

# 桦褐孔菌总三萜类化合物对小鼠肝损伤的保护作用

鞠春梅<sup>1</sup>, 杜延佳<sup>2</sup>, 梁新合<sup>2</sup>, 吴孟雅<sup>3</sup>, 张辉<sup>3\*</sup>, 李艳杰<sup>1\*</sup>

(1. 长春中医药大学药学院, 吉林长春 130117) (2. 东北亚生物科技有限公司, 吉林长春 130000)

(3. 长春中医药大学人参科学研究院, 吉林长春 130117)

**摘要:** 为研究桦褐孔菌中总三萜类化合物(TIO)对对乙酰氨基酚(APAP)致小鼠肝损伤模型的保护作用及机制, 该研究将SPF级ICR雄性小鼠48只, 分为空白对照组、模型组、水飞蓟素组(50 mg/kg)、TIO低、中、高剂量组(15 mg/kg、30 mg/kg、60 mg/kg), 连续给药7 d, 末次给药后, 除空白组小鼠外均一次性腹腔注射300 mg/kg APAP造肝损伤模型。测定小鼠体内丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性、还原型谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)含量。同时取肝脏进行苏木精-伊红(HE)染色和Hoechst 33258染色, 观察小鼠肝脏病理学改变。结果表明, 与模型组比较, TIO高剂量干预组降低AST、ALT含量至8.38 U/L、11.13 U/L, 降低MDA含量至20.71 pmol/(mg pro), 增加SOD、GSH水平至628.39 U/(mg pro)、126.28 U/(mg pro)。HE染色后, TIO中、高剂量干预与水飞蓟素组肝小叶结构基本完整清晰, 肝细胞损伤程度有较大修复。Hoechst 33258染色后, TIO干预组凋亡肝细胞数量明显减少, 且荧光团颜色减弱。以上结果说明桦褐孔菌中总三萜类化合物对APAP所致肝损伤小鼠有一定的保护作用。其机制可能与减轻氧化应激和抑制凋亡有关。

**关键词:** 桦褐孔菌; 总三萜类; APAP肝损伤

文章编号: 1673-9078(2021)09-31-36

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.1149

## Protective Effects of Total Triterpenoids in *Inonotus obliquus* against Liver

### Injury in Mice

JU Chun-mei<sup>1</sup>, DU Yan-jia<sup>2</sup>, LIANG Xin-he<sup>2</sup>, WU Meng-ya<sup>3</sup>, ZHANG Hui<sup>3\*</sup>, LI Yan-jie<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

(2. Northeast Asia Biotechnology Co. Ltd., Changchun 130000, China)

(3. Jinlin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**Abstract:** To study the action mechanisms of total triterpenoids (TIO) in *Inonotus obliquus* on acetaminophen (APAP)-induced liver injury in mice, a total of 48 SPF-grade ICR male mice were divided into six groups with seven-day administration as follows: blank control; model; silymarin-treated (50 mg/kg); and TIO-treated low, medium, and high dose (15 mg/kg, 30 mg/kg, and 60 mg/kg, respectively). After the last administration, all groups, except the blank group, were subjected to a one-time abdominal injection of 300 mg/kg APAP to establish the liver injury models. Subsequently, the activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and superoxide dismutase were determined, and the contents of reduced glutathione and malondialdehyde were measured. Furthermore, the liver was processed for hematoxylin-eosin and Hoechst 33258 staining to observe pathological changes. The high dose of TIO reduced the aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase contents to 8.38 U/L and 11.13 U/L, respectively, and that of malondialdehyde to 20.71 pmol/(mg pro). The superoxide dismutase and reduced glutathione levels were increased to 628.39 U/(mg pro) and 126.28 U/(mg pro), respectively.

引文格式:

鞠春梅, 杜延佳, 梁新合, 等. 桦褐孔菌总三萜类化合物对小鼠肝损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 31-36

JU Chun-mei, DU Yan-jia, LIANG Xin-he, et al. Protective effects of total triterpenoids in *Inonotus obliquus* against liver injury in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 31-36

收稿日期: 2020-12-11

基金项目: 吉林省科技发展重点成果转化项目(2016030710YY)

作者简介: 鞠春梅(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物设计与新药开发, E-mail: 1181821400@qq.com

通讯作者: 张辉(1958-), 男, 教授, 研究方向: 中药化学及有效成分研究开发, E-mail: zhanghui-8080@163.com; 共同通讯作者: 李艳杰(1976-), 女, 副教授, 研究方向: 天然活性产物的结构修饰, E-mail: 76226774@qq.com

Hematoxylin-eosin staining revealed the structure of the liver lobules in the TIO-treated medium- and high-dose and the silymarin-treated groups to be complete and clear, and the liver cell injury to be effectively repaired. Hoechst 33258 staining showed that the numbers of apoptotic liver cells in the TIO-treated groups were significantly reduced, and the fluorophore color was weakened. The above results indicate that the total triterpenoids in *Inonotus obliquus* provide marked protection against APAP-induced liver injury in mice. The mechanism may be related to reduction in oxidative stress and inhibition of apoptosis.

**Key words:** *Inonotus obliquus*; total triterpenoids; acetaminophen-induced liver injury

肝脏作为人体最大的器官,主要负责清除许多毒物、化学物质和药物。药物性肝损伤是指由各种处方药或非处方药诱发的肝损伤,其中包括小分子化学药物、生物制剂、中药、天然药物、保健品和膳食补充剂等<sup>[1]</sup>。其中对乙酰氨基酚(APAP)是一种传统的非甾体解热镇痛药物,APAP作为日常中常见的药物,作用相对安全,并且在治疗剂量范围内几乎没有副作用,广泛用于治疗各种疼痛。然而在过去的几年中,临床数据监测表明,过量服用APAP可出现肝毒性、肾毒性和急性肝衰竭<sup>[2]</sup>,高剂量的APAP在细胞色素P450酶系统(即cyp2e1和cyp3a4同工酶)的氧化作用下生成N-乙酰-P-苯丙醌亚胺(NAPQI),NAPQI是一种高毒性代谢产物,可以通过大量结合谷胱甘肽,并耗尽谷胱甘肽后,与肝细胞内蛋白质结合,形成蛋白质结合物,引起细胞内氧化应激,线粒体损伤、DNA损伤,最终导致肝坏死<sup>[3-5]</sup>。

桦褐孔菌被认定是一种无毒害作用的可食用真菌,在我国的黑龙江、吉林两省资源较丰富,其作为食用真菌药物的应用在俄罗斯已经通过相关部门的官方批准,并获得了美国FDA的认证<sup>[6]</sup>。桦褐孔菌具有抗炎症、抗肿瘤、抗真菌、抗病毒、提高机体免疫力、保肝和抗氧化等活性<sup>[7]</sup>。因具有多种生物活性,被认为是一种珍贵的、具有极好疗效的药物,也是具有发展前途和开发价值的经济适用性药食同源植物。桦褐孔菌中主要含有多糖、三萜、多酚等成分。大量研究显示,三萜类具有抗氧化、抗癌、抗病毒,抗炎和防止糖尿病<sup>[8]</sup>等功能。王文娟等<sup>[9]</sup>研究发现桦褐孔菌提取物能改变肿瘤细胞增殖周期使其滞留于G2期从而显著抑制肝癌细胞HepG2的增值,对肝癌细胞有抑制作用,说明桦褐孔菌对肝细胞有一定的保护作用。但桦褐孔菌中三萜类是否能够通过抗氧化应激对APAP引起的肝损伤有保护效果未见报道。本文以桦褐孔菌子实体为原料,经过回流提取、硅胶柱分离纯化得到桦褐孔菌总三萜(Triterpenoids of *Inonotus obliquus*, TIO),通过APAP急性肝损伤模型实验,探究TIO的保肝作用,为桦褐孔菌三萜类化合物的进一步研究提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试品 TIO 由羊毛甾醇(20.00%)、桦褐孔菌醇(20.63%)、麦角甾醇(24.19%)、白桦脂醇(6.45%)、 $3\beta$ -羟基羊毛甾-8,24-二烯-21-醛(20.76%)组成,由实验室制备;SPF级ICR雄性小鼠,体重22~25g,购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司,合格证号:SCX(吉)2016-0004。

### 1.2 主要试剂

对乙酰氨基酚(APAP),购于美国Sigma公司;水飞蓟素,购自于上海瀚鸿科技股份有限公司;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性、还原型谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)测试盒,苏木素-伊红染色液(HE),Hoechst 33258染色试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;生理盐水购自长春豪邦药业公司。

### 1.3 主要仪器

BP211D型十万分之一电子天平,北京赛多利斯天平有限公司;Elx800型酶标仪,美国Bio-Rad公司;5430R冷冻离心机,美国LUNAR公司;YZ-875超净工作台,苏州净化设备厂;KQ5200型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;FSH-2A可调高速匀浆机,常州金坛良友仪器有限公司。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 桦褐孔菌总三萜(TIO)制备

取桦褐孔菌干燥子实体粗粉适量,经二氯甲烷水浴回流提取、除杂、减压回收溶剂,浓缩,挥干溶剂得到干膏。干法上样,采用硅胶柱色谱分离,以石油醚:乙酸乙酯=8:2等度洗脱,点板合瓶分成Fr1-Fr7组分,组分Fr2采用石油醚:乙酸乙酯=9:1~8:2梯度洗脱,点板合瓶,合并出5个组分为Fr 2-1~Fr 2-5,同时纯化得到 $3\beta$ -羟基羊毛甾-8,24-二烯-21-醛、桦褐孔菌醇和白

桦脂醇。对 Fr5 组分采用中压柱色谱分离,以石油醚:乙酸乙酯=6:4 等度洗脱,得到 5 个组分为 Fr 5-1~Fr 5-5,同时纯化得到羊毛甾醇;对组分 Fr 5-3 正相硅胶柱色谱层析,以石油醚:乙酸乙酯=8:2~6:4 梯度洗脱,得到 3 个组分,同时纯化得到麦角甾醇。将五个成分按一定配比成 TIO,用 0.5%羧甲基纤维素钠混悬至规定浓度,待小鼠灌胃使用。

#### 1.4.2 动物分组及处理

将小鼠随机分成 6 组,每组 8 只。表 1 为动物实验设计,空白组与模型组小鼠分别给予 0.5%羧甲基纤维素钠溶液,水飞蓟素组与 TIO 干预组小鼠分别按照剂量 50 mg/kg、15 mg/kg、30 mg/kg 和 60 mg/kg 连续 7 d 灌胃给药,末次给药后,空白组小鼠注射 0.9%的生理盐水,除空白组小鼠外均一次性腹腔注射 300 mg/kg APAP 制造肝损伤模型。24 h 后小鼠眼球取血,血液室温凝结 1 h 后,4000 r/min 离心 15 min,留取上清血清指标检测。切取一部分肝脏组织溶于 0.9%氯化钠中制成肝匀浆用于氧化应激水平检测,另取相同部位的肝组织固定在 4%多聚甲醛中,用于肝组织切片观察病理变化,其余部分立即冻存在-80 °C 冰箱。

表 1 动物实验设计

Table 1 Animal experiment design

分组	药物类型
空白组	羧甲基纤维素钠
模型组	300 mg/kg
水飞蓟素组	50 mg/kg
TIO 低剂量组	15 mg/kg
TIO 中剂量组	30 mg/kg
TIO 高剂量组	60 mg/kg

#### 1.4.3 免疫器官指数检测

取小鼠肝脏和脾脏称重记录,计算脏器指数。肝脏(脾脏)指数=肝脏(脾脏)质量/体质量。

#### 1.4.4 血清指标检测

小鼠进行眼球取血,静置离心后留取上清液,按

表 2 桦褐孔菌三萜对小鼠体重与器官指数的影响

Table 2 Effects of TIO on body weights and organ indices in mice (x±s, n=8)

组别	剂量/(mg/kg)	初始体重/g	最终体重/g	肝指数	脾指数
空白组	-	19.13±0.77	27.71±1.57	62.52±2.68*	4.80±0.15*
模型组	300	19.12±0.72	26.32±2.37	72.37±2.69	6.56±1.47
水飞蓟素组	50	19.06±0.61	26.61±2.90	63.86±3.27*	5.16±0.57*
TIO 低剂量组	15	19.06±0.59	26.09±1.9	68.49±3.35*	6.46±0.96
TIO 中剂量组	30	19.16±0.57	26.80±2.17	67.32±6.78*	5.51±0.51*
TIO 高剂量组	60	19.48±0.55	26.37±3.35	64.82±2.95*	5.43±0.59*

注:“\*”表示与模型组相比较有显著差异( $p<0.05$ )。

照试剂盒的操作说明测定检测 ALT、AST 酶活力。

#### 1.4.5 氧化应激指标检测

取-80 °C 冻存的小鼠肝组织,置于冰上解冻后,加入生理盐水,制备匀浆,留取上清液,按照 SOD、GSH 和 MDA 试剂盒的操作说明书测定相关指标。

#### 1.4.6 HE 染色检测肝组织病变

将肝组织浸入 4%多聚甲醛溶液,24 h 后修整,石蜡包埋,切成 5 μm 切片,脱蜡至水,按 HE 染色步骤进行染色,光学显微镜观察肝组织病理变化。

#### 1.4.7 Hoechst 33258 染色检测肝细胞凋亡

从每组中随机选择三个肝组织,切成 5 μm 切片,按 Hoechst 33258 染色步骤进行染色。静置 3~5 min 后用 PBS 洗涤三次。用荧光淬灭封片液封片,避光烘干后于荧光显微镜下观察细胞核凋亡情况。

#### 1.4.8 统计学处理

采用单因素方差分析(ANOVA)对数据进行分析,使用 Graphpadprism 5.0 创建结果数据图表。 $p<0.01$  或  $p<0.05$ ,具有显著性,被认为具有统计意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 对小鼠体重和器官指数的影响

动物脏器重量、脏器指数作为动物实验中常用的重要基础数据,一定程度上可以反映药物对脏器的影响或损伤程度<sup>[10]</sup>。如表 2 所示,各组小鼠的初始体重差异不明显。给药一周后,模型组小鼠的肝脏指数为 72.37、脾脏指数 6.56,与空白组肝指数 62.52、脾脏指数 4.80 相比有明显差异( $p<0.05$ ),说明 APAP 能够使小鼠发生肝、脾肿胀现象。与模型组相比,加入 TIO 干预与水飞蓟素治疗后可以降低小鼠肝脏和脾脏指数。表明不同质量浓度 TIO 对小鼠 APAP 急性肝损伤均具有一定疗效。因此选择 15、30、60 mg/kg 作为 TIO 低、中、高剂量进行干预治疗。

表 3 血清生化指标结果

Table 3 Serum biochemical index results

血清生化指标	空白组	模型组	水飞蓟素组	TIO 低剂量组	TIO 中剂量组	TIO 高剂量组
ALT/(U/L)	5.66±0.79**	13.54±0.82	6.88±2.17	11.98±1.17	9.64±0.54**	8.38±0.85**
AST/(U/L)	7.62±0.86**	16.39±1.01	9.82±0.69	13.67±0.71	11.74±0.99**	11.13±0.98**

注：“\*\*”表示与模型组相比较有极显著性差异 ( $p<0.01$ )。

表 4 氧化应激指标结果

Table 4 Oxidative stress index results

氧化指标	空白组	模型组	水飞蓟素组	TIO 低剂量组	TIO 中剂量组	TIO 高剂量组
MDA/( $\text{pmol}\cdot\text{mg}^{-1}\text{ pro}$ )	16.39±0.72**	34.90±1.37	20.83±1.16	30.31±0.78	20.71±1.51**	22.15±12.08**
GSH/( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{ pro}$ )	147.44±6.83**	93.90±4.94	133.93±4.68	105.81±6.57	112.35±6.05	126.28±6.58*
SOD/( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{ pro}$ )	636.31±36.67**	510.62±26.73	600.51±9.57	559.57±11.33	605.25±6.44*	628.39±23.51**

注：“\*”表示与模型组相比较有显著性差异 ( $p<0.05$ )；“\*\*”表示与模型组相比较有极显著性差异 ( $p<0.01$ )。

## 2.2 TIO 对小鼠血清生化指标的影响及氧化应激指标的影响

血清中 ALT、AST 属于药物性肝损伤的生物标志物<sup>[11,12]</sup>, AST 和 ALT 是检测肝功能最重要、最敏感的指标,其活性的高低直接反映了肝脏受损的程度<sup>[13]</sup>。正常状态下 ALT 和 AST 存在于肝细胞浆中,当过量服用 APAP 后,当体内的毒性产物不能及时排除体外,与肝组织内的蛋白质结合,引起肝细胞受损,AST 和 ALT 会从肝脏渗漏到细胞外间隙血液中,从而导致二者血清浓度急剧升高。表 3 所示,空白组小鼠血清 ALT 和 AST 分别是 5.66 U/L、7.62 U/L,而模型组小鼠血清中的含量显著上升到 13.54 U/L、16.39 U/L,说明小鼠 APAP 型肝损伤造模成功。水飞蓟素组和 TIO 干预组小鼠血清 ALT 和 AST 活性与模型组相比均降低,且 TIO 高剂量组效果最好,显著降低血清中 ALT 和 AST 活力至 8.38 U/L 和 11.13 U/L,最高降低了 47.56%,说明 TIO 能够减轻或阻断由过氧化引起的肝细胞膜损伤导致的肝细胞坏死,从而达到降低 ALT 和 AST 效果。

氧化应激也是药物引起肝毒性的最常见原因<sup>[14,15]</sup>。在 APAP 过量时,大量的 NAPQI 产生会耗尽肝脏中主要产生的 GSH<sup>[16]</sup>,当 GSH 消耗殆尽时肝脏失去清除自由基作用,肝脏新陈代谢受到影响。所以 GSH 的含量直接反映了自由基损耗细胞的程度<sup>[17]</sup>。MDA 是一种膜脂过氧化物的产物<sup>[18,19]</sup>,通过测定 MDA 的含量可以了解膜脂过氧化程度,可以间接测定膜系统受损程度。SOD 是保护活性氧反应的重要的酶,可以反映机体过氧化损伤程度<sup>[20]</sup>。通过测定小鼠肝组织中 SOD、GSH 和 MDA 的活性,进而初步确定药物是否具有肝保护作用。表 4 可见,模型组小鼠肝脏 SOD 活性为 510.62

U/(mg pro)、GSH 活性为 93.90 U/(mg pro); TIO 干预组相比于模型组, SOD、GSH 活性均显著升高,且 TIO 高剂量组 SOD 活性效果最好,其活性升高为 628.39 U/(mg pro),最高升高了 49.34%。与模型组相比, TIO 干预组与水飞蓟素组 MDA 含量均显著降低,且 TIO 中剂量干预组效果最好,减少至 20.71 pmol/(mg pro),最高降低了 72.23%。说明 TIO 能够通过增强 SOD 及 GSH 的活性,减少细胞膜脂质过氧化产物 MDA 的含量,促使肝细胞的抗氧化能力增强,从而抵御脂质过氧化,降低肝细胞受损程度,达到保肝护肝的目的。

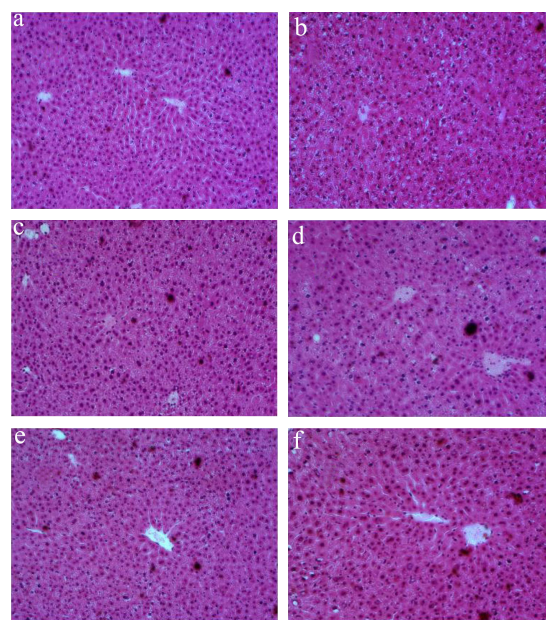


图 1 TIO 对 APAP 致急性肝损伤小鼠肝组织病理变化的影响 (×100)

Fig.1 Effect of TIO on the pathological changes of liver tissue in mice with acute liver injury induced by APAP (×100)

注: a: 空白组; b: 模型组; c: 水飞蓟素组; d: TIO 低剂量组; e: TIO 中剂量组; f: TIO 高剂量组。下同。



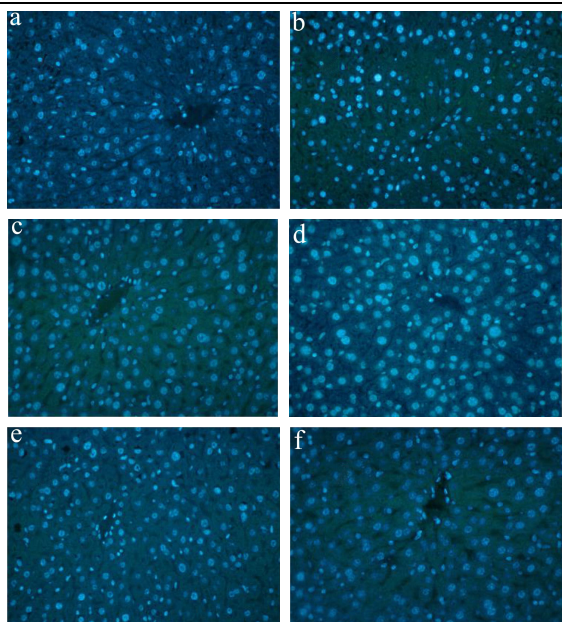


图2 TIO对APAP致急性肝损伤小鼠肝组织凋亡的影响(×400)

Fig.2 Effect of TIO on liver tissue apoptosis in mice with acute liver injury induced by APAP(×400)

### 2.3 TIO对小鼠肝组织病理学和肝细胞凋亡的影响

肝组织的病理学检查同样是肝损伤诊断的有效手段,对于肝损伤有鉴别诊断及早期准确的评估肝损伤至关重要。APAP是目前应用最广泛的解热镇痛药物,长期或过量服用会引起严重的肝损伤,主要表现为肝坏死,以肝脏小叶中央型坏死最为常见<sup>[21,22]</sup>,将六组肝脏组织切片进行HE染色。结果如图1所示,正常小鼠肝脏可见清晰的肝小叶结构,肝细胞排列整齐致密,细胞索呈放射状排列在中央静脉周围;模型组肝组织结构破坏,肝小叶结构不清晰,肝细胞水肿明显,部分肝细胞有明显的点状和灶状坏死,紊乱等典型病理特征。进一步证实了APAP诱导的急性肝损伤模型建立成功。相比于模型组,经不同浓度TIO干预及水飞蓟素保护后,肝细胞状态有所恢复,肝脏结构较清楚,少量细胞点状坏死,肝细胞水肿明显减轻。TIO高剂量组与水飞蓟素组比较,无明显差异,说明TIO能显著改善小鼠肝细胞变性和坏死,其治疗效果较好。

同时为了确定TIO是否能缓解APAP诱导的肝细胞凋亡,我们采用Hoechst 33258染色观察肝细胞凋亡的程度。如图2所示,空白组小鼠的肝细胞核形态完整,整齐排列,轮廓清晰,染色质均匀并轻微染色。然而,模型组中可以清楚的观察到大面积,高密度的蓝色凋亡肝细胞且分布不均,细胞核缩小,呈不规则状,且有较强荧光团出现。与模型组相比,用TIO不

同浓度连续干预7d处理后,细胞凋亡数量明显减少,荧光团明显减弱,且随TIO浓度增加,肝细胞凋亡情况明显改善。TIO高剂量组与水飞蓟素组比较,无明显差异,说明TIO能明显抑制APAP引起的肝细胞损伤凋亡。

### 3 结论

综上所述,TIO可以明显减轻APAP引起的急性肝损伤,对肝脏及其功能有一定的保护作用,在给予不同剂量TIO干预后,血清生化指标ALT和AST均显著性降低;同时TIO高剂量干预组升高小鼠肝组织中的氧化应激指标SOD和GSH含量,降低MDA含量;TIO干预后肝组织细胞坏死和紊乱现象明显改善,肝细胞凋亡数量明显减少。其机制可能通过减轻氧化应激和抑制凋亡有关。因此对桦褐孔菌总三萜作为一种具有潜力的护肝功能食品原料的研究有重要意义。

### 参考文献

- [1] Yu Y C, Mao Y M, Chen C W, et al. Csh guidelines for the diagnosis and treatment of drug-induced liver injury [J]. *Hepato Int*, 2017, 11(3): 221-241
- [2] Lee W M. Acetaminophen and the U.S. acute liver failure study group: lowering the risks of hepatic failure [J]. *Hepatology*, 2004, 40(1): 6-9
- [3] Walker Valerie, Mills Graham A, Anderson Mary E, et al. The acetaminophen metabolite N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) inhibits glutathione synthetase *in vitro*; a clue to the mechanism of 5-oxoprolinuric acidosis? [J]. *Xenobiotica*, 2017, 47(2): 164-175
- [4] Hanawa N, Shinohara M, Saberi B, et al. Role of JNK translocation to mitochondria leading to inhibition of mitochondria bioenergetics in acetaminophen-induced liver injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 283(20): 13565-13577
- [5] Bajt M L, Cover C, Lemasters J J, et al. Nuclear translocation of endonuclease G and apoptosis-inducing factor during acetaminophen-induced liver cell injury [J]. *Toxicol Sci*, 2006, 94(1): 217-225
- [6] 张蕾,王雪.桦褐孔菌的药用功能概述[J].*中国林副特产*, 2018,4:83-86  
ZHANG Lei, WANG Xue. Overview of the medicinal functions of *Inonotus obliquus* [J]. *Forest By-product and Speciality in China*, 2018, 4: 83-86
- [7] 崔敬爱,王思霖,刘畅,等.桦褐孔菌多糖对高脂饮食诱导的高脂血症大鼠血脂和肝脏的保护作用及机制[J].*食品科学*, 2020,41(19):185-190

- CUI Jing-ai, WANG Si-qi, LIU Chang, et al. Protective effect and mechanism of *Inonotus obliquus* polysaccharides on blood lipids and liver in hyperlipidemia rats induced by high-fat diet [J]. Food Science, 2020, 41(19): 185-190
- [8] 黄纪国,余雄涛,谢意珍,等.桦褐孔菌提取物抗氧化活性研究[J].广西植物,2014,34(4):515-519,496
- HUANG Ji-guo, YU Xiong-tao, XIE Yi-zhen, et al. Study on antioxidant activity from *Inonotus obliquus* [J]. Guihaia, 2014, 34(4): 515-519, 496
- [9] 王文娟,雒向宁,晁旭,等.桦褐孔菌提取物对人肝癌 HePG2 细胞增殖及凋亡的影响[J].陕西医学杂志,2013,42(7):783-785
- WANG Wen-juan, LUO Xiang-ning, CHAO Xu, et al. Effect of *Inonotus obliquus* extract on the proliferation and apoptosis of human hepatocarcinoma HePG2 cells [J]. Shaanxi Medical Journal, 2013, 42(7): 783-785
- [10] 蒋勇,高俊,刘丽达,等.睡眠剥夺对 SD 大鼠体重和脏器系数的影响[J].齐齐哈尔医学院学报,2018,39(1):4-6
- JIANG Yong, GAO Jun, LIU Li-da, et al. The impact of sleep deprivation on body weight and organ index of SD rats [J]. Journal of Qiqihar Medical Research, 2018, 39(1): 4-6
- [11] Huang W, Wang Y, Jiang X, et al. Protective effect of flavonoids from *Ziziphus jujuba* cv. *jinsixiaozao* against acetaminophen-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and inflammation in mice [J]. Molecules, 2017, 22(10): 1781
- [12] Wang A Y. Gentiana manshurica Kitagawa prevents acetaminophen-induced acute hepatic injury in mice via inhibiting JNK/ER K MAPK pathway [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(3): 384-391
- [13] Ye H, Nelson L J, Gómez Del Moral M, et al. Dissecting the molecular pathophysiology of drug-induced liver injury [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(13): 1373-1385
- [14] 杨宇莎,时京珍,雷钟,等.血人参乙酸乙酯部位对 APAP 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用[J].时珍国医国药,2018,29(4):786-789
- YANG Yu-sha, SHI Jing-zhen, LEI Zhong, et al. Protective effect of acetic ether extraction of the alcoholic extract of roots of *Indigofera stachyoides* on the acute liver injury induced by APAP in mice [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2018, 29(4): 786-789
- [15] Aycan I, Tüfek A, Tokgöz O, et al. Thymoquinone treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats [J]. Int J Surg, 2014, 12(3): 213-218
- [16] Yan X T, Sun Y S, Ren S, et al. Dietary  $\alpha$ -mangostin provides protective effects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice via akt /mTOR-mediated inhibition of autophagy and apoptosis [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5): 1335
- [17] Liu X F, Zheng C G, Shi H G, et al. Ethanol extract from *Portulaca oleracea* L. attenuated acetaminophen-induced mice liver injury [J]. Am J Transl Res, 2015, 7(2): 309-318
- [18] 周永峰,牛明,房吉祥,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS 的五味子保肝作用代谢组学研究[J].中国中药杂志,2018,43(18): 3756
- ZHOU Yong-feng, NIU Ming, FANG Ji-xiang, et al. Metabonomics study on hepatoprotective effect of *Schisandrae chinensis* Fructus based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(18): 3756
- [19] 王文军,刘天明,袁宝山,等.酒精性肝病血清 LPS, LPO 和 NOS 检测及临床意义[J].中国实验诊断学,2018,22(7): 1183-1184
- WANG Wen-jun, LIU Tian-ming, YUAN Bao-shan, et al. Detection of serum LPS, LPO and NOS in patients with alcoholic liver disease and its clinical significance [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2018, 22(7): 1183-1184
- [20] Rogina B, Helfand S L. Cu, Zn superoxide dismutase deficiency accelerates the time course of an age-related marker in *Drosophila melanogaster* [J]. Biogerontology, 2000, 1(2): 163-169
- [21] Hinson J A, Roberts D W, James L P. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis [J]. Handb Exp Pharmacol, 2010, 196: 369
- [22] Jaeschke H, Williams C D, Ramachandran A, et al. Acetaminophen hepatotoxicity and repair: the role of sterile inflammation and innate immunity [J]. Liver Int, 2012, 32(1): 8-20