刺玫果黄酮及皂苷成分的抗氧化和抗衰老活性研究

宋德幸,姜建国

(华南理工大学食品科学与工程学院,广东广州 510640)

摘要:本研究选用 DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除率、铁离子还原力和总还原力四种体外检测体系,发现刺玫果黄酮和皂苷成分具有较强的抗氧化能力,且呈一定的剂量依赖效应。各浓度的样品对 ABTS 自由基清除作用效果均优于 Vc。其中 30% C 醇洗脱的刺玫果皂苷成分,在 200 μg/mL 时的清除率已达到 98.78%; 800 μg/mL 时,50% C 醇洗脱的刺玫果皂苷的 DPPH 自由基清除率达到了 91.88%,非常接近 Vc;黄酮和皂苷成分对铁离子的还原力均高于 1.50,接近 Vc 的 1.72; 30% C 醇洗脱的皂苷成分,总还原力为 2.07 接近 Vc 的 2.28; 通过衰老模型下的 HaCaT 细胞修复实验,发现刺玫果的黄酮和皂苷成分具有较好的抗衰老活性,可以修复受损伤的细胞形态,并提高其存活率,且呈现出一定的剂量依赖性。800 μg/mL 时,四个样品(30% C 醇洗脱的黄酮、50% C 醇洗脱的黄酮、30% C 醇洗脱的皂苷、50% C 醇洗脱的皂苷)的修复率分别为为 371.94%、394.39%、392.35%、399.83%,均接近 Vc的 404.25%。

关键词: 刺玫果; 黄酮; 皂苷; 抗氧化; 抗衰老

文章篇号: 1673-9078(2019)010-110-115

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.10.016

Antioxidant and Anti-aging Activity of the Flavonoids and Saponins from

Rosa davurica Pall

SONG De-xing, JIANG Jian-guo

(College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this study, the flavonoids and saponins from *Rosa davurica* Pall were found to have strong antioxidant capacity and exhibit dose-dependence to some extent in DPPH free radical scavenging assay, ABTS free radical scavenging assay, ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay, and total reducing power assays. The test samples at all the examined concentrations exhibited higher ABTS free radical scavenging rate than Vc, among which the saponin components in the 30% ethanol-eluted fraction (at 200 μg/mL) had an ABTS scavenging rate of 98.78%; At 800 μg/mL, the saponins in the 50% ethanol-eluted fraction had a DPPH free radical scavenging rate of 91.88% (which was very close to that for Vc). In FRAP assay, the reducing power of the flavonoids and saponins was higher than 1.50 which was very close to that for Vc (1.72). The total reducing power of the saponin components in the 30% ethanol-eluted fraction was 2.07 (which was close to that for Vc 2.28). In the aging model based on HaCaT cell repair, the flavonoids and saponins from *Rosa davurica* Pall were found having good anti-aging activity, and could repair the morphology of damaged cells, increased their survival rate, and showed dose-dependence to some extent. At 800 μg/mL, the repair rate of the four test samples (the 30% ethanol-eluted flavonoids, 50% ethanol-eluted flavonoids, 30% ethanol-eluted saponins, and 50% ethanol-eluted saponins) were 371.94%, 394.39%, 392.35%, and 399.83%, respectively, which were all close to that for Vc (404.25%).

Key words: Rosa davurica Pall; flavonoids; saponins; antioxidant; anti-aging

刺玫果(Rosa davurica Pall)为蔷薇科蔷薇属小灌木的果实,果实呈橙红色,球形,味道酸甜。是中国高等植物之一,也是药食同源植物中的一种。刺玫果被欧洲各国视为"治疗坏血病特效药";有"维生素记录保持者"之称。广泛分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、山西等地,在我国具有极其丰富的资

收稿日期: 2018-12-12

基金项目: 广州市科技计划项目(201604020150)

作者简介:宋德幸(1994-),女,硕士,研究方向:天然产物

通讯作者:姜建国(1964-),男,博士,教授,研究方向:天然产物

源^[1]。刺玫果中富含黄酮、多糖、鞣质、氨基酸、维生素、皂苷等多种活性物质,已分离鉴定出的有芦丁、金丝桃苷、槲皮素、三萜酸、半乳糖醛酸、齐墩果酸、熊果酸等活性物质^[2,3]。已有研究发现刺玫果有抗氧化、降血压、降血脂、抗衰老、抗肿瘤、保肝、抗辐射、促消化等活性。Jiao 等^[4]通过测定小鼠组织匀浆中的丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,发现刺玫果水提物具有显著的抗脂质过氧化作用。Jung 等通过鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)测定法和乙酸诱导的扭体反

应测定抗血管生成和抗伤害感受活性。使用两种体内小鼠模型评估抗炎活性,乙酸诱导的血管通透性和空气囊中的角叉菜胶诱导的炎症。发现刺玫果叶子的甲醇提取物具有一定的抗炎和抗肿瘤活性^[5]。目前山刺玫果在中医临床上仍以混合物的形式被应用,主要用于消化不良,食欲不振及小儿食积等症及心脑血管疾病的治疗,可见其医用、药用价值还未被充分地开发出来。在国内外对刺玫果的研究相对比较少,对其活性物质的研究也不够深入,本文研究了刺玫果总黄酮和总皂苷提取物的抗氧化和抗衰老活性,以期为刺玫果的进一步开发利用及抗氧化抗衰老活性提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

刺玫果,产自江苏,购买于广州清平药材市场;铁氰化钾,天津市福晨化学试剂厂;三氯乙酸,国药集团化学试剂有限公司;DPPH、ABTS、TPTZ,上海源叶生物科技有限公司;硫酸亚铁,天津市大茂化学试剂厂;HaCaT细胞,中国科学院上海细胞库;MTT,Sigma;细胞培养相关试剂(高糖型DMEM培养基、肽牛血清FBS,PBS磷酸缓冲液,胰蛋白酶,二甲基亚砜,抗坏血酸)均来自美国Gibco公司。

1.2 主要仪器设备

电子天平(FA1204B),上海精密仪器有限公司;电热恒温水浴锅,上海一恒科技有限公司;台式低速离心机(MB-1370),上海安亭科学仪器厂;倒置显微镜(68GD),上海光学仪器六厂;CO₂细胞培养箱(CLM-170B-8-NF),上海博讯实业有限公司医疗设备厂;洁净工作台(XD-550),苏州净化设备有限公司。紫外交联仪(HL-2000),新芝生物科技有限公司;多功能酶标仪(VarioskanFlash),美国 Thermo 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 刺玫果总黄酮的制备

准确称取干燥刺玫果粉末 100 g,使用浓度为 70% 的乙醇,采用 1:30 的料液比进行加热回流提取 3 h,提取物真空抽滤,减压浓缩烘干,得 70%的乙醇粗提物。稀释 70%的乙醇提取物为 500 mL 并过 D101 大孔树脂柱,先后以蒸馏水,10%乙醇,30%乙醇以及 50%乙醇依次洗脱 5 个柱体积。蒸馏水和 10%乙醇洗去样品中的水溶性杂质及酚类物质,30%乙醇以及 50%乙醇洗脱部分为刺玫果黄酮类物质^[6]。抽滤浓缩,65 ℃

烘干后得到干燥刺玫果总黄酮样品。

1.3.2 刺玫果总皂苷的制备

将刺玫果的 70%的乙醇粗提物先后采用氯仿,乙酸乙酯和正丁醇进行萃取,最终得正丁醇提取物。然后将正丁醇提取物稀释至 500 mL 过 D101 大孔树脂柱,先后以蒸馏水,10%乙醇,30%乙醇以及 50%乙醇依次洗脱 5 个柱体积。蒸馏水和 10%乙醇洗去样品中的水溶性杂质及酚类物质。30%乙醇以及 50%乙醇洗脱部分为刺玫果皂苷类物质[7]。抽滤浓缩,65 ℃烘干后得到干燥刺玫果总皂苷样品。

1.3.3 抗氧化活性的测定

采用 ABTS 自由基清除率、DPPH 自由基清除率、 铁离子还原力、总还原力四种体外检测体系来简单研究刺玫果总黄酮和总皂苷样品的抗氧化效果,测定方 法参照文献所述^[8]。样品浓度设置为 25 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL, 阳性对照为 Vc,空自对照为蒸馏水。

1.3.4 抗衰老活性的测定

抗衰老活性实验建立紫外照射对 HaCaT 细胞的 损伤衰老模型,HaCaT 细胞为人永生化表皮细胞(培养条件: 37 ℃、5% CO₂、CM8-1 培养液。CM8-1 培养液: 90% DMEM+10% FBS)。HaCaT 细胞培养方法参照文献所述^[9,10]。HaCaT 细胞的损伤衰老模型: 将培养两天的 HaCaT 细胞紫外辐射处理,采用 90.00 mJ/cm² 的能量处理 HaCaT 细胞,当细胞的增殖抑制率为 50%时,衰老模型建模成功。经过毒性实验测定设置样品浓度为 25 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、400 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、400 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、100 μg/mL、400 μg/mL、400 μg/mL、400 μg/mL、800 μg/mL、400 μg/mL μg/mL、400 μg/mL μg/ml

具体操作如下: 消化处于对数生长期的 HaCaT 细胞(成功建立衰老模型下的细胞),用巴氏滴管轻轻吹打细胞使其均匀,以 8×10⁴ 个/mL 的密度吸取 100 μL 于 96 孔板每个孔中,于 5% CO₂、37 ℃恒温细胞培养箱中培养,1~2 d 后待细胞完全贴壁加入各浓度样品 100 μL,每组设置三个平行。DMEM 完全培养基替代待测样品作为空白对照,Vc 替代待测样品作为阳性对照。细胞继续于培养箱中培养 24 h 后,用 1 mL 注射器吸取并弃去上层培养基。避光加入 DMEM 完全培养基 100 μL 和 5 mg/mL 的 MTT 溶液 20 μL,细胞培养箱中继续培养 24 h,弃去含 MTT 的培养基,加入 150 μL DMSO,震荡 10 min 充分溶解生成的甲瓒结晶,于 490 nm 波长处测定吸光度。

样品对细胞修复效果的计算公式如下: 修复效果 $R/\%=A_{6$ 测样品 $/A_{2}$ 全白对照 $\times 100\%$ 。

当 R>100%,说明样品对细胞损伤起到修复作用; 当 R=100%,说明样品对细胞损伤没有修复作用;当 R<100%,说明样品对细胞起到损伤作用。

1.3.5 统计分析

所有数据为一式三份实验的平均值 \pm SD 偏差,数据分析采用 Origin Pro 8.5 软件,显著性分析为单因素方差分析(One-Way ANOVA)。与空白对照组相比,*p<0.05(统计学意义);**p<0.01(高度统计学意义);***p<0.001(极高度统计学意义)。结果图示中的红线表示 ABTS、DPPH 自由基半数清除率的 IC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 抗氧化效果

2.1.1 ABTS 自由基的清除率

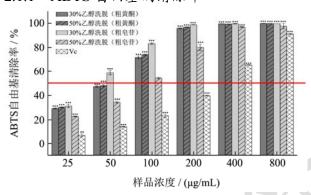


图 1 刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对 ABTS 自由基的清除率 Fig.1 Comparison of ABTS free radical-scavenging activity of

flavonoids and saponins from Rosa davurica Pall and Vc

由图 1 可知,刺玫果黄酮和皂苷成分具有较佳的 ABTS 自由基清除效果,各浓度对 ABTS 自由基的清除率均优于阳性对照 Vc,且在浓度为 200 μg/mL 时已表现出明显的效果。其中 30%乙醇洗脱的刺玫果皂苷成分,在样品浓度为 200 μg/mL 时对 ABTS 自由基的清除率为 98.78%,远远高于同浓度的阳性对照 Vc 的 39.78%。而黄酮成分的 ABTS 自由基清除率也高于 95%,50%乙醇洗脱的皂苷成分在浓度大于等于 400 μg/mL 后,对 ABTS 自由基清除率也高于 95%。其 IC₅₀ 值依次约为 54.26(30%乙醇洗脱的黄酮)、52.63(50%乙醇洗脱的黄酮)、35.08(30%乙醇洗脱的皂苷)、91.15 μg/mL(50%乙醇洗脱的皂苷),侧面说明刺玫果的总黄酮和总皂苷成分具有较好的抗氧化活性。

2.1.2 DPPH 自由基的清除率

如图 2 所示,刺玫果黄酮和皂苷成分对 DPPH 自由基的清除率随着样品浓度的增长而增长,呈现出较优的量效关系。在低浓度时(25~50 μ g/mL)时,均优于阳性对照 Vc,其 IC₅₀ 值依次约为 457.14(30%乙

醇洗脱的黄酮)、302.46(50%乙醇洗脱的黄酮)、200(30%乙醇洗脱的皂苷)、200 μg/mL(50%乙醇洗脱的皂苷),在浓度为800 μg/mL 时,各样品的自由基清除率均高于60%,其中50%乙醇洗脱的刺玫果皂苷成分的清除率为91.88%,接近阳性对照 Vc 的94.20%,表现出较好的 DPPH 自由基清除作用。

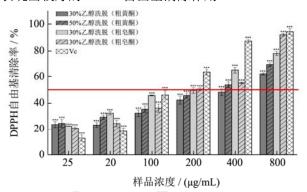


图 2 刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对 DPPH 自由基的清除率 Fig.2 Comparison of DPPH free radical-scavenging activity of flavonoids and saponins from *Rosa davurica* Pall and Vc

2.1.3 铁离子的还原力

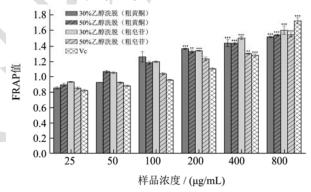


图 3 刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对铁离子的还原力 Fig.3 Comparison of Fe³⁺ reducing activity of flavonoids and saponins from Rosa davurica Pall and Vc

铁离子还原力测定结果见图 3,由图 3 可知,刺玫果的黄酮和皂苷成分对铁离子的还原力在中低浓度时(25~400 μg/mL)均略高于阳性对照 Vc,在高浓度时(800 μg/mL)略低于 Vc,且具有明显的量效关系,样品浓度越高还原力越高。在浓度为 800 μg/mL 时,阳性对照 Vc 的铁离子还原力为 1.72,刺玫果的黄酮和皂苷成分对铁离子的还原力均高于 1.50,其中 30% 乙醇洗脱的皂苷成分的铁离子还原力最高,为 1.60。整体表现出很好的铁离子还原力,说明其抗氧化效果也较优,接近于 Vc。

2.1.4 总还原力

总还原力测定结果见图 4,图 4显示,刺玫果黄酮和皂苷成分的总还原力具有明显的量效关系,在低浓度时(25~100 μg/mL)非常接近阳性对照 Vc,在高

浓度时(800 μg/mL)总还原力效果最好。

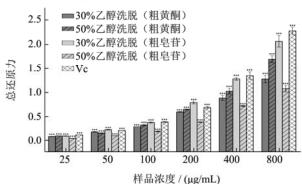


图 4 刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 的总还原力

Fig.4 Comparison of total deoxidizing ability of flavonoids and saponins from *Rosa davurica* Pall and Vc

浓度为 800 μg/mL 时,阳性对照 Vc 的总还原力值为 2.28,样品中效果最好的是 30%乙醇洗脱的皂苷成分,总还原力为 2.07,表现出了较好的总还原力,说明其具有较好的抗氧化活性。其次依次为 50%洗脱的黄酮成分,30%乙醇洗脱的黄酮成分,效果较弱的为 50%乙醇洗脱的皂苷成分,其总还原力值为 1.07。

2.2 抗衰老效果

2.2.1 对衰老模型下 HaCaT 细胞形态的影响

刺玫果总黄酮和总皂苷成分及 Vc 对衰老模型下 HaCaT 细胞形态的影响如图 5 所示,由图 5b 可知,经过 90 mJ/cm²的能量照射细胞后,细胞存活率为 50% 且细胞形态变化较大,而在浓度为 800 μg/mL 时,刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对衰老模型下的受损伤的 HaCaT 细胞均具有很好的修复作用,最终细胞形态可恢复至与正常细胞形态相似。

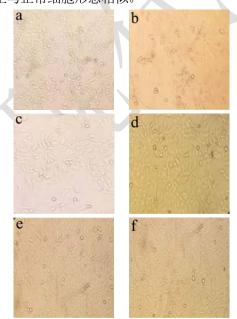




图 5 刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对衰老模型下 HaCaT 细胞形态的影响

Fig.5 Comparison of HaCaT cells morphology in the aging model of flavonoids and saponins from *Rosa davurica* Pall and

V

注: a.正常细胞; b.90 mJ/cm² 照射细胞; c.Vc; d.30%乙醇洗脱的黄酮; e.50%乙醇洗脱的黄酮; f.30%乙醇洗脱的皂苷; g.50%乙醇洗脱的皂苷; 样品及 Vc 浓度均为 800 μg/mL。

2.2.2 对衰老模型下 HaCaT 细胞的修复率

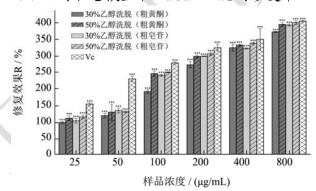


图 6 刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对衰老模型下 HaCaT 细胞的 修复率

Fig.6 Comparison of HaCaT cells repair rate in the aging model of flavonoids and saponins from *Rosa davurica* Pall and Vc

刺玫果黄酮和皂苷成分及 Vc 对衰老模型下 HaCaT 细胞的修复率结果如图 6 所示,在低浓度时 (25~50 μg/mL),刺玫果的黄酮和皂苷成分几乎没有 修复效果,修复率均为 100%左右,且弱于阳性对照 Vc。中高浓度时(100~800 μg/mL)具有明显的量效 关系,即浓度越高,修复效果越好。且效果非常接近 阳性对照 Vc。 当浓度为 800 μg/mL 时, 刺玫果的黄酮 和皂苷成分对衰老模型下 HaCaT 细胞的修复率最高, 其中 50% 乙醇洗脱的皂苷成分的修复率为 399.83%, 30.00%乙醇洗脱的皂苷成分的修复率为 392.35%, 50%乙醇洗脱的黄酮成分的修复率为 394.39%, 均接 近同浓度下的阳性对照 Vc 的修复率 404.25%, 30% 乙 醇洗脱的黄酮成分修复率略低,为 371.94%。总体来 说,刺玫果的黄酮和皂苷成分对处于衰老模型下的 HaCaT 细胞表现出了较好的修复效果,非常接近阳性 对照 Vc, 表现出了较好的抗衰老效果。

3 结论

3.1 通过 DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除率、 铁离子还原力和总还原力四种体外检测体系,发现刺 玫果黄酮和皂苷成分具有较强的抗氧化能力,且呈一 定的剂量依赖效应。在 DPPH 自由基清除实验中, 低 浓度时,样品的清除率均高于 Vc, 当样品浓度为 800 μg/mL 时,各样品的自由基清除率均高于60%,而50% 乙醇洗脱的刺玫果皂苷的自由基清除率达到了 91.88%, 非常接近 Vc; 在 ABTS 自由基清除实验中, 各浓度的样品表现出非常好的 ABTS 自由基清除作 用,在低浓度时远远高于 Vc,高浓度时也优于 Vc。 其中 30% 乙醇洗脱的刺玫果皂苷成分, 在浓度为 200 μg/mL 时对 ABTS 自由基的清除率已达到 98.78%; 在 铁离子还原力实验中,在中低浓度时(25~400 μg/mL) 还原力均略高于 Vc, 在高浓度时(800 µg/mL)略低 于 Vc, 在浓度为 800 μg/mL 时, 黄酮和皂苷成分对铁 离子的还原力均高于 1.50, 非常接近 Vc 的 1.72, 表 现出很好的铁离子还原力; 在总还原力实验中, 低浓 度时(25~100 μg/mL)总还原力非常接近 Vc,在高浓 度时(800 μg/mL)总还原力效果最好。此时,样品中 效果最好的是30%乙醇洗脱的皂苷成分,总还原力为 2.07 接近 Vc 的 2.28, 表现出了较好的总还原力。刺 玫果黄酮和皂苷具有较好的抗氧化活性, 在功能性食 品及膳食补充剂等多个领域具有广阔的应用前景。 3.2 通过衰老模型下的 HaCaT 细胞修复实验,发现 刺玫果的黄酮和皂苷成分具有较好的抗衰老活性,可 以修复受损伤的细胞形态,并提高其存活率,且呈现 出一定的剂量依赖性。在低浓度时(25~50 µg/mL), 刺玫果的黄酮和皂苷成分几乎没有修复效果,800 μg/mL 时,50%乙醇洗脱的皂苷、30%乙醇洗脱的皂 苷、50%乙醇洗脱的黄酮成分的修复率分别为为 399.83%、392.35%、394.39%,均接近 Vc的 404.25%, 30%乙醇洗脱的黄酮成分修复率略低,为 371.94%。 总体来说,刺玫果的黄酮和皂苷成分对处于衰老模型 下的 HaCaT 细胞表现出了较好的修复效果,非常接近

行业和食品行业可能有巨大的潜力。
3.3 皮肤反复暴露于紫外线(UV)照射可以引起各种各样的细胞反应,如炎症、衰老甚至皮肤癌,所以保护皮肤免受慢性紫外线照射对预防皮肤老化以及皮肤疾病非常重要^[12-14]。由 UV 引起的直接 DNA 损伤和 ROS 产生导致各种细胞信号传导途径的激活,其协调地确定 UV 照射后细胞的死亡或存活^[15,16]。由 UV 引起的 ROS 引发的基因突变是皮肤癌的主要原因,而

阳性对照 Vc, 表现出了较好的抗衰老活性, 在护肤品

抗氧化剂可以预防 UV 引起的癌症^[17]。虽然现在对于刺玫果的开发使用多以混合提取物为主^[4,5],但是已经有研究从其提取物中分离出芦丁、金丝桃苷、槲皮素、三萜酸、半乳糖醛酸、齐墩果酸、熊果酸等黄酮类和皂苷类物质^[2,3],可以猜测正是这些物质使得从刺玫果中提取到的总黄酮和总皂苷成分具有良好的抗氧化作用,又可以有效的修复 UV 诱导的 HaCaT 细胞的损伤,阻止了 UV 诱导的细胞凋亡。暗示刺玫果的抗衰老活性可能是通过清除 ROS 来保护细胞的损伤^[17]。且其作为药食同源品种,副作用很小,具有非常好的继续研究的价值。

参考文献

- [1] 何媛媛,陈凡,孙爱东.刺玫果功效及食品开发研究进展[J]. 中国食物与营养,2015,21(6):25-28 HE Yuan-yuan, CHEN Fan, SUN Ai-dong. Research progress on efficacy and food development of *Rosa davurica*
- [2] Huo Y, Gao Y, Mi J, et al. Isolation and simultaneous quantification of nine triterpenoids from *Rosa davurica* Pall.
 [J]. Journal of Chromatographicence, 2017, 55(2): 130

Pall. [J]. Food and Nutrition in China, 2015, 21(6): 25-28

- [3] Kuang H X, Kasai R, Ohtani K, et al. Chemical constituents of pericarps of *Rosa davurica* P., a traditional Chinese medicine [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1989, 37(8): 2232-2233
- [4] Jiao S P, Chen B, Du P G Anti-lipid peroxidation effect of *Rosa davurica* Pall. [J]. Journal of Chinese Integrative Medicine, 2004, 2(5): 364-365
- [5] Jung H J, Sa J H, Song Y S, et al. Anti-inflammatory, anti-angiogenic, and anti-nociceptive activities of the chloroform fraction of a methanol extract from *Rosa* davurica Pall. leaves in experimental animal models [J]. Immunopharmacology & Immunotoxicology, 2011, 33(1): 186-192
- [6] Hu T, He X W, Jiang J G, et al. Efficacy evaluation of a Chinese bitter tea (*Ilex latifolia* Thunb.) via analyses of its main components [J]. Food & Function, 2014, 5(5): 876-881
- [7] Sparg S G, Light M E, Van S J. Biological activities and distribution of plant saponins [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 94(2): 219-243
- [8] Shen C Y, Wang T X, Zhang X M, et al. Various antioxidant effects were attributed to different components in the dried blossoms of *Citrus aurantium* L. var. amara Engl [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(30): 6087-6092
- [9] Boukamp P, Stanbridge E J, Foo D Y, et al. C-Ha-ras

- oncogene expression in immortalized human keratinocytes (HaCaT) alters growth potential in vivo but lacks correlation with malignancy [J]. Cancer Research, 1990, 50(9): 2840-2847
- [10] Schoop V M, Mirancea N, Fusenig N E. Epidermal organization and differentiation of HaCaT keratinocytes in organotypic coculture with human dermal fibroblasts [J]. Journal of Investigative Dermatology, 1999, 112(3): 343
- [11] Jin X, Sun J, Miao X, et al. Inhibitory effect of geraniol in combination with gemcitabine on proliferation of BXPC-3 human pancreatic cancer cells [J]. Journal of International Medical Research, 2013, 41(4): 993-1001
- [12] Autier P, Doré J F, Eggermont A M, et al. Epidemiological evidence that UVA radiation is involved in the genesis of cutaneous melanoma [J]. Current Opinion in Oncology, 2011, 23: 189-196
- [13] Kulms D, Zeise E, Poeppelmann B, et al. DNA damage, death receptor activation and reactive oxygen species

- contribute to ultraviolet radiation-induced apoptosis in an essential and independent way [J]. Oncogene, 2002, 21: 5844-5851
- [14] Krämer M, Sachsenmaier C, Herrlich P, et al. UV irradiation-induced interleukin-1 and basic fibroblast growth factor synthesis and release mediate part of the UV response [J]. Journal of Biological Chemistry, 1993, 268: 6734-6741
- [15] Assefa Z, Van Laethem A, Garmyn M, et al. Ultraviolet radiation-induced apoptosis in keratinocytes: on the role of cytosolic factors [J]. Biochimica Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer, 2005, 1755: 90-106
- [16] Kulms D, Schwarz T. Independent contribution of three different pathways to ultraviolet-B-induced apoptosis [J]. Biochemical Pharmacology, 2002, 64: 837-841
- [17] Hou W, Gao W, Wang D, et al. The Protecting Effect of Deoxyschisandrin and Schisandrin B on HaCaT cells against UVB-induced damage [J]. Plos One, 2015, 10(5): 012177

(上接第 273 页)

- [16] Wei C C, Song Y C, Lin C B et al. Design of a Sun tracking system based on the brightest point in sky image [C] // Third International Conference on Computing Measurement Control & Sensor Network. Matsue, Japan: 2017: 100-103
- [17] 梁菊华,陈宏.一种改进的彩色图像 USM 锐化方法:中国,CN102768758A [P].2012-11-07

 LIANG Ju-hua, CHEN Hong. An improved USM sharpening method for color images: China, CN102768758A [P]. 2012-11-07
- [18] Palankar M, Iamnitchi A, Ripeanu M et al. Amazon S3 for science grids: A viable solution? [C] // 2008: 55-64
- [19] Ebel M, Hulin M. Combining relational and semi-structured databases for an inquiry application. [C] // International Conference on Availability. Springer, Berlin, Heidelberg: 2012: 1-13
- [20] Boicea A, Radulescu F, Agapin L I. MongoDB vs

- oracle-database comparison [C]// The Thirrd International Conference on Emerging Intelligent Data and Web Technologies. Bucharest, Romania: 2012: 21-26
- [21] 任泰明.基于 B/S 结构的软件开发技术[M].西安:西安电子 科技大学出版社,2006 REN Tai-ming. Software Development Technology Based on B/S Structure [M]. Xi'an: Xi'an University of Electronic Science and Technology Press, 2006
- [22] 吕嘉枥,孟雁南,史朝烨,等.基于图像处理技术快速检测茯 砖茶中"金花菌"数量[J].现代食品科技,2018,34(11):220-226,156
 - LYU Jia-li, MENG Yan-nan, SHI Zhao-ye, et al. Rapid detection of the number of "golden flower" fungus in fuzhuan brick tea based on image processing technology [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(11): 220-226, 156

(上接第 291 页)

- [14] 齐亮,赵婕,赵茂程.冷鲜猪肉的新鲜度无损检测技术现状及 THz 检测技术展望[J].食品与机械,2016,32(9):219-224 QI Liang, ZHAO Jie, ZHAO Mao-cheng. Status of nondestructive detection methods on chilled pork freshness and prospect of THz spectrum inspection technique [J]. Food & Machinery, 2016, 32(9): 219-224
- [15] 朱敏,苏博.三维人工视觉图像特征提取仿真研究[J].计算机仿真,2016,33(7):261-264
 - ZHU Min, SU Bo. Three-dimensional artificial visual image feature extraction simulation research [J]. Computer Simulation, 2016, 33(7): 261-264