

# 金银花多酚与红豆越橘乙醇提取物 协同抗 UVA 辐射

范伟佳<sup>1</sup>, 崔旭娜<sup>1</sup>, 刘嘉怡<sup>1</sup>, 王杰<sup>1,2</sup>, 王婷婷<sup>1,2</sup>, 樊梓鸾<sup>1,2\*</sup>

(1. 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 为探究红豆越橘及金银花提取物对长波紫外线 (UVA) 辐射引起氧化应激的防护作用, 制备了红豆越橘乙醇提取物和金银花多酚质量比为 1:1 的复配物 (简称复配物), 建立了 UVA 诱导的肝癌细胞 (HepG2 细胞) 氧化损伤模型, 考察了复配物对 UVA 辐照后 HepG2 细胞的超氧化物歧化酶 (SOD) 活力、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力、过氧化氢酶 (CAT) 活力、丙二醛 (MDA) 浓度和活性氧 (ROS) 含量的影响。结果表明, 复配物通过激活抗氧化酶系和清除 ROS 来缓解由 UVA 辐照引发的 HepG2 细胞氧化应激损伤。HepG2 细胞被半致死 UVA 辐照剂量 (12.96 J/cm<sup>2</sup>) 辐照后, 与模型组相比, 经低 (50 μg/mL)、中 (100 μg/mL)、高 (200 μg/mL) 质量浓度复配物处理后的 HepG2 细胞存活率分别增加了 15.26%、33.59%、66.15%, SOD 活力分别增加了 10.72%、32.43%、54.08%, CAT 活力分别增加了 16.48%、36.90%、116.20%, GSH-Px 活力分别增加了 52.97%、71.44%、117.14%, MDA 浓度分别下降了 17.12%、31.22%、59.41%, ROS 表达水平显著下降。

**关键词:** 红豆越橘; 金银花多酚; 抗 UVA 辐射; 活性氧; 抗氧化酶; 生物工程

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 03-0570-07

## Synergistic anti-UVA radiation of *Lonicera japonica* polyphenols and *Vaccinium vitis-idaea* L. ethanol extract

FAN Weijia<sup>1</sup>, CUI Xu'na<sup>1</sup>, LIU Jiayi<sup>1</sup>, WANG Jie<sup>1,2</sup>, WANG Tingting<sup>1,2</sup>, FAN Ziluan<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 2. Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization of Heilongjiang Province, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

**Abstract:** In order to investigate the protective effects of extracts from *Vaccinium vitis-idaea* L. and *Lonicera japonica* on oxidative stress damage induced by long-wave ultraviolet (UVA) radiation, a UVA induced oxidative damage model of human hepatocellular carcinomas (HepG2 cells) was established to investigate the protective effect of a compound made from *Lonicera japonica* polyphenols and *Vaccinium vitis-idaea* L. ethanol extract (compound for short) with a mass ratio of 1:1. The influence of the compound on superoxide dismutase (SOD) activity, glutathione peroxidase (GSH-Px) activity, catalase (CAT) activity, malondialdehyde (MDA) concentration and reactive oxygen species (ROS) content of HepG2 cells after UVA irradiation were analyzed. The results showed that the compound alleviated the oxidative stress damage of HepG2 cells induced by UVA irradiation through activating the antioxidant enzyme system and clearing ROS. Compared with those of model group, the survival rate of HepG2 cells after treatment with low (50 μg/mL), medium (100 μg/mL) and high (200 μg/mL) mass concentration compounds was increased by 15.26%, 33.59% and 66.15%, the SOD activity was increased by 10.72%, 32.43% and 54.08%, the CAT activity was increased by 16.48%, 36.90% and 116.20%, the GSH-Px activity was increased by 52.97%, 71.44% and 117.14%, and the MDA concentration was decreased by 17.12%,

收稿日期: 2024-01-11; 定用日期: 2024-04-01; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240042

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31170510); 中国博士后科学基金项目 (2016M600239); 中央高校科学前沿与交叉学科创新基金项目 (2572019BA09); 黑龙江省省级大学生创新训练项目 (S202310225282); 黑龙江省自然科学基金联合引导项目 (LH2020C035)

作者简介: 范伟佳 (2004—), 女, E-mail: 969035315@qq.com. 联系人: 樊梓鸾 (1981—), 女, 副教授, E-mail: fzl\_1122@163.com.

31.22% and 59.41%, respectively, and ROS expression level decreased significantly.

**Key words:** *Vaccinium vitis-idaea* L.; *Lonicera japonica* polyphenols; anti-UVA radiation; reactive oxygen species; antioxidant enzyme; biological engineering

紫外线是人类皮肤生物性损伤的主要因素<sup>[1]</sup>,尤其是穿透性强的长波紫外线(UVA, 320~400 nm),长时间照射会导致皮肤产生活性氧(ROS)和活性氮(RNS)<sup>[2]</sup>,破坏细胞结构和功能,诱导细胞衰老<sup>[3]</sup>和皮肤肿瘤<sup>[4]</sup>。防晒剂是防晒产品中的主要有效成分,具有良好的吸收紫外线性能,在一定程度上对皮肤起到保护作用。但无论是化学防晒剂(水杨酸类、二苯甲酮衍生物、肉桂酸酯衍生物等)还是物理防晒剂(氧化锌和二氧化钛)<sup>[5-6]</sup>,都会对海洋生物和人体产生极大危害<sup>[7-9]</sup>。天然防晒原料在紫外线吸收性、防止辐射损伤、提高防晒产品有效性和安全性方面更具优势。因此,开发更多潜在天然物质应用到防晒产品上已成为国内外研究的热门课题。

卢琦等<sup>[10]</sup>研究发现,甘草素可抑制 UVA 诱导的细胞衰老、ROS 和丙二醛(MDA)的生成、线粒体膜电位的下降以及基质金属蛋白酶的合成,显著提高细胞增殖活力、抗氧化酶活性和 I 型胶原蛋白的生成。GENDRISCH 等<sup>[11]</sup>研究发现,类黄酮类化合物木犀草素可通过部分吸收 UVA 和中波紫外线(UVB)来抵御紫外线辐射,还可作为第一道防线来减少皮肤中的不良光生物学效应。

药食同源植物金银花(*Lonicera japonica*)为忍冬科(*Caprifoliaceae*)多年生植物忍冬的干燥花蕾或待开放的花<sup>[12]</sup>,中国各省均有分布,资源丰富。多酚类物质是金银花的主要功能成分。金银花多酚可通过抑制人体内酪氨酸酶和过氧化酶活性来减少黑色素的形成,起到一定的美白效果<sup>[13-14]</sup>。金银花多酚成分包含具有良好紫外线吸收性能的绿原酸,还有与抑制弹性蛋白酶有关的黄酮类化合物芦丁。红豆越橘(*Vaccinium vitis-idaea* L.)属杜鹃花科(*Ericaceae*)越橘属(*Vaccinium*)常绿小灌木,主要分布在中国大小兴安岭地区,被称为“北国红豆”,其果实富含多糖、多酚、黄酮、花色苷等多种活性成分,具有抗氧化活性<sup>[15]</sup>。陈沙等<sup>[16]</sup>研究证实,红豆越橘中高含量的花色苷具有较强的防紫外线和微波辐射作用;多糖具有黏性,在皮肤表面成膜后可减缓水分蒸发,起到保湿作用;花色苷对酪氨酸酶的抑制能力已在多种浆果中被证实<sup>[17]</sup>。金银花多酚与红豆越橘均有保湿、防晒、抗氧化、抑制黑色素和抗衰老的作用。

本文拟在已有金银花多酚与红豆越橘抑制黑色素功能研究基础上将二者复配,从抗紫外线、减少

氧自由基和抑制抗氧化酶活性 3 个方面评估复配物对 UVA 辐照肝癌细胞(HepG2 细胞)的防护作用。以期天然绿色的植物防晒产品的研究和天然产物联合应用提供实验依据。

## 1 实验部分

### 1.1 材料、试剂与仪器

红豆越橘花青素(矢车菊-3-葡萄糖苷质量分数>90%)、金银花提取物(金银花多酚的含量 298.74 mg/g),自制<sup>[18]</sup>。HepG2 细胞,上海歌凡生物科技有限公司;DMEM 高糖培养基,优级纯,杭州吉诺生物医药技术有限公司;胎牛血清(FBS),优级纯,浙江天杭生物科技股份有限公司;超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒、蛋白定量(BCA)试剂盒,南京建成生物工程研究所;活性氧(ROS)试剂盒,大连美仑生物技术有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.4)、胰蛋白酶,分析纯,北京索莱宝科技有限公司;二甲基亚砜(DMSO),分析纯,天津市化学一厂;二苯基四氮唑溴盐(MTT),分析纯,南京建成生物工程研究所。

246 型二氧化碳培养箱,德国 Memmert 公司;EPOCH2 型全波长酶标仪,美国 Bio Tek 公司;H/T20MM 型台式高速离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;DMi8 型倒置显微镜,德国 Sartorius 公司;KST-08A 型高压灭菌锅,曲阜康尔健医疗科技有限公司;Zeiss 型荧光显微镜,北京荣兴光恒科技有限公司;Zigoo UVA 型固化灯,北京五环通达科技有限公司。

### 1.2 复配物的制备

金银花多酚与红豆越橘乙醇提取物复配物制备采用文献[18]方法。金银花粉碎过 60 目筛,按料液比 1:13.5(g:mL)加入到体积分数为 63%的乙醇水溶液中,超声(功率约 300 W)提取 21 min,浓缩,冻干,得金银花多酚粗提物。NKA-9 大孔树脂柱纯化,体积分数 50%的乙醇水溶液洗脱,浓缩,冻干,得金银花多酚提取物。按料液比 1:20(g:mL)将红豆越橘加入到体积分数为 95%的乙醇水溶液中,高剪切分散乳化机  $1.8 \times 10^4$  r/min 匀浆处理 90 s,抽滤,浓缩,冻干得红豆越橘乙醇提取物。按照质量比(1:1)进行复配,得到相应复配物。

### 1.3 性能测试

#### 1.3.1 复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞保护能力测试

##### 1.3.1.1 UVA 辐照剂量的影响

取对数生长期的 HepG2 细胞,胰蛋白酶消化,完全培养基(DMEM 高糖培养基+体积分数为 10% 的 FBS)调整单细胞悬液密度  $1 \times 10^5$  个/mL,接种于 96 孔板,每孔 200  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C、体积分数 5% 的 CO<sub>2</sub> 恒温培养 24 h,弃掉旧培养基,PBS 冲洗 2 遍,每孔加入等量(200  $\mu$ L) PBS 覆盖细胞。将 96 孔板置于 UVA 辐照灯下进行辐照。实验组设置 6 组,采用不同 UVA 辐照剂量(3.24、6.48、9.72、12.96、16.20、19.44 J/cm<sup>2</sup>)<sup>[19]</sup>;空白组 UVA 辐照时用锡箔纸覆盖。辐照结束后,吸弃 PBS,加入 DMEM 培养基,恒温培养 24 h。然后,每孔加入 20  $\mu$ L 质量浓度 5 g/L 的 MTT 溶液(用 PBS 配制),继续培养 4 h,终止培养,离心处理后小心吸弃孔内培养上清液,每孔加入 150  $\mu$ L DMSO,脱色摇床上振荡 10 min,使结晶物充分溶解,于 490 nm 处测量各组吸光度。根据式(1)计算细胞存活率(%):

$$\text{细胞存活率} / \% = \frac{A_{\text{实验组}}}{A_{\text{空白组}}} \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_{\text{实验组}}$ 为不同 UVA 辐照细胞后在 490 nm 处的吸光度; $A_{\text{空白组}}$ 为用锡箔纸覆盖细胞在 490 nm 处的吸光度。

以细胞存活率最接近 50% 的 UVA 辐照剂量为半致死 UVA 辐照剂量。

##### 1.3.1.2 复配物质量浓度的影响

取适量复配物溶于 DMEM 培养基中,完全溶解后用 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤除菌,然后用 DMEM 培养基稀释至 6 种质量浓度(20、50、100、200、300、400  $\mu$ g/mL)作为实验组,空白组加入 DMEM 培养基。恒温培养 24 h 后弃掉旧培养基,PBS 冲洗 2 遍,加入新鲜的 DMEM 培养基,采用 1.3.1.1 节中 MTT 法于 490 nm 处测量各组吸光度。根据式(1)计算细胞存活率。 $A_{\text{实验组}}$ 为不同复配物处理细胞后在 490 nm 处的吸光度; $A_{\text{空白组}}$ 为不加复配物细胞在 490 nm 处的吸光度。

##### 1.3.1.3 复配物保护能力的测试

将 HepG2 细胞接种于 96 孔板,24 h 后弃掉旧培养基,PBS 冲洗 2 遍,3 个实验组分别 50  $\mu$ g/mL(低质量浓度组)、100  $\mu$ g/mL(中质量浓度组)、200  $\mu$ g/mL(高质量浓度组)复配物的 DMEM 培养基。模型组和空白组加入 DMEM 培养基,继续培养 24 h,弃掉旧培养基,PBS 冲洗 2 遍。底部加入等量 PBS 覆盖细胞,用 1.3.1.1 节中得到的半致死 UVA 辐照剂量辐照实验组和模型组,空白组不进行辐照。辐照结束后,吸弃 PBS,加入 DMEM 培养基,恒温培养 24 h。采用 MTT 法于 490 nm 处测量各组吸光

度。根据式(2)计算细胞存活率(%):

$$\text{细胞存活率} / \% = \frac{A_{\text{实验组/模型组}}}{A_{\text{空白组}}} \times 100 \quad (2)$$

式中: $A_{\text{实验组/模型组}}$ 为实验组或模型组在 490 nm 处的吸光度; $A_{\text{空白组}}$ 为空白组在 490 nm 处的吸光度。

#### 1.3.2 复配物对 UVA 辐照的 HepG2 细胞抗氧化损伤性能测试

##### 1.3.2.1 接种铺板

取对数生长期的 HepG2 细胞,胰蛋白酶消化,完全培养基调整单细胞悬液密度  $1 \times 10^5$  个/mL,接种于 6 孔板,每孔 2 mL。恒温培养 24 h,备用。

##### 1.3.2.2 复配物对抗氧化酶系活力的影响

按照 1.3.2.1 节实验方法将 HepG2 细胞接种于 6 孔板,24 h 后弃掉旧培养基,PBS 冲洗 2 遍,3 个实验组分别加入 50  $\mu$ g/mL(低质量浓度组)、100  $\mu$ g/mL(中质量浓度组)、200  $\mu$ g/mL(高质量浓度组)复配物的 DMEM 培养基,模型组和空白组加入 DMEM 培养基。恒温培养 24 h。弃掉旧培养基,PBS 冲洗 2 遍,底部加入少量 PBS 覆盖细胞,用 1.3.1.1 节中得到的细胞半致死 UVA 辐照剂量辐照实验组和模型组,空白组不进行辐照。辐照结束后,弃掉 PBS,加入 DMEM 培养基,继续培养 24 h。根据 SOD、CAT、GSH-Px 试剂盒说明书进行实验,同时根据 BCA 试剂盒说明书测定蛋白含量。

##### 1.3.2.3 复配物对 MDA 含量的影响

根据 1.3.2.2 节与 MDA 试剂盒说明书进行实验,同时根据 BCA 试剂盒说明书测定蛋白含量。

#### 1.3.3 复配物对 UV 辐照 HepG2 细胞 ROS 含量的影响

根据 ROS 试剂盒说明书,按照体积比 1:1000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA 至终质量浓度为 10  $\mu$ mol/L,得到 DCFH-DA 工作液。吸除细胞培养液,加入 DCFH-DA 工作液充分盖住细胞,避光孵育 30 min。用无血清培养液洗涤细胞 3 次,以充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。收集细胞用荧光显微镜观察。

### 1.4 数据分析

每组实验重复 3 次,结果以“算数平均值 $\pm$ 标准差”表示,采用 Origin 2018 绘图软件绘图,SPSS 26.0 对数据进行统计学分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞的保护能力

#### 2.1.1 UVA 辐照剂量对 HepG2 细胞存活率的影响

图 1 为 UVA 辐照剂量对 HepG2 细胞存活率的影响。

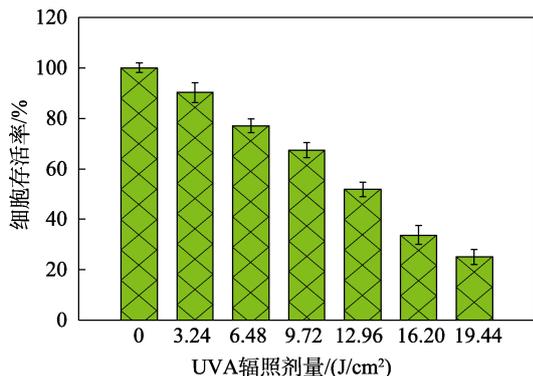


图1 UVA 辐照剂量对 HepG2 细胞存活率的影响

Fig. 1 Effect of UVA irradiation dose on survival rate of HepG2 cells

由图1可知,随着UVA辐照剂量的增加,HepG2细胞存活率显著降低,且表现明显的剂量-效应关系,说明UVA辐照对HepG2细胞的增殖具有抑制作用。当UVA辐照剂量为12.96 J/cm<sup>2</sup>时,HepG2细胞存活率为51.86%,所以选择12.96 J/cm<sup>2</sup>为半数致死UVA辐照剂量。李辰等<sup>[20]</sup>研究表明,在UVA辐照剂量5~30 J/cm<sup>2</sup>范围内,人角质形成细胞(HaCaT)活力随着UVA辐照剂量的增加而降低( $P<0.05$ ),且呈现剂量-效应关系( $R^2=0.982$ ,  $P=0.009$ )。UVA可诱导DNA链发生断裂,引起细胞损伤,从而促进HaCaT细胞凋亡并抑制其存活。陈凤等<sup>[21]</sup>研究发现,中(5 J/cm<sup>2</sup>)、高(10 J/cm<sup>2</sup>)UVA辐射剂量对人体成纤维细胞有明显的光损伤作用,其机制可能与UVA刺激成纤维细胞分泌的炎性细胞因子有关。

### 2.1.2 复配物质量浓度对 HepG2 细胞存活率的影响

图2为复配物质量浓度对HepG2细胞存活率的影响。

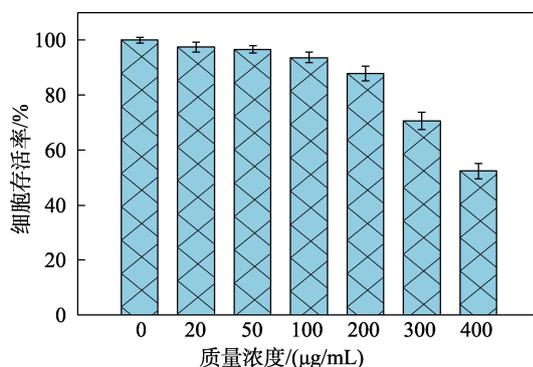


图2 复配物质量浓度对 HepG2 细胞存活率的影响

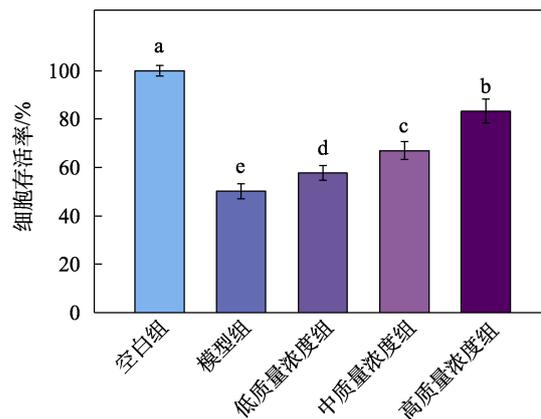
Fig. 2 Effect of compound mass concentration on survival rate of HepG2 cells

由图2可知,随着复配物质量浓度的增加,HepG2细胞存活率降低,呈剂量依赖性。当复配物质量浓度为200 µg/mL时,HepG2细胞存活率为

87.89%, >85%。因此选取50、100、200 µg/mL分别为低、中、高剂量组进行后续实验。朱良玉<sup>[22]</sup>研究发现,红豆越橘多酚质量浓度为80 µg/mL时,对HepG2细胞增殖的抑制率可达78.34%±3.55%,半数抑制质量浓度为22.62 µg/mL。

### 2.1.3 复配物的保护能力分析

图3为不同质量浓度复配物对UVA辐照HepG2细胞的保护能力。



不同字母代表组间差异性显著 ( $P<0.05$ ), 下同

图3 不同质量浓度复配物对UVA辐照HepG2细胞的防护能力

Fig. 3 Protective ability of compound with different mass concentrations for HepG2 cells irradiated by UVA

由图3可知,HepG2细胞被半致死UVA辐照剂量(12.96 J/cm<sup>2</sup>)辐照后,模型组和加药实验组细胞存活率较空白组明显下降。在50~200 µg/mL的复配物质量浓度范围内,各实验组的细胞存活率均明显高于模型组,且呈剂量依赖性。复配物质量浓度为200 µg/mL时,细胞存活率从模型组的50.10%±3.13%提高到83.24%±3.88%,较模型组增加了66.15%,低、中质量浓度复配物的加入使HepG2细胞存活率分别增加了15.26%和33.59%。结果表明,复配物对UVA辐照的HepG2细胞有明显的保护作用,且复配物质量浓度越高,保护能力越强。朱良玉<sup>[22]</sup>发现,红豆越橘多酚能够抑制HepG2细胞的增殖、迁移和侵袭,促进HepG2细胞的凋亡。SVOBODOVÁ等<sup>[23]</sup>对蓝靛果忍冬酚类物质的研究也有类似发现。

## 2.2 复配物抗UVA氧化HepG2细胞损伤性能分析

### 2.2.1 SOD活力分析

SOD是细胞抗氧化酶系中的重要组成部分,在机体维护氧化应激动态平衡过程中发挥着重要作用。SOD是生物体内天然的氧自由基清除剂,是抵御氧化应激刺激的第一道防线,其作用机理主要是清除对机体有害的超氧自由基( $\cdot\text{O}_2^-$ ),其活力可以间接反映机体清除超氧自由基的能力。超氧歧化酶

对治疗由超氧自由基引起的疾病，如氧中毒、急性炎症、辐照病等有独特疗效。图 4A 为不同质量浓度复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞所致氧化损伤细胞 SOD 活力的影响。

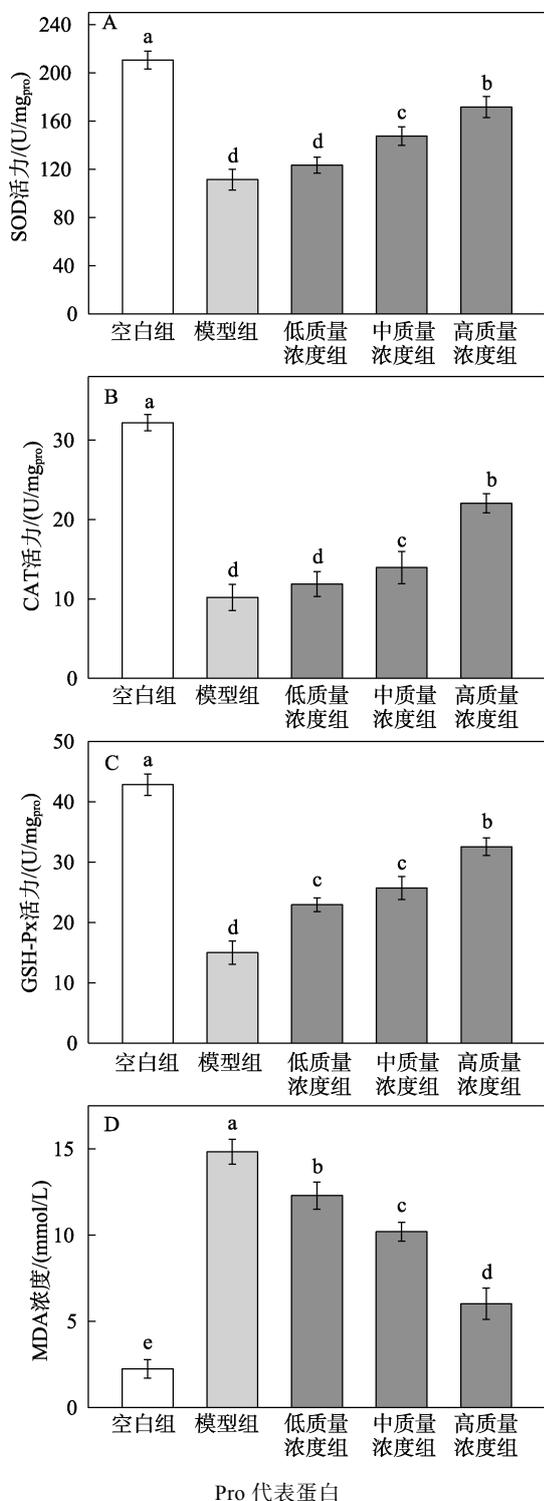


图 4 不同质量浓度复配物对 UVA 氧化损伤 HepG2 细胞抗氧化酶系活力的影响

Fig. 4 Effect of different compound mass concentrations on activity of antioxidant enzymes in HepG2 cells induced by UVA oxidative damage

由图 4A 可知，与空白组相比，模型组 HepG2 细胞被半致死 UVA 辐照剂量 (12.96 J/cm<sup>2</sup>) 辐照后 SOD 活力大幅下降 ( $P < 0.05$ )，表明该 UVA 辐照剂量能破坏细胞的氧化调节系统，降低 SOD 的活力，同时也证明本实验氧化应激细胞模型成功构建。与模型组相比，不同质量浓度复配物对 HepG2 细胞进行预处理后，可以显著抑制 UVA 辐照导致的细胞 SOD 活力的降低 ( $P < 0.05$ )，低、中、高质量浓度复配物的加入使 SOD 活力分别提高了 10.72%、32.43%、54.08%，且呈剂量-效应关系，表明复配物能显著缓解 UVA 辐照所导致的 SOD 活力的降低，进而发挥抗氧化功能。蔡菲等<sup>[24]</sup>研究发现，红豆越橘发酵前 SOD 酶活力为 1488 U/mL，按最佳工艺条件发酵后，SOD 酶活力可达 3624 U/mL。韩强等<sup>[25]</sup>研究发现，金银花黄芪提取物能使蛋鸡中血清谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶水平显著提高 ( $P < 0.05$ )，总抗氧化能力也极显著提高 ( $P < 0.01$ )。

### 2.2.2 CAT 活力分析

过氧化氢是机体代谢过程中产生的废物，能够对机体造成损害，CAT 是 CAT 体系的标志性酶，可催化过氧化氢分解成氧和水，防御氧毒性，保护机体免受氧化损伤。图 4B 为不同质量浓度复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞所致氧化损伤细胞 CAT 活力的影响。

由图 4B 可知，与空白组相比，模型组 HepG2 细胞被半致死 UVA 辐照剂量 (12.96 J/cm<sup>2</sup>) 辐照后 CAT 活力大幅下降 ( $P < 0.05$ )，表明该 UVA 辐照剂量导致了 HepG2 细胞严重的氧化损伤，破坏了细胞的氧化调节动态平衡和细胞内 CAT 活力。与模型组相比，不同质量浓度复配物对 HepG2 细胞进行预处理后，可以显著抑制 UVA 辐照导致的细胞 CAT 活力的降低 ( $P < 0.05$ )，低、中、高质量浓度复配物的加入使 CAT 活力分别提高了 16.48%、36.90%、116.20%，且随着复配物质量浓度的提高，细胞 CAT 活力逐渐增大，逐渐接近空白组。结果表明，复配物可抑制 UVA 辐照所引起的 CAT 活力的下降，保护细胞减少氧化损伤的伤害。

### 2.2.3 GSH-Px 活力分析

GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶，能催化 GSH 将过氧化物还原成无毒化合物，从而保护机体免受过氧化物的损伤。GSH-Px 含量的高低反映了细胞中自由基数量的多少。图 4C 为不同质量浓度复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞所致氧化损伤细胞 GSH-Px 活力的影响。

由图 4C 可知，与空白组相比，模型组 HepG2 细胞被半致死 UVA 辐照剂量 (12.96 J/cm<sup>2</sup>) 辐照后 CAT 活力大幅下降 ( $P < 0.05$ )，表明该 UVA 辐照剂

量对 HepG2 细胞造成了氧化损伤, 细胞内 GSH-Px 活力被破坏。与模型组相比, 不同质量浓度复配物对 HepG2 细胞进行预处理后, 可以显著抑制 UVA 辐照导致的细胞 GSH-Px 活力的降低 ( $P < 0.05$ ), 低、中、高质量浓度的复配物的加入使 GSH-Px 活力分别提高了 52.97%、71.44%、117.14%, 说明复配物可以改善 UVA 辐照所造成的 GSH-Px 活力下降, 从而有利于催化 GSH 将过氧化物还原成无毒的羟基化合物, 减轻机体受到的氧化损伤。THIESEN 等<sup>[26]</sup>研究红豆越橘花色苷对被动吸烟防治效果时也有类似发现。

#### 2.2.4 MDA 浓度分析

机体具有一定的抵抗外界氧化应激刺激、维持机体氧化应激动态平衡的能力, 当外界氧化应激程度超过机体的抵御能力时, 氧自由基会首先与细胞膜上的不饱和脂肪酸反应, 产生的代谢产物 MDA 会对机体产生毒性, MDA 的水平直接反映了细胞膜受到氧化损伤的程度。图 4D 为不同质量浓度复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞所致氧化损伤细胞 MDA 浓度的影响。

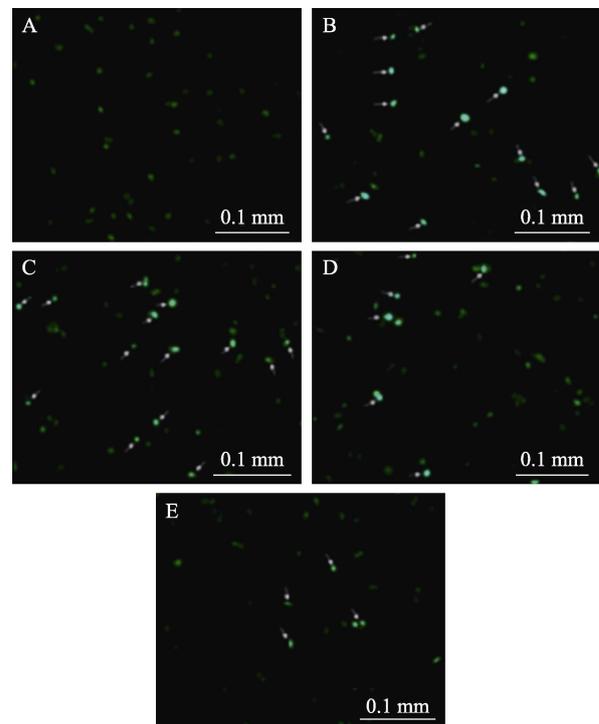
从图 4D 可知, 与空白组相比, 模型组 HepG2 细胞被半致死 UVA 辐照剂量 ( $12.96 \text{ J/cm}^2$ ) 辐照后 MDA 浓度显著升高 ( $P < 0.05$ ), 表明模型组细胞膜被严重损伤; 与模型组相比, 不同质量浓度复配物对 HepG2 细胞进行预处理后, 可以显著抑制 UVA 辐照导致的细胞 MDA 浓度的升高 ( $P < 0.05$ ), 且有明显的剂量依赖性, 表明复配物可显著降低 UVA 辐照所导致的 MDA 水平的上升, 能对抗 ROS 引发的脂质氧化作用, 减轻氧化应激损伤。THIESEN 等<sup>[26]</sup>研究发现, 当 UVA 作用到人体皮肤真皮层时, 会降低 SOD 和 GSH-Px 活力, 增加 MDA 浓度。

与模型组相比, 经复配物低、中、高剂量组预处理后的 HepG2 细胞分别比模型组的细胞存活率增加了 15.26%、33.59%、66.14%, SOD 活力增加了 10.72%、32.43%、54.08%, CAT 活力增加了 16.48%、36.90%、116.20%, GSH-Px 活力增加了 52.97%、71.44%、117.14%, MDA 浓度下降了 17.12%、31.22%、59.41%, ROS 表达水平显著下降。综上所述, 复配物能减轻 UVA 辐照 HepG2 细胞所致氧化损伤细胞存活率降低和 SOD、CAT 和 GSH-Px 等酶类水平下降, 降低 MDA 浓度。

#### 2.3 复配物对 UV 辐照 HepG2 细胞 ROS 含量的影响

机体细胞在外界环境压力的刺激下 ROS 水平会急剧升高, 过度暴露在紫外线辐射下会增加 ROS 的形成, 破坏皮肤细胞中的氧化还原平衡。较高浓度的 ROS 会损害构成皮肤的主要蛋白质成分, 调节细胞外基质的合成和代谢, 诱导炎症, 介导细胞信

号通路, 抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 甚至导致细胞死亡<sup>[27]</sup>。图 5 为不同质量浓度复配物对 UVA 氧化损伤 HepG2 细胞 ROS 含量的影响。



A—空白组; B—模型组; C—低质量浓度组; D—中质量浓度组; E—高质量浓度组

图 5 不同质量浓度复配物对 UVA 氧化损伤 HepG2 细胞 ROS 含量的影响

Fig. 5 Effects of different compound mass concentrations on ROS content of UVA oxidative damage HepG2 cells

由图 5 可知, 空白组中 HepG2 细胞几乎没有观察到高荧光的 ROS 表达; 模型组观察到较多细胞含有高荧光的 ROS, 与空白组相比荧光水平显著升高。与模型组相比, 不同质量浓度复配物对 HepG2 细胞进行预处理后, 可观察到表达出较高荧光的细胞数量变少、荧光强度降低, 表明细胞内 ROS 的表达水平下降, 且随着质量浓度的增加而下降。说明经复配物预处理后的 HepG2 细胞, ROS 的生成被抑制。

### 3 结论

通过建立 UVA 诱导 HepG2 细胞的氧化损伤模型, 考察了金银花多酚与红豆越橘乙醇提取物质量比为 1:1 的复配物对 UVA 辐照 HepG2 细胞的保护作用, 分析了抗氧化酶系和 ROS 含量的变化。复配物可以缓解 UVA 辐照引发的 HepG2 细胞的氧化应激损伤, 提高对外界氧化应激的调控能力。

本文为抗氧化、抗辐射食品、药物、化妆品的开发提供了理论依据, 对营养、健康以及民生都具

有一定的理论意义和实际应用价值。

### 参考文献:

- [1] HARWANSH R K, DESHMUKH R. Recent insight into UV-induced oxidative stress and role of herbal bioactives in the management of skin aging[J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2024, 25(1): 16-41.
- [2] LI L Y, CHONG L, HUANG T, *et al.* Natural products and extracts from plants as natural UV filters for sunscreens: A review[J]. *Animal Models and Experimental Medicine*, 2023, 6(3): 183-195.
- [3] CHOI S I, JUNG T D, CHO B Y, *et al.* Anti-photoaging effect of fermented agricultural by-products on ultraviolet B-irradiated hairless mouse skin[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 44(2): 559-568.
- [4] LU Y S (逯岩松). Investigation of the protective effect and mechanism of paeoniflorin against photodamage induced by UVA radiation in skin[D]. Shenyang: China Medical University (中国医科大学), 2020.
- [5] LIU H (刘慧), LI L (李莉), LI R Q (李若绮), *et al.* Detection results of 15 sunscreens including phenylbenzimidazole sulfonic acid in commercially available sunscreen cosmetics in Gansu province[J]. *Fragrance and Fragrance Cosmetics (香料香精化妆品)*, 2023(1): 47-51, 57.
- [6] XU H T, FU X H, FENG W H, *et al.* Photo-degradation mechanism and pathway for tetracycline in simulated seawater under irradiation of visible light[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(6): 3260-3269.
- [7] PEI J Y, PANG K, WANG M W, *et al.* Research progress on toxicological effects of organic ultraviolet absorbers on coral[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2023, 18(1): 51-67.
- [8] YUAN S W, HUANG J Y, JIANG X, *et al.* Environmental fate and toxicity of sunscreen-derived inorganic ultraviolet filters in aquatic environments: A review[J]. *Nanomaterials*, 2022, 12(4): 1-19.
- [9] WU Y (武颖), LI H Y (李好祥), GAO J (高洁), *et al.* Research and application progress on the structure-activity relationship of lignin antioxidant activity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(5): 929-940.
- [10] LU Q (卢琦), ZOU L F (邹林峰), GAO Y Z (高远真), *et al.* The protective effect and mechanism of liquiritigenin on UVA-induced photoaging[J]. *Chinese Journal of New Drugs (中国新药杂志)*, 2022, 31(20): 2056-2066.
- [11] GENDRISCH F, ESSER P R, SCHEMPP C M, *et al.* Luteolin as a modulator of skin aging and inflammation[J]. *BioFactors*, 2021, 47(2): 170-180.
- [12] WANG G L (王桂林), XU W F (徐未芳), LIU L (刘乐), *et al.* The content and antioxidant activities of honeysuckle polyphenol extracted by different solvent[J]. *Food Research and Development (食品研究与开发)*, 2020, 41(5): 104-107.
- [13] FAN Z L, LI L, BAI X L, *et al.* Extraction optimization, antioxidant activity, and tyrosinase inhibitory capacity of polyphenols from *Lonicera japonica*[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(5): 1786-1794.
- [14] JEONG S H, PARK M Y, BHOSALE P B, *et al.* Potential antioxidant and anti-inflammatory effects of *Lonicera japonica* and *Citri Reticulatae Pericarpium* polyphenolic extract (LCPE)[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(8): 1582.
- [15] FAN Z L (樊梓鸾), WANG Z Y (王振宇). Antioxidant and antiproliferative activities of lingonberries *in vitro*[J]. *Modern Food Science and Technology (现代食品科技)*, 2010, 26(10): 1081-1086.
- [16] CHEN S (陈沙), ZHANG F Y (张凤英), LUO Q S (罗秋水), *et al.* A study on the anti UV and microwave radiation effects of cranberry[J]. *Journal of Chinese Food Science (中国食品学报)*, 2012, 12(1): 124-129.
- [17] HUANG J N (黄佳楠), GUAN F Q (管福琴), LI L W (李林蔚), *et al.* Preliminary study on inhibitory effect of anthocyanins from fruit extracts of *Lycium ruthenicum* on tyrosinase activity[J]. *Journal of Plant Resources and Environment (植物资源与环境学报)*, 2020, 29(3): 75-77.
- [18] WANG T T (王婷婷), ZHANG D (张頔), WANG Y J (王宇加), *et al.* Synergistic skin care of *Lonicera japonica* polyphenols and ethanol extract of *Vaccinium vitis-idaea* L.[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(3): 627-637, 672.
- [19] LI H P (李华平), CHEN Q (陈荃), LIANG B H (梁碧华), *et al.* Protective effect of *Pterostilbene* on acute photoinjury of human fibroblasts induced by longwave ultraviolet radiation[J]. *Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery (中国激光医学杂志)*, 2018, 27(2): 104-105.
- [20] LI C (李辰), QI X S (齐雪松), LI N (李宁), *et al.* UVA ultraviolet radiation on cellular injury to human keratinocytes[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis (癌变·畸变·突变)*, 2016, 28(5): 364-368.
- [21] CHEN H (陈凰), WU Y (吴严), XU X G (徐学刚), *et al.* Effects of ultraviolet a radiation on human fibroblasts[J]. *Chinese Journal of Immunology (中国免疫学杂志)*, 2013, 29(7): 713-717.
- [22] ZHU L Y (朱良玉). Isolation and identification of Lingonberry polyphenols and their inhibitory mechanism on the proliferation of HepG2 cells[D]. Harbin: Northeast Forestry University (东北林业大学), 2022.
- [23] SVOBODOVÁ A, RAMBOUSKOVÁ J, WALTEROVÁ D, *et al.* Protective effects of phenolic fraction of blue honeysuckle fruits against UVA-induced damage to human keratinocytes[J]. *Archives of Dermatological Research*, 2008, 300(5): 225-233.
- [24] QI F (蔡菲), SUN Y (孙妍), WANG J (王静), *et al.* Optimization of fermentation process of lingonberry fruit ferment and study on its antioxidant activity[J]. *Food and Drug (食品与药品)*, 2021, 23(6): 488-492.
- [25] HAN Q (韩强), YAN C C (闫聪聪), ZHANG X D (张小东), *et al.* Effects of *Flos lonicerae* combined with baikal skullcap extracts on production performance, egg quality, antioxidant functions and lipid metabolism of laying hens during the late laying period[J]. *Feed Industry (饲料工业)*, 2023, 44(11): 48-53.
- [26] THIESEN L C, BACCARIN T, FISCHER-MULLER A F, *et al.* Photochemoprotective effects against UVA and UVB irradiation and photosafety assessment of *Litchi chinensis* leaves extract[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017, 167: 200-207.
- [27] HARWANSH R K, DESHMUKH R. Recent insight into UV-induced oxidative stress and role of herbal bioactives in the management of skin aging[J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2024, 25(1): 16-41.