

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.04.003

# 基于 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞炎症模型的 榴莲壳多酚抗炎作用及其分子机制

Anti-inflammatory effect and molecular mechanism of durian hull  
polyphenols on LPS-induced RAW 264.7 macrophages

刘文强<sup>1</sup> 张懿玲<sup>2</sup> 熊 华<sup>1</sup> 朱雪梅<sup>3</sup> 孙 永<sup>1</sup>

LIU Wen-qiang<sup>1</sup> ZHANG Yi-ling<sup>2</sup> XIONG Hua<sup>1</sup> ZHU Xue-mei<sup>3</sup> SUN Yong<sup>1</sup>

(1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 333047; 2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004;

3. 大连工业大学食品学院, 辽宁 大连 116034)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 333047,

China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330004, China;

3. Dalian University of Technology Food Institute, Dalian, Liaoning 116034, China)

**摘要:**采用 80% 甲醇溶剂提取榴莲壳中多酚组分, 并测定其总酚和总黄酮含量, 基于体外化学方法和 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症模型, 探究榴莲壳的抗氧化和抗炎活性及其分子机制。结果表明, 榴莲壳提取物富含多酚类化合物, 具有较强的体外抗氧化活性, 且在 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症模型中能降低一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶-2(COX-2)的表达, 减少 NO 和 ROS 的产生, 并降低炎症细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6)在基因和蛋白水平上的表达, 从而展现较强的抗炎活性。其内在的分子机制可能是通过抑制 I $\kappa$ B- $\alpha$  和 p65 蛋白磷酸化, 降低 NF- $\kappa$ B 信号通路的表达, 减少机体的炎症损伤。

**关键词:**榴莲壳; 多酚; 巨噬细胞炎症模型; 抗氧化活性; 抗炎活性; 信号通路

**Abstract:** In this study, polyphenols from Durian hull were extracted by 80% methanol, and their antioxidant and anti-inflammatory activities were investigated based on *in vitro* antioxidant assays and LPS-stimulated RAW 264.7 cells model. The results demonstrated that durian hull extract was rich in polyphenols, it showed strong antioxidant activity *in vitro* and it could reduce the expression level of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cy-

clooxygenase-2 (COX-2), decrease the NO production, and also lower the pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6) at the mRNA and protein levels. At the same time, it can inhibit the phosphorylation of I $\kappa$ B and p65 proteins related to the NF- $\kappa$ B signaling pathway and inhibit the expression of NF- $\kappa$ B, thereby reducing inflammatory damages.

**Keywords:** durian hull; polyphenols; macrophage inflammatory model; antioxidant activity; anti-inflammatory activity; signal pathway

炎症是机体受到损伤或有害刺激后产生的一种适应性反应<sup>[1]</sup>, 与许多疾病的发展联系密切, 包括肝硬化、癌症、糖尿病和动脉粥样硬化等慢性疾病<sup>[2-3]</sup>。许多化学合成药物已被用于预防或治疗炎症, 如非甾体抗炎药物(NSAID), 但这些药物通常有副作用, 如肝毒性、肾病、消化性溃疡、腹泻、呕吐, 并对机体健康产生伤害。研究<sup>[4-6]</sup>表明, 水果中的一些功能性成分能够抑制或缓解机体炎症, 且无毒副作用。而水果中丰富的多酚类化合物, 因其具有优良的抗氧化活性, 能够清除生物体内大量的活性氧自由基, 从而预防疾病的发生<sup>[7-8]</sup>。

榴莲(*Durio zibethinus* Murr.)是东南亚最受欢迎的热带水果之一, 具有极高的营养价值<sup>[9-10]</sup>和独特的口感风味, 由于其外观类似于亚洲国王的荆棘而被称为“热带水果之王”<sup>[10-12]</sup>。榴莲果肉和果壳都含有丰富的生物活性化合物, 如花青素、类胡萝卜素、多酚、黄酮等<sup>[13-15]</sup>。Kanthimathi 等<sup>[16]</sup>研究表明榴莲富含多酚和黄酮化合物, 且对一氧化氮诱导的 MCF-7 细胞增殖具有保护作用。冯健英等<sup>[17]</sup>发现从榴莲中分离出的酚类物质具有显著的

**基金项目:**2018 年江西省科技攻关重点项目(编号: 5511, 20182ABC28010); 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室目标导向资助项目(编号: SKLF-ZZA-201909)

**作者简介:**刘文强, 男, 南昌大学在读硕士研究生。

**通信作者:**孙永(1987—), 男, 南昌大学讲师, 博士。

E-mail: yongsun@ncu.edu.cn

**收稿日期:**2020-03-09

NO 抑制活性。此外,榴莲内皮提取物也具有抗炎活性,能显著抑制 LPS(脂多糖)诱导 RAW 264.7 细胞所产生的 NO 和炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ )的释放<sup>[18]</sup>。目前的研究多集中于榴莲果肉、内皮,而关于榴莲壳的研究相对较少。Na 等<sup>[9, 14]</sup>发现榴莲壳提取物对 DPPH 和 ABTS 自由基具有较高的清除率,且与多酚含量有关。Ho 等<sup>[19]</sup>发现榴莲壳提取物具有抗糖尿病、降血脂、抗增殖活性和抗菌活性。但有关榴莲壳多酚的抗炎作用及其分子机制的研究尚未见报道。试验拟通过测定榴莲壳提取物的总酚、总黄酮含量和抗氧化活性,并基于 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症模型,探究榴莲壳多酚的抗炎作用及其分子机制,旨在为其综合利用和开发新型功能性食品提供依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

ABTS 试剂盒、FRAP 试剂盒、DCFH-DA:中国碧云天生物技术研究所;

四甲基偶氮唑盐(MTT)、氨卡青霉素/链霉素、Trolox、二甲基亚砜(DMSO)、RNA 提取试剂盒:美国 Sigma 公司;

丙酮酸钠、DAEM 完全培养基:美国 Gibco 公司;

小鼠巨噬细胞系 RAW 264.7:中国科学院(上海)细胞库;

蛋白 Marker:全式金生物技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

超净工作台:CB 800 H 型,苏州净化设备工程有限公司;

酶标仪:MK3 型,美国 Thermo 仪器有限公司;

CO<sub>2</sub> 细胞培养箱:CP-ST200A 型,长锦科技有限公司;

荧光定量 PCR 仪:CFX96 型,美国 BIO-RAD 公司;

化学发光成像系统:ChemiDoc XRS 型,美国 BIO-RAD 公司。

### 1.3 方法

1.3.1 榴莲壳提取物的制备 取干净的榴莲壳洗净,分离为榴莲内壳(白色内果壳,也称榴莲皮)和榴莲外壳(黄色外果壳),冷冻干燥,超微粉碎,过 60 目筛。称取榴莲壳粉末 20 g,按料液比 1:30 (g/mL)加入 80% 甲醇,40 °C、超声功率 200 W 超声 20 min,收集上清液,重复 3 次。上清液旋转蒸发浓缩,冷冻干燥,得粗提物[榴莲内壳提取物(DPE)和榴莲外壳提取物(DSE)]。粗提物过 Oasis<sup>®</sup> HLB 6cc (200 mg)纯化柱后冷冻干燥,于-80 °C 冷冻备用。

1.3.2 总多酚、总黄酮含量测量 参照 Sun 等<sup>[20]</sup>的方法。

### 1.3.3 体外抗氧化活力测定

(1) DPPH 自由基清除能力:参照 Sun 等<sup>[20]</sup>的方法。

(2) ABTS 自由基清除能力:参照试剂盒说明书。

(3) Fe<sup>3+</sup> 还原/抗氧化能力(FRAP):参照试剂盒说明书。

1.3.4 细胞培养 小鼠巨噬细胞系 RAW 264.7 在含有 10% FBS 胎牛血清、1% 双抗(链霉素 100 mg/mL、青霉素 100 U/mL)和 90% DMEM 完全培养基中培养。待细胞长满培养瓶后,按体积比 1:3 的稀释比对细胞进行传代培养。

1.3.5 细胞活力测试 在 96 孔板中加入  $8 \times 10^3$  个/孔对数期生长的 RAW 264.7 细胞,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育过夜。加入不同浓度的 DPE (0~500  $\mu$ g/mL) 和 DSE (0~500  $\mu$ g/mL) 处理 24 h,每孔中加入 5 mg/mL MTT 溶液 20  $\mu$ L,培养箱内避光孵育 4 h 后丢弃上层培养基,加入 100  $\mu$ L DMSO 溶解甲醛染料,避光震荡 10 min,用酶标仪于 492 nm 测定处吸光度。

1.3.6 榴莲壳提取物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 分泌量的影响 在 96 孔板中加入  $8 \times 10^3$  个/孔对数期生长的 RAW 264.7 细胞,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育过夜。加入不同浓度的 DPE (10,25,50  $\mu$ g/mL) 和 DSE (10,50,100  $\mu$ g/mL) 处理 2 h,加入终浓度为 1  $\mu$ g/mL 的脂多糖(LPS)溶液,37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h。培养结束后,4 °C、1 000 r/min 离心 5 min,收集上清液,参照一氧化氮(NO)试剂盒说明书,在 96 孔板中加入 50  $\mu$ L 上清液后,加入 50  $\mu$ L Griess A,震荡 1 min,加入 Griess B 继续反应 10 min,于 540 nm 处测定吸光度值,用 NaNO<sub>2</sub> 建立标准曲线,计算样品中亚硝酸钠浓度,从而推算各组细胞培养液中 NO 含量。

1.3.7 榴莲壳提取物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 ROS 的影响 参照 1.2.6 对细胞进行处理,培养结束后,在黑暗条件下加入终浓度为 100  $\mu$ mol/L 的 2', 7'-二氯荧光素二乙酸钠(DCFH-DA)荧光试剂,避光反应 30 min 后,以激发波长 488 nm、发射波长 525 nm 的条件,用荧光酶标仪对细胞中的平均荧光强度进行测定。

1.3.8 榴莲壳提取物对炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-10 分泌量的影响 按 1.3.6 对细胞进行处理,参照酶联免疫吸附剂(ELISA)试剂盒说明书对肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的分泌量进行测定,根据标准曲线,计算各种炎症因子的含量。

1.3.9 实时定量 PCR 在 6 孔板中加入  $5 \times 10^5$  个/孔对数期生长的 RAW 264.7 细胞,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育过夜。加入不同浓度的 DPE (10,25,50  $\mu$ g/mL) 和 DSE (10,50,100  $\mu$ g/mL) 处理 2 h,加入终浓度为 1  $\mu$ g/mL 的 LPS 溶液,37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h。

培养结束后,4 ℃、2 000 r/min 离心 5 min,去上清液,冰浴条件下收集细胞。用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,分装后置于-80 ℃保存备用。引物信息如表 1 所示,使用 CFX96 RT-PCR 检测系统进行检测。

表 1 基因的引物表

Table 1 Related information for the primers

引物名称	正向引物(5-3)	反向引物(5-3)	长度/bp
COX-2	TGAAGCCGTACACATCATTTGAA	TGGTCTCCCCAAAGATAGCATCT	117
iNOS	AATGGCAACATCAGGTCGGCCATCACT	GCTGTGTGTCACAGAAGTCTCGAACTC	198
IL-1 $\beta$	TTGAAGTTGACGGACCCCAA	ATACTGCCTGCCTGAAGCTC	126
IL-6	GAGACTTCCATCCAGTTGCTT	TGGGAGTGGTATCCTCTGTGA	105
TNF- $\alpha$	TGTCTACTCCTCAGAGCCCC	TGAGTCTTGATGGTGGTGC	166
$\beta$ -actin	GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG	ATGCCACAGGATTCCATACC	174

1.3.10 免疫印迹分析 在 6 孔板中加入  $5 \times 10^5$  个/孔对数生长期的 RAW 264.7 细胞,37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育过夜。加入不同浓度的 DPE (50  $\mu$ g/mL) 和 DSE (50  $\mu$ g/mL) 处理 2 h,加入终浓度为 1  $\mu$ g/mL 的 LPS 溶液,37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h。培养结束后,4 ℃、2 000 r/min 离心 5 min,去上清液,冰浴条件下收集细胞。向收集的细胞内分别加入 50  $\mu$ L 的 RIPA 细胞裂解液,4 ℃裂解 30 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 2 min,收集上清液,使用 BCA 蛋白试剂盒测量蛋白质浓度。参照 Miao 等<sup>[1]</sup>的方法,利用化学发光成像系统测量 iNOS、COX-2、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 、p-p65、p65、GAPDH 蛋白条带,以 GAPDH 为标准对条带进行量化。

1.3.11 统计分析 每个样品平行测定 3 次,结果以(均值 $\pm$ 标准偏差)表示。数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行 ANOVA 因素。\* 表示与正常组(NC)相比存在显著性差异(P<0.05),\*\* 表示与正常组(NC)相比存在极显著性差异(P<0.01);# 表示与模型组(LPS)相比存在显著性差异(P<0.05),## 表示与模型组(LPS)相比存在极显著性差异(P<0.01)。

## 2 结果与分析

### 2.1 总酚、总黄酮和体外抗氧化活性

由表 2 可知,DPE 的总酚、总黄酮含量分别为(135.52  $\pm$  4.25) mg GAE/g  $\cdot$  DW,(56.79  $\pm$

0.73) mg CAE/g  $\cdot$  DW,而 DSE 的总酚、总黄酮含量分别为(101.06  $\pm$  3.36) mg GAE/g  $\cdot$  DW,(12.91  $\pm$  0.03) mg CAE/g  $\cdot$  DW。结果表明,榴莲的内皮和外壳都含有丰富的酚类成分。Cui 等<sup>[21]</sup>发现槲皮素能抑制 LPS 诱导的巨噬细胞肿瘤坏死因子的产生,Limtrakul 等<sup>[22]</sup>发现原花青素可以抑制 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞炎症模型中的 NO、IL-6、COX-2 和 iNOS 的产生。此外,榴莲内皮提取物在 LPS(脂多糖)诱导的小鼠 RAW 264.7 细胞模型中能显著抑制 NO 的产生,同时抑制炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  的释放,从而展现出显著的抗炎活性<sup>[18]</sup>。

由表 2 还可知,榴莲壳内皮和外壳均表现出较强的 DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力和 Fe<sup>3+</sup> 金属离子螯合能力,说明榴莲壳提取物具有显著的抗氧化活性,且可能与其多酚含量有关<sup>[23-24]</sup>。因此,榴莲壳可以作为抗氧化剂的优良来源,用以预防机体的氧化损伤。此外,氧化应激与机体炎症密切相关,巨噬细胞在炎症反应过程中会产生大量的自由基离子(NO、ROS)诱导细胞产生氧化应激<sup>[25-26]</sup>。

### 2.2 细胞活力分析

由图 1 可知,DPE、DSE 分别在 10 ~ 50,10 ~ 100  $\mu$ g/mL 浓度下对 RAW 264.7 细胞增殖没有明显抑制效果。因此,选择 DPE (10,25,50  $\mu$ g/mL) 和 DSE (10,50,100  $\mu$ g/mL) 作为后续试验的浓度梯度。

表 2 榴莲壳提取物的总酚、总黄酮含量和抗氧化活性

Table 2 Main antioxidant components and antioxidant activities in durian extract

提取物	总酚/ (mg GAE $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ DW)	总黄酮/ (mg CAE $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ DW)	DPPH/ (mmol Trolox $\cdot$ L <sup>-1</sup> $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ DW)	ABTS/ (mmol Trolox $\cdot$ L <sup>-1</sup> $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ DW)	FRAP/ (mmol FeSO <sub>4</sub> $\cdot$ L <sup>-1</sup> $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ DW)
榴莲壳内皮	135.52 $\pm$ 4.25	56.79 $\pm$ 0.73	1.47 $\pm$ 0.06	0.91 $\pm$ 0.15	2.48 $\pm$ 0.01
榴莲壳外壳	101.06 $\pm$ 3.36	12.91 $\pm$ 0.03	1.30 $\pm$ 0.01	0.44 $\pm$ 0.01	2.38 $\pm$ 0.02

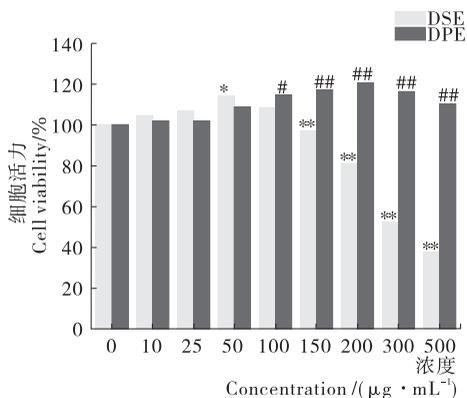


图 1 榴莲壳提取物对 RAW 264.7 巨噬细胞活力的影响

Figure 1 Effect of the durian hull extract on cell viability in RAW 264.7 macrophages

### 2.3 榴莲壳提取物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 和 ROS 的影响

由图 2 可知,模型组的 NO 和 ROS 释放量显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ),表明造模成功。与模型组相比,各浓度 DPE 和 DSE 处理均能显著降低 NO 和 ROS 释放量 ( $P < 0.01$ ),且呈浓度依赖性。据报道<sup>[16]</sup>,榴莲壳提取物能显著降低细胞内 NO 含量,且与其所含的多酚类化合物有关。

### 2.4 榴莲壳提取物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和 IL-6 的影响

由图 3 可知,各浓度 DPE 和 DSE 处理后 IL-1 $\beta$  表达量分别为 85.01~93.27,84.47~88.81 pg/mL,而 IL-6 的表达量分别为 198.13~240.71,173.65~237.30 pg/mL。与模型组相比,DPE 和 DSE 处理对 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的表达均具有显著的抑制作用;当浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,DPE 和 DSE 处理对 TNF- $\alpha$  才表现出明显的抑制效果。据报道<sup>[27]</sup>,榴莲壳提取物处理对 IL-6 和 IL-1 $\beta$  的抑制效果比

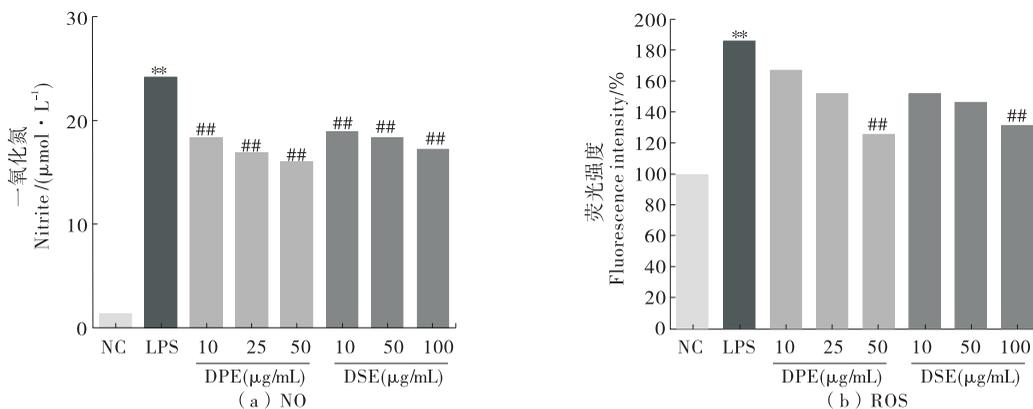
TNF- $\alpha$  更敏感,与试验结果相符。各浓度 DPE 和 DSE 处理对 TNF- $\alpha$  mRNA 表达的抑制率分别为 38.87%~49.01%,34.25%~48.89%;对 IL-1 $\beta$  mRNA 表达的抑制率分别为 59.24%~77.53%,54.78%~70.96%;对 IL-6 mRNA 表达的抑制率分别为 51.62%~67.34%,50.17%~58.14%。结果表明,DPE 和 DSE 处理对 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的基因表达具有很强的抑制作用,可能与其所含的多酚类化合物有关。综上,DPE 和 DSE 处理对细胞炎症因子均有抑制作用 ( $P < 0.01$ ),表明榴莲壳提取物能在蛋白表达和基因转录水平上抑制细胞炎症因子的表达,降低机体炎症反应,从而发挥抗炎作用。

### 2.5 榴莲壳提取物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 iNOS 和 COX-2 的影响

由图 4 可知,模型组显著提高了 iNOS 和 COX-2 mRNA 的表达量 ( $P < 0.01$ )。当处理浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,DSE 对 iNOS 和 COX-2 mRNA 的抑制率分别为 57.25%,32.98%,DPE 对 iNOS 和 COX-2 mRNA 的抑制率分别为 53.81%,30.40%。与模型组相比,DPE 和 DSE 处理对 iNOS 和 COX-2 mRNA 的表达均表现出明显的抑制效果 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比,当处理浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,DSE 对 iNOS 和 COX-2 蛋白的抑制率分别为 18.99%,24.34%,而 DPE 对 iNOS 和 COX-2 蛋白的抑制率分别为 11.11%,16.50%。综上,DSE 和 DPE 在基因和蛋白水平上均对 iNOS 和 COX-2 的表达有显著的抑制效果 ( $P < 0.01$ )。据报道<sup>[28]</sup>,iNOS 和 COX-2 的表达与 NF- $\kappa$ B 信号通路密切相关。

### 2.6 榴莲壳提取物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NF- $\kappa$ B 信号通路的影响

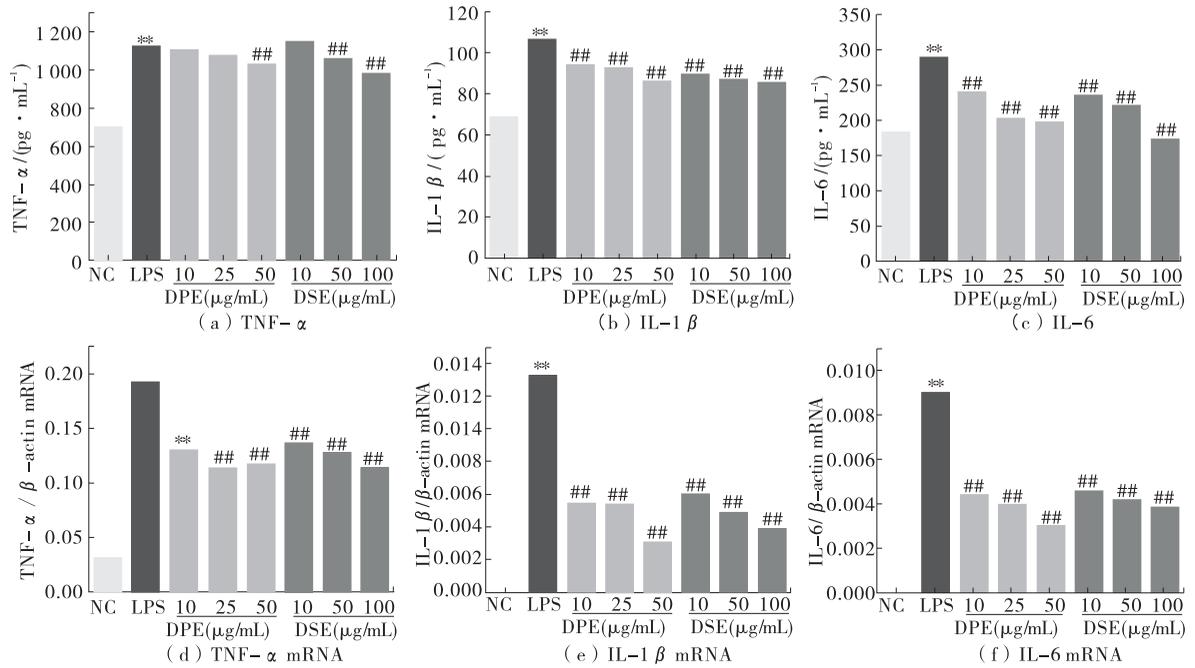
由图 5 可知,随着 LPS 的刺激,模型组的 I $\kappa$ B- $\alpha$  快速磷酸化,导致 p-I $\kappa$ B- $\alpha$  的表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。当处理浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,DPE 和 DSE 处理可显著抑制 I $\kappa$ B- $\alpha$  的磷酸化。LPS 处理诱导 p65 的磷酸化水平显



NC: 空白对照组; LPS: 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 处理组; DPE: 不同浓度 DPE 处理组; DSE: 不同浓度 DSE 处理组

图 2 榴莲壳提取物对 RAW 264.7 巨噬细胞表达的影响

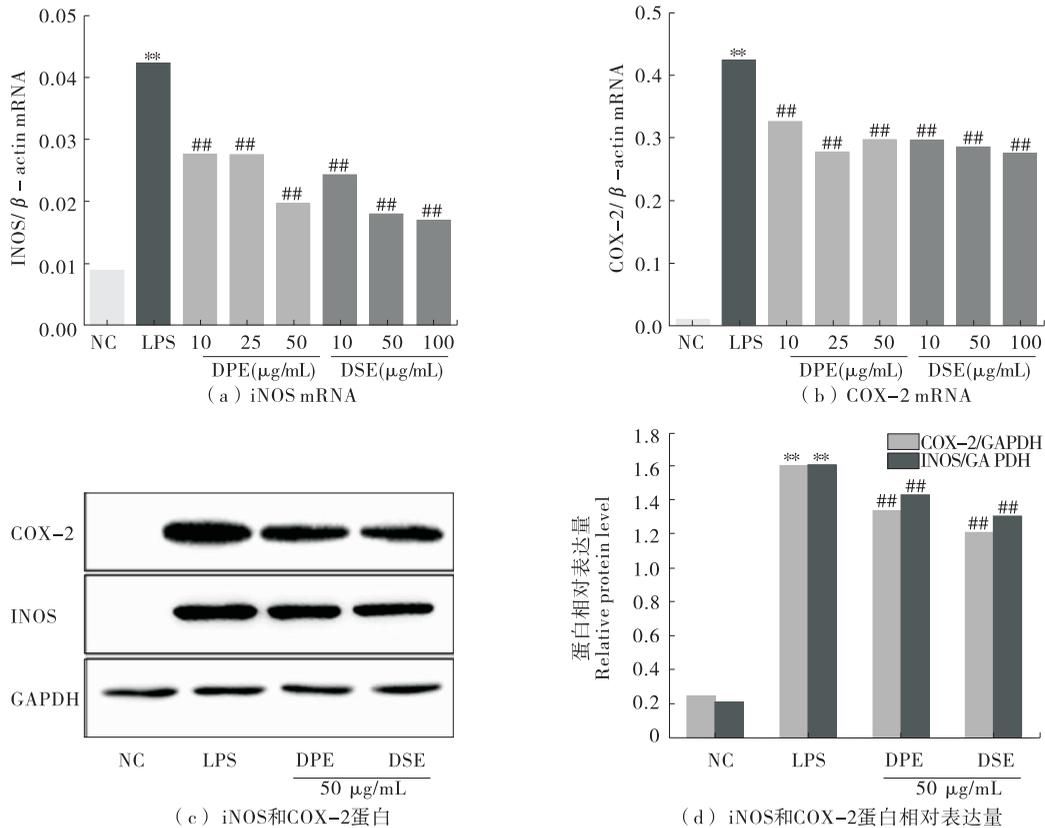
Figure 2 Effect of the durian hull extract on NO production and ROS expression in RAW 264.7 macrophages



NC: 空白对照组; LPS: 1  $\mu$ g/mL LPS 处理组; DPE: 不同浓度 DPE 处理组; DSE: 不同浓度 DSE 处理组

图 3 榴莲壳提取物对 RAW 264.7 巨噬细胞产生的炎症因子表达的影响

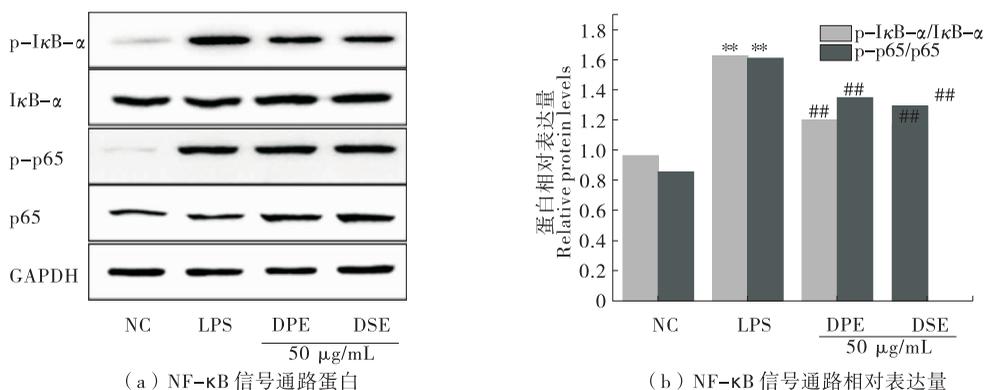
Figure 3 Effect of the durian hull extract on the inflammatory factors expression in RAW 264.7 macrophages



NC: 空白对照组; LPS: 1  $\mu$ g/mL LPS 处理组; DPE: 不同浓度 DPE 处理组; DSE: 不同浓度 DSE 处理组

图 4 榴莲壳提取物对 RAW 264.7 巨噬细胞 mRNA 和蛋白表达的影响

Figure 4 Effect of the durian hull extract on mRNA and protein expression in RAW 264.7 macrophages



NC: 空白对照组; LPS: 1 μg/mL LPS 处理组; DPE: 50 μg/mL DPE 处理组; DSE: 50 μg/mL DSE 处理组  
图 5 榴莲壳提取物对 RAW 264.7 巨噬细胞 NF-κB 信号通路的影响

Figure 5 Effect of durian shell extract of NF-κB signaling pathway in RAW 264.7 macrophages

著上升(P<0.01), 而 DPE 和 DSE 处理可显著抑制其磷酸化水平。结果表明, DPE 和 DSE 处理能降低 IκB-α 和 p65 的磷酸化水平, 从而抑制 NF-κB 信号通路的激活与表达, 为其抗炎活性内在的分子机制。

### 3 结论

基于体外化学和细胞炎症模型, 探究了榴莲壳提取物的总酚、总黄酮含量、抗氧化和抗炎活性及其内在的分子机制。结果表明, 榴莲壳提取物含有丰富的多酚类物质, 表现出较强的体外抗氧化能力, 且能有效抑制 NO 和 ROS 的生成, 发挥抗氧化作用, 从而减少机体的氧化损伤。榴莲壳提取物能在蛋白和基因两个层次上显著抑制 TNF-α、IL-1β、IL-6、iNOS、COX-2 等炎症因子的表达, 发挥抗炎活性, 而其内在的分子机制可能是通过抑制 NF-κB 信号通路相关蛋白 IκB-α 和 p65 的降解和磷酸化。试验仅初步探讨了榴莲壳提取物的体外抗炎活性及其分子机制, 而有关其多酚类成分的结构表征, 其在体内外的吸收代谢规律及体内抗炎机制值得深入研究。

#### 参考文献

[1] MIAO Ling-chao, TAO Hong-xun, PENG Yu, et al. The anti-inflammatory potential of *Portulaca oleracea* L. (purslane) extract by partial suppression on NF-kappaB and MAPK activation[J]. Food Chemistry, 2019, 290: 239-245.  
[2] MA Qin, JIANG Jian-guo, ZHANG Xi-mei, et al. Identification of luteolin 7-O-β-D-glucuronide from *Cirsium japonicum* and its anti-inflammatory mechanism [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 46: 521-528.  
[3] WU Hong-tan, PANG Hai-yue, CHEN Yu-pei, et al. Anti-inflammatory effect of a polyphenol-enriched fraction from *Acalypha wilkesiana* on Lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018,

2018; 17.  
[4] 施利奇, 张彦青, 戚务勤, 等. 酸枣水提物不同提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(11): 182-190.  
[5] 费鹏, 赵胜娟, 陈曦, 等. 植物多酚抑菌活性、作用机理及应用研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(7): 226-230.  
[6] 于立梅, 赵谋明, 崔春, 等. 山竹壳中原花青素提取分级及抗氧化活性的研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(4): 60-64.  
[7] DUARTE L J, CHAVES V C, NASCIMENTO M, et al. Molecular mechanism of action of Pelargonidin-3-O-glucoside, the main anthocyanin responsible for the anti-inflammatory effect of strawberry fruits[J]. Food Chemistry, 2018, 247: 56-65.  
[8] 吴静姝, 王春燕, 宋照风, 等. 树菠萝壳和榴莲壳总黄酮含量测定与抗氧化活性研究[J]. 佛山科学技术学院学报: 自然科学版, 2014, 32(5): 14-18.  
[9] NA A A, MHD JALIL A M. Bioactive compounds, nutritional value, and potential health benefits of indigenous durian (*Durio Zibethinus* Murr.): A review [J]. Foods, 2019, 8(3): 96.  
[10] 李冬梅, 尹凯丹. 榴莲的保健价值和加工利用[J]. 中国食物与营养, 2009(3): 32-33.  
[11] 张艳玲, 朱连勤, 杨欣欣, 等. 榴莲皮营养组分的检测与评价[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015(7): 138-140.  
[12] 戴玮, 周林, 他维亮, 等. 榴莲的药用价值及综合开发利用[J]. 中国现代中药, 2018, 20(4): 482-488.  
[13] 阮尚全, 周玉萍, 罗雪, 等. 榴莲皮中总黄酮的提取及其抗氧化活性[J]. 内江师范学院学报, 2017, 32(4): 57-62.  
[14] DEMBITSKY V M, POOVARODOM S, LEONTOWICZ H, et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites[J]. Food Research International, 2011, 44(7): 1 671-1 701.  
[15] 洪军, 胡建业, 张侠, 等. 榴莲果皮中黄酮的抗氧化及抗菌活性[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(6): 41-43.

(下转第 50 页)

- [12] 张驰, 商龙臣, 吴少魏, 等. 载亚硒酸钠壳聚糖微球的制备、表征及缓释性能研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 39-44.
- [13] ZHANG Jin-song, GAO Xue-yun, ZHANG Li-de, et al. Biological effects of a nano red elemental selenium[J]. Biofactors, 2001, 15(1): 27-38.
- [14] KONG Hui-ling, YANG Ji-xin, ZHANG Yi-feng, et al. Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65(8): 155-162.
- [15] YANG Fang, TANG Quan-ming, ZHONG Xue-yun, et al. Surface decoration by Spirulina polysaccharide enhances the cellular uptake and anticancer efficacy of selenium nanoparticles[J]. International Journal of Nanomedicine, 2012, 7(1): 835-844.
- [16] XIE Zheng-jun, HUANG Jun-rong, XU Xue-ming, et al. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2008, 111(2): 370-376.
- [17] 郑善元, 陈填烽, 郑文杰, 等. 单丛茶水提物清除 DPPH 和 ABTS 自由基的光谱学研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(9): 2 417-2 423.
- [18] YEN Gow-chin, CHEN Hui-yin. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(1): 27-32.
- [19] 郭雪峰, 岳永德, 汤锋, 等. 用清除超氧阴离子自由基法评价竹叶提取物抗氧化能力[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(8): 1 823-1 826.
- [20] YAN Xiao-jia, ZHANG Xin-lu, MCCLEMENTS D J, et al. Co-encapsulation of epigallocatechin gallate (EGCG) and curcumin by two proteins-based nanoparticles; Role of EGCG[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(48): 13 228-13 236.
- [21] ZHANG Jin-song, WANG Hua-li, BAO Yong-ping, et al. Nano red elemental selenium has no size effect in the induction of seleno-enzymes in both cultured cells and mice[J]. Life Sciences, 2004, 75(2): 237-244.
- [22] JIA Xue-wei, LIU Qin-ye, ZOU Si-wei, et al. Construction of selenium nanoparticles/ $\beta$ -glucan composites for enhancement of the antitumor activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117(2): 434-442.
- [23] SZENTKUTI L. Light microscopical observations on luminally administered dyes, dextrans, nanospheres and microspheres in the pre-epithelial mucus gel layer of the rat distal colon[J]. Journal of Controlled Release, 1997, 46(3): 233-242.
- [24] CHEN Ling-yun, REMONDETTO G E, SUBIRADE M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems[J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(5): 280-283.
- 
- (上接第 20 页)
- [16] JAYAKUMAR R, KANTHIMATHI M S. Inhibitory effects of fruit extracts on nitric oxide-induced proliferation in MCF-7 cells[J]. Food Chemistry, 2011, 126(3): 956-960.
- [17] FENG Jian-ying, WANG Yi-hai, YI Xiao-min, et al. Phenolics from durian exert pronounced NO inhibitory and antioxidant activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(21): 4 273-4 279.
- [18] 谢果, 吴敏芝, 成金乐, 等. 榴莲皮提取物抗炎作用研究[J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(1): 130-135.
- [19] HO L H, BHAT R. Exploring the potential nutraceutical values of durian (*Durio zibethinus* L.): An exotic tropical fruit[J]. Food Chem, 2015, 168: 80-89.
- [20] SUN Yong, LI Hong-yan, HU Jiang-ning, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolics in Tetra-stigma hemsleyanum and their antioxidant and antiproliferative activities[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(44): 10 507-10 515.
- [21] CUI Shua-na, WU Qing-qing, WANG Juan, et al. Quercetin inhibits LPS-induced macrophage migration by suppressing the iNOS/FAK/paxillin pathway and modulating the cytoskeleton[J]. Cell Adh Migr, 2019, 13(1): 1-12.
- [22] LIMTRAKUL P, YODKEEREE S, PITCHAKARN P, et al. Anti-inflammatory effects of proanthocyanidin-rich red rice extract via suppression of MAPK, AP-1 and NF-kappaB pathways in Raw 264.7 macrophages[J]. Nutr Res Pract, 2016, 10(3): 251-258.
- [23] ISABELLE M, LEE B L, LIM M T, et al. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore[J]. Food Chemistry, 2010, 123(1): 77-84.
- [24] GORINSTEIN S, POOVARODOM S, LEONTOWICZ H, et al. Antioxidant properties and bioactive constituents of some rare exotic Thai fruits and comparison with conventional fruits[J]. Food Research International, 2011, 44(7): 2 222-2 232.
- [25] CACHOFEIRO V, GOICOCHEA M, DE VINUESA S G, et al. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease [J]. Kidney Int Suppl, 2008, 111: S4-S9.
- [26] 王敏, 刘保林, 国旭丹. 槲皮素及其代谢物抑制氧化应激与炎症[J]. 食品科学, 2013, 34(15): 263-267.
- [27] JIANG Fan, GUAN Hai-ning, LIU Dan-yi, et al. Flavonoids from sea buckthorn inhibit the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW 264.7 macrophages through the MAPK and NF-kappaB pathways[J]. Food Funct, 2017, 8(3): 1 313-1 322.
- [28] XIE Zheng-lu, WANG Yang, HUANG Ju-qing, et al. Anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Phellinus linteus* by regulating the NF-kappaB translocation in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 61-67.