

枸杞甘草配制酒对小鼠的免疫调节和体内抗氧化作用

宋晶晶^{1,2}, 赵昊¹, 王伟雄¹, 张海军³, 杨华峰⁴, 武运^{1*}

¹新疆农业大学食品科学与药学院 乌鲁木齐 830052

²喀什大学生命与地理科学学院 新疆喀什 844000

³吐鲁番楼兰酒庄股份有限公司 新疆吐鲁番 838201

⁴新疆乡都酒业有限公司 新疆巴音郭勒蒙古自治州 841000

摘要 目的:研究枸杞甘草配制酒对免疫抑制 KM 雄性小鼠的免疫调节和体内抗氧化作用。方法:通过构建免疫抑制 KM 雄性小鼠模型,将小鼠随机分为 6 组,即空白对照组(CK)、环磷酰胺模型组(CY)、基酒对照组及枸杞甘草配制酒低、中、高剂量组,分别经口给予生理盐水或 5,10,20 mL/kg bw 枸杞甘草配制酒,连续灌胃 14 d。末次注射后测定各组动物体质量、免疫器官脏器指数、吞噬指数;测定各组小鼠免疫球蛋白 G(IgG)与免疫球蛋白 M(IgM)、白细胞介素-6(IL-6)、干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (IFN- α)含量;测定各组小鼠谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力、超氧化物歧化酶(SOD)活力、丙二醛(MDA)浓度。结果:与模型组相比,枸杞甘草配制酒中剂量组能显著改变 Ig G、Ig M 及细胞因子 IL-6、IFN- γ 、IFN- α 含量及 GSH-Px、SOD 活力、MDA 浓度。结论:枸杞甘草配制酒能有效增强由环磷酰胺所致免疫低下小鼠的免疫调节和体内抗氧化作用。

关键词 枸杞甘草配制酒; 环磷酰胺; 免疫调节; 抗氧化

文章编号 1009-7848(2022)07-0097-08 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.07.010

枸杞(*Lycium barbarum* L.)又名枸杞子,是一种药食同源植物,主要种植于我国宁夏、新疆等地^[1-2]。枸杞中含有枸杞多糖、多酚、类胡萝卜素、黄酮、氨基酸、甜菜碱等多种活性成分和微量元素,具有免疫调节,抗氧化,抗疲劳,降血糖,降血脂等功效^[3-5]。甘草(*Glycyrrhizae radix et rhizoma*)为豆科植物甘草的干燥根和茎^[6],也是一种药食同源植物,甘草包括三萜类、黄酮类、多糖类和生物碱类等主要化学成分^[7],具有抗炎,抗氧化,抗肿瘤,保肝等作用^[8],其提取物在食品和医药、日用化工等领域得到广泛应用^[9]。葡萄(*Vitis vinifera* L.)富含多种营养成分和微量元素,具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗癌和保护心血管等功效^[10-12]。

近年来,随着我国经济呈跨越式发展的趋势,人们面临的机会和挑战日趋增多,生活节奏加快,工作压力增大,使得人们普遍处于免疫力低下,易

疲劳等亚健康状态^[13]。人们的健康保健意识也逐渐增强,对养生较为关注,同时,饮食方式也发生了巨大改变,一些具有保健功能的食品兴起,保健酒也应运而生,并占据了一定的市场^[14]。枸杞甘草配制酒的开发符合国内外酒类向营养、保健方向发展的趋势,同时对免疫力低下人群的免疫功能起到调节作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枸杞甘草配制酒:实验室自制。

实验动物:清洁级昆明小鼠,雄性,平均体重(20±2)g,120只,新疆医科大学实验动物研究中心(生产许可证号:SCXK(新)2020003)。

试剂:环磷酰胺,北京酷来搏科技有限公司;印度墨汁,广东洛孚生物科技有限公司;0.01 mol/L、pH 7.4 PBS;DEPC 水、氯仿、75%乙醇,北京陆桥技术有限公司;小鼠免疫球蛋白(IgG、IgM)酶联免疫吸附(Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa)试剂盒、IFN- γ 、IFN- α 、IL-1 α 试剂盒,美国 GBD 公司;其余试剂均为分析纯级;GSH-Px、SOD、MDA 检测试剂盒,南京建成生物工程研究

收稿日期:2021-07-07

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发专项(2020B01001-3);新疆维吾尔自治区“十四五”重大科技专项(2022A02002-2)

作者简介:宋晶晶(1996—),女,硕士,助教

通信作者:武运 E-mail: wuyunster@sina.com

所;其余试剂均为分析纯级。

1.2 仪器与设备

xMark 酶标仪,美国 BIO-RAD 公司;HR40-A2 型生物安全柜,青岛海尔特种电器有限公司;CP21G II 高速冷冻离心机,日立公司;Premium U410 超低温冰箱,美国 NBS 公司;VORTEX-5 型漩涡混合器,华利达实验设备有限公司;FA2004N 型分析天平,上海舜宇恒平实验室设备有限公司;LDZX-50KBS 型立式高压灭菌器,上海申安医疗器械厂;FE20 PLUS 型 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 枸杞甘草配制酒的制备

1.3.1.1 葡萄蒸馏酒的制备 酿酒葡萄分选后,清洗、除梗、压榨取汁,分别添加 0.02 g/L 果胶酶、0.05 g/L 的偏重亚硫酸钾、0.2 g/L 酿酒酵母进行发酵,发酵结束后的葡萄酒采用夏朗德壶式蒸馏法进行蒸馏。蒸馏时采用二次蒸馏工艺,蒸馏酒酒精度为 52%vol。

1.3.1.2 枸杞甘草发酵液的制备 保温浸提:将枸杞甘草盛于容器中并加入一定量的蒸馏水,同时加入 0.40%D-异抗坏血酸钠和果胶酶,静置;放入 60℃恒温水浴锅中浸提 2 h 后,置于超声器(超声频率 180 W)中浸提 15 min;过滤,加入一定量蒸馏水进行二次浸提,重复上述浸提步骤。

浓缩:将 2 次浸提液合并浓缩为原浸提液体积的 1/2 倍,加入残渣均质,备用。

成分调整:向枸杞甘草浸提液中加入 75 g/L 蔗糖。

发酵:0.2 g/L 酵母菌和 0.4 g/L 乳酸菌按 1:2 进行复配发酵,接入浸提液在 26℃培养箱中下发酵 7 d。

过滤、杀菌:发酵结束后,4℃条件下,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,80℃杀菌 30 min 得到枸杞甘草发酵液。

1.3.1.3 枸杞甘草葡萄蒸馏酒的调配 根据市场同类产品的接受度,确定产品酒精度在 28%vol,同时为突出药食同源葡萄蒸馏酒的风格与作用,葡萄蒸馏酒和枸杞甘草发酵液经调配,得到枸杞甘草葡萄蒸馏酒。

1.3.2 免疫低下小鼠模型构建 KM 小鼠适应环境 1 周后,随机分为 6 个组,见表 1。根据《中国居民营养与慢性病状况报告(2020)》,中国居民男性平均体重 69.6 kg 计算。各组小鼠腹腔注射剂量为 80 mg/kg bw 的环磷酰胺溶液,空白组腹腔注射等剂量的生理盐水,连续注射 3 d,构建环磷酰胺所致小鼠免疫功能低下模型。根据《中国居民膳食指南》每人每日酒精摄入量≤25 g,枸杞甘草配制酒的人体日推荐量约为≤1.3 mL/kg,因此设定低、中、高剂量组分别为 5, 10, 20 mL/(kg·d),每日灌胃 1 次,连续 14 d。末次灌胃 24 h 后,进行碳廓清实验,眼球采血,收集血清,取小鼠胸腺、脾脏等组织,保存于-80℃超低温冰箱备用。

表 1 不同实验组小鼠给药方案

Table 1 Experimental groups and feeding methods

组别	动物数量/只	灌胃	造模	饲喂方式
空白对照组	20	生理盐水	注射生理盐水	灌服,自由采食
基酒对照组	20	基酒	注射 Cy(80 mg/kg)	灌服,自由采食
模型组	20	生理盐水	注射 Cy(80 mg/kg)	灌服,自由采食
低剂量组	20	枸杞甘草配制酒 5 mL/kg	注射 Cy(80 mg/kg)	灌服,自由采食
中剂量组	20	枸杞甘草配制酒 10 mL/kg	注射 Cy(80 mg/kg)	灌服,自由采食
高剂量组	20	枸杞甘草配制酒 20 mL/kg	注射 Cy(80 mg/kg)	灌服,自由采食

注:小鼠等效剂量为中剂量组。

1.3.3 小鼠免疫器官指数及碳廓清吞噬指数的测定 参照 Wang 等^[15]方法进行测定。胸腺、脾脏指数、碳廓清速率 K 和吞噬指数 α 按照公式(1, 2, 3, 4)计算。

$$\text{胸腺指数} = \frac{\text{胸腺质量(mg)}}{\text{小鼠体重(g)}} \quad (1)$$

$$\text{脾脏指数} = \frac{\text{脾脏质量(mg)}}{\text{小鼠体重(g)}} \quad (2)$$

$$\text{吞噬速率 } K = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{t_1 - t_2} \quad (3)$$

$$\text{吞噬指数 } \alpha = \frac{\text{小鼠体重}}{(\text{肝重} + \text{脾重})} \times \sqrt[3]{K} \quad (4)$$

式中, OD_1 —— t_1 (2 min) 血样本的 OD 值;
 OD_2 —— t_2 (10 min) 血样本的 OD 值。

1.3.4 小鼠血清中 IgG、IgM 含量测定 灌胃周期结束后,运用眼眶采血法,将血液盛放于洁净离心管内,以 3 000 r/min 离心 15 min,收集血清^[6],存放于-20℃环境下保存。按照 IgG、IgM 试剂盒说明书方法进行检测。

1.3.5 小鼠 IL-1 α 、IFN- γ 、TNF- α 含量的测定 初始操作步骤同 1.3.4 节,将小鼠血清稀释后,利用 Elisa 试剂盒通过双抗体夹心法测定小鼠 IL-1 α 、IFN- γ 、TNF- α 含量。

1.3.6 小鼠血清中的 GSH-Px、SOD 活力及 MDA

浓度测定 末次灌胃 2 h 后眼眶采血法,收集血清,在 4℃条件下 1 500 r/min 离心 10 min,取 300 μ L 血清于离心管中。各组小鼠血清中的 GSH-Px、SOD 活力及 MDA 浓度严格按照试剂盒说明书方法测定。

1.4 数据处理

上述实验均重复 3 次,结果为“平均值 \pm 标准偏差(SD)”。采用方差分析和 t 检验来确定其统计学意义($P \leq 0.01$)。分别使用 SPSS 20.0 和 Origin 8.0 软件进行数据分析和图形绘制。

2 结果与分析

2.1 小鼠体质量

观察各组小鼠体质量变化情况,并做记录如表 2 所示。

表 2 小鼠体质量变化

Table 2 Changes in body mass of mice

组别	初始体质量/g	第 1 周体质量/g	第 2 周体质量/g	末期体质量/g	增加值/g
空白对照组	20.01	27.15	31.35	33.26	13.25
模型组	20.13	26.38	28.83	29.12	8.99 ^{##}
基酒对照组	19.75	26.81	29.70	31.54	11.79
低剂量组	21.09	27.92	30.82	33.01	11.92
中剂量组	20.15	28.13	31.64	32.28	12.13
高剂量组	19.86	28.70	29.09	29.95	10.09

注: #. 表示模型组与空白对照组比较, $P < 0.05$; ##. 表示模型组与空白对照组比较, $P < 0.01$; *. 表示实验组与模型组比较, $P < 0.05$; **. 表示实验组与模型组比较, $P < 0.01$, 下同。

由表 2 可知,3 个实验组小鼠体质量随饲养时间的延长逐渐升高。结果显示,与空白对照组相比,模型组小鼠末期体质量有显著性差异($P < 0.01$),说明模型构建成功。其它各实验组在同等条件下,组间差异均不显著,说明枸杞甘草配制酒的 3 个不同剂量组均不影响小鼠体质量增长。

2.2 小鼠免疫器官指数

由表 3 可知,模型组脾脏、胸腺指数及吞噬指数(α)比空白组降低了 2.40、1.56 和 1.31 倍($P < 0.01$),说明注射环磷酰胺明显抑制了胸腺和脾脏的生长发育,免疫抑制组小鼠建模成功。与模型组相比,基酒对照组的脾脏指数、胸腺指数增长均不显著;低剂量组的脾脏指数增长 52.23% ($P < 0.01$),胸腺指数增长不显著;中剂量组的脾脏

指数增长 84.91% ($P < 0.01$),胸腺指数增长 31.11% ($P < 0.05$);高剂量组的脾脏指数、胸腺指数分别增长 52.71% ($P < 0.01$) 和 3.72% ($P < 0.05$)。实验组中低、中、高剂量组比模型组吞噬指数分别增长 2.6%、15.52%、12.41%。结果表明,枸杞甘草配制酒能缓解免疫抑制小鼠免疫器官的生长,初步认为该酒具有调节免疫功效的作用。

2.3 小鼠血清中 IgG 及 IgM 含量

由表 4 可知,空白对照组与模型组有极显著差异($P < 0.01$),说明免疫抑制建模成功。分析可知,高、中、低剂量组血清中 IgG 含量均显著高于模型组($P < 0.05$),高剂量组与中、低剂量组有显著差异($P < 0.05$),中、低剂量组之间无明显差异。模型组与枸杞甘草配制酒中剂量组的血清 IgG 含量

有极显著差异 ($P < 0.01$), 说明枸杞甘草配制酒可以有效提高血清中 IgG 含量。枸杞甘草配制酒中剂量组血清中 IgM 含量显著高于模型组 ($P < 0.01$), 低剂量组血清中 IgM 含量与基酒对照组无明显差异。同时, 低、中剂量组血清中 IgM 含量均显著高

于高剂量组 ($P < 0.05$)。表明中剂量可以有效提高血清中 IgM 的含量, 而低剂量对血清中 IgM 含量影响不显著。说明枸杞甘草配制酒的有效剂量能够不同程度地促进免疫抑制小鼠免疫球蛋白的分泌。

表 3 枸杞甘草配制酒小鼠免疫器官指数及碳廓清吞噬指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of preparation of grape spirits on immune organ index and carbon profile phagocytic index in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	脾脏指数	胸腺指数	吞噬指数 α
空白对照组	5.094 ± 0.097	1.388 ± 0.078	6.495 ± 0.772
模型组	2.122 ± 0.132 ^{##}	0.885 ± 0.043 ^{##}	4.946 ± 0.403 ^{##}
基酒对照组	2.741 ± 0.056	0.936 ± 0.112	5.165 ± 0.159
低剂量组	3.091 ± 0.141 ^{**}	1.008 ± 0.095	5.589 ± 0.340
中剂量组	4.488 ± 0.106 ^{**}	1.143 ± 0.081 [*]	6.168 ± 0.098 [*]
高剂量组	4.136 ± 0.285 ^{**}	1.150 ± 0.107 [*]	5.774 ± 0.356

表 4 枸杞甘草配制酒对小鼠血清中 IgG、IgM 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of preparation of grape spirits on serum IgG and IgM of immunosuppressive mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	IgG/mg·mL ⁻¹	IgM/μg·mL ⁻¹
空白对照组	10.88 ± 1.21	334.85 ± 20.24
模型组	5.85 ± 0.33 ^{##}	173.95 ± 16.10 ^{##}
基酒对照组	5.96 ± 1.08	202.26 ± 32.41
低剂量组	8.15 ± 0.74 [*]	267.99 ± 18.52 ^{**}
中剂量组	9.68 ± 1.07 ^{**}	308.39 ± 21.46 ^{**}
高剂量组	9.07 ± 1.51 ^{**}	249.52 ± 19.03 ^{**}

2.4 小鼠血清中 IFN- γ 、IL-6 和 TNF- α 水平的影响

如表 5 所示, 与正常组相比, 模型组 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 含量显著低于正常组 52%, 49%, 75% ($P < 0.01$), 说明造模成功。与模型组相比低、中、高剂量组及基酒组 IL-6 水平分别升高 29%,

42%, 45%, 24%, 相比低、中、高剂量组及基酒组 IFN- γ 水平分别升高 63%, 76%, 86%, 38%, 相比低、中、高剂量组及基酒组 TNF- α 水平分别升高 20%, 30%, 22%, 8% ($P < 0.05$), 说明枸杞甘草配制酒能提高免疫抑制小鼠 IL-6、IFN- γ 和 TNF- α 水平, 具有免疫增强功效。

表 5 枸杞甘草配制酒对小鼠血清 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of preparation of grape spirits on serum IL-6, IFN- γ and TNF- α of immunosuppressive mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6/pg·mL ⁻¹	IFN- γ /pg·mL ⁻¹	TNF- α /pg·mL ⁻¹
空白对照组	89.05 ± 2.07	224.31 ± 35.86	14.92 ± 0.89
模型组	22.65 ± 4.76 ^{##}	108.72 ± 22.30 ^{##}	7.57 ± 0.66 ^{##}
基酒对照组	28.14 ± 1.24	150.59 ± 14.02	8.16 ± 0.37
低剂量组	29.18 ± 3.39	177.38 ± 7.85 [*]	9.12 ± 0.45 [*]
中剂量组	32.20 ± 3.15 [*]	191.32 ± 25.67 [*]	9.86 ± 1.02 [*]
高剂量组	32.87 ± 2.88 [*]	202.68 ± 17.35 [*]	9.24 ± 0.84 [*]

2.5 枸杞甘草配制酒对小鼠血清 GSH-Px、SOD 活力及 MDA 浓度的影响

表 6 为枸杞甘草配制酒对免疫抑制小鼠血清抗氧化指标的影响。与空白组相比,模型组小鼠的 GSH-Px 和 SOD 活力均明显降低 ($P < 0.01$), 而 MDA 含量则升高 ($P < 0.05$)。与模型组相比,枸杞

甘草配制酒高、中、低剂量组 GSH-Px 和 SOD 活力均显著提高,其中,中剂量组提高明显。与模型组相比,枸杞甘草配制酒高、中剂量组 MDA 浓度均降低,其中,低剂量组没有显著影响。表明不同剂量组对小鼠的抗氧化作用有一定影响。

表 6 枸杞甘草配制酒对小鼠血清 GSH-Px、SOD 活力及 MDA 浓度的影响

Table 6 Effect of preparation of grape spirits on GSH-Px, SOD activity and MDA levels in serum of mice

组别	GSH-Px 活力/ $U \cdot mL^{-1}$	SOD 活力/ $U \cdot mL^{-1}$	MDA 浓度/ $nmol \cdot mL^{-1}$
空白对照组	698.78 ± 32.45	128.74 ± 7.02	7.38 ± 0.29
模型组	376.27 ± 15.01 ^{###}	89.13 ± 9.17 ^{###}	9.64 ± 0.75 [#]
基酒对照组	513.66 ± 21.10 ^{**}	110.76 ± 8.52 [*]	9.41 ± 0.83
低剂量组	599.98 ± 25.37 ^{**}	115.24 ± 11.43 [*]	8.83 ± 0.41
中剂量组	676.42 ± 20.42 ^{**}	126.48 ± 11.08 ^{**}	8.54 ± 0.72 [*]
高剂量组	541.61 ± 19.85 ^{**}	123.27 ± 14.15 ^{**}	8.08 ± 1.04 [*]

3 讨论

环磷酰胺是一种有效的抗肿瘤及癌症化疗药物,长期服用可能会使骨髓和免疫受到抑制,进而使红细胞生成素缺乏导致贫血^[17]。因此,在研究过程中,常将 Cy 应用于构建免疫缺陷模型的诱导药物^[18],能够阻止免疫细胞的生成,进而抑制浆细胞产生,导致免疫抑制^[19]。在本研究中,与空白对照组相比,模型组小鼠脏器指数明显降低,且与空白对照组相比,吞噬指数、免疫球蛋白和血清细胞因子下降水平有显著性差异,表明免疫抑制模型构建成功^[20]。哺乳动物重要的 2 个免疫器官,即脾脏和胸腺,免疫器官直接决定机体免疫功能的强弱,免疫器官指数反映了免疫器官的发育及其免疫功能^[21]。

哺乳动物的免疫系统由先天免疫和后天免疫组成,其中先天免疫是宿主抵御入侵病原体的第一道防线^[22]。巨噬细胞承担着体内非特异性免疫功能,能够吞噬体内损伤、异常的细胞及病原体^[23]。巨噬细胞在先天免疫中起着至关重要的作用^[24],巨噬细胞的活化被认为是增强宿主免疫功能的一个重要的免疫途径^[25]。另一方面,巨噬细胞的活化在某些病理条件下也会产生负面影响,如癌症和癌症自身免疫性疾病^[26]。本研究目的是对枸杞甘草配制酒免疫增强功效的探究,通过碳廓清吞噬实验评价巨噬细胞非特异性免疫功能,在

免疫抑制实验中,观察枸杞甘草配制酒对免疫抑制小鼠的免疫增强作用。结果表明,枸杞甘草配制酒中剂量组(10 mL/kg)与模型组相比,能使免疫抑制的小鼠脾脏指数增长 52.71%,胸腺指数增长 33.72%,吞噬指数增长了 15.52%,表明免疫功能得到提高。

在巨噬细胞免疫调节实验中,除了可以促进免疫细胞的增殖,还可以刺激分泌 IL-6、IFN- γ 和 TNF- α ,IL-6 主要通过促进 B 细胞增殖和免疫球蛋白的产生来介导体液免疫^[27]。由巨噬细胞产生的肿瘤坏死因子称为 TNF- α ,能够诱导炎症反应过程中的其它因子和介质的产生^[28],TNF- α 可以促进 T 细胞及其它杀伤细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,并且可以促进 B 细胞的增殖,而过量的 TNF- α 分泌可能会导致机体局部的炎症反应^[13]。IFN- γ 能使巨噬细胞表面受体数量增加,NK 细胞大量生长繁殖,具有抑制癌细胞增殖,调节免疫功能等作用^[29]。

抗氧化酶作为最有作用的防御措施之一,避免不利的氧化应激反应,能与活性氧的主要酶中和,其中有 SOD、GSH-Px 和过氧化氢酶。MDA 是由脂质过氧化作用分解所产生的,其浓度能够反映细胞膜受损程度^[30]。结果表明,中剂量枸杞甘草配制酒能克服 CY 诱导的免疫抑制,巨噬细胞功能、免疫球蛋白和细胞因子水平均有改善。发现枸

杞甘草配制酒中剂量组的3种细胞因子水平与模型组有显著差别,枸杞甘草配制酒能促进某些细胞因子的分泌,从而减轻免疫抑制程度,而且能显著提高KM小鼠血清中SOD、GSH-Px活力,并显著降低血清中MDA浓度,说明甘草枸杞配制酒对免疫调节作用的影响可能与其抗氧化活性有关。

综上,枸杞甘草配制酒对免疫抑制小鼠起到免疫调节的作用,进一步推断其能够增强人体免疫功能,提高人们的健康水平。本研究结合枸杞甘草配制酒免疫及抗氧化功能,为开发枸杞甘草配制酒作为保健酒,增补配制酒市场空白,提供理论依据。由于其免疫活性与饮用量不呈线性关系,具体作用机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] WANG H B, ZHANG S M, SHEN Q W, et al. A metabolomic explanation on beneficial effects of dietary goji on intestine inflammation[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 53: 109–114.
- [2] MA Z F, ZHANG H X, TEH S S, et al. Goji berries as a potential natural antioxidant medicine: An insight into their molecular mechanisms of action[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 2019: 1–9. <http://newacademic.oss-cn-qingdao.aliyuncs.com/S19420900%2FC85061136884.pdf?OSSAccessKeyId=LTAI4GKD-HaA3U5GzVgos7GzK&Expires=1657333407&Signature=Znx3fdVL9f39G8f0tpFICcdPw88%3D>
- [3] 钱丹, 纪瑞锋, 郭威. 中国枸杞属种间亲缘关系和栽培枸杞起源研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(17): 3282–3285.
QIAN D, JI R F, GUO W. Research progress on the genetic relationship between species and the origin of cultivated *Lycium* in China[J]. *Chinese Herbal Medicine Impurities*, 2017, 42(17): 3282–3285.
- [4] WANG X, SUN Z J, EL-SWAY S, et al. Effect of ridges and furrows plant of wolfberry on alkalized solonchak[J]. *Ekoloji*, 2018, 27(106): 975–983.
- [5] XIE L, ZHENG Z A, MUJUNNDAR A S, et al. Pulsed vacuum drying (PVD) of wolfberry: Drying kinetics and quality attributes [J]. *Dry Technol*, 2018, 36(12): 1501–1514.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版, 2015: 86.
National Pharmacopoeia Committee. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 86.
- [7] 贾世亮, 武雪玲, 李筱筱, 等. 甘草中黄酮类物质的功能研究进展[J]. *北京联合大学学报(自然科学版)*, 2016, 30(4): 67–73.
JIA S L, WU X L, LI X X, et al. Research progress on the function of flavonoids in *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Journal of Beijing Union University (Natural Science Edition)*, 2016, 30(4): 67–73.
- [8] FU Y, CHEN J, LI Y J, et al. Antioxidant and antiinflammatory activities of six flavonoids separated from licorice[J]. *Food Chem*, 2013, 141(20): 1063–1071.
- [9] 孙立丽, 游广娇, 任晓亮, 等. 甘草化学成分快速定性分析与化学模式识别研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5): 2074–2079.
SUN L L, YOU G J, REN X L, et al. Rapid qualitative analysis and chemical pattern recognition of licorice chemical components[J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2018, 33(5): 2074–2079.
- [10] 刘欢, 何文兵, 李乔, 等. 通化葡萄产区主栽4个品种品质的比较[J]. *食品科学*, 2017, 38(17): 107–113.
LIU H, HE W B, LI Q, et al. Comparison of quality of four main varieties planted in Tonghua grape production area[J]. *Food Science*, 2017, 38(17): 107–113.
- [11] 江雨. 中国野生葡萄果实品质评价和主要物质组分研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
JIANG Y. Evaluation of fruit quality and study on main components of wild grapes in China[D]. Yangling: Northwest University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2016.
- [12] IANNONE M, MARE R, PAOLINO D, et al. Characterization and *in vitro* anticancer properties of cheitosan-microencapsulated flavan-3-ols-rich grape seed extracts[J]. *Inter J Biol Macromol*, 2017, 104(A): 1039–1045.
- [13] 姜城子, 刘春花, 潘永龙, 等. 两种植物发酵液对氢化可的松致免疫抑制小鼠的免疫调节作用[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(8): 42–47.

- JIANG C Z, LIU C H, PAN Y L, et al. Immunomodulatory effect of two kinds of plant fermentation broth on immunosuppressive mice induced by hydrocortisone [J]. *Chinese Journal of Food*, 2018, 18(8): 42–47.
- [14] 余晓红, 陈洪兴, 刘汉文. 甘草红枣枸杞复合保健饮料的研制[J]. *食品科学*, 2007(9): 664–668.
- YU X H, CHEN H X, LIU H W. Development of licorice red jujube medlar compound health drink[J]. *Food Science*, 2007(9): 664–668.
- [15] WANG H, WANG M, CHEN J, et al. A polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs protects against myelosuppression and immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice[J]. *International Immunopharmacology*, 2011, 11(11): 1946–1953.
- [16] 付俊鹤, 余宙, 胡居吾, 等. 精制蜂胶对小鼠免疫功能的影响[J]. *食品科学*, 2009(19): 286–290.
- FU J H, YU Z, HU J W, et al. Effect of refined propolis on immune function in mice [J]. *Food Science*, 2009(19): 286–290.
- [17] AHLMANN M, HEMOEL G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: Implications for clinical cancer therapy[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2016, 78(4): 661–671.
- [18] 康慧琳, 樊卫平, 雷波, 等. 不同剂量环磷酰胺对小鼠免疫功能的影响[J]. *免疫学杂志*, 2018, 34(4): 308–312.
- KANG H L, FAN W P, LEI B, et al. Effects of different doses of cyclophosphamide on immune function in mice[J]. *Journal of Immunology*, 2018, 34(4): 308–312.
- [19] KIM J, CHAN J J. Cyclophosphamide in dermatology[J]. *Australasian Journal of dermatology*, 2016, 58(1): 5–17.
- [20] SHALIT I, KLETTER Y, HALPERIN D, et al. Immunomodulatory effects of moxifloxacin in comparison to ciprofloxacin and G-CSF in a murine model of cyclophosphamide-induced leukopenia [J]. *Eur J Haematol*, 2001, 66: 287–296
- [21] REN Z, HE C, FAN Y, et al. Immune-enhancing activity of polysaccharides from *Cyrtomium macrophyllum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 70: 590–595.
- [22] RUNGELRATH V, KOBAYASHI S D, DELEO F R. Neutrophils in innate immunity and systems biology-level approaches[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews—Systems Biology and Medicine*, 2020, 12: e14581.
- [23] 吕欢, 万龙, 姜明燕. 复方 HD 对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *药物评价研究*, 2018, 41(4): 577–581.
- LÜ H, WAN L, JIANG M Y. Effect of compound HD on immune function of immunosuppressive mice induced by cyclophosphamide[J]. *Drug Evaluation Study*, 2018, 41(4): 577–581.
- [24] ZHAO Y, ZOU W, DU J, et al. The origins and homeostasis of monocytes and tissue-resident macrophages in physiological situation[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018, 233(10): 6425–6439.
- [25] REN D, ZHAO Y, ZHENG Q, et al. Immunomodulatory effects of an acidic polysaccharide fraction from herbal *Gynostemma pentaphyllum* tea in RAW264.7 cells[J]. *Food Function*, 2019, 10(4): 2186–2197.
- [26] GAO X, LI X, MU J, et al. Preparation, physicochemical characterization, and anti-proliferation of selenium nanoparticles stabilized by *Polyporus umbellatus* polysaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 605–615.
- [27] 刘春杰, 杨丽华, 张春, 等. 复方中药加味四物汤对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达的影响[J]. *中兽医医药杂志*, 2018, 37(5): 20–25.
- LIU C J, YANG L H, ZHANG C, et al. Effect of modified Siwu decoction on LPS induced in RAW264.7 cells TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 Influence of expression[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2018, 37(5): 20–25.
- [28] 王敏, 卢赛, 张曾亮, 等. 鲍鱼水解肽的抗氧化、抗炎及免疫调节作用[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(5): 282–288.
- WANG M, LU S, ZHANG Z L, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory effects of hydrolytic peptides from abalone[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2021, 42(5): 282–288.
- [29] KIM J E, CHO H S, YANG H S, et al. Depletion of ascorbic acid impairs NK cell activity against ovarian cancer in a mouse model[J]. *Immunobiology*, 2012, 217(9): 873–881.
- [30] LEWICKA M, HENRYKOWKA G, ZAWADZKA M. Impact of electromagnetic radiation emitted by monitors on changes in the cellular membrane structure

and protective antioxidant effect of vitamin A *in vitro* study[J]. Occupational Medicine and Environmen-

tal Health, 2017, 30(5): 695-703.

Immunomodulatory and Antioxidant Activity Effect of *Lycium barbarum*-*Glycyrrhiza* Liqueur on Mice

Song Jingjing¹, Zhao Hao¹, Wang Weixiong¹, Zhang Haijun³, Yang Huafeng⁴, Wu Yun^{1*}

¹College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052

²College of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Kashi 844000, Xinjiang

³Turpan Loulan Chateau Co., Ltd., Turpan 838201, Xinjiang

⁴Xinjiang Xiangdu Winery Co., Ltd., Bayingol Mongolian Autonomous Prefecture 841000, Xinjiang)

Abstract Objective: To explore the regulatory effect of *Lycium barbarum*-*Glycyrrhiza* liqueur on immune function and antioxidant status in mice. Methods: Immunosuppressed mouse model was constructed, the mice were randomly divided into 6 groups: control check(CK), cyclophosphamide model group (CY), base wine control group and high, medium and low-dose *Lycium barbarum*-*Glycyrrhiza* liqueur groups, normal saline or 20, 10, 5 mL/kg bw *Lycium barbarum*-*Glycyrrhiza* liqueur were given orally for 14 days. After the last injection, the animal mass, thymus index, spleen index, phagocytic index, immunoglobulin G (IgG) and immunoglobulin M (IgM) content, interleukin-6 (IL-6), interferon- γ (IFN- γ) and tumor necrosis factor- α (IFN- α) were determined in each group. The activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and the concentration of malondialdehyde (MDA) in serum were determined in each group. Results: compared with the model group, the contents of IgG, IgM, IL-6, IFN- γ , IFN- α , GSH Px, SOD activity and MDA concentration were significantly changed in the medium dose group. The results showed that *Lycium barbarum* and licorice wine could effectively improve the immune regulation and antioxidation of immunosuppressive mice induced by cyclophosphamide.

Keywords *Lycium barbarum*-*Glycyrrhiza* liqueur; cyclophosphamide; immunomodulatory; antioxidant