis of hepatocytes, with obvious bleeding phenomena. In addition, the apoptosis of liver cells increased, the Bal-2/Bax ratio was decreased ( $P<0.01$ ), and the level of pro-apoptotic protein Cyt-C was increased in the model group ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the naringin low and high-dose groups reduced the liver/body ratio ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and the high-dose and low-does group significantly inhibited the activity levels of ALT and AST in the serum of mice ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Moreover, the hepatocyte steatosis was significantly reduced, hepatocyte edema disappeared, and bleeding was improved in the naringin high-dose group, and the TUNEL-positive rate was down-regulated. The naringin low and high-dose groups decreased the Bcl-2/Bax ratio ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) and enhanced the expression level of Cyt-C ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Naringin protects alcohol-induced liver damage by regulating the expression levels of ALT and AST in the serum, improving liver fatty lesions, and reducing hepatocyte apoptosis.

[**Keywords**] naringin; alcoholic liver injury; hepatic enzyme; hepatocyte apoptosis

肝脏是酒精代谢的主要场所,酒精性肝病(ALD)是全球最常见的肝脏疾病之一,约占肝硬化死亡人数的25%<sup>[1]</sup>,主要包括无症状的早期ALD(脂肪肝或脂肪变性)、脂肪性肝炎、晚期ALD(酒精性肝炎、肝硬化)和肝癌<sup>[2]</sup>。治疗酒精性肝炎的药物以肾上腺皮质激素为主,长期使用副作用大<sup>[3-4]</sup>,因此寻找安全有效的药物防治酒精性肝损伤十分迫切。近年来,研究表明肝细胞凋亡是酒精性肝损伤的重要病理特征之一<sup>[5]</sup>,肝细胞凋亡指数与酒精性肝损伤的严重程度相关<sup>[6]</sup>。因此,肝细胞凋亡有望作为治疗ALD的新靶点。

化橘红为芸香科植物化州柚或柚的未成熟或近成熟的干燥外层果皮,具有“理气宽中,燥湿化痰”的功效。柚皮苷是一种类黄酮化合物,主要存在于柑橘类水果中,具有抗氧化活性。2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)中指出柚皮苷含量作为化橘红的标志性成分,规定其质量分数不得低于3.5%<sup>[7]</sup>。药理研究表明,柚皮苷能够显著改善骨骼发育<sup>[8]</sup>、心肌/脑缺血再灌注损伤<sup>[9-11]</sup>、2型糖尿病<sup>[12]</sup>、肺损伤<sup>[13]</sup>、结肠炎<sup>[14-15]</sup>及

癌症<sup>[16-19]</sup>等多种疾病,具有神经保护,改善学习认知能力<sup>[20-21]</sup>的功效。此外,袁媛等<sup>[22]</sup>发现食源性柚皮苷对呋喃所致小鼠肝肾损伤具有保护作用;吴桥等<sup>[23]</sup>研究发现柚皮苷能够预防APAP诱导的急性肝损伤。课题组前期研究发现化橘红水提物能够显著改善酒精诱导的急性肝损伤<sup>[24]</sup>。本研究探究化橘红的主要成分柚皮苷对酒精诱导的急性肝损伤的保护作用,为化橘红解酒保肝功能因子研发提供依据。

## 1 材料

**1.1 药物** 柚皮苷(北京索莱宝科技有限公司,批号807B021,纯度≥98.0%),海王金樽片(海王健康科技发展有限公司,批号20191202),注射用盐酸纳洛酮(成都苑东药业有限公司,批号190701)。

**1.2 试剂与耗材** 氯化钠注射液(山东华鲁制药有限公司,批号E17030305);一次性使用无菌溶药注射器1、2、5、10 mL(江苏治宇医疗器材有限公司,批号20160458);多聚甲醛(北京索莱宝科技有限公司,批号20210908);磷酸盐缓冲液(PBS,无锡傲锐东源生物科技有限公司,批号ZLI-9062);免疫组化

笔(北京中杉金桥生物技术有限公司);天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司,批号分别为210921、210991);原位末端标记法(TUNEL)试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号110919201221);兔抗B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)和 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab182858、ab182733、ab44976、ab115777);山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(H+L)二抗[柏奥易杰(北京)科技有限公司,批号80910101];脱脂奶粉(碧云天生物技术有限公司,批号1120201210);苏木素染色液、伊红染色液(无锡傲锐东源生物科技有限公司,批号分别为19041201、19040921)。

**1.3 仪器** MX5型1/100万电子分析天平、MS204S型1/万电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司),YP1001N型电子天平(上海菁海仪器有限公司),湿盒(上海协力塑料制品厂),EG720EAU-SS型微波炉(美的集团),RM2245型石蜡切片机、Aperio SC2型数字幻灯片图像采集及分析系统(德国Leica公司),AU480型全自动生化分析仪(贝克曼库尔特株式会社),Heraeus Multifuge X1R台式高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

**1.4 动物** 60只Balb/C小鼠,雌雄各半,体质量18~20 g,购买自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCKX(京)2021-0006,饲养于中国医学科学院药用植物研究所SPF级动物房(许可证号SYXK(京)2017-0020)。动物实验屏障主要环境指标:室温(22±1)℃,日温差≤4℃,相对湿度60%。所有动物均由培训合格的人员进行饲养管理,整个饲养过程中保持动物饮食活动自由。本实验所用动物及相关处置应符合动物福利的要求,实验开展前要经过中国医学科学院/北京协和医学院药用植物研究所实验动物管理与动物福利委员会(IACUC)的审查批准(SLXD-20200514002)。

## 2 方法

**2.1 实验分组、造模及给药** 将60只Balb/C小鼠随机分为6组,每组10只。分别为正常组、模型组、柚皮苷低剂量组(25 mg·kg<sup>-1</sup>)、高剂量组(50 mg·kg<sup>-1</sup>)、金樽片组(2 g·kg<sup>-1</sup>)、盐酸纳洛酮组(2 mg·kg<sup>-1</sup>),所有药物均溶解于0.5%羧甲基纤维素钠。参照文献[24],化橘红水提物小鼠给药剂量为0.46~0.91 g·kg<sup>-1</sup>,2020年版《中国药典》<sup>[7]</sup>中指出化橘红干燥品中柚皮苷质量分数不得低于3.5%,因此

柚皮苷小鼠给药剂量为16.1~31.85 mg·kg<sup>-1</sup>,以25 mg·kg<sup>-1</sup>为低剂量,按照组间剂量2倍递增,则高剂量为50 mg·kg<sup>-1</sup>。纳洛酮组腹腔注射给药,其他组均灌胃给药,正常组与模型组给予0.5%羧甲基纤维素钠,每天给药1次,连续14 d。除正常组外,其他组在给药同时连续灌胃给予56°红星二锅头(13 mL·kg<sup>-1</sup>)14 d诱导急性肝损伤模型。末次给药前1 d禁食不禁水12 h,末次灌胃白酒后2 h后摘眼球取血,解剖取得肝脏并称重。全血静置后3 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min(离心半径10 cm),取上清保存于-80℃;肝脏组织使用10%多聚甲醛固定。

**2.2 血清中ALT和AST测定** 按照试剂盒说明书使用全自动生化仪测定ALT和AST活性。

**2.3 苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏组织病理学变化** 使用固定后的肝脏组织制作石蜡切片,HE染色。数字玻片图像扫描及分析系统捕获和分析图像。

**2.4 TUNEL染色观察肝脏组织肝细胞凋亡情况** 肝脏组织石蜡切片脱蜡,切片修复,切片稍甩干后在圈内滴加破膜工作液覆盖组织进行破膜,阻断内源性过氧化物酶,加试剂3之后DAB显色,复染细胞核,中性树胶脱水封片。

**2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白表达** 提取肝脏组织总蛋白后进行BCA定量,加入5×Loading Buffer后100℃煮10 min使蛋白变性;10% SDS-PAGE分离目的蛋白,恒流300 mA转膜55 min,5%脱脂奶粉常温封闭2 h,分别加入Bcl-2、Bax、Cyt-C、 $\beta$ -actin一抗(1:500),4℃过夜。TBST洗膜3次,每次15 min,然后加入兔抗免疫球蛋白(Ig)G二抗(1:1 000)常温孵育1.5 h后TBST洗膜3次,每次15 min。ECL试剂盒显色检测蛋白条带,利用Image J统计条带灰度值。

**2.6 统计学处理方法** 各组数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组间比较用Graphpad Prism 5.0进行方差分析(ANOVA),Tukey法进行两两比较, $P<0.05$ 认为具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对急性肝损伤小鼠体质量和肝体比的影响** 连续给药2周后,各组小鼠体质量差异无统计学意义。与正常组小鼠比较,模型组小鼠肝体比显著增加( $P<0.01$ );与模型组比较,柚皮苷各剂量组能够明显降低肝体比( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),柚皮苷高剂量组效果与纳洛酮组相当( $P<0.01$ ),表明柚皮苷能够改善酒精诱导的急性肝损伤。见表1。

表1 柚皮苷对急性肝损伤小鼠体质量和肝体比的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

Table 1 Effect of naringin on body weight and ratio of liver/weight in acute liver injury of mice ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	体质量/g	肝体比/%
正常组		19.20±0.18	4.15±0.22
模型组		19.68±0.85	5.10±0.46 <sup>1)</sup>
柚皮苷低剂量组	0.025	18.84±1.58	4.39±0.12 <sup>2)</sup>
柚皮苷高剂量组	0.05	19.43±0.72	4.34±0.18 <sup>4)</sup>
海王金樽片组	3.0	18.90±0.65	4.66±0.17
盐酸纳络酮组	0.002	19.98±1.10 <sup>2)</sup>	4.27±0.17 <sup>4)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P<0.05$ ,<sup>3)</sup> $P<0.01$ (表2和表3同)

3.2 对急性肝损伤小鼠肝酶表达水平的影响 与正常组比较,模型组 ALT 和 AST 水平显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,柚皮苷各剂量组能够明显降低 ALT 和 AST 水平( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),且具有剂量依赖性。其中,柚皮苷高剂量组对肝酶的降低效果与纳络酮相当。见表2。

表2 柚皮苷对急性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 水平的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

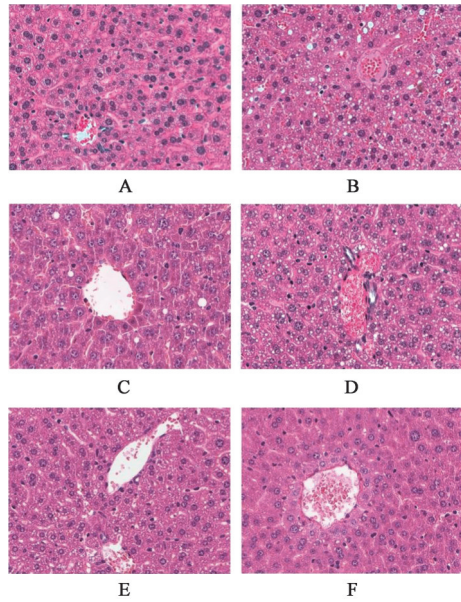
Table 2 Effect of naringin on ALT and AST in acute liver injury of mice ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	ALT	AST
正常组		45.76±20.11	177.50±47.33
模型组		216.38±51.66 <sup>1)</sup>	523.25±255.48 <sup>1)</sup>
柚皮苷低剂量组	0.025	112.80±10.41 <sup>2)</sup>	343.93±54.69 <sup>2)</sup>
柚皮苷高剂量组	0.05	76.87±15.57 <sup>3)</sup>	239.09±60.84 <sup>3)</sup>
海王金樽片组	3.0	143.66±66.25 <sup>3)</sup>	363.45±106.65
盐酸纳络酮组	0.002	70.83±17.80 <sup>3)</sup>	231.45±57.63 <sup>3)</sup>

3.3 对急性肝损伤小鼠肝组织病理的影响 正常组小鼠肝小叶结构清晰,肝细胞排列整齐;与正常组比较,模型组肝细胞胞浆显著疏松、水肿,脂肪变性较严重,有明显的出血现象;与模型组比较,柚皮苷低、高剂量组、纳洛酮族及金樽片组均可见肝组织病理学改变明显改善,肝细胞脂肪变性显著减轻,肝细胞水肿消失,出血得到改善。见图1。

3.4 对急性肝损伤小鼠肝细胞凋亡的影响

TUNEL 染色结果显示,正常组小鼠肝细胞排列整齐,细胞核清晰;模型组肝细胞核 TUNEL 阳性率显著增加;与模型组比较,柚皮苷高、低剂量组、金樽片组及纳洛酮组均可降低肝细胞 TUNEL 阳性细胞数,表明柚皮苷能够保护酒精诱导的肝细胞损伤。



注:A.正常组;B.模型组;C.柚皮苷低剂量组;D.柚皮苷高剂量组;E.海王金樽片组;F.盐酸纳络酮组(图2和图3同)

图1 柚皮苷对急性肝损伤小鼠肝组织病理的影响(HE,×200)

Fig. 1 Effect of naringin on pathological changes of liver tissues in acute liver injury of mice(HE,×200)

此外,Western blot结果显示,与正常组比较,模型组抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平下调,促凋亡蛋白 Bax 表达水平上调,线粒体内的凋亡因子 Cyt-C 表达水平上调,与 TUNEL 结果一致,表明模型组肝细胞凋亡增加。与模型组比较,柚皮苷低、高剂量均能明显升高 Bcl-2/Bax 表达水平( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),明显降低了 Cyt-C 的表达水平( $P<0.05$ ),表明柚皮苷可能通过调控细胞凋亡的内源性途径发挥保护作用。见图2、图3和表3。

#### 4 讨论

人体摄入的乙醇约 90% 在肝脏代谢,乙醇在多种酶的作用下脱氢氧化后进入三羧酸循环后才能被彻底分解,因而阻碍了机体本身的脂肪氧化和三羧酸循环<sup>[25]</sup>,使得脂肪在肝细胞中大量沉积,肝细胞产生脂肪变性、水肿等病理特征<sup>[26-27]</sup>,进一步导致肝细胞凋亡,肝细胞浆中的可溶性酶进入血液,造成血清中 AST 和 ALT 含量增加<sup>[28-29]</sup>。本研究中,模型组肝体比显著增加,血清中 AST 和 ALT 水平显著升高,肝细胞排列疏松,产生水肿和脂肪变性,肝细胞凋亡增加,表明连续灌胃酒精 14 d 成功建立了小鼠肝损伤模型。

目前,酒精性脂肪肝的发病机制并不明确,可能的机制主要包括肠道菌群改变、乙醇代谢紊乱、氧化应激、肝脏脂肪变性、细胞凋亡、细胞自噬和遗传因素等<sup>[22,29]</sup>。课题组前期研究发现化橘红能够

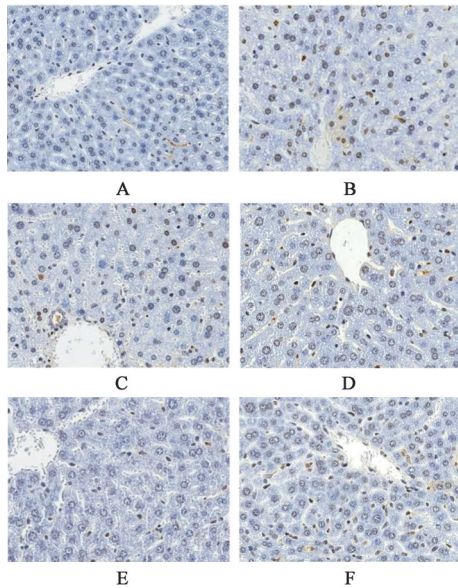


图2 柚皮苷对急性肝损伤小鼠小鼠肝细胞凋亡的影响 (TUNEL, ×200)

Fig. 2 Effect of naringin on TUNEL positive expression in mice hepatocyte in acute liver injury of mice (TUNEL, ×200)

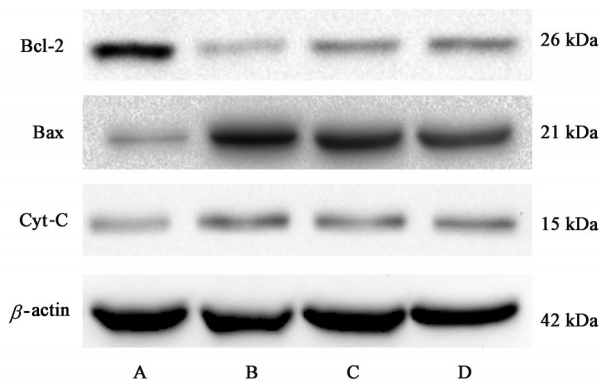


图3 小鼠肝细胞组织中Bcl-2、Bax和Cyt-C蛋白的表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of expression level of Bcl-2, Bax, and Cyt-C in mice liver

表3 柚皮苷对急性肝损伤小鼠肝脏组织中的Bcl-2、Bax和Cyt-C蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of naringin on Bcl-2, Bax and Cyt-C expression of liver in acute liver injury of mice ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Bcl-2/Bax	Cyt-C/ $\beta$ -actin
正常组		100.08±5.11	101.09±8.99
模型组		22.40±1.98 <sup>1)</sup>	248.05±11.89 <sup>1)</sup>
柚皮苷低剂量组	0.025	51.00±4.97 <sup>2)</sup>	198.83±15.02 <sup>2)</sup>
柚皮苷高剂量组	0.05	77.60±8.03 <sup>3)</sup>	187.63±9.97 <sup>2)</sup>

显著改善酒精诱导的急性肝损伤<sup>[24]</sup>,进一步探究了柚皮苷是否为解酒保肝的功能因子。因此推测其主要成分柚皮苷对酒精诱导的小鼠急性肝损伤可能会有保护作用。结果显示,柚皮苷能够剂量依赖性降低长期灌胃酒精小鼠的肝体比、血清中AST

和ALT水平,减少肝细胞水肿、脂肪变性和肝细胞凋亡,表明柚皮苷能够减轻长期饮酒造成的肝损伤和肝功能障碍。此外,柚皮苷在其他化学试剂如味噌等诱导的肝损伤模型中也表现出了保护作用,这与本研究的结果基本一致<sup>[22-23]</sup>。

肝细胞凋亡是酒精性肝损伤的病理特征之一<sup>[30]</sup>,抑制肝细胞凋亡能够达到保护肝脏的目的。以线粒体为中心的内源性途径是细胞凋亡的三大途径之一。Bcl-2家族是存在于线粒体细胞外膜上的一类抗凋亡蛋白家族,而Bax家族作为细胞内凋亡信号的“感受器”,能够促进细胞的凋亡。Bcl-2因子能够与Bax因子形成异源二聚体,抑制Bax的寡聚化以抑制线粒体膜通道的开启,减少Cyt-C的释放进而减少细胞凋亡<sup>[31-32]</sup>。进一步的Western blot实验证实,柚皮苷能够升高Bcl-2/Bax表达水平,降低Cyt-C的表达水平,结果提示柚皮苷可以显著改善酒精引起的急性肝损伤,其作用机制可能与其抑制肝细胞凋亡有关。

本研究初步探明了柚皮苷对急性肝损伤的保护作用可能是通过减少肝细胞凋亡来实现的,因此我们下一步将探明柚皮苷减少肝细胞凋亡的通路和靶点。此外,还将对比化橘红、柚皮苷及化橘红其他主要成分保肝的作用强度,以进一步探究柚皮苷是否能作为化橘红解酒保肝的功能因子。

综上所述,柚皮苷对酒精诱导的急性肝损伤具有保护作用,并初步探究了其作用机制与调控肝细胞凋亡有关,是化橘红解酒保肝的功能因子。该研究为进一步探究柚皮苷解酒保肝的作用机制及健康产品开发提供科学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SINGAL A K, MATHURIN P. Diagnosis and treatment of alcohol-associated liver disease: A review [J]. JAMA, 2021, 326(2): 165-176.
- [2] LIU S Y, TSAI I T, HSU Y C. Alcohol-related liver disease: Basic mechanisms and clinical perspectives [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(10): 51-70.
- [3] 张嵘,王健. 糖皮质激素治疗重症酒精性肝炎的现状和进展[J]. 江西医药, 2015, 50(8): 843-846.
- [4] 万远太. 酒精性肝炎的药物治疗现状[J]. 武汉科技大学学报:自然科学版, 2006(2): 193-196.
- [5] ZIOL M, TEPPER M, LOHEZ M, et al. Clinical and biological relevance of hepatocyte apoptosis in alcoholic hepatitis [J]. J Hepatol, 2001, 34(2):

- 254-260.
- [ 6 ] NATORI S, RUST C, STADHEIM L M, et al. Hepatocyte apoptosis is a pathologic feature of human alcoholic hepatitis [J]. *J Hepatol*, 2001, 34 (2) : 248-253.
- [ 7 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:76-77.
- [ 8 ] 覃浩然,宋泉生,覃海飏,等. 柚皮苷对兔骨髓基质细胞成骨分化、增殖和迁移及对OPG/RANKL信号通路的调节作用[J]. *西部医学*,2022,34(1):51-56.
- [ 9 ] 董静,祝万洁,司元元. 柚皮苷对抗阿霉素所致H9C2心肌细胞毒性的研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2022,42(12):1204-1206,1220.
- [10] 段婷婷,王进华,邵菲菲. 柚皮苷对脑梗死大鼠的保护作用及其机制研究[J]. *新中医*,2022,54(3):1-7.
- [11] 王婷婷,张健,张再媛,等. 柚皮苷抑制大鼠心肌缺血/再灌注损伤诱导的细胞焦亡[J]. *中国病理生理杂志*,2021,37(6):1019-1026.
- [12] 肖雯婧,邓凯文,王婷婷,等. 柚皮苷激活Maxi K对糖尿病心脏的保护作用[J]. *中国药理学通报*,2022,38(1):38-42.
- [13] 姚梦雅,刘超,孙兆瑞,等. 柚皮苷对百草枯致大鼠肺损伤保护作用的研究[J]. *中国急救医学*,2022,42(3):255-259.
- [14] 张伟东,徐阳,郑路,等. 柚皮苷对DSS诱导结肠炎小鼠肠道菌群的影响[J]. *实验动物科学*,2021,38(6):5-10.
- [15] 樊玉青,张婷兰,刘艳,等. 枳实及其有效成分柚皮苷预防术后肠粘连的作用机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*,2022,doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20220452.
- [16] 杨瑞英,谢孟珍,梁秀兰. 柚皮苷通过上调miR-628-5p抑制宫颈癌ME-180细胞增殖和周期进展[J]. *中国临床药理学杂志*,2022,38(4):318-322.
- [17] 杨锋,姜涛,张利宏,等. 柚皮苷通过阻断JAK/STAT信号通路抑制Eca109人食管癌细胞的增殖、侵袭并促进其凋亡[J]. *细胞与分子免疫学杂志*,2021,37(12):1085-1091.
- [18] 汪冬梅,刘丹,郝凤杰,等. 柚皮苷通过miR-34a下调MET表达并抑制PI3K/Akt信号通路的激活调控甲状腺癌细胞增殖和凋亡[J]. *中国老年学杂志*,2021,41(18):4056-4063.
- [19] 李永慧,王倩林,贾笑强,等. 柚皮苷中药单体调节miR-216a基因对结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响研究[J]. *河北医药*,2021,43(16):2416-2421.
- [20] 雷霞,佟玉良,赵德萍,等. 柚皮苷对亚硝酸钠致记忆障碍模型小鼠的改善作用[J]. *现代中药研究与实践*,2021,35(3):29-33.
- [21] 林雪,赵晨宇,董蕊,等. 柚皮苷改善东莨菪碱模型小鼠学习认知能力的血液代谢组学研究[J]. *药物分析杂志*,2022,42(2):263-270.
- [22] 袁媛,刘黄友,闫海洋,等. 食源性柚皮苷抗氧化性及其对呋喃所致小鼠肝肾损伤的保护作用[J]. *中国食品学报*,2019,19(9):13-20.
- [23] 吴桥,余朋飞,毕研贞,陈煜,段钟平. 柚皮苷通过增加肝细胞II相抗氧化酶活来预防APAP诱导的急性肝损伤[C]//第十届全国疑难及重症肝病大会论文汇编.[出版者不详],2019:272-273.
- [24] 吴道顺,王梦晨,张雪莲,等. 化橘红水提物对酒精诱导的急性肝损伤保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*,2022,28(19):42-48.
- [25] HYUN J, HAN J, LEE C, et al. Pathophysiological aspects of alcohol metabolism in the liver[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(11):5717.
- [26] LACKNER C, TINIAKOS D. Fibrosis and alcohol-related liver disease [J]. *J Hepatol*, 2019, 70 (2) : 294-304.
- [27] SEITZ H K, BATALLER R, CORTEZ-PINTO H, et al. Alcoholic liver disease[J]. *Nat Rev Dis Primers*,2018,4(1):16.
- [28] 陈彬彬,赵德义,姚逸萍,等. 短肽(Pro-His-Pro, PHP)预防酒精性肝损伤的影响[J]. *食品与发酵工业*,2022,48(19):92-98.
- [29] 叶丽云,程冰,马水丽,等. 赤芝多糖对小鼠急性酒精性肝损伤的保护效果和作用机制[J]. *食品科学*, 2022,43(5):103-110.
- [30] NAMACHIVAYAM A, VALSALA GOPALAKRISHNAN A. A review on molecular mechanism of alcoholic liver disease [J]. *Life Sci*, 2021,274:119328.
- [31] PESSOA J. Live-cell visualization of cytochrome c: A tool to explore apoptosis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2021,49(6):2903-2915.
- [32] QI G, LI H, ZHANG Y, et al. Smart plasmonic nanorobot for real-time monitoring cytochrome c release and cell acidification in apoptosis during electrostimulation[J]. *Anal Chem*, 2019,91(2):1408-1415.

[责任编辑 周冰冰]