

茶枝柑皮多糖对H₂O₂诱导人神经细胞U251的保护作用

敬小莉

(达州职业技术学院医学影像检验系, 四川达州 635000)

摘要: 本论文研究了茶枝柑皮多糖 H₂O₂ 诱导人神经细胞 U251 的保护作用。采用酸提法、经纯化后得到茶枝柑皮多糖。建立人神经细胞 U251 细胞损伤模型, 测定细胞增殖率, 采用 0.30 mg/mL、0.60 mg/mL、1.25 mg/mL、2.50 mg/mL 茶枝柑皮多糖干预, 计算细胞存活率, 检测超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽 (GSH) 的含量水平。茶枝柑皮多糖 CPA-I 相对分子质量为 7.96×10^4 , 20、50、180、375 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 细胞增殖率分别为 91.60%、84.40%、60.00%、37.40%、12.30%与对照组比较, 具有统计学差异 ($p < 0.05$)。180.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 导致人神经细胞 U251 损伤的最佳浓度。0.30、0.60、1.25、2.50 mg/mL 茶枝柑皮多糖细胞存活率分别为 64.30%、76.10%、93.40%、98.20%与模型组 53.00%比较, 具有统计学差异 ($p < 0.05$)。2.50 mg/mL 茶枝柑皮多糖对细胞损伤模型干预的效果最明显, 抗氧化作用最强。茶枝柑皮多糖对 H₂O₂ 诱导人神经细胞 U251 具有一定的保护作用, 通过调控 SOD、GSH-Px、GSH、MDA 水平起到抗氧化作用。

关键词: 茶枝柑皮多糖; 分离; 纯化; 抗氧化作用

文章篇号: 1673-9078(2020)04-39-45

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.006

Protective Effect of Tea Branch Orange Peel Polysaccharide on Human Neural Cell U251 Induced by H₂O₂

JING Xiao-li

(Dazhou Vocational and Technical College, Department of Medical Image Inspection, Dazhou 635000, China)

Abstract: In this work, the protective effect of tea branch orange peel polysaccharide H₂O₂ on human neural cell U251 was investigated. The polysaccharide was extracted by acid method and further purified. To The injury model of human neural cell U251 was established to detect the cell proliferation rate. The cell survival rate was calculated and the content of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-PX) and glutathione (GSH) were measured by the intervention of 0.30 mg/mL, 0.60 mg/mL, 1.25 mg/mL and 2.50 mg/mL tea branch orange peel polysaccharide. The relative molecular weight of cpa-i was 7.96×10^4 . The proliferation rate of 20, 50, 180 and 375 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ cells were 91.60%, 84.40%, 60.00%, 37.40% and 12.30% respectively, which was statistically different from that of the control group ($p < 0.05$). The optimal concentration of H₂O₂ (180.0 $\mu\text{mol/L}$) for the injury of U251 cells. The cell survival rates of 0.30, 0.60, 1.25 and 2.50 mg/mL tea branch orange peel polysaccharide cells were 64.30%, 76.10%, 93.40% and 98.20%, respectively, which were higher than that of the model group (53.00%, $p < 0.05$). The 2.50 mg/ml tea branch orange peel polysaccharide had the most obvious effect on cell injury model, and the strongest antioxidant effect. Tea branch orange peel polysaccharide had a certain protective effect on human neural cell U251 induced by H₂O₂, and played an antioxidant role by regulating the levels of SOD, GSH Px, GSH and MDA.

Key words: tea branch citrus peel polysaccharide; isolation; purification; antioxidant activity

引文格式:

敬小莉.茶枝柑皮多糖对 H₂O₂ 诱导人神经细胞 U251 的保护作用[J].现代食品科技,2020,36(4):39-45

JING Xiao-li. Protective effect of tea branch orange peel polysaccharide on human neural cell U251 induced by H₂O₂ [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 39-45

茶枝柑皮是茶枝柑成熟的果皮, 是广东道地药材广陈皮主要的来源, 是一种药食两用的中药品种, 经

收稿日期: 2019-11-12

基金项目: 四川省科技扶贫项目 (2018NFP0112)

作者简介: 敬小莉 (1985-) 女, 讲师, 研究方向: 中药品种质量与资源开发的教学、科研

过我国卫生部认可。茶枝柑皮主要成分是挥发油, 还包括黄酮类化合物, 果胶多糖也较为丰富。多糖的生理活性较为广泛, 具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤等多种作用, 现代药理学指出, 柑橘果胶多糖具有调节血脂的功效, 能对机体胆固醇吸收产生影响, 促进胆汁酸分泌^[1,2]; 在肿瘤的生长、转移方面具有一定的预防

作用,能抑制癌细胞增殖,并且对脂多糖 LPS 诱导的炎症反应具有诱导作用^[3]。多糖活性受其结构、植物来源、成熟程度、提取工艺、组织部位等因素的影响^[4]。目前已有研究证实,茶枝柑皮多糖体外抗氧化作用显著^[5]。

拥有丰富含量的多糖类物质已被证明具有抗氧化等活性,但由于分子质量分布宽广,分子结构复杂多变,不易控制质量等因素都限制了多糖在药品和保健食品等领域的开发和应用^[6,7]。氧自由基作用于生物大分子,破坏细胞结构,例如帕金森病、阿尔茨海默症以及冠状动脉粥样硬化等疾病的引起与细胞受自由基、活性氧、脂质过氧化物等氧化应激导致的功能异常存在密切的关系^[8]。

目前研究显示,中枢神经退行性疾病主要与患者衰老有关,帕金森病、阿尔茨海默病的发病机制与自由基紧密相关,神经细胞 U251 在分化后其细胞形态、功能主要体现典型的神经元特征,在研究神经元损伤机制中发挥着重要作用^[9]。 H_2O_2 属于一种细胞氧化应激诱导剂,在实验研究中较为常用,在细胞建立氧化应激模型建立中发挥着重要作用^[10]。多糖分子主链柔韧性和螺旋构象与其生物活性有密切关系,经纯化后多糖的螺旋立体构型发生变化,也会导致抗氧化活性的下降或消失。本文旨在研究茶枝柑皮多糖 H_2O_2 诱导神经细胞 U251 的保护作用,为临床应用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料

茶枝柑皮于 2016 年 9 月采于广东省翁源县,采摘果实后将成熟果皮干燥即得。茶枝柑皮切成与基部相连的 3 瓣,并且瓣片的边缘有反卷,其表面有凹孔状油室,并且分布密集均匀,对光进行照射发现油室孔眼清晰透亮,质地柔软,不容易折断,清香,味甘微辛。人神经细胞 U251,上海细胞库。

1.2 主要仪器设备

丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH)试剂盒,南京建成生物工程研究所;酶标仪,美国 Bio-Tek 公司。

1.3 主要试剂

DMEM 培养基、胎牛血清, Hyclone 公司; MTT

试剂,康龙科技有限公司。

1.4 方法

1.4.1 茶枝柑皮多糖提取和制备

称取干燥的茶枝柑皮粉 2.5 kg,使用 60 目筛,加入无水乙醇 25 L,在 60 °C 下进行水浴回流,连续提取 2 次,每次时间为 2 h,将滤渣挥干后,加 30 倍体积 pH 4 的盐酸水溶液,在 90 °C 下水浴,连续提取 2 次,每次时间为 90 min,之后将提取液合并,通过旋蒸,将其浓缩到 1/3 体积,再次加入 4 倍体积的 95% 乙醇,在 4 °C 环境静置,并进行过夜保存,最后进行离心处理,得到多糖沉淀,真空干燥后得到茶枝柑皮粗多糖(CCP)。

1.4.2 茶枝柑皮粗多糖分离纯化

1.4.2.1 离子交换树脂脱色

称取适量的茶枝柑皮粗多糖(CCP),配成 2 mg/mL 的溶液,之后加入 8 g/100 mL D-201 阴离子进行树脂交换,在恒温振荡器中采用 75 r/min, 40 °C 环境进行脱色处理 2 h,过滤处理后,在滤液中得到脱色多糖溶液。

1.4.2.2 Sevag 法除蛋白

取适量的脱色多糖溶液,加入 1/3 体积氯仿-正丁醇混合液(体积比为 4:1),充分振荡时间为 30 min,使用分液漏斗进行静置分层,其中间层是变性蛋白层,下层是氯仿-正丁醇混合液,对上清多糖溶液层进行收集,重复 6 次操作,然后将上清液透析、浓缩、冷冻、干燥,最后得到茶枝柑皮纯化多糖 (CP)。

1.4.2.3 茶枝柑皮多糖分离纯化

参考文献^[11]称取 1.0 g 茶枝柑皮纯化多糖,加入 50 mL 的 Tris-HCl 溶液 (0.05 mol/L) 进行溶解,上样于平衡好的 DEAE-Sepharose Fast Flow 层析柱(参数设置 2.6 cm×60 cm),按顺序加入 Tris-HCl (0.05 mol/L)、NaCl (0.075 mol/L)、NaCl (0.1 mol/L)、NaCl (0.125 mol/L) 进行洗脱,其流速设置为 1.0 mL/min,采用分步收集,每试管中为 15 mL。之后采用苯酚-硫酸法对收集到的组分进行检测,即 A、B、C、D 4 个组分。B 组分上 Sephadex G-100 柱纯化 (2.0 cm×100 cm),其流速设置为 0.5 mL/min,对多糖组分进行收集,得到茶枝柑皮多糖 (CPA-I)。

1.4.2.4 茶枝柑皮多糖(CPA-I)单糖组成分析

茶枝柑皮多糖水解完成后,进行单糖衍生物制备:1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (PMP) 使用前用纯甲醇重蒸。取各对照单糖适量、多糖水解液各 500 μ L 在具塞试管中,依次加入 500 μ L PMP-甲醇溶液(0.5 mol/L)和 NaOH 溶液(0.3 mol/L),混匀,70 °C 水浴反应 40

min, 取出放置 10 min 冷却至室温, 再加入 500 μL 0.3 mol/L HCl 中和, 混匀后再加入 500 μL 氯仿涡旋萃取、离心, 重复 3 次, 弃下层有机相, 上层水相经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 进行液相色谱分析。

1.4.2.5 茶枝柑皮多糖(CPA-I)的相对分子质量检测

将已知相对分子质量的葡聚糖标准品分别用流动相配制成 1.0 mg/mL 溶液, 进样量为 20 μL , 将标准葡聚糖相对分子质量的对数(lgMw)对洗脱体积进行回归处理, 得到葡聚糖标准曲线。将茶枝柑皮多糖(CPA-I)配制成 1.0 mg/mL 的溶液, 进样 20 μL , 测定多糖样品的保留时间, 利用标准曲线求出多糖相对分子质量。进行色谱条件分析。

1.4.3 细胞培养

将复苏人神经细胞 U251 在 10% 的胎牛血清 RPMI-1640 培养基中进行培养, 温度为 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% 的 CO_2 饱和湿度, 每间隔 2 d 换一次培养基, 使用 0.20 μm 微孔滤膜对细菌进行过滤, 维持细胞生长状况, 当细胞贴壁达到 80% 后, 使用 0.25% 的胰蛋白酶对人神经细胞 U251 进行消化和传代。

1.4.4 细胞损伤模型建立

将生长状况较好的人神经细胞 U251 配置成细胞悬液, 其密度为 1×10^5 在 96 孔细胞培养板中进行接种, 在温度为 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% 的 CO_2 饱和湿度中进行培养, 等到细胞贴壁达到 80% 后, 将培养液摒弃, 加如不同浓度的 H_2O_2 (20 $\mu\text{mol/L}$ 、50.0 $\mu\text{mol/L}$ 、90.0 $\mu\text{mol/L}$ 、180.0 $\mu\text{mol/L}$ 、375.0 $\mu\text{mol/L}$)。每个浓度选择 10 个复孔, 连续培养 4 h。

1.4.5 细胞增殖率检测

将上清液吸弃后, 每孔中加入 100 μL DMSO, 将甲臞结晶进行充分溶解。使用漩涡进行震荡数次, 采用倒置显微镜观察到紫色结晶已经全部溶解, 调零孔为空白对照组, MTT 法测定 570 nm 波长处每孔中的 OD 值, 细胞存活率 = (损伤组 OD 值/正常组 OD 值) $\times 100\%$ 。确定导致人神经细胞 U251 损伤的最佳浓度。

1.4.6 茶枝柑皮多糖干预

将生长状况较好的人神经细胞 U251 在 96 孔细胞培养板中进行接种、培养 24 h, 多糖组先加入 10% 的 FBS DMEM 多糖溶液, 确定浓度: 0.30 mg/mL、0.60 mg/mL、1.25 mg/mL、2.50 mg/mL 培养 24 h 后加入 180.0 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 , 干预 6 h, 对照组在 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% 的 CO_2 饱和湿度中进行培养 24 h; 模型组加入 180.0 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 在 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% 的 CO_2 饱和湿度中进行培养 24 h; 茶枝柑皮多糖组分别加入 0.30 mg/mL、0.60 mg/mL、1.25 mg/mL、2.50 mg/mL 进行培养, 采用 MTT 计算细胞存活率。

1.4.7 抗氧化相关指标检测

过氧化脂质降解产物中 MDA 与硫代巴比妥酸长沙缩合, 产生红色产物, 532 nm 处显示最大吸收峰, 采用硫代巴比妥酸比色分析法检测 MDA 水平。黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 活性。使用 ELISA 双抗体夹心法检测 GSH-Px、GSH 水平。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 三组数据比较采用 F 值检验, 两组间比较采用独立样本 t 检验, $p < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 茶枝柑皮多糖分离和纯化

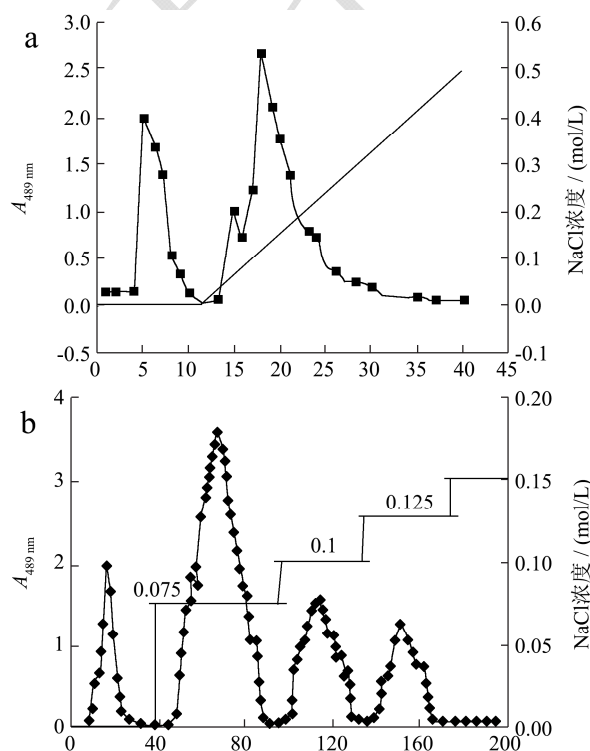


图1 茶枝柑皮多糖洗脱图

Fig.1 Elution map of polysaccharide from the peel of Chazhi orange

注: 图 a 茶枝柑皮多糖线性梯度洗脱; 图 b 茶枝柑皮多糖分步梯度洗脱。

经脱色、脱蛋白处理, 茶枝柑皮多糖为淡黄色丝状固体, 易溶于缓冲溶液, 不溶于乙醇、乙醚等有机溶剂。DEAE-Sepharose F.F 柱层析 0~0.5 mol/L NaCl 线性洗脱浓度, 根据线性洗脱曲线尝试进行分步洗脱。研究结果显示, 茶枝柑皮纯化多糖 CP 在低于 0.5 mol/L NaCl 浓度, 已完全洗脱下来。通过分步梯度洗脱

Tris-HCl 和 0.075、0.1、0.125 mol/L NaCl 分离得到 4 个组分, 0.075 mol/L NaCl 洗脱组分 B 的量最多, 将 B 组分按相对分子质量大小进行凝胶柱层析纯化, 得到茶枝柑皮多糖 CPA- I。

2.2 茶枝柑皮多糖 (CPA- I) 相对分子质量

采用标准葡聚糖相对分子质量的对数 lgMw 对洗脱体积进行回归分析, $\lg Mw = 61.5 - 10.1V + 0.61V^2 - 0.01V^3$, $r = 0.9997$ 。由标准曲线求得 CPA- I 的相对分子质量分别为 $M_n = 39853$ 、 $M_w = 79587$ 、 $M_p = 46163$ 、 $M_n/M_w = 2.0$ 。洗脱峰为单一对称峰, 说明组分 CPA- I 纯度高。

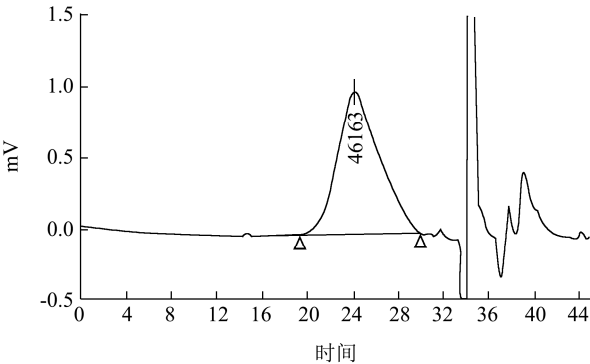


图2 茶枝柑皮多糖 (CPA- I) 相对分子质量

Fig.2 Relative molecular weight of tea branch and orange peel polysaccharide (CPA- I)

2.3 茶枝柑皮多糖 (CPA- I) 单糖组成

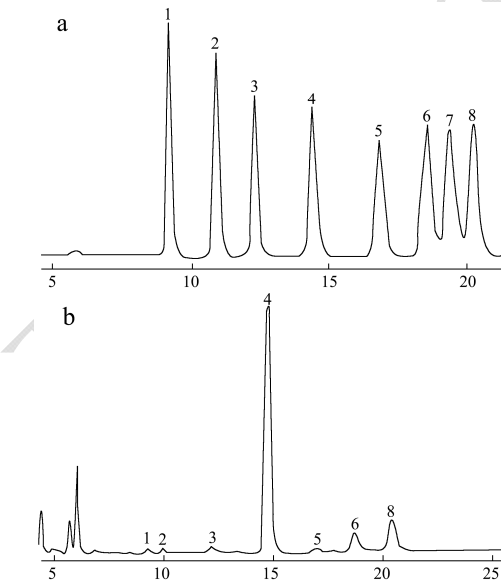


图3 茶枝柑皮多糖 (CPA- I) 单糖组成

Fig.3 Monosaccharide composition of polysaccharide (CPA- I) from the peel of Chazhi orange

注: 1.甘露糖(Man); 2.核糖(Rib); 3.鼠李糖(Rha); 4.半乳糖醛酸(GalUA); 5.葡萄糖(Glc); 6.半乳糖(Gal); 7.木糖(Xyl); 8.阿拉伯糖(Ara)。

经过高效液相色谱分析, CPA- I 主要由半乳糖醛酸和阿拉伯糖组成, 还有一些半乳糖及极少量的甘露糖、鼠李糖。各单糖物质的量比是 Man:Rib:Rha:GalUA:Glc:Gal:Ara=1.1:0.17:0.60:127.8:1:12.3:26.86。

2.4 不同浓度 H₂O₂ 对人神经细胞 U251 增殖的影响

H₂O₂ 细胞损伤模型的优点是操作相对简单, 容易控制, 因此在模拟细胞氧化损伤中广泛应用^[12]。采用 MTT 法检测细胞的增殖率, 也是国际中常用的评估细胞存活、损伤的状况重要手段。不同浓度 H₂O₂ 对人神经细胞 U251 培养 6 h 后, 研究显示, 20 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂、50.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂、90.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂、180.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂、375.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 干预人神经细胞 U251 与对照组 MTT 值、细胞增殖率相比, 具有差异。其中浓度大于 100 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 细胞增殖率显著低于 20 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂、50.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂、90.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂, 随着 H₂O₂ 浓度不断提升, 细胞增殖率逐渐降低。SLAMENOVA D^[13] 研究指出, H₂O₂ 作用的最佳浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 对细胞干预 4 h, 能建立有效的细胞体外氧化应激模型。本文研究结果显示, MTT 活力与 H₂O₂ 浓度具有相关性, 呈浓度依赖, 即 H₂O₂ 浓度越高, 对人神经细胞 U251 损伤越严重, 与莫云燕^[14] 研究结果保持一致。其中 180.0 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ 是导致人神经细胞 U251 损伤的最佳浓度。

表 1 不同浓度 H₂O₂ 对人神经细胞 U251 增殖率的影响

Table 1 Effects of different concentrations of hydrogen peroxide on the proliferation rate of human nerve cell U251 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MTT(OD 值)	细胞增殖率/%
对照组	0.45±0.02 ^a	-
20 $\mu\text{mol/L}$ H ₂ O ₂	0.42±0.10 ^a	91.60
50.0 $\mu\text{mol/L}$ H ₂ O ₂	0.38±0.04 ^b	84.40
90.0 $\mu\text{mol/L}$ H ₂ O ₂	0.28±0.05 ^c	60.00
180.0 $\mu\text{mol/L}$ H ₂ O ₂	0.17±0.09 ^d	37.40
375.0 $\mu\text{mol/L}$ H ₂ O ₂	0.06±0.02 ^e	12.30

注: 同列右肩字母不同表明差异性显著 $p < 0.05$, 下同。

2.5 H₂O₂ 最佳浓度对人神经细胞 U251 形态的影响

如图 4 所示，处理前人神经细胞表现为正常神经细胞形态，细胞显示为不规则形状，有细胞突触，交叉成为网状。H₂O₂ 处理后，细胞突触显著缩短并且有减少，细胞发生不同程度的皱缩，圆缩聚集，氧化损伤表现明显，说明 H₂O₂ 诱导的细胞损伤模型建立成功。

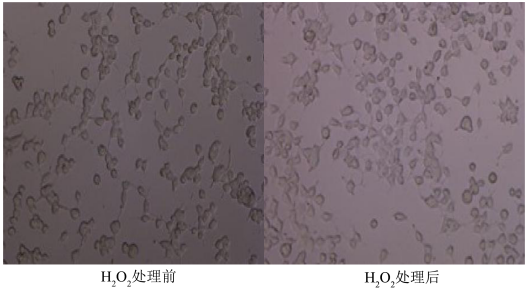


图 4 H₂O₂ 处理前后人神经细胞 U251 形态图

Fig.4 Morphology of human nerve cell U251 before and after treatment with hydrogen peroxide

2.6 不同浓度茶枝柑皮多糖对 H₂O₂ 诱导细胞损伤模型细胞存活率的影响

本文研究结果显示，与模型组相比，茶枝柑皮多糖浓度 0.30 mg/mL、0.60 mg/mL、1.25 mg/mL、2.50 mg/mL MTT 值升高，细胞存活率也升高，具有差异。说明茶枝柑皮多糖对细胞损伤起到一定的保护作用。甘伟发^[15]研究也证实这一观点。与对照组相比，茶枝柑皮多糖 0.30 mg/mL、0.60 mg/mL、1.25 mg/mL 浓度组 MTT 值降低，具有显著差异性，说明茶枝柑皮多糖对细胞损伤的修复仍不能达到正常水平，其中 2.50 mg/mL 组细胞存活率达 98.20%，MTT 值与正常相比无差异。说明 2.50 mg/mL 浓度能促进损伤细胞恢复到正常细胞状态，即 2.50 mg/mL 为最佳浓度。

表 2 不同浓度茶枝柑皮多糖对细胞损伤模型细胞存活率的影响

Table 2 Effects of different concentrations of polysaccharides from tea branches and citrus peel on cell viability in cell injury model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg/mL)	MTT(OD 值)	细胞存活率/%
对照组	-	0.33±0.03 ^a	-
模型组	-	0.18±0.02 ^b	53.00
茶枝柑皮多糖	0.30	0.21±0.03 ^c	64.30
	0.60	0.25±0.02 ^d	76.10
	1.25	0.30±0.03 ^e	93.40
	2.50	0.32±0.04 ^a	98.20

2.7 茶枝柑皮多糖最佳浓度对细胞损伤模型细胞形态的影响

如图 5 所示，在倒置显微镜下观察，发现正常细胞生长良好，细胞显示为细长的梭形，鼠标数量较多，有交错现象发生。模型组细胞数据显著减少，细胞密度也随着降低，细胞核发生皱缩。最佳浓度组细胞密度增加，细胞显示为成片生长，并且分布相对均匀。

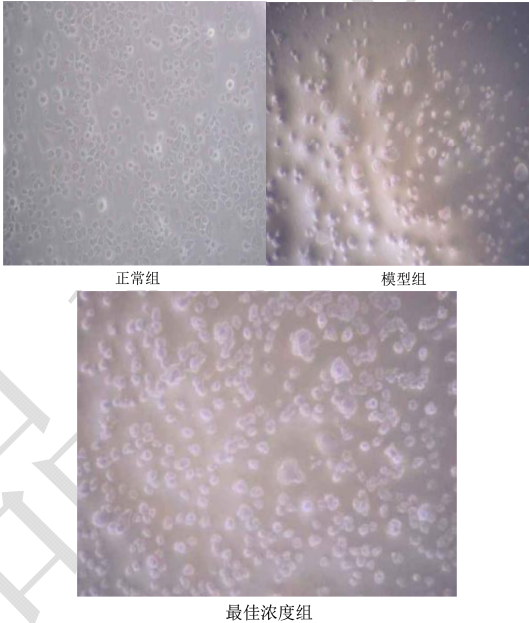


图 5 茶枝柑皮多糖最佳浓度干预细胞损伤模型细胞形态图

Fig.5 Cell morphology of a cell injury model with optimal concentration of polysaccharides from tea branch citrus peel

2.8 茶枝柑皮多糖体外抗氧化活性研究

自由基是维持生物生命活动的重要中间代谢产物，正常情况下，机体中的自由基是不断清除、产生处于一种动态平衡，研究显示，自由基过多产生和过多清除，均会导致氧自由基水平升高，对机体中重要生物大分子产生影响，导致其发生不可逆转的氧化损伤^[16,17]。核酸、蛋白质以及多不饱和脂肪酸一旦发生交联或断裂，细胞结构和功能会被破坏，对机体造成损伤，加快机体衰老，严重的会诱发癌症，增加患心血管疾病的风险^[18]。分化的神经细胞 U251 与神经元细胞损伤、冠状动脉粥样硬化等心血管疾病发病有关，参与血管内皮细胞受自由基等氧化应激作用^[19]。模型组与正常组相比，MDA 水平升高；SOD、GSH-Px、GSH 水平降低，说明 H₂O₂ 导致 MDA 活性升高，SOD、GSH-Px、GSH 活性降低。随着茶枝柑皮多糖剂量浓度不断增加，MDA 水平逐渐降低；SOD、GSH-Px、GSH 水平逐渐增加，其中 2.50 mg/mL 浓度 MDA 水

平最低, SOD、GSH-Px、GSH 水平高, 说明浓度为 2.50 mg/mL 茶枝柑皮多糖对细胞损伤模型干预的效果最明显, 抗氧化作用最强, 呈浓度依赖。与张小英^[20]研究结果保持一致。

表 3 不同浓度茶枝柑皮多糖抗氧化活性相关指标比较

Table 3 Comparison of antioxidant activities of polysaccharides from tea branch and citrus peel at different concentrations ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg/mL)	SOD/(U/mg)	GSH-Px/(U/mg)	GSH/(mg/g)	MDA/(nmol/mg)
对照组	-	117.05±0.17 ^a	320.64±0.89 ^a	140.45±0.32 ^a	4.85±0.13 ^a
模型组	-	95.80±0.98 ^b	270.48±1.05 ^b	56.19±0.25 ^b	16.09±0.59 ^b
茶枝柑皮多糖	0.30	100.17±0.70 ^d	278.85±0.96 ^b	79.96±0.87 ^c	13.75±0.94 ^c
	0.60	108.85±0.68 ^e	282.82±1.02 ^b	90.22±0.75 ^d	11.63±0.83 ^d
	1.25	110.27±0.75 ^e	290.06±1.03 ^c	101.22±0.57 ^e	10.05±0.82 ^d
	2.50	113.35±0.81 ^{ae}	295.33±1.04 ^c	110.02±0.83 ^f	8.15±0.61 ^e

3 结论

3.1 H₂O₂ 会导致人神经细胞 U251 损伤越严重, 在建立人神经细胞 U251 损伤模型中具有重要作用。
3.2 茶枝柑皮多糖对细胞损伤起到一定的保护作用, 与茶枝柑皮多糖浓度有关, 2.50 mg/mL 茶枝柑皮多糖浓度能促进损伤细胞恢复, 为临床应用提供数据支持。
3.3 茶枝柑皮多糖通过增强 SOD、GSH-Px、GSH 活性, 从而抑制氧化应激对神经细胞带来的损伤, 起到抗氧化作用。

参考文献

[1] Castro Ma, Rodenak-Kladniew B, Massone A, et al. *Citrus reticulata* peel oil inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation in culture and implanted in nude mice [J]. Food Funct, 2018, 9(4): 2290-2299

[2] Yamakuni T, Kawahata I. Pharmacological superiority of nobiletin-rich *Citrus reticulata* peel, a multicomponent drug, over nobiletin alone regarding anti-dementia action [J]. Nihon Yakurigaku Zasshi, 2015, 145(5): 229-233

[3] 甘伟发, 黄庆华, 吉国辉, 等. 茶枝柑皮提取物中黄酮类成分的含量测定[J]. 广东药学院学报, 2013, 29(3): 273-276

GAN Wei-fa, HUANG Qing-hua, JI Guo-hui, et al. Content determination of flavonoids in the extract of Chazhi citrus peel [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical College, 2013, 29(3): 273-276

[4] 罗政, 郭媛媛, 陈飞平, 等. 广陈皮原料茶枝柑与其他典型柑橘成分差异分析[J]. 热带作物学报, 2019, 40(1): 174-179

LUO Zheng, GUO Yuan-yuan, CHEN Fei-ping, et al. Analysis of the differences between the ingredients of Chazhi citrus, a raw material of Guangchenpi, and other typical citrus [J]. Journal of Tropical Crops, 2019, 40(1): 174-179

[5] Rafiq S, Singh B, Gat Y. Effect of different drying techniques on chemical composition, color and antioxidant properties of kinnow (*Citrus reticulata*) peel [J]. J Food Sci Technol, 2019, 56(5): 2458-2466

[6] Huang G, Mei X, Hu J. The antioxidant activities of natural polysaccharides [J]. Curr Drug Targets, 2017, 18(11): 1296-1300

[7] Zhong Q, Wei B, Wang S, et al. The antioxidant activity of polysaccharides derived from marine organisms: an overview [J]. Mar Drugs, 2019, 17(12): 674

[8] Valko M, Jomova K, Rhodes Cj, et al. Redox - and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease [J]. Arch Toxicol, 2016, 90(1): 1-37

[9] Melo Z, Castillo X, Moreno-Carranza B, et al. Vasoinhibin suppresses nerve growth factor-induced differentiation and survival of PC12 pheochromocytoma cells [J]. Neuroendocrinology, 2019, 109(2): 152-164

[10] Li X, Wang Q, Ren Y, et al. Tetramethylpyrazine protects retinal ganglion cells against H₂O₂ induced damage via the microRNA-182/mitochondrial pathway [J]. Int J Mol Med, 2019, 44(2): 503-512

[11] 陈思, 黄庆华, 游明霞, 等. 茶枝柑皮中多糖组成成分的分析[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(32): 19731-19733, 19754

CHEN Si, HUANG Qing-hua, YOU Ming-xia, et al. Analysis of polysaccharide components in the peel of Chazhi citrus [J]. Anhui Agricultural Science, 2011, 39(32): 19731-19733, 19754

[12] Chen Xh, Zhou X, Yang Xy, et al. Propofol protects against H₂O₂-induced oxidative injury in differentiated PC12 cells via inhibition of Ca(2+)-dependent NADPH oxidase [J]. Cell Mol Neurobiol, 2016, 36(4): 541-551

[13] Slamenova D, Kozics K, Melusova M, et al. Influence of different chemical agents (H₂O₂, t-BHP and MMS) on the activity of antioxidant enzymes in human HepG2 and hamster V79 cells; relationship to cytotoxicity and genotoxicity [J]. Neoplasma, 2015, 62(5): 722-732

- [14] 莫云燕,黄庆华,游明霞.多抗氧化指标响应面法优化茶枝柑皮提取工艺[J].食品工业科技,2012,33(15):215-219,223
MO Yun-yan, HUANG Qing-hua, YOU Ming-xia. Multi-antioxidant index response surface methodology to optimize the extraction process of tea branch citrus peel [J]. Food Industry Science and Technology, 2012, 33(15): 215-219,223
- [15] 甘伟发,周林,黄庆华,等.茶枝柑皮提取物中多糖的分子量分布及抗氧化活性[J].食品科学,2013,34(15):81-86
GAN Wei-fa, ZHOU Lin, HUANG Qing-hua, et al. Molecular weight distribution and antioxidant activity of Polysaccharides from the extracts of Chazhi citrus peel [J]. Food Science, 2013, 34(15): 81-86
- [16] Apraj Vd, Paandita Ns. Evaluation of skin anti-aging potential of *Citrus reticulata* Blanco peel [J]. Pharmacognosy Res, 2016, 8(3): 160-168
- [17] Ademosun Ao, Adebayo Aa, Oboh G. Modulatory effect of some citrus (*Citrus limon*, *Citrus reticulata*, *Citrus maxima*) peels on monoamine oxidase, phosphodiesterase-5 and angiotensin-1 converting enzyme activities in rat heart homogenate [J]. J Complement Integr Med, 2018, 16(1)
- [18] Rafiq S, Ingh B, Gat Y. Effect of different drying techniques on chemical composition, color and antioxidant properties of kinnow (*Citrus reticulata*) peel [J]. J Food Sci Technol, 2019, 56(5): 2458-2466
- [19] Zhao Hy, Zhang St, Cheng X, et al. Long non-coding RNA GAS5 promotes PC12 cells differentiation into Tuj1-positive neuron-like cells and induces cell cycle arrest [J]. Neural Regen Res, 2019, 14(12): 2118-2125
- [20] 张小英,周林,黄庆华,等.茶枝柑皮多糖对PC12细胞氧化损伤的保护作用[J].食品工业科技,2013,34(18):99-101,105
ZHANG Xiao-ying, ZHOU Lin, HUANG Qin-hua, et al. Protective effect of Chazhi citrus peel polysaccharide on oxidative damage of PC12 cells [J]. Food Industry Science and Technology, 2013, 34(18): 99-101,105

欢迎订阅中文核心期刊

《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价 40 元，全年 12 期 480 元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿和建立产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学食品科学与工程学院麟鸿楼 506 室，邮编：510640

电话：020-87113352

E-mail: xdspkj@126.com

投稿系统: <http://xdspkj.ijournals.cn>