

柑橘多甲氧基黄酮的来源及生物学作用

Sources and biological functions of citrus polymethoxy flavones

张梦玲^{1,2,3,4} 李绮丽^{1,2,4} 李高阳^{1,2,4} 付复华^{1,2,4}

ZHANG Meng-ling^{1,2,3,4} LI Qi-li^{1,2,4} LI Gao-yang^{1,2,4} FU Fu-hua^{1,2,4}

肖业成⁵ 单杨^{1,2,4} 余焕玲³

XIAO Ye-cheng⁵ SHAN Yang^{1,2,4} YU Huan-ling³

(1. 湖南大学研究生院隆平分院, 湖南 长沙 410125; 2. 湖南省农业科学院农产品加工研究所, 湖南 长沙 410125; 3. 首都医科大学公共卫生学院北京市环境毒理学重点实验室, 北京 100069; 4. 果蔬贮藏加工与质量安全湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410125; 5. 涟源康麓生物科技有限公司, 湖南 娄底 417000)

(1. Longping Branch Graduate School of Hunan University, Changsha, Hunan 410125, China; 2. Hunan Agriculture Product Processing Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125 China; 3. School of Public Health, Beijing Key Laboratory of Environmental Toxicology, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 4. Hunan Key Lab of Fruits & Vegetables Storage, Processing, Quality and Safety, Changsha, Hunan 410125, China; 5. Lianyuan Kang Biotechnology Co., Ltd., Loudi, Hunan 417000, China)

摘要: 文章综述了多甲氧基黄酮(Polymethoxy flavones, PMFs)的来源和生物学作用, 并对目前研究中存在的问题进行了探讨。

关键词: 柑橘; 多甲氧基黄酮; 来源; 生物学作用

Abstract: This study reviewed the sources and biological functions of polymethoxy flavones, and discussed the existing problems in the current research.

Keywords: Citrus; polymethoxy flavones; source; biological function

据统计^[1], 2016 年全球柑橘产量达到 1.24×10^8 t, 但全球的加工量仅为 2.35×10^7 t, 不足总产量的 20%。柑橘皮渣是柑橘加工工业的副产品, 每年全球柑橘皮渣产量达到 $4.0 \times 10^6 \sim 5.0 \times 10^6$ t, 通常未得到充分合理的利用, 柑橘皮渣的处理已经成为柑橘加工企业的头号难题^[2-3]。仅中国, 每年的柑橘皮渣黄酮资源具有 1.0×10^4 t, 并且黄酮的价格取决于所开发产品的品质^[2], 目前市场

上黄酮粗提物的价格在 80~3 000 元/kg 不等。如果能够高效地开发和利用高品质的柑橘黄酮, 对有效利用柑橘资源, 推动柑橘产业化进程具有重要意义。

PMFs(Polymethoxy flavones)广泛存在于柑橘属果皮中, 是一类独特的多甲基黄酮类化合物。人群、动物和细胞研究的累积证据^[4-12]表明, PMFs 具有抗氧化、抗炎、保护心血管和抗癌等生物学作用。尽管非多甲氧基黄酮(主要为羟基黄酮)也具有一定的生物学活性, 但研究^[13-14]发现 PMFs 的生物学活性是明显优于非多甲氧基黄酮的。含有 1% PMFs(主要是橘皮素)的日常饮食喂食 35 d 可显著降低雄性叙利亚金黄仓鼠的血清总数和超低密度脂蛋白(VLDL)及低密度脂蛋白(LDL)水平(分别为 19%~27% 和 32%~40%), 降低血清三酰甘油酯的含量。而相同试验条件下, 通过喂食 3% 橘皮苷和柚皮苷(质量比 1:1)的混合物, 血脂改善程度却差于 1% PMFs 的^[13]。采用柚皮素、橘皮苷和川陈皮素(100 $\mu\text{mol/L}$)分别处理 A 类清道夫受体介导小鼠 J774A.1 巨噬细胞 24 h, 发现相比未处理的对照组, 黄酮都显著降低 β -VLDL 的代谢。其中, 川陈皮素的效果最好, 降低 50%~72% β -VLDL 代谢, 而柚皮素和橘皮苷下降不足 25%^[14]。目前普遍认为 PMFs 活性优于非多甲氧基黄酮的重要原因之一为多甲氧基增加了黄酮分子的平面型、降低分子极性, 有利于生物膜的渗透性, 增加细胞摄取^[15-16]。柑橘 PMFs 作为一种天然物质, 相比化学合成药物, 更容易使用和发挥较少的副作用, 从而有助于提高

基金项目: 国家重点研发计划(编号: 2017YFD0400701); 湖南农业科技创新资金(编号: 2018ZD04-1-5); 湖南省科技创新平台与人才计划(编号: 2018TP1030)

作者简介: 张梦玲, 女, 湖南大学在读博士研究生。

通信作者: 单杨(1963—), 男, 湖南省农业科学研究院研究员, 博士。E-mail: sy6302@sohu.com

余焕玲(1977—), 女, 首都医科大学教授, 博士。

E-mail: yuhlzjl@ccmu.edu.cn

收稿日期: 2018-10-14

患者的依从性^[17]。

基于以上的讨论,柑橘 PMFs 是预防和治疗疾病的一种切实可行的天然物质,其开发利用对柑橘行业的增值增收具有重大意义。因此,本文综述了柑橘 PMFs 的来源和其生物学功效,并对目前存在的问题进行了探讨,以期对开发利用柑橘资源和柑橘产业发展提供更好的指导。

1 柑橘多甲氧基黄酮的来源

1934 年 Nelsont 从橘皮精油中提取出橘皮素,1938 年 Tseng 从橙皮中分离出川陈皮素,之后科学家又从柑橘属植物中分离出 Tetra-O-methylscutellarein^[18] 和五甲氧基黄酮^[19]。1991 年欧洲标准化委员会规定 PMFs 是苯环原酮结构上连有 4 个或 4 个以上的甲氧基黄酮类化合物^[20],结构如图 1 所示。现如今,已报道的柑橘果皮中芸香科柑橘属 PMFs 多达 40 余种,是天然 PMFs 最主要的来源^[13,21]。图 2 列出了 7 种最常见的柑橘 PMFs,其中研究的热门是川陈皮素和橘皮素,是在甜橙和柑橘果皮中含量很高的 PMFs^[22-23]。

目前关于 PMFs 的提取分离与鉴定方法包括醇浸提^[24]、超临界 CO₂ 流体萃取^[24]、超声法^[24]、离子交换法^[25]、高效液相色谱法^[26]、超高效液相色谱结合二极管阵列检测器(UPC-DAD)^[5]和快速制备色谱^[27]等。单杨团队^[2]从温州蜜橘皮中分离得到 4 种 PMFs 单体,并采用波长扫描光谱、高效液相-质谱联用(HPLC-MS)和红外光谱(IR)以及核磁共振(MRI)技术进行精确的结构鉴定,分别为 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮(Hexamethoxyflavone)、5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮(Tangeretin)、3-羟基-5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮(Natsudaiddain)、5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮(Nobiletin),其中 3-羟基-5,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮(Natsudaiddain)是首次发现的。

以廉价易得的天然产物柚皮苷和橙皮苷为原料,通过糖苷酸性水解、脱氢、溴代、亲核取代、D-甲基化、过氧丙酮氧化、D-异戊烯基化和选择性脱甲氧基等化学方法半合成一系列的 PMFs,包括 3-羟基-3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮、3-羟基-3',5,6,7,8-五甲氧基黄酮、3',4',3,5,6,7,8-七甲氧基黄酮、3',3,5,6,7,8-六甲氧基黄酮、5-羟基-

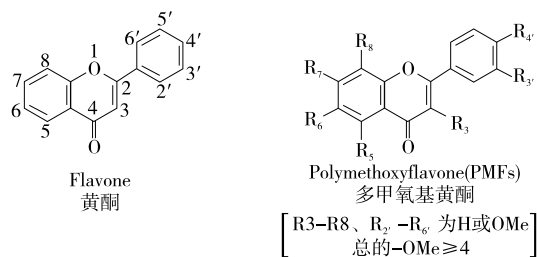


图 1 多甲氧基黄酮的分子结构

Figure 1 Molecular structures of polymethoxyflavone

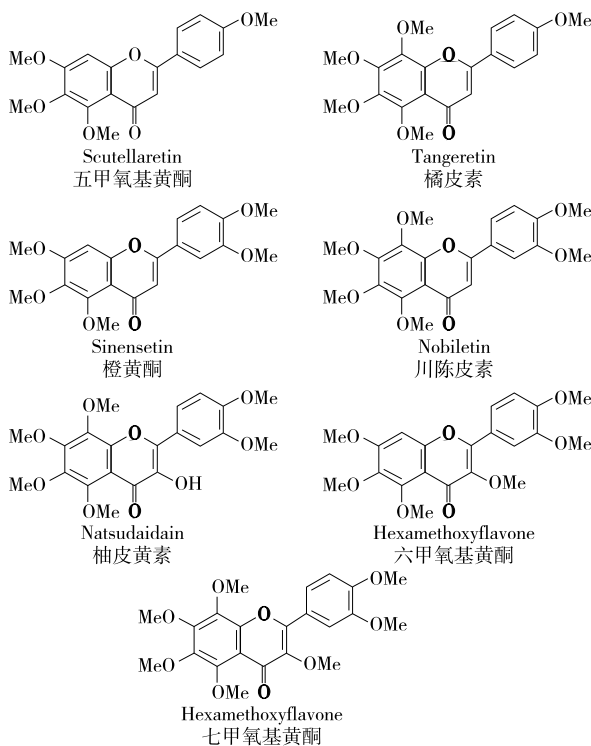


图 2 常见的柑橘多甲氧基黄酮的分子结构

Figure 2 Molecular structures of the common citrus polymethoxyflavone

3,4',3,6,7,8-六甲氧基黄酮、5-羟基-3',3,6,7,8-五甲氧基黄酮、5-羟基-3',4',6,7,8-五甲氧基黄酮、5-羟基-3',6,7,8-四甲氧基黄酮^[21]。分子克隆技术也是合成 PMFs 一种新的手段。以槲皮素为底物,用表达于大肠杆菌细胞中的 CdFOMT 5 进行全细胞生物催化,得到 3,3',5,7-四甲基化槲皮素^[28]。

2 多甲氧基黄酮的生物学作用

2.1 抗氧化、抗炎与提高免疫力

2.1.1 抗氧化 对 26 种 PMFs 采用 2,2-二苯基-1-吡啶酰肼(DPPH)自由基清除活性、铁还原抗氧化能力(FRAP)、氧自由基吸收能力(ORAC)和铜还原抗氧化能力(CUPRAC)4 个理化指标进行了评价,发现 PMFs 具备抗氧化的化学特性,其中酚羟基是 PMFs 抗氧化活性的主要贡献者^[5]。

不仅如此,PMFs 对动物和细胞也具有抗氧化特性。脂多糖/D-半乳糖胺(LPS/GALN)诱导雄性 C57BL/6 小鼠急性肝损伤模型中,腹腔注射川陈皮素(50, 100, 200 mg/kg)预处理 2 h 可激活 NF-κB 介导的 Nrf 2 抗氧化通路,抑制 NF-κB 介导的细胞因子的产生,从而预防急性肝损伤^[29]。主动脉束带(AB)手术诱导的雄性 C57BL/6 小鼠心肌肥大模型中,川陈皮素(50 mg/kg,纯度>98%)注射可通过抑制 NADPH 氧化酶和内质网应激来治疗心脏肥大压力超负荷^[30]。在连续 5 d 注射链球菌

(50 mg/kg)诱导 8~10 周龄雄性 C57BL 小鼠(体重 24~26 g)糖尿病模型中,采用川陈皮素(50 mg/kg、纯度>95%)处理 11 周后,明显降低 NADPH 氧化酶的 mRNA 表达,即 p67^{phox}、p22^{phox} 和 p91^{phox},以及减轻氧化应激^[4]。类似地,在链脲佐菌素(50 mg/kg)诱导雄性 Wistar 大鼠(体重 180~230 g)糖尿病性心血管模型中,10,25 mg/kg 川陈皮素处理降低氧化应激,减少 MMP-2 和 MMP-9 水平^[7]。在叔丁基过氧化氢(τ -BHP)诱导 HepG2 细胞氧化损伤的模型中,5~20 μ mol/L 橘皮素(纯度>95%)预处理 24 h 可降低氧化损伤,作用机制为橘皮素通过 MAPK-Nrf2-ARE 信号通路上调 NQO1 和 HO-1 抗氧化酶的活性^[31]。这些累积试验说明柑橘 PMFs 对生物体具有良好的抗氧化特性,其主要的抗氧化机制为:① 清除自由基^[5];② 抑制与自由基产生相关酶的表达^[32-33];③ 激活抗氧化信号通路^[29]。

2.1.2 抗炎 脂多糖(LPS)诱导、白细胞介素诱导、胆管结扎、紫外线 B(UVB)辐射诱导是常见的诱导动物和/或细胞炎症方式。采用鼻内滴注的方法在 LPS(30 mg/kg)处理之前对健康的雄性昆明小鼠采用川陈皮素(5,10,20 mg/kg)预处理 12 h,发现川陈皮素的治疗显著地降低了 LPS 诱导的炎症细胞数、TNF- α 、IL-6 和 NO 的表达,从而降低 LPS 所致的小鼠急性肺损伤(ALI)^[8]。柑橘皮提取物(CAE)(50,200 mg/kg CAE 中分别含 13.50,54.00 mg/kg 川陈皮素)处理胆管结扎雄性 ICR 小鼠(5~6 周龄),4 周后明显降低血浆中 IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 、AMPK 等促炎细胞因子的活性,说明 CAE 对胆汁淤积症具有抗炎作用^[34]。这 2 个动物试验分别说明川陈皮素对动物炎症具有预防和治疗作用,不足之处在于后者采用的是柑橘皮粗提物,无法排除柑橘皮中其他非 PMFs 组分的影响。

大量研究也支持 PMFs 对细胞炎症的预防和治疗作用。对于 LPS(10 mg/mL,20 h)刺激人类胚胎膜和子宫肌层的炎症感染,200 μ mol/L 川陈皮素预处理胎膜和子宫内膜 1 h 后可降低促炎症细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-8)、MMP-9 的表达和促 MMP-9 的分泌,川陈皮素还能降低自发性早产后妇女胎膜中产生的促炎细胞因子和 MMP-9 的表达和产生^[35]。LPS(100 ng/mL 20 h)诱导的 BV2 微胶质细胞神经炎症的同时,加入川陈皮素 40 μ mol/L (HPLC 级)或橘皮素 60 μ mol/L (HPLC 级),发现川陈皮素和橘皮素都显著抑制 LPS 诱导的细胞炎症。其中,只有川陈皮素对 LPS 诱发的促炎因子 NO、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的分泌具有大于 50% 的抑制能力^[36]。30 μ mol/L 川陈皮素(纯度>98%)在 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症中具有抗炎作用,作用机理为降低 iNOS 和 COX-2 蛋白表达水平,诱导血红素加氧酶-1(HO-1)蛋白表达^[37]。川陈皮素(4,8,16,32,64 μ mol/L)干扰了 LPS(5 mg/mL)诱导小鼠 J774A.1

巨噬细胞中 PGE2 的产生,以及促炎细胞因子的基因表达,包括 IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6^[38]。

川陈皮素(4,8,16,32,64 μ mol/L)以剂量依赖性的方式抑制了人滑膜细胞 rhIL-1 α (1 ng/mL)诱导 PGE2 的产生,川陈皮素选择性地降低 COX-2,但不是 COX-1 mRNA 的表达^[38]。川陈皮素(纯度>95%)与白细胞介素-1 β (1 nmol/L)共处理原代培养的大鼠肝细胞,可抑制 IL-1 β 单独处理时诱导型一氧化氮合酶(iNOS)基因的表达,诱导型一氧化氮合酶(INOS)在肝细胞中合成炎症介质一氧化氮(NO),川陈皮素的半抑制 NO 产生的浓度为(IC₅₀) 51 μ mol/L,具有抗炎的作用^[39]。川陈皮素的抗炎作用与诸如地塞米松等抗炎类固醇非常相似,川陈皮素独特的地方在于其上调了 TIMP-1 的表达,支持了川陈皮素可能是一种新的免疫调节和抗炎药的候选对象^[40]。

暴露于紫外线 B(UVB)辐射会引发急性皮肤炎症,如红斑(晒伤)和水肿。川陈皮素(64 μ mol/L)抑制 UVB(60 mJ/cm²)诱导人表皮角质细胞产生炎症介质前列腺素 E2,不仅抑制了 COX-2 的表达,还通过减少人类角质细胞中 cPLA2 的活动,并抑制小鼠表皮角质形成^[40],提示川陈皮素可能作为一种新型的防晒剂,用于预防光炎症和光老化。

2.1.3 提高免疫力 口服川陈皮素(50 mg/kg)可抑制 5 周龄雌性 ALB/c 小鼠被动皮肤过敏模型的血管通透性,通过抑制磷酸肌醇 3-激酶的活化,发挥抗过敏作用^[41]。川陈皮素(5,10,25 mg/kg 溶于 2% 氢化蓖麻油)或 TAN(5,10,25 mg/kg 溶于 2% 氢化蓖麻油)都能显著抑制组胺(300 μ g/50 μ L)或化合物 48/80(50 μ g/50 μ L)引起的雄性 ICR 小鼠(5 周龄、体重 20~25 g)和雄性 Hartley 豚鼠(体重 270~330 g)的搔痒行为,同时抑制组胺诱导的血管通透性。川陈皮素或橘皮素抑制组织胺刺激的皮肤组织中变应性细胞因子 IL-4 和 TNF- α 的表达及其转录因子 NF- κ B、AP-1 和 p38 的激活^[42]。对于抗 CD3/CD28 抗体刺激雌性 BALB/c 小鼠,3,5,6,7,8,3',4'-庚-羟黄酮(HMF,50 mg/kg)可抑制 T 细胞生长并通过减少的磷酸二酯酶(PDE)活动和增加的 cAMP 浓度从而影响免疫功能^[6]。

肥大细胞或嗜碱性粒细胞活化是由抗原与 IgE 结合到肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的高亲和力 IgE 受体(Fc ϵ RI)上的一个强有力的刺激,是引起 I 型过敏症的重要原因之一。肥大细胞或嗜碱性粒细胞的活化会导致胞质颗粒与血浆膜融合,随后释放出各种颗粒状的介质^[41]。在 20 μ L 抗原(DNP,1 μ g/mL)诱导 RBL-2H3 细胞(嗜碱性白血病细胞系)脱颗粒的模型中,采用川陈皮素(10,25 μ mol/L 溶于 0.5% 二甲基亚砜)或橘皮素(10,25 μ mol/L 溶于 0.5% 二甲基亚砜)预处理可显著抑制蛋白激酶 C(PKC)活性,抑制细胞脱颗粒^[42]。川陈皮素(50 μ mol/L)抑制抗原刺激诱导、钙离子载体 A 23187 和

毒胡萝卜内酯(Ca^{2+} 依赖性 ATP 酶的特异性抑制剂)刺激的 RBL-2H3 细胞和骨髓源肥大细胞脱颗粒。RBL-2H3 细胞被抗原或 A 23187 刺激时,川陈皮素也能抑制细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高,从而以类似于渥曼青霉素的方式发挥抗变态反应活性^[41]。

2.2 治疗在心血管疾病中的作用

流行病学研究^[43-44]表明,经常摄入富含类黄酮的食物可降低心血管疾病的风险。饮食中的 PMFs 已经被证明可以抑制血小板功能,调节脂质代谢,维持血管完整性这可能是降低心血管疾病风险的基础^[45-46]。

2.2.1 抑制血小板功能 血小板活化是在各种配体分子与它们的同源细胞表面受体结合后启动的,这些受体触发细胞内信号级联,导致形状改变、颗粒含量释放、血栓素 $\text{A}_2(\text{TXA}_2)$ 合成和释放以及血栓形成。但是,一些现有抗血栓药物(如阿司匹林和氯吡格雷)受到相关副作用的阻碍,包括严重出血。川陈皮素($12.5 \sim 100.0 \mu\text{mol/L}$)可延长 C57BL/6 小鼠剪尾出血时间,降低蛋白激酶 B (Akt) 和 γ_2 在胶原受体(糖蛋白 VI)刺激途径中的磷酸化,提高 cGMP 水平和血管扩张剂刺激的磷酸化蛋白(一种与抑制性环核苷酸信号有关的蛋白)的磷酸化而抑制血小板功能^[45],有望成为一种更安全、更有效和有针对性的预防血栓形成的药物。

2.2.2 调节脂质代谢 对于与胰岛素抵抗(IR)相关的果糖引起雄性金色叙利亚仓鼠高甘油三酯血症和其他代谢异常,PMF-L 或 PMF-H $[62.5, 125.0 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 41% PMFs 主要为橘皮素和川陈皮素,质量比 1:1]灌胃 4 周能改善高甘油三酯血症,通过调节脂肪细胞因子和过氧化物酶体增长因子活化受体 PPAR α 和 PPAR γ 的活性而发挥作用^[47]。

PMFs 的调节脂质代谢的作用也在细胞研究得到了支持。通过巨噬细胞的清道夫受体(SRs),如外源凝集素-LDL 受体 1(LOX-1),不受控制地摄取氧化低密度脂蛋白(ox-LDL),从而导致动脉粥样硬化。川陈皮素抑制 THP-1 人单核细胞中清道夫受体基因,降低 SR-A、SR-PSOX、CD36 和 CD68,而不是 CLA-1 的 mRNA 表达,导致了对 DiI-acLDL 的封锁,是一种调节动脉粥样硬化的植物化学物质^[48]。橘皮素和川陈皮素可以显著抑制 HepG2 细胞 apoB 分泌(IC_{50} 分别为 $13, 29 \mu\text{mol/L}$),中度抑制 CH 合成(IC_{50} 分别为 $49, 68 \mu\text{mol/L}$) 和 TG 合成(IC_{50} 分别为 $14, 73 \mu\text{mol/L}$),而没有影响 LDL-受体的活性。而其他 PMFs (例如甜橙黄酮)和非多甲氧基黄酮(例如橘皮苷和柚皮素)只是微弱地影响了 CH 和 TG 合成以及 apoB 分泌($IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$)。进一步结构活性分析表明,黄酮类结构的全甲氧基环与肝 apoB 分泌的有效抑制活性有关^[49]。

5-去甲基川陈皮素($5 \sim 20 \mu\text{mol/L}$)显著减少佛波醇

12-十四烷酸 13-醋酸诱导的基因表达和 CD36、清道夫受体 α 和外源凝集素型氧化 LDL 受体-1 的活性。抑制作用在一定程度上与抑制蛋白激酶 C 活性和 c-Jun NH2-端激酶 1/2 磷酸化有关,从而抑制了激活蛋白 1 和 NF- κ B 的激活^[50]。并且,在 HepG2 人类肝癌细胞株中,5-去甲基川陈皮素通过类固醇-反应元素-结合蛋白-2 激活,显著地诱导低密度脂蛋白受体活性和转录^[50]。5-去甲基川陈皮素($5 \sim 20 \mu\text{mol/L}$)具有不同的抗动脉粥样化生物活性,在抑制单核细胞-巨噬细胞分化和泡沫细胞形成方面比川陈皮素更有效^[50]。提示 PMFs 的代谢产物比 PMFs 本体具有更优良的生物学特性,但目前关于 PMFs 的代谢产物其生物学作用的报道并不多,这是未来学者值得探究的。

PMFs 除了直接的调节脂质代谢以外,还可以间接地通过调节昼夜节律、细胞分化而影响脂质代谢。采用 HFD (D12492)诱导 6 周大的雄性老鼠的肥胖模型,在试验期间同时喂养川陈皮素 (200 mg/kg),发现川陈皮素以视黄酸受体相关的孤儿受体作为直接靶点,以时钟基因依赖的方式强烈对抗肥胖小鼠代谢综合征,增加能量消耗和运动活动^[51]。川陈皮素($50 \mu\text{mol/L}$)短时间(15, 60 min)处理可增加 PER 2;Luc 荧光素酶小鼠胚胎成纤维细胞昼夜节律幅值,延长周期,延缓 PER 2;Luc 昼夜节律,说明川陈皮素对昼夜节律紊乱和时差有益的影响^[52]。

川陈皮素($128 \mu\text{mol/L}$)或橘皮素($128 \mu\text{mol/L}$)处理 2 d,可将 3T3-L1 前脂肪细胞分化为细胞内甘油三酯含量较低的脂肪细胞。2 种类黄酮均能促进胰岛素增敏因子脂联素的分泌,但同时降低 3T3-L1 脂肪细胞中胰岛素抵抗因子 MCP-1 的分泌^[53]。川陈皮素($10 \sim 100 \mu\text{mol/L}$, 6 h 或 24 h)通过激活 cAMP/CREB 介导的信号级联,促进 T3-L1 前脂肪细胞的分化和脂解,且呈现剂量和时间的依赖性^[54]。川陈皮素($10 \mu\text{mol/L}$, 11 d)可诱导 ST-13 前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞,促进脂联素蛋白的产生^[55]。

2.2.3 维持血管完整性 川陈皮素对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用,在短暂性大脑中动脉闭塞(τ -MCAO) 8 周龄雄性 Wistar 大鼠(体重 $180 \sim 220 \text{ g}$)再灌注后于 0, 1 h 分别注射川陈皮素(15 mg/kg) 2 次。脑缺血再灌注可引起大鼠脑缺血半球明显的脑损伤,而川陈皮素治疗可明显减少脑梗死体积,抑制脑水肿,机制为川陈皮素治疗可明显抑制中性粒细胞向缺血区的浸润,显著降低缺血半球脑细胞凋亡,说明抗炎和抗凋亡作用可能是川陈皮素的神经保护机制^[56]。

川陈皮素($100 \mu\text{mol/L}$)对血管紧张素 II 诱导的血管原代平滑肌细胞(VSMCs)(VSMCs 是从新生牛的胸主动脉获得)增殖有抑制作用,部分原因在于其对血管平滑肌细胞钙依赖性 JNK 活性的抑制作用,川陈皮素对 JNK 的抑制意味着它在治疗与 VSMCs 生长有关的心血管疾病

方面很有用^[57]。

2.3 治疗在癌症中的作用

2.3.1 动物 川陈皮素对氮氧甲烷(AOM)诱导的大鼠结肠癌发生具有抑制作用。雄性 F344 大鼠皮下注射 AOM(15 mg/kg),每周 1 次,连续 3 周诱导结肠异常隐窝(ACF),大鼠接受含 0.01%或 0.05%川陈皮素的试验饮食,为期 5 周,从第一次服用 AOM 前一周开始。在研究结束时(第 5 周),发现川陈皮素抑制 AOM 诱导 ACF,作用机制为川陈皮素能抑制体外 PGE2 产生和 COX-2 蛋白表达^[58]。类似地,5 周龄雄性 F344 大鼠每周皮下注射 AOM(20 mg/kg)诱导结肠肿瘤,然后被给予含 0.01%或 0.05% 川陈皮素的日粮,为期 34 周,研究结束时,AOM 组结肠腺癌发生率为 67%,0.01% 川陈皮素处理后 AOM 组结肠腺癌发生率为 55%,0.05% 川陈皮素处理后 AOM 组结肠腺癌发生率为 35%^[59]。

抑制血管生成,也称为血管预防,是限制实体肿瘤生长的一种很有前途的策略^[60]。川陈皮素(40 $\mu\text{mol/L}$ 、纯度>98%)能有效地降低体外人卵巢癌细胞株 OVCAR-3 和 A 2780/CP 70,及无胸腺小鼠模型和鸡绒毛尿囊膜(CAM)模型的抗肿瘤活性,其作用机制为 Akt 通路抑制卵巢癌的生长和血管生成^[61]。这些文献都说明 PMFs 具有抗癌症的作用。

2.3.2 细胞

(1) 减少癌细胞增殖、刺激细胞凋亡:DU-145 和 PC-3 分别是具有中、高转移潜能的前列腺癌细胞系,川陈皮素(20~80 $\mu\text{mol/L}$)处理 24 h 可通过 AKT 途径抑制前列腺癌细胞株 PC-3 和 DU-145 的细胞活力^[61]。相同剂量下(0~60 $\mu\text{mol/L}$),5-去甲基川陈皮素对结肠癌细胞 HCT116 和 HT29 生长的抑制作用强于川陈皮素;5-乙酰基-6,7,8,4'-四甲基去橘皮素可诱导 MCF-7 人乳腺癌细胞凋亡,而橘皮素没有这一作用。5-羟基 PMFs 主要涉及的机理为影响细胞增殖和细胞凋亡,p21Cip1/Waf1、CDK-2、CDK-4、phosphor-Rb、Mcl-1、caspases-3、caspases-8 和聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)。但不同的 5-羟基 PMFs 对细胞周期和细胞凋亡的机制有差异,5-羟基-6,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮使 HT29 细胞的细胞周期停留在 G₂/M 期,而 5-羟基-3,6,7,8,3',4'-六甲氧基黄酮停留在 G₀/G₁期^[62]。橘皮素(15 $\mu\text{mol/L}$)和 5-去甲基川陈皮素(15 $\mu\text{mol/L}$)联合应用会产生协同效应,优于橘皮素(30 $\mu\text{mol/L}$)或 5-去甲基川陈皮素(30 $\mu\text{mol/L}$)单独处理的,可使人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞凋亡细胞数量增加,通过升高 caspase-3 活性、降低线粒体膜电位、降低肿瘤坏死因子的生长抑制活性而诱导细胞凋亡^[63]。

(2) 抑制癌细胞的浸润、侵袭和转移:鼻咽癌(NPC)以其颈部淋巴结转移的高发生率而闻名,且预后不良。川陈皮素(10~40 $\mu\text{mol/L}$,12~24 h)显著抑制了 HONE-

1 和 NPC-BM 细胞系的迁移/入侵能力,川陈皮素抑制 MMP-2 的表达,提高金属蛋白酶对组织抑制剂的调节,降低 NF- κ B 和激活蛋白 1(AP-1)信号通路的转录因子^[64]。川陈皮素(1.0~4.5 $\mu\text{mol/L}$,24~48 h)抑制了人胃腺癌高转移性 AGS 细胞的入侵和迁移,作用机制为川陈皮素抑制了 FAK/PI3K/Akt 和小 GTPase 信号通路^[65]。川陈皮素(10~50 $\mu\text{mol/L}$,12 h)是一种新的 CXCR 4 和 MMP-9 表达阻断剂,具有抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞浸润、侵袭和转移的潜力^[66]。对于神经炎症,川陈皮素(20~100 $\mu\text{mol/L}$,纯度 $\geq$ 97%)24 h 处理人类 U87 和 Hs683 神经胶质瘤细胞,抑制有丝分裂蛋白激酶和 AKT/蛋白激酶 B 的途径,并降低细胞周期的正调节因子,从而导致对神经胶质瘤细胞增殖和迁移的抑制^[65]。

上皮间充质转换(EMT)是肿瘤转移的重要细胞过程,在此过程中上皮极化细胞成为能动的间充质细胞^[67-68]。川陈皮素(20~120 $\mu\text{mol/L}$,24 h)通过拮抗 TGF- β 1/Smad3 信号通路抑制人非小 A549 和 H129 细胞肺癌上皮间质转化^[69]。

(3) 降低癌细胞对抗癌药物的耐药性、提高敏化作用:橘皮素有效地逆转 ABCB 1 介导的肿瘤对多种化疗药物的耐药性,橘皮素与紫杉醇共处理可激活细胞凋亡,将细胞周期阻滞在 G₂/M 期,这是因为橘皮素(2.51~7.53 $\mu\text{mol/L}$,48 h)能显著增加 A 2780/T 细胞内阿霉素和氟替克星-2 的积累,减少 ABCB 1 底物在 CaCO₂ 细胞中的外排,而不改变 ABCB 1 的表达,从而降低过表达的癌细胞对化疗药物耐药性^[70]。橘皮素(25~100 $\mu\text{mol/L}$,12~24 h)可降低多药耐药亚系(lov/dx)人结肠癌细胞对阿霉素的耐药性,通过抑制 P-糖蛋白,罗丹明 123 蓄积,促进阿霉素进入细胞核^[23]。与此同时,橘皮素(25~100 $\mu\text{mol/L}$,12~24 h)对耐药细胞具有敏化作用。橘皮素对耐药细胞的毒性大于对敏感癌细胞的毒性。化疗敏感细胞株(Lovo)细胞凋亡诱导活性也高于多药耐药亚系(lov/dx)^[23]。

3 结论与展望

目前关于柑橘 PMFs 生物学的研究主要集中在细胞试验和动物试验上,对于 PMFs 的人群研究和流行病学调查研究并不多,这是因为 PMFs 主要存在于柑橘果皮中,常规饮食很难摄取到。那么 PMFs 优良的生物特性能否应用于临床,这需要学者们将 PMFs 作为一种补充剂,加入到日常饮食中,进行进一步研究。

天然及人工合成的 PMFs 有很多种,但是目前文献仅仅大量报道了川陈皮素和橘皮素的生物学特性,对于其他 PMFs 的研究并不多。一些文献报道,羟基形式的 PMFs 生物学活性更强^[16,21,26,71-73],但遗憾的是只简单讨论了其可能的机制,认为这是因为多羟基进一步赋予多

甲氧基黄酮分子抗氧化、螯合和氧化活性^[74]。PMFs 的生物学活性是优于非多甲氧基黄酮的^[15-16]，非多甲氧基黄酮多以羟基黄酮为主。为什么羟基化的 PMFs 比 PMFs 具有更好的生物学特性，并未得到充分的解释。

总之，柑橘果皮富含的 PMFs 是一种天然的、安全的物质。化学半合成与分子克隆也可作为 PMFs 来源的补充。多甲氧基黄酮有很大的潜力成为治疗人类疾病的有效药物。

参考文献

- [1] Food and Agriculture Organization. Citrus fruit fresh and processed, statistical bulletin 2016[R]. [S.l.]: FAO, 2017.
- [2] 单杨. 现代柑橘工业[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013: 334-378.
- [3] LI Pei-jun, XIA Jin-lan, NIE Zhen-yuan, et al. Pectic oligosaccharides hydrolyzed from orange peel by fungal multi-enzyme complexes and their prebiotic and antibacterial potentials[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 69: 203-210.
- [4] ZHANG Ning, ZHENG Yang, XIANG Shi-zhao, et al. Nobiletin attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, and inflammatory in streptozotocin; induced diabetic cardiomyopathy[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2016, 417(1/2): 87-96.
- [5] WANG Yue, QIAN Jing, CAO Jin-ping, et al. Antioxidant capacity, anticancer ability and flavonoids composition of 35 citrus (*Citrus reticulata* blanco) varieties[J]. Molecules, 2017, 22(7): 1 114-1 133.
- [6] HAMADA Y, NAKAJIMA M, TSUZUKI K, et al. Heptamethoxyflavone reduces phosphodiesterase activity and T-cell growth in vitro[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2017, 174(3/4): 113-120.
- [7] PARKAR N A, BHATT L K, ADDEPALLI V. Efficacy of nobiletin, a citrus flavonoid, in the treatment of the cardiovascular dysfunction of diabetes in rats[J]. Food and Function, 2016, 7(7): 3 121-3 129.
- [8] LI Wei-feng, ZHAO Ruo-qi, WANG Xiu-mei, et al. Nobiletin ameliorated lipopolysaccharide-induced inflammation in acute lung injury by suppression of NF- κ B pathway in vivo, and vitro[J]. Inflammation, 2018, 41(3): 996-1 007.
- [9] NAKAJIMA A, OHIZUMI Y, YAMADA K. Anti-dementia activity of nobiletin, a citrus flavonoid a review of animal studies[J]. Clinical Psychopharmacology and Neuroscience the Official Scientific Journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology, 2014, 12(2): 75-82.
- [10] YABUKI Y, OHIZUMI Y, YOKOSUKA A, et al. Nobiletin treatment improves motor and cognitive deficits seen in MPTP-induced parkinson model mice[J]. Neuroscience, 2014, 259(4): 126-141.
- [11] OKUYAMA S, MORITA M, MIYOSHI K, et al. 3,5,6,7,8,3',4'-Heptamethoxyflavone, a citrus flavonoid, on protection against memory impairment and neuronal cell death in a global cerebral ischemia mouse model[J]. Neurochemistry International, 2014, 70: 30-38.
- [12] MATSUMOTO C, INOUE H, TOMINARI T, et al. Heptamethoxyflavone, a citrus flavonoid, suppresses inflammatory osteoclastogenesis and alveolar bone resorption[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2015, 79(1): 155-158.
- [13] KUROWSKA E M, MANTHEY J A. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(10): 2 879-2 886.
- [14] WHITMAN S C, KUROWSKA E M, MANTHEY J A, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages[J]. Atherosclerosis, 2005, 178(1): 25-32.
- [15] AMAKURA Y, YOSHIMURA M, OUCHI K, et al. Characterization of constituents in the peel of citrus kawachiensis (*kawachibankan*) [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2013, 77(9): 1 977-1 980.
- [16] HUNG Wei-lun, CHANG Wei-shan, LU Wen-chien, et al. Pharmacokinetics, bioavailability, tissue distribution and excretion of tangeretin in rat[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26: 849-857.
- [17] CIRMI S, MAUGERI A, FERLAZZO N, et al. Anticancer potential of citrus juices and their extracts: a systematic review of both preclinical and clinical studies[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 420.
- [18] SWIFT L J. Tetra-O-methylscutellarein in orange peel[J]. Journal of Organic Chemistry, 1965, 30(6): 2 079-2 080.
- [19] SWIFT L J. Thin-layer chromatographic-spectrophotometric analysis for neutral fraction flavones in orange peel juice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1967, 15(1): 99-101.
- [20] OOGHE W C, OOGHE S J, DETAVERNIER C M, et al. Characterization of orange juice (*Citrus sinensis*) by polymethoxylated flavones[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(10): 2 191-2 195.
- [21] LI Shi-ming, WANG Hong, GUO Li-min, et al. Chemistry and bioactivity of nobiletin and its metabolites[J]. Journal of Function Foods, 2014, 6: 2-10.
- [22] LEWIN G, MACIUK A, THORET S, et al. Semisynthesis of natural flavones inhibiting tubulin polymerization, from hesperidin[J]. Journal of Natural Products, 2010, 73(4): 702-706.
- [23] WESOŁOWSKA O, WISNIEWSKI J, SRODAPOMIAN-EK K, et al. Multidrug resistance reversal and apoptosis in-

- duction in human colon cancer cells by some flavonoids present in citrus plants[J]. *Journal of Natural Products*, 2012, 75(11): 1 896-1 902.
- [24] IOANNOU I. Extraction methods of citrus peel phenolic compounds[J]. *Food Reviews International*, 2014, 30(4): 265-290.
- [25] RAMAN G, JAYAPRAKASHA G K, CHO M, et al. Rapid adsorptive separation of citrus polymethoxylated flavones in non-aqueous conditions[J]. *Separation and Purification Technology*, 2005, 45(2): 147-152.
- [26] ZHENG Jin-kai, BI Jin-feng, JOHNSON D, et al. Analysis of 10 metabolites of polymethoxyflavones with high sensitivity by electrochemical detection in high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(2): 509-516.
- [27] UCKOO R M, PATIL B S. Rapid separation method of polymethoxyflavones from citrus using flash chromatography[J]. *Separation and Purification Technology*, 2011, 81(2): 151-158.
- [28] ITOH N, IWATA C, TODA H. Molecular cloning and characterization of a flavonoid-*O*-methyltransferase with broad substrate specificity and regioselectivity from *Citrus depressa*[J]. *Bmc Plant Biology*, 2016, 16(1): 180.
- [29] HE Zhen-xing, LI Xuan-fei, CHEN Hao, et al. Nobiletin attenuates lipopolysaccharide/*D*-galactosamine-induced liver injury in mice by activating the Nrf2 antioxidant pathway and subsequently inhibiting NF- κ B-mediated cytokine production[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14(6): 5 595-5 600.
- [30] ZHANG Ning, WEI Wen-yin, YANG Zheng, et al. Nobiletin, a polymethoxy flavonoid, protects against cardiac hypertrophy induced by pressure-overload via inhibition of NADPH oxidases and endoplasmic reticulum stress[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 42(4): 1 313-1 325.
- [31] LIANG Fu-qiang, FANG Ya-jing, CAO Wei-wei, et al. Attenuation of tert-butyl hydroperoxide (τ -BHP)-induced oxidative damage in HepG2 cells by tangeretin: relevance of the Nrf2-ARE and MAPK Signaling Pathways[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(25): 6 317-6 325.
- [32] MURAKAMI A, KUWAHARA S, TAKAHASHI Y, et al. In vitro absorption and metabolism of Nobiletin, a chemopreventive polymethoxyflavonoid in citrus fruits[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2001, 65(1): 194-197.
- [33] CHOI S Y, KO H C, KO S Y, et al. Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2007, 30(4): 772-778.
- [34] LIM S W, LEE D R, CHOI B K, et al. Protective effects of a polymethoxy flavonoids-rich *Citrus aurantium* peel extract on liver fibrosis induced by bile duct ligation in mice[J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2016, 9(12): 1 158-1 164.
- [35] MORWOOD C J, LAPPAS M. The citrus flavone nobiletin reduces pro-inflammatory and pro-labour mediators in fetal membranes and myometrium: implications for preterm birth [J]. *Plos One*, 2014, 9(9): e108 390.
- [36] HO S C, KUO C T. Hesperidin, nobiletin, and tangeretin are collectively responsible for the anti-neuroinflammatory capacity of tangerine peel (*Citri reticulatae pericarpium*) [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 71(71): 176-182.
- [37] GUO Shan-shan, QIU Pei-ju, XU Guang, et al. Synergistic anti-inflammatory effects of nobiletin and sulforaphane in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(9): 2 157.
- [38] LIN N, SATO T, TAKAYAMA Y, et al. Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2003, 65(12): 2 065-2 071.
- [39] YOSHIGAI E, MACHIDA T, OKUYAMA T, et al. Citrus nobiletin suppresses inducible nitric oxide synthase gene expression in interleukin-1 β -treated hepatocytes [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 439(1): 54-59.
- [40] TANAKA S, SATO T, AKIMOTO N, et al. Prevention of UVB-induced photoinflammation and photoaging by a polymethoxy flavonoid, nobiletin, in human keratinocytes in vivo and in vitro[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2004, 68(3): 433-439.
- [41] ONISHI S, NISHI K, YASUNAGA S, et al. Nobiletin, a polymethoxy flavonoid, exerts anti-allergic effect by suppressing activation of phosphoinositide 3-kinase[J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 6(1): 606-614.
- [42] JANG S E, RYU K R, PARK S H, et al. Nobiletin and tangeretin ameliorate scratching behavior in mice by inhibiting the action of histamine and the activation of NF- κ B, AP-1 and p38 [J]. *International Immunopharmacology*, 2013, 17(3): 502-507.
- [43] BENAVENTEGARCÍA O, CASTILLO J. Update on uses and properties of citrus flavonoids; new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(15): 6 185-6 205.
- [44] HOOPER L, KAY C, ABDELHAMID A, et al. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials[J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2012, 95(3):

- 740-751.
- [45] VAIYAPURIS, ROWETH H, ALI M S, et al. Pharmacological actions of nobiletin in the modulation of platelet function[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2015, 172(16): 4 133-4 145.
- [46] MULVIHILL E E, HUFF M W. Protection from metabolic dysregulation, obesity, and atherosclerosis by citrus flavonoids; activation of hepatic PGC1 α -mediated fatty acid oxidation[J]. *Ppar Research*, 2012, 274(3): 857-142.
- [47] LI R W, THERIAULT A G, AU K, et al. Citrus polymethoxylated flavones improve lipid and glucose homeostasis and modulate adipocytokines in fructose-induced insulin resistant hamsters[J]. *Life Sciences*, 2006, 79(4): 365-373.
- [48] EGUCHI A, MURAKAMI A, OHIGASHI H. Nobiletin, a citrus flavonoid, suppresses phorbol ester-induced expression of multiple scavenger receptor genes in THP[J]. *FEBS Letters*, 2006, 580: 3 321-3 328.
- [49] LIN Y, VERMEER M A, BOS W. Molecular structures of citrus flavonoids determine their effects on lipid metabolism in HepG2 cells by primarily suppressing ApoB secretion[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(9): 4 496-4 503.
- [50] YEN Jui-hung, WENG Ching-yi, LI Shi-ming, et al. Citrus flavonoid 5-demethylnobiletin suppresses scavenger receptor expression in THP-1 cells and alters lipid homeostasis in HepG2 liver cells[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2011, 55(5): 733-748.
- [51] HE B, NOHARA K, PARK N, et al. The small molecule nobiletin targets the molecular oscillator to enhance circadian rhythms and protect against metabolic syndrome[J]. *Cell Metabolism*, 2016, 23(4): 610-621.
- [52] SHINOZAKI A, MISAWA K, IKEDA Y, et al. Potent effects of flavonoid nobiletin on amplitude, period, and phase of the circadian clock rhythm in PER2::LUCIFERASE mouse embryonic fibroblasts[J]. *Plos One*, 2017, 12(2): e0 170 904.
- [53] MIYATA Y, TANAKA H, SHIMADA A, et al. Regulation of adipocytokine secretion and adipocyte hypertrophy by polymethoxyflavonoids, nobiletin and tangeretin[J]. *Life Sciences*, 2011, 88(13/14): 613-618.
- [54] SAITO T, ABE D, SEKIYA K. Nobiletin enhances differentiation and lipolysis of 3T3-L1 adipocytes[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 357(2): 371-376.
- [55] KUNIMASA K, KURANUKI S, MATSUURA N, et al. Identification of nobiletin, a polymethoxyflavonoid, as an enhancer of adiponectin secretion[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2009, 19(7): 2 062-2 064.
- [56] YASUDA N, ISHII T, DAI O, et al. Neuroprotective effect of nobiletin on cerebral ischemia-reperfusion injury in transient middle cerebral artery-occluded rats[J]. *Brain Research*, 2014, 1 559(17): 46-54.
- [57] ZHOU Cheng-hua, WU Xiao-hong, WU Yu-qing. Nobiletin, a dietary phytochemical, inhibits vascular smooth muscle cells proliferation via calcium-mediated c-Jun N-terminal kinases pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2009, 615(1): 55-60.
- [58] KOHNO H, YOSHITANI S, TSUKIO Y, et al. Dietary administration of citrus nobiletin inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats[J]. *Life Sciences*, 2001, 69(8): 901-913.
- [59] SUZUKI R, KOHNO H, MURAKAMI A, et al. Citrus Nobiletin inhibits azoxymethane-induced large bowel carcinogenesis in rats [J]. *Biofactors*, 2004, 21 (1/2/3/4): 111-114.
- [60] KUNIMASA K, IKEKITA M, SATO M, et al. Nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, suppresses multiple angiogenesis-related endothelial cell functions and angiogenesis in vivo[J]. *Cancer Science*, 2010, 101: 2 462-2 469.
- [61] CHEN Jian-chu, CHEN A Y, HUANG Hai-zhi, et al. The flavonoid nobiletin inhibits tumor growth and angiogenesis of ovarian cancers via the Akt pathway [J]. *International Journal of Oncology*, 2015, 46(6): 2 629-2 638.
- [62] QIU Pei-ju, DONG Ping, GUAN Hua-shi, et al. Inhibitory effects of 5-hydroxy polymethoxyflavones on colon cancer cells[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2010, 54: S244-S252.
- [63] AKAO Y, ITOH T, OHGUCHI K, et al. Interactive effects of polymethoxy flavones from citrus on cell growth inhibition in human neuroblastoma SH-SY5Y cells[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2008, 16(6): 2 803-2 810.
- [64] CHIEN S Y, HSIEH M J, CHEN C J, et al. Nobiletin inhibits invasion and migration of human nasopharyngeal carcinoma cell lines by involving ERK1/2 and transcriptional inhibition of MMP-2[J]. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2015, 19(3): 307-320.
- [65] LEE Y C, CHENG T H, LEE J S, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid, suppresses invasion and migration involving FAK/PI3K/Akt and small GTPase signals in human gastric adenocarcinoma AGS cells[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2011, 347(1/2): 103-115.
- [66] BAEK S H, KIM S M, NAM D, et al. Antimetastatic effect of nobiletin through the down-regulation of CXCR4 chemokine receptor type 4 and matrix metalloproteinase-9[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2012, 50(10): 1 210-1 218.
- [67] NIETO M A. Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives [J]. *International Journal of Developmental Biology*, 2009, 53(8/9/10): 1 541-1547.

(下转第 236 页)

- al. Detection of melamine in milk powders using near-infrared hyperspectral imaging combined with regression coefficient of partial least squares regression model [J]. *Talanta*, 2016, 151: 183-191.
- [33] DÉBORA A P Forchetti, RONEI J Poppi. Use of NIR hyperspectral imaging and multivariate curve resolution (MCR) for detection and quantification of adulterants in milk powder [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 76: 337-343.
- [34] 刘宸, 王庆艳, 黄文倩, 等. 拉曼高光谱成像系统中光在奶粉层的穿透深度研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2017, 37(10): 3 103-3 107.
- [35] QIN Jian-wei, CHAO Kuang-lin, MOON S Kim. Simultaneous detection of multiple adulterants in dry milk using macro-scale Raman chemical imaging[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138: 998-1 007.
- [36] 张倩倩, 谭琨. 基于高光谱的牛奶中真蛋白质含量反演[J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(12): 3 436-3 439.
- [37] 赵紫竹, 卫勇, 张乃迁, 等. 基于高光谱的牛奶脂肪质量浓度预测模型建立与评价[J]. *中国乳品工业*, 2018, 46(2): 45-48.
- [38] 赵紫竹, 卫勇, 常若葵, 等. 牛奶中蜡样芽孢杆菌高光谱检测模型构建与分析[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(12): 249-254.
- [39] 刘佳丽, 吴海云, 卫勇, 等. 基于高光谱技术结合纹理特征分析牛奶致病菌[J]. *农技服务*, 2017, 34(5): 1-3.
- [40] DARNAY Livia, KRÁLIK Flóra, OROS Gergely, et al. Monitoring the effect of transglutaminase in semi-hard cheese during ripening by hyperspectral imaging[J]. *Journal of Food Engineering*, 2017, 196: 123-129.
- [41] VASQUEZ Nadya, MAGAN Claudia, OBLITAS Jimmy, et al. Comparison between artificial neural network and partial least squares regression models for hardness modeling during the ripening process of Swiss-type cheese using spectral profiles[J]. *Journal of Food Engineering*, 2018, 219: 8-15.

(上接第 163 页)

- [12] 郑慧, 陈希平, 尤祯丹, 等. 蜂花粉可溶性膳食纤维酶法提取工艺优化及其理化分析[J]. *食品与机械*, 2016, 32(12): 184-188.
- [13] 郑慧, 陈希平, 常新利, 等. 响应面优化蜂花粉可溶性膳食纤维提取工艺[J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(2): 20-24.
- [14] 郑慧, 陈希平, 胡熙, 等. 蜂花粉可溶性膳食纤维碱提工艺[J]. *食品科技*, 2015, 35(9): 222-226.
- [15] ADOM K K, LIU Rui-hai. Antioxidant activity of grains[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2002, 50(21): 6 182-6 187.
- [16] 旷慧, 冯建文, 范倩, 等. 红树莓多酚的组分分析及体外抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2018, 39(3): 83-89.
- [17] 余有贵, 李忠海, 黄国华, 等. 菌质可溶性膳食纤维对肠道菌群体外生长的影响[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(2): 34-38.
- [18] 颜才植, 叶发银, 赵国华. 食品中多酚形态的研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(15): 249-254.
- [19] 左丹, 廖霞, 李瑶, 等. 基于肠道吸收机制的膳食多酚代谢研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(7): 266-271.
- [20] MOSELE J I, MACIÀ A, ROMERO M P, et al. Application of in vitro, gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 14: 529-540.

(上接第 220 页)

- [68] HOU Min-zhi, CHENG Zhi-qiang, SHEN Hong-wei, et al. High expression of CTHRC1 promotes EMT of epithelial ovarian cancer (EOC) and is associated with poor prognosis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34): 35 813-35 829.
- [69] DA Chun-li, LIU Yu-ting, ZHAN Yi-yi, et al. Nobiletin inhibits epithelial-mesenchymal transition of human non-small cell lung cancer cells by antagonizing the TGF- β 1/Smad3 signaling pathway[J]. *Oncology Reports*, 2016, 35(5): 2 767-2 774.
- [70] FENG Sen-ling, YUAN Zhong-wen, YAO Xiao-jun, et al. Tangeretin, a citrus pentamethoxyflavone, antagonizes ABCB1-mediated multidrug resistance by inhibiting its transport function [J]. *Pharmacological Research*, 2016, 110: 193-204.
- [71] LAI C S, HO M H, TSAI M L, et al. Suppression of adipogenesis and obesity in high-fat induced mouse model by hydroxylated polymethoxyflavones[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(43): 10 320-10 328.
- [72] CHAROENSINPHON N, QIU P, PING D, et al. 5-Demethyltangeretin inhibits human nonsmall cell lung cancer cell growth by inducing G₂/M cell cycle arrest and apoptosis[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2013, 57(12): 2 103-2 111.
- [73] ZHENG Jin-kai, SONG Ming-yue, DONG Ping, et al. Identification of novel bioactive metabolites of 5-demethyl-Nobiletin in mice[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2013, 57(11): 1 999-2 007.
- [74] HEIM K E, TAGLIAFERRO A R, BOBILYA D J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, 13(10): 572-584.
- (本文系 2018 年湖南省研究生创新论坛一等奖论文)