

彭勃, 虞世帅, 曲丽萍, 等. 云南酸木瓜提取物化学成分及抗氧化和抗炎活性分析 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 304–312. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070200

PENG Bo, YU Shishuai, QU Liping, et al. Chemical Constituents, Antioxidant, and Anti-inflammatory Activities of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai Extract from Yunnan[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 304–312. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070200

· 分析检测 ·

# 云南酸木瓜提取物化学成分及抗氧化和 抗炎活性分析

彭 勃<sup>1,2</sup>, 虞世帅<sup>1,3</sup>, 曲丽萍<sup>1,3,4</sup>, 郝怡宁<sup>1,3,4,\*</sup>

(1. 云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司, 云南昆明 650106;

2. 上海贝泰妮生物科技有限公司, 上海 201702;

3. 上海际研生物医药开发有限公司, 上海 201702;

4. 云南云科特色植物提取实验室有限公司, 云南昆明 650106)

**摘要:** 为研究云南酸木瓜的化学成分及其抗氧化和抗炎作用, 本研究通过加热回流法制备酸木瓜提取物 (*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai extract, CE), 并对其理化成分和生物活性进行测定。利用液相色谱-质谱联用 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 和高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 技术分析和鉴定其主要活性成分; 通过测定 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 自由基 (DPPH·)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) 阳离子自由基 (ABTS<sup>+</sup>)、羟基自由基 (·OH) 清除能力、铁离子还原力 (ferric ion reducing antioxidant power, FRAP) 和紫外线 (ultraviolet A, UVA) 诱导的人永生角质形成细胞 (human immortalized keratinocytes cells, HaCaT) 中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 清除能力, 评价其抗氧化活性; 采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞建立炎症模型, 评价其抗炎活性。结果表明, 云南酸木瓜提取物中总多酚和总黄酮含量分别为 122.30 mg/g 和 131.46 mg/g, 主要活性成分是绿原酸; 酸木瓜提取物能有效清除 DPPH·、ABTS<sup>+</sup> 及 ·OH, IC<sub>50</sub> 值分别为 79.58、482.96、804.99 μg/mL, 具有良好的铁离子还原能力, FRAP 值为 1.23 mmol Fe<sup>2+</sup>/g, 且剂量依赖性地抑制 UVA 诱导的 HaCaT 细胞内 ROS 的产生 ( $P < 0.001$ ), 表现出极显著的抗氧化活性; 在细胞炎症模型中, 酸木瓜提取物能极显著抑制白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的表达 ( $P < 0.001$ ), 减少一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的分泌 ( $P < 0.001$ ), 显示出良好的抗炎效果。综上所述, 云南酸木瓜提取物具有显著的抗氧化和抗炎活性, 具有潜在的保健和药用价值, 本研究为酸木瓜的深入开发利用提供科学依据和技术支持。

**关键词:** 云南酸木瓜, 绿原酸, 抗氧化, 抗炎

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)12-0304-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070200

本文网刊:



## Chemical Constituents, Antioxidant, and Anti-inflammatory Activities of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai Extract from Yunnan

PENG Bo<sup>1,2</sup>, YU Shishuai<sup>1,3</sup>, QU Liping<sup>1,3,4</sup>, HAO Yining<sup>1,3,4,\*</sup>

(1. Yunnan Botanee Bio-technology Group Co., Ltd., Kunming 650106, China;

2. Shanghai Botanee Bio-technology Group Co., Ltd., Shanghai 201702, China;

3. Shanghai Jiyan Biomedical Development Co., Ltd., Shanghai 201702, China;

4. Yunnan Yunke Characteristic Plant Extraction Laboratory Co., Ltd., Kunming 650106, China)

收稿日期: 2024-07-16

基金项目: 基于云南特色植物口服美容等功能性食品产品开发及产业化 (2022YKZY005); 基于云南特色植物的舒缓系列产品开发及产业化 (2022YKZY004)。

作者简介: 彭勃 (1994-), 女, 硕士, 研发工程师, 研究方向: 天然产物研究及应用开发, E-mail: pengbo@botanee.com。

\* 通信作者: 郝怡宁 (1993-), 女, 硕士, 中级工程师, 研究方向: 天然产物研究及应用开发, E-mail: haoyiningmmm@163.com。

**Abstract:** To evaluate the chemical constituents and the antioxidant and anti-inflammatory properties of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai from Yunnan, extracts were prepared via heated reflux extraction, followed by physicochemical characterization using a physicochemical analysis, including LC-MS and HPLC to identify primary active constituents. The antioxidant effectiveness of CE was assessed through various methods: Scavenging DPPH $\cdot$ , ABTS $^{+\cdot}$ , and  $\cdot$ OH radicals, reducing iron ions, and mitigating UVA-induced ROS in HaCaT cells. The anti-inflammatory efficacy of CE was tested using an LPS-induced inflammation model in RAW264.7 cells. Results showed that CE contained 122.30 mg/g of polyphenols and 131.46 mg/g of flavonoids, with chlorogenic acid being a significant component. CE demonstrated significant efficacy in scavenging DPPH $\cdot$ , ABTS $^{+\cdot}$ , and  $\cdot$ OH radicals, with IC<sub>50</sub> values recorded at 79.58, 482.96, and 804.99  $\mu$ g/mL, respectively. And it exhibited notable iron ion-reducing capacity, as evidenced by a FRAP value of 1.23 mmol Fe<sup>2+</sup>/g. Additionally, CE extremely significantly inhibited ROS production ( $P < 0.001$ ) in HaCaT cells in a dose-dependent manner and reduced IL-6 expression ( $P < 0.001$ ) and NO secretion ( $P < 0.001$ ) in RAW264.7 cells, indicating its potent antioxidant and anti-inflammatory effects. Overall, CE showed promising antioxidant and anti-inflammatory properties, supporting its potential therapeutic applications and providing a scientific basis for further development of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai.

**Key words:** *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai from Yunnan; chlorogenic acid; antioxidant; anti-inflammatory

酸木瓜(*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai), 又名贴梗木瓜、贴梗海棠、皱皮木瓜, 是蔷薇科木瓜海棠属的果实<sup>[1-3]</sup>。李时珍的《本草纲目》记载: “木瓜性温味酸, 平肝和胃”, 具有“舒筋活络、和胃化湿”之功效, 是防治脾胃病的传统中药<sup>[4]</sup>。酸木瓜鲜果酸涩, 不宜生食, 可以制作果脯、果酒和木瓜牛奶等<sup>[5]</sup>。酸木瓜富含多酚类、黄酮类、多糖、维生素 C、木瓜蛋白酶、有机酸等多种营养成分和生物活性物质, 具有出色的抗氧化、抗菌、抗肿瘤、降低血脂和软化血管等多重健康功效<sup>[6-7]</sup>。

酸木瓜作为一种药食同源的植物, 其生物活性成分的研究对于开发新型功能性食品具有重要意义<sup>[8]</sup>。云南是酸木瓜的主要分布地区, 目前大量的酸木瓜都以鲜果供于当地市场进行直销, 有一小部分被用于药材加工, 很少用于批量工业食品生产, 缺乏深层次的研究开发<sup>[9]</sup>。关于酸木瓜的活性成分和生物活性研究尚不充分, 其开发利用仍处于基础阶段。为了充分挖掘云南酸木瓜的潜力, 本研究利用加热回流提取制备了一种云南酸木瓜提取物, 并采用液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)和高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)等现代分析技术, 对其中的成分进行定性和定量分析, 进一步通过生化和细胞实验评估其抗氧化、抗炎活性, 为酸木瓜的开发利用提供了新的思路和方法, 并推动其在功能性食品领域的应用与发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

酸木瓜 采集于云南省, 存于中国昆明云南云科特色植物提取实验室有限公司标本室; 没食子酸、芦丁、福林酚、碳酸钠、葡萄糖 上海源叶生物科技有限公司; L-抗坏血酸(维生素 C, vitamin C, V<sub>C</sub>)、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠 上海罗恩化学技术有限公司; 甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、甲酸 美国 Sigma-

Aldrich 公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、L-抗坏血酸、地塞米松醋酸钠、苯酚 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) 阳离子自由基(ABTS $^{+\cdot}$ )清除能力测定试剂盒、铁离子还原力(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)检测试剂盒、羟基自由基( $\cdot$ OH)清除能力测定试剂盒 南京建成生物工程研究所; HaCaT 细胞、RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞 中国科学院上海细胞所; Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS) 美国 Gibco 公司; 细胞增殖与毒性检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8) 日本同仁化学研究所; 大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$  酶联免疫吸附检测(tumor necrosis factor- $\alpha$  enzyme-linked immunosorbent assay, TNF- $\alpha$  ELISA)试剂盒、大鼠白细胞介素 6 酶联免疫吸附检测(interleukin-6 enzyme-linked immunosorbent assay, IL-6 ELISA)试剂盒 杭州联科生物技术股份有限公司; NO 检测试剂盒 碧云天生物科技有限公司; 实验用水为经 Milli-Q 纯化的超纯水, 试剂均为分析纯。

Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪、Agilent 6545 四极杆飞行时间液质联用仪 安捷伦科技(中国)有限公司; Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪、Series 2 Water Jacketed CO<sub>2</sub> 培养箱、Fresco 21 冷冻型微量离心机、梅特勒托利多 XPE105 精密电子天平 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 酸木瓜提取物的制备 称取自然风干的酸木瓜干品适量, 按照 1:20(g/mL)的料液比加入超纯水, 在 100  $^{\circ}$ C 下回流提取 1 h, 重复提取 2 次, 提取液通过 600 目滤袋过滤去除杂质, 再经真空减压旋转蒸发浓缩至浸膏。浸膏灭菌后进行冷冻干燥, 即得酸木瓜提取物。

## 1.2.2 酸木瓜提取物的主要成分检测

1.2.2.1 总多酚的检测 采用 Folin-Ciocalteu 法对酸木瓜提取物的总多酚含量进行检测<sup>[10]</sup>。精密称取试样,用 70 °C 中预热过的 70% 甲醇水溶液充分提取样品中的多酚类物质。分别移取没食子酸工作液、水(作空白对照用)、测试液各 1 mL,置于带刻度试管中,各加入 5 mL 的 10% 福林酚试剂,摇匀。反应 3~8 min,各加入 4 mL 的 7.5% 碳酸钠溶液,加水定容至刻度,摇匀。室温放置 60 min,于 765 nm 处,以试剂空白溶液作参比,测定吸光度,平行试验三次。绘制标准曲线,计算样品中总多酚的含量(以没食子酸计)。

1.2.2.2 总黄酮的检测 参照 Sun 等<sup>[11]</sup>的研究中总黄酮的检测方法,并稍作修改。精密称取适量样品,置于具塞锥形瓶中,精密加入 25 mL 甲醇,超声处理 30 min,取上清液作为待测溶液。精密吸取 6 mL 样品待测液和芦丁标准溶液于 25 mL 容量瓶中,加入 1 mL 的 5% 亚硝酸钠溶液,摇匀,放置 6 min,随后加入 1 mL 10% 硝酸铝溶液,摇匀,放置 6 min,最后加入 4% 氢氧化钠溶液 10 mL,加水至刻度,摇匀,放置 15 min。以试剂空白溶液作参比,在波长 510 nm 处分别测定吸光度值,平行试验三次,绘制标准曲线,计算样品中总黄酮的含量(以芦丁计)。

1.2.2.3 总多糖的检测 采用苯酚-硫酸法对样品中总多糖进行检测<sup>[12]</sup>。样品经醇沉处理后,取沉淀干燥至恒重,用纯水溶解定容制备待测液。分别准确吸取葡萄糖标准工作液、水、样品待测液 1 mL 于 20 mL 试管中,向试液中加入苯酚溶液 2 mL,摇匀、静置,再加入浓硫酸 7 mL,均匀混合后,在沸水中加热 10 min,冰水浴冷却至室温,放置 30 min,于 490 nm 波长处测定吸光值,平行试验三组,绘制标准曲线,计算样品中总多糖含量(以葡萄糖计)。

## 1.2.3 LC-MS 分析酸木瓜提取物的主要活性成分

1.2.3.1 液相条件 参考 Hou 等<sup>[5]</sup>的测试方法,并稍作修改。使用 Agilent ZORBAX SB-Aq 色谱柱(4.6×250 mm; 5 μm)进行分离。流动相为含有 0.1% 甲酸的水(A)和乙腈(B),梯度洗脱。溶剂 A 浓度改变为: 0 min, 99.5%; 3 min, 99.5%; 10 min, 88%; 15 min, 85%; 25 min, 85%; 45 min, 70%。柱温为 30 °C,流速为 1 mL/min,进样量为 10 μL,波长 254 nm。

1.2.3.2 质谱条件 参考 Hou 等<sup>[5]</sup>的测试方法,并稍作修改。实验采用电喷雾电离法进行,采用负离子电离模式,雾化气温度为 320 °C,气体流量为 8 L/min,碰撞电压为 3500 V,质量范围为 100~1500 m/z。通过比较色谱峰的保留时间、质谱碎片、离子模式和标准品的匹配度,对化合物进行定性分析。利用外标法对每种成分进行定量分析。

## 1.2.4 体外抗氧化活性测定

1.2.4.1 DPPH·清除能力测定 参考 Kawamura 等<sup>[13]</sup>的测试方法,并稍作修改。选用 V<sub>C</sub> 作为阳性对照,样品和阳性对照溶液配制均以 1 mg/mL 为起始浓度,进行梯度稀释。将 96 孔板分成样品组、控制组及对照组,每组设 3 个复孔。样品组与控制组均设置空白对照,与 DPPH 溶液以 1:1 等体积加入,96 孔板于室温避光反应 30 min,振荡摇匀,在波长 517 nm 处测定吸光度。DPPH·清除效果用抑制率和半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值(μg/mL)表示。计算公式(1)如下:

$$\text{自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: A<sub>1</sub>—测得样品组吸光度值; A<sub>2</sub>—测得样品对照组吸光度值; A<sub>0</sub>—测得空白组吸光度值。

1.2.4.2 ABTS<sup>+</sup>·清除能力测定 选用 V<sub>C</sub> 作为阳性对照,样品和阳性对照溶液配制均以 2 mg/mL 为起始浓度,依次向下稀释多个梯度。根据 ABTS<sup>+</sup>·清除能力测定试剂盒说明书进行操作,96 孔板于暗处反应 6 min 后,在波长 405 nm 处测定吸光度,平行试验 3 次。计算公式同式(1)。

1.2.4.3 ·OH 清除能力测定 选用 V<sub>C</sub> 作为阳性对照,样品和阳性对照溶液配制均以 4 mg/mL 为起始浓度,依次向下稀释多个梯度。根据·OH 清除能力测定试剂盒说明书进行操作,利用显色剂形成红色物质,其呈色与·OH 含量成正比关系,在波长 550 nm 处测定吸光度,平行试验 3 次。计算公式同式(1)。

1.2.4.4 FRAP 抗氧化检测 选用 V<sub>C</sub> 作为阳性对照,样品和阳性对照溶液配制均以 1 mg/mL 为起始浓度,依次向下稀释多个梯度。根据 FRAP 测定试剂盒说明书进行操作,酸性条件下抗氧化物质可以还原 Fe<sup>3+</sup>-TPTZ 产生蓝色的 Fe<sup>2+</sup>-TPTZ,在 593 nm 处读取吸光度可以计算出样品中的 FRAP 抗氧化能力,平行试验三次。溶液的吸光度越高,总还原力越强,反之越弱。

## 1.2.5 酸木瓜提取物对 UVA 诱导的 ROS 清除效果的测定

1.2.5.1 酸木瓜提取物对 HaCaT 细胞活力的影响 采用 CCK-8 法测定细胞活力<sup>[14]</sup>。取生长状态良好处于指数生长期的细胞,胰酶消化,经计数后将细胞接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,约 1×10<sup>4</sup> 个细胞,置于培养箱中培养约 24 h,换用含有不同浓度酸木瓜提取物的完全培养基,于培养箱中共孵育 24 h。弃去含药培养基,每孔加入 100 μL DMEM 培养基和 10 μL CCK-8 混合溶液,37 °C 孵育 2 h。于 450 nm 波长下测定每孔的 OD 值,细胞活力按式(2)计算:

$$\text{相对细胞活力}(\%) = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: A<sub>1</sub>—样品组 OD 值, A<sub>2</sub>—对照组 OD 值,

$A_0$ —空白组 OD 值。

**1.2.5.2 酸木瓜提取物对 UVA 诱导 HaCaT 细胞中 ROS 清除效果的影响** 选取处于指数生长期的健康细胞,通过胰酶消化和计数后,接种至 12 孔板中,每孔约  $2.5 \times 10^5$  个细胞,于培养箱中培养 24 h 后,空白组、模型组每孔加入 1 mL 的完全培养基,样品组每孔分别加入 1 mL 含有 62.5、125、250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  酸木瓜提取物的完全培养基,在细胞培养箱中放置 2 h 后,弃去培养基。随后空白组、模型组每孔加入 1 mL 的 PBS,样品组每孔分别加入 1 mL 含有 62.5、125、250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  酸木瓜提取物的 PBS,将模型组和样品组暴露在  $15 \text{ J}/\text{cm}^2$  紫外线辐射下,进行 2 h 的 UVA 照射处理(紫外线照射采用 3T3 NRU 光毒紫外辐照计,UVA 波长在 350~400 nm,峰发射  $\lambda=365 \text{ nm}$ ,剂量为  $2 \text{ mW}/\text{cm}^2$ )。与此同时,将空白组放置于相同的环境,但不进行 UVA 辐照。辐照结束后,所有组别置于培养箱中静置 1 h。使用流式细胞仪进行 ROS 检测。

### 1.2.6 酸木瓜提取物的体外抗炎活性测定

**1.2.6.1 酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞活力的影响** 采用 CCK-8 法测定酸木瓜提取物对 RAW 264.7 细胞活力的影响,操作步骤同 1.2.5.1。

**1.2.6.2 酸木瓜提取物对细胞中炎症因子的影响** 选取对数生长期,形态良好的 RAW264.7 细胞,用完全培养基配置成  $5 \times 10^4$  个/mL 的细胞悬液,按照每孔 1000  $\mu\text{L}$  接种于 24 孔板中,每孔约  $5 \times 10^4$  个细胞,于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$  培养箱中孵育 24 h。设置空白对照组、模型组、阳性对照组及样品组,空白对照组每孔加入完全培养基,阳性对照组每孔加入经完全培养基稀释的  $5 \mu\text{mol}/\text{L}$  的地塞米松醋酸钠,样品组每孔加入经完全培养基稀释得到的 300、150、75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的酸木瓜提取物,每组设置 3 个复孔,于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$  培养箱中孵育 2 h,除空白对照组外,每孔加入终浓度为  $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 LPS,并继续培养 24 h。结束后,通过低温离心收集细胞上清液。按照 ELISA 试剂盒及 NO 检测试剂盒说明书步骤分别检测所收集细胞上清液中 IL-6、TNF- $\alpha$  和 NO 的含量。

## 1.3 数据处理

实验均设置 3 组平行,实验数据均以平均值 $\pm$ 标

准差(mean $\pm$ SD)表示,数据通过 Excel 和 Graphpad prism 9.0 软件进行数据统计分析和图表绘制,利用  $t$  检验,分析不同样品之间显著性差异, $P < 0.05$  表示差异性具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 酸木瓜提取物的成分分析

酸木瓜提取物中总多酚、总黄酮、总多糖和蛋白质含量分别为  $122.30 \pm 10.52$ 、 $131.46 \pm 5.96$ 、 $91.43 \pm 9.93$  和  $5.97 \pm 0.11 \text{ mg}/\text{g}$ 。多酚、黄酮和多糖是从木瓜中鉴定出的主要化合物类别<sup>[4,15]</sup>,Miao 等<sup>[16]</sup>报道的木瓜水提取物中总多酚含量为  $15.96 \text{ mg}/\text{g}$ ,总黄酮含量为  $189.16 \text{ mg}/\text{g}$ ,总多糖含量为  $16.15 \text{ mg}/\text{g}$ ,与本研究之间存在差异。

通过 LC-MS 对酸木瓜提取物中的活性成分进行分析,液相色谱图如图 1 所示。结合文献和数据库分析及与标准品对比,确定酸木瓜提取物中的 5 个主要活性成分分别为没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、绿原酸和芦丁。利用 HPLC 对每种成分进行定

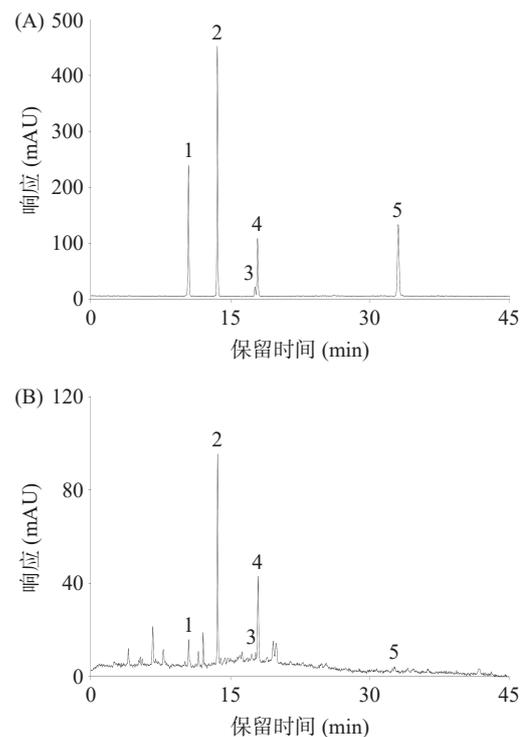


图 1 标准品(A)和酸木瓜提取物(B)的液相色谱图

Fig.1 Chromatograms of standards (A) and CE (B)

表 1 酸木瓜提取物中主要活性成分分析

Table 1 Analysis of main compounds in CE

序号	化合物	保留时间(min)	化学式	[M-H] <sup>-</sup>	线性方程	含量( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )
1	没食子酸	10.468	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	169	$y=13.223x-15.403$ $R^2=0.9998$	$0.91 \pm 0.03$
2	原儿茶酸	13.558	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	153	$y=28.247x-25.375$ $R^2=1$	$2.37 \pm 0.03$
3	儿茶素	17.593	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	289	$y=1.2216x+4.9926$ $R^2=0.9990$	$2.76 \pm 0.19$
4	绿原酸	17.871	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	353	$y=8.5938x-26.88$ $R^2=0.9993$	$3.83 \pm 0.05$
5	芦丁	33.016	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609	$y=15.522x-10.944$ $R^2=0.9999$	$0.41 \pm 0.05$

量分析,结果如表 1 所示。酸木瓜提取物中绿原酸、原儿茶酸的含量分别为  $3.83\pm 0.05$  和  $2.37\pm 0.03$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ 。绿原酸和原儿茶酸是目前发现的木瓜多酚的主要成分,韩煜等<sup>[17]</sup> 研究报道了木瓜中绿原酸质量分数为 0.053%~0.387%, 而原儿茶酸质量分数为 0.024%~0.541%, 与本研究结果相吻合。酸木瓜提取物中儿茶素、没食子酸和芦丁含量分别为  $2.76\pm 0.19$ 、 $0.91\pm 0.03$  和  $0.41\pm 0.05$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ 。提取方法的选择及其过程中的参数设置(如温度、时间和溶剂类型)对目标化合物的溶解度、稳定性及最终提取量均会产生显著影响<sup>[18-19]</sup>。此外,Hu 等<sup>[15]</sup> 在山东木瓜中鉴定了原花青素 B1 及原花青素三聚体等成分,而本研究针对云南特色酸木瓜时未检出这些物质。这可能是由于云南地区的光照、气候和土壤条件等影响植物体内次生代谢产物如酚类物质的合成和代谢<sup>[20]</sup>,已有数据显示,云南产地的木瓜在总多酚( $29.15\pm 0.29$   $\text{mg}/\text{g}$ )、总黄酮( $47.92\pm 3.79$   $\text{mg}/\text{g}$ )和总多糖( $27.60\pm 1.56$   $\text{mg}/\text{g}$ )含量上显著优于其他产地木瓜<sup>[21]</sup>。总而言之,云南酸木瓜提取物中蕴含着丰富的多酚类物质,需要进行更深入的研究。

## 2.2 酸木瓜提取物的抗氧化活性研究

2.2.1 酸木瓜提取物的体外抗氧化测试 如图 2(A) 所示,在 0.0039~0.25  $\text{mg}/\text{mL}$  浓度范围内,随着  $V_C$  和酸木瓜提取物浓度的升高,它们对 DPPH·清除能力均呈现出显著的增强趋势,这一结果表明,两者均具有显著的抗氧化活性,且其清除率与各自的浓度之间存在着明确的剂量效应关系,但此浓度范围内,酸木瓜提取物对 DPPH·清除能力弱于同浓度  $V_C$ 。 $IC_{50}$  值是衡量抗氧化活性强弱的一个重要指标,它表示抗氧化能力达到半数清除效果时所需的浓度<sup>[22]</sup>。

如图 2(B) 所示,酸木瓜提取物清除 DPPH·的  $IC_{50}$  值为  $79.58$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,表明其具有较强的 DPPH·清除效果。

如图 2(B)所示,在 0.0625~2  $\text{mg}/\text{mL}$  浓度范围内, $V_C$  和酸木瓜提取物对  $ABTS^+$ ·清除能力均随着浓度的升高而逐渐增强,且在同一浓度水平下,酸木瓜提取物对  $ABTS^+$ ·清除能力较弱于  $V_C$ 。随着浓度增大,酸木瓜提取物对  $ABTS^+$ ·的清除率与  $V_C$  逐渐接近。酸木瓜提取物清除  $ABTS^+$ ·的  $IC_{50}$  值为  $482.96$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表 2),表明其具有较强的  $ABTS^+$ ·清除能力。

如图 2(C)所示,在 0.125~4  $\text{mg}/\text{mL}$  浓度范围内,随着  $V_C$  和酸木瓜提取物浓度的逐渐升高,它们对·OH清除率均呈现出显著的上升趋势,呈现出明显的剂量依赖关系。如图 2 所示,酸木瓜提取物清除·OH的  $IC_{50}$  值为  $804.99$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,这一结果表明,酸木瓜提取物能够有效清除·OH,具有显著的抗氧化活性。

与此同时,如图 2(D)所示,在 0.0156~1  $\text{mg}/\text{mL}$  浓度范围内,随着样品浓度增加,酸木瓜提取物和  $V_C$  对铁离子还原力逐渐增强。酸木瓜提取物对铁离子还原能力 FRAP 值为  $1.23$   $\text{mmol Fe}^{2+}/\text{g}$ 。Tang 等<sup>[23]</sup> 研究中木瓜果粉的对铁离子还原能力 FRAP 值为  $173$   $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ ,FRAP 值越高,抗氧化能力越强<sup>[24]</sup>,表明酸木瓜提取物具有更强的抗氧化能力。Xie 等<sup>[25]</sup> 从木瓜中分离纯化的木瓜多糖显著清除了 DPPH·、 $ABTS^+$ ·和·OH,Miao 等<sup>[16]</sup> 也报道了木瓜提取物中的绿原酸和儿茶素对 DPPH·和  $ABTS^+$ ·的清除能力及铁离子还原力均有显著的促进作用( $P<0.01$ ),所以酸木瓜提取物可能是通过多种成分的协调作用发挥抗氧化作用<sup>[16]</sup>。

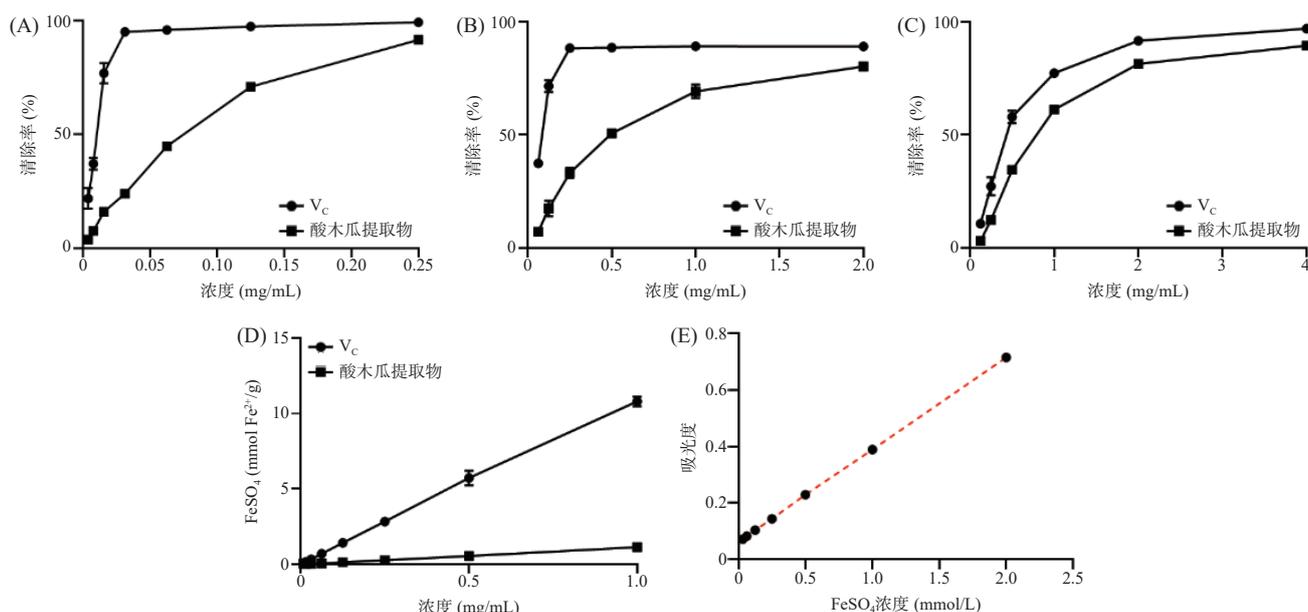


图 2 酸木瓜提取物的抗氧化活性

Fig.2 Antioxidant activity of CE

注: (A) DPPH·清除能力; (B)  $ABTS^+$ ·清除能力; (C) ·OH清除能力; (D) FRAP 铁离子还原能力; (E)  $FeSO_4$  标准曲线。

表 2 酸木瓜提取物的抗氧化效果  
Table 2 Antioxidant effects of CE

指标	酸木瓜提取物	V <sub>C</sub>
DPPH· IC <sub>50</sub> (μg/mL)	79.58±0.45***	10.10±0.74
ABTS· IC <sub>50</sub> (μg/mL)	482.96±26.69**	81.46±4.10
·OH IC <sub>50</sub> (μg/mL)	804.99±11.80***	436.27±24.81
FRAP (mmol Fe <sup>2+</sup> /g)	1.23±0.35***	11.14±0.17

注: \*代表酸木瓜提取物与V<sub>C</sub>比较, \*\*\*P<0.001, 具极显著性差异, \*\*P<0.01, 具显著性差异。

2.2.2 酸木瓜提取物对 UVA 诱导 HaCaT 细胞中 ROS 清除效果的影响 酸木瓜提取物对 HaCaT 细胞活力的影响如图 3(A)所示, 经浓度为 15.63~250 μg/mL 的酸木瓜提取物处理后, 细胞存活率均达到 80% 以上, 故选择 250、125、62.5 μg/mL 浓度的酸木瓜提取物进行后续实验。如图 3(B)所示, 与正

常细胞相比, UVA 辐射诱导细胞释放大量 ROS, 表示模型构建成功。与模型组比较, 62.5、125、250 μg/mL 浓度的酸木瓜提取物处理均能极显著清除自由基(P<0.001), 清除率呈剂量依赖性, 分别为 53.08%、68.13% 和 74.73%, 表明酸木瓜提取物具有极显著的抗氧化活性(P<0.001)。已有研究报道云南产地的木瓜的抗氧化活性相较于其他产地(重庆、浙江和安徽)具有显著优势<sup>[21]</sup>。酸木瓜提取物的抗氧化性主要取决于其丰富的生物活性化合物, 尤其是多酚类物质和黄酮类物质<sup>[21,23,26]</sup>, 这些物质能够通过和活性氧反应, 直接捕获并中和自由基, 抑制相关酶类减少超氧化物阴离子的释放, 与金属离子发生螯合作用, 降低金属离子催化的氧化反应, 防止细胞及生物体的氧化应激<sup>[27]</sup>。

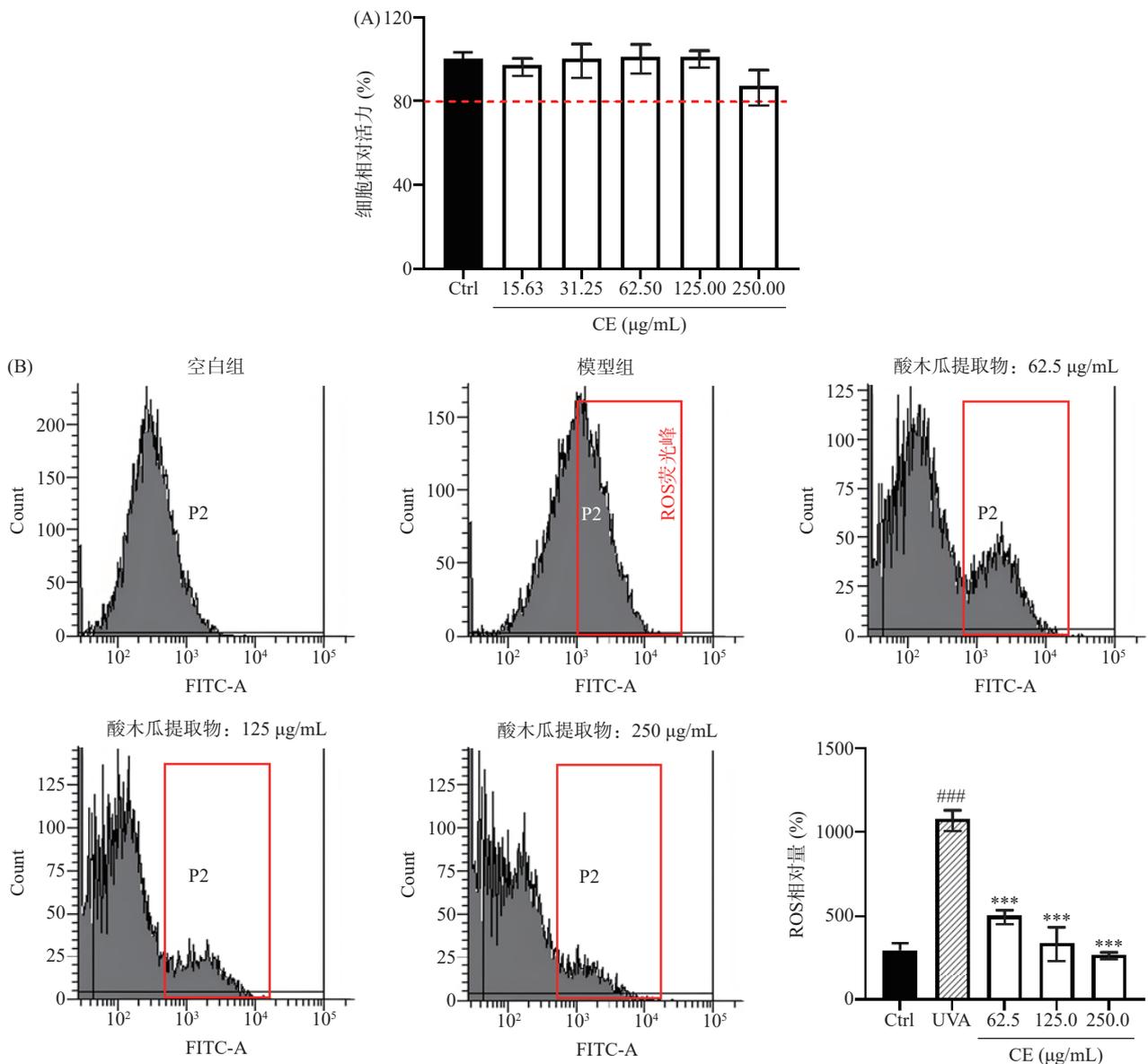


图 3 酸木瓜提取物对 UVA 诱导 HaCaT 细胞 ROS 清除效果

Fig.3 Scavenging of CE on UVA-induced ROS in HaCaT cells

注: (A)酸木瓜提取物对 HaCaT 细胞活力的影响; (B) 酸木瓜提取物对 UVA 诱导 ROS 清除效果; ###P<0.001 表示与空白组对比, 差异极显著; \*\*\*P<0.001 表示与模型组对比, 差异极显著。

### 2.3 酸木瓜提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症的影响

#### 2.3.1 酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞活力的影响

LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型通常被用来证明植物提取物或活性物质的生理活性<sup>[28]</sup>。为保证酸木瓜提取物对细胞生长具有高度的安全性,使用 CCK-8 法测定不同质量浓度酸木瓜提取物对细胞生长活力的影响,结果如图 4(A)所示。3~1000 μg/mL 浓度范围内的酸木瓜提取物处理 RAW264.7 细胞后,细胞存活率均达到 80% 以上,故选择 300、150、75 μg/mL 浓度的酸木瓜提取物进行后续实验。

#### 2.3.2 酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞 NO 分泌相对表达量的影响

NO 是传递细胞内和细胞间信号的重要信号分子,参与多种炎症信号转导,细胞中 NO 分泌量则是评判抗炎活性的重要指标<sup>[29]</sup>。如图 4(B)所示,LPS 刺激导致 NO 分泌量极显著增加 ( $P<0.001$ ),表示炎症模型构建成功。相较于模型组,酸木瓜提取物(300、150、75 μg/mL)处理极显著降低 NO 分泌量 ( $P<0.001$ ),表明酸木瓜提取物对 NO 的分泌有一定的抑制作用。

#### 2.3.3 酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞 IL-6 和 TNF-α 相对表达量的影响

IL-6 和 TNF-α 是生物体内重要的促炎因子,参与调控机体的炎症反应<sup>[30-31]</sup>。通过检测酸木瓜提取物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞内 IL-6 和 TNF-α 相对表达量,以反映细胞炎症程度。如图 4(C)和图 4(D)所示,1 μg/mL LPS 极显著提高了 IL-6 和 TNF-α 的表达水平 ( $P<0.001$ ),表示细胞炎症模型构建成功。与模型组相比,酸木瓜提取物(300、150、75 μg/mL)处理极显著下调 IL-6 的表达 ( $P<0.001$ ),75 μg/mL 浓度下的酸木瓜提取物对 IL-6 表达的抑制率为 43.08%,阳性对照抑制率为 31.81%,抑制效果优于阳性对照。酸木瓜提取物(300、150、75 μg/mL)对 TNF-α 的表达无显著抑制作用 ( $P>0.05$ )。上述结果表明,酸木瓜提取物具有较强的抗炎作用。

Zhu 等<sup>[32]</sup>研究发现木瓜多糖可降低 LPS 对 TNF-α、干扰素-γ(interferon γ, IFN-γ)和粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)的基因诱导作用,起到抗炎作用。本研究的酸木瓜提取物中较高的多糖含量意味着它可能含有更多的具有抗炎活性的多糖分子。这些多糖分子能够与细胞表面的受体结合,通过激活或抑制下游的信号通路,减少炎症因子的表达和分泌,从而减弱炎症反应<sup>[33]</sup>。此外,绿原酸和儿茶素是云南酸木瓜提取物中重要的植物天然成分,研究发现富含绿原酸、儿茶素的木瓜提取物通过抑制细胞中 IκBa 和 p65 蛋白的磷酸化过程,有效阻断了核因子 κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)向细胞核的迁移,从而抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,

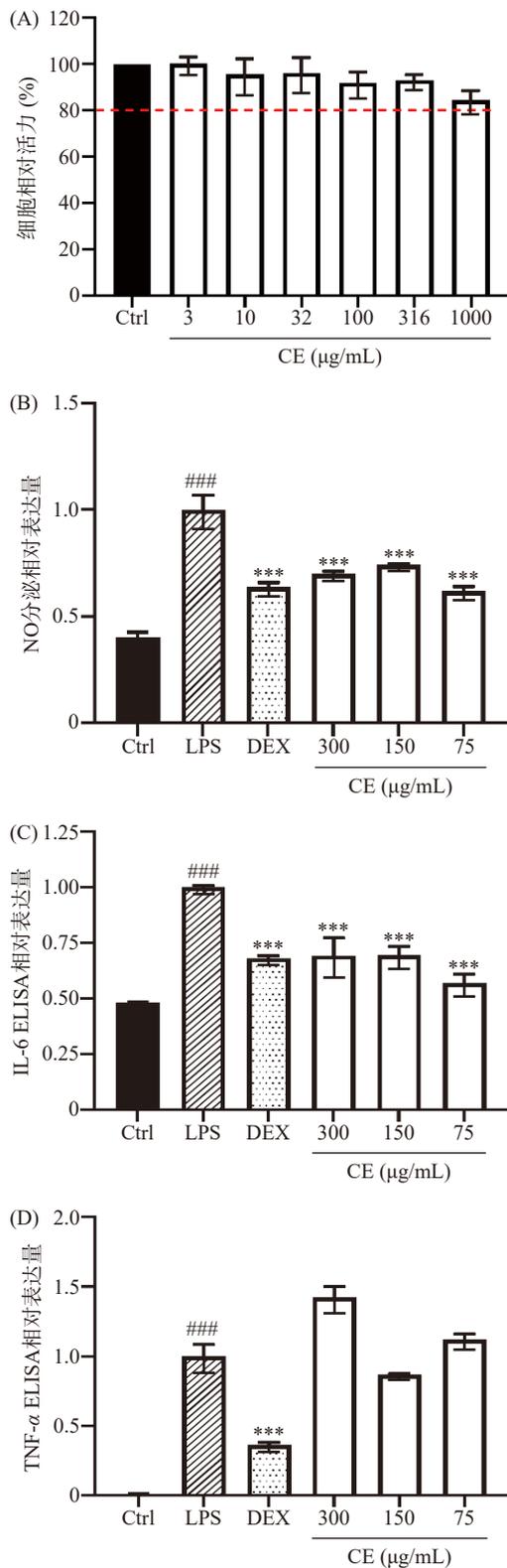


图4 酸木瓜提取物的抗炎活性

Fig.4 Anti-inflammatory activity of CE

注:(A)酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞活力的影响;(B)酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞释放 NO 能力的影响;(C)酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞中 IL-6 表达的影响;(D)酸木瓜提取物对 RAW264.7 细胞中 TNF-α 表达的影响;### $P<0.001$ 表示与空白组对比,差异极显著;\*\*\* $P<0.001$ 表示与模型组对比,差异极显著。

MAPK)信号通路中炎症相关基因的表达,起到抗炎作用<sup>[15]</sup>。基于此,可以推测酸木瓜提取物的显著的抗

炎效果可能不仅与其总多糖含量相关,还与其绿原酸和儿茶素等成分之间存在一定的关联。

### 3 结论

本研究通过 LC-MS 和 HPLC 技术定性和定量了酸木瓜提取物中的五种关键活性成分,证实其具有显著的抗氧化和抗炎活性。在细胞实验中,酸木瓜提取物能够有效减轻氧化应激并抑制炎症因子的生成。该研究不仅拓展了对酸木瓜活性成分的认识,还展示了其作为天然抗氧化和抗炎成分的潜在应用价值。作为云南的特色植物资源,本研究为酸木瓜的深度开发提供了科学依据,并对功能性食品、保健品及药物领域的绿色天然产品开发具有重要参考意义。未来的研究应进一步明确其作用机制,并通过临床数据的积累全面评估其安全性和有效性。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### 参考文献

- [1] 董文明,董坤,邵金良. 云南酸木瓜开发利用现状及其发展对策[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(2): 267-270. [DONG W M, DONG K, SHAO J L. The research tendencies and developmental countermeasure of *Chaenomeles sinensis* in Yunnan proxince[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2006, 21(2): 267-270.]
- [2] 甘秀海,张燕,王超英,等. 酸木瓜总生物碱的提取及其抗菌活性[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(8): 241-245. [GAN X H, ZHANG Y, WANG Y C, et al. Extraction and antibacterial activity of total alkaloids from *Chaenomeles speciosas*[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(8): 241-245.]
- [3] TAO W L, ZHAO C Y, LIN G X, et al. UPLC-ESI-QTOF-MS/MS analysis of the phytochemical compositions from *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai fruits[J]. *J Chromatogr Sci*, 2022, 61(1): 15-31.
- [4] DENG Y J, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Novel polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* seeds: Structural characterization,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity evaluation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153(15): 755-766.
- [5] HOU M Y, LIN C Y, MA Y H, et al. One-step enrichment of phenolics from *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai fruit using macroporous resin: Adsorption/desorption characteristics, process optimization and UPLC-QqQ-MS/MS-based quantification[J]. *Food Chemistry*, 2024, 439(1): 138085.
- [6] CHENG X, SHI S S, SU J, et al. Structural characterization of a heteropolysaccharide from fruit of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai and its antitumor activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 236(15): 116065.
- [7] YAO G D, LIU C Q, HUO H Q, et al. Ethanol extract of *Chaenomeles speciosa* Nakai induces apoptosis in cancer cells and suppresses tumor growth in mice[J]. *Oncology Letters*, 2013, 6(1): 256-260.
- [8] DUAN Z H, JIN C, DENG Y, et al. Exploring the chondroprotective effect of *Chaenomeles speciosa* on Glucose-6-Phosphate isomerase model mice using an integrated approach of network pharmacology and experimental validation[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 314: 116553.
- [9] 张健,赵庆桃,李静思,等. 云南产区酸木瓜酒品质改良研究[J]. 中国果菜, 2022, 42(10): 22-29. [ZHANG J, ZHAO Q T, LI J S, et al. Study on quality improvement of sour papaya wine from Yunnan[J]. *China Fruit and Vegetable*, 2022, 42(10): 22-29.]
- [10] FREDSGAARD M, TCHOUMTCHOUA J, KOHNEN S, et al. Isolation of polyphenols from aqueous extract of the halophyte *Salicornia ramosissima*[J]. *Molecules*, 2023, 29(1): 220.
- [11] SUN X J, FU M L, LOU S H, et al. Optimization of flavonoids extracted from hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent[J]. *Food Bioscience*, 2024, 59: 103767.
- [12] CHEN F, HUANG G L. Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125: 906-908.
- [13] KAWAMURA A, MIZUNO A, KURAKAKE M, et al. Inao-side a: New antioxidant phenolic compound from the edible mushroom *Laetiporus cremeiporus*[J]. *Heliyon*, 2024, 10(3): e24651.
- [14] HE B W, WANG F F, QU L P, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Physalis alkekengi* L. extracts *in vitro* and *in vivo*: Potential application for skin care[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 2022: 7579572.
- [15] HU F X, LIU C, WANG F Q, et al. Phenolic compounds from *Chaenomeles speciosa* alleviate inflammation in lipopolysaccharide-treated RAW264.7 macrophages via the NF- $\kappa$ B and MAPK pathways[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(4): 1071-1080.
- [16] MIAO J, LI X, ZHAO C C, et al. Solvents effect on active chemicals and activities of antioxidant, anti- $\alpha$ -glucosidase and inhibit effect on smooth muscle contraction of isolated rat jejunum of *Chaenomeles speciose*[J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 40: 146-155.
- [17] 韩煜,杨沫,谢晓梅,等. 不同产地木瓜中绿原酸、原儿茶酸和总酚的含量测定[J]. 中国药房, 2015, 26(24): 3399-3403. [HAN Y, YANG M, XIE X M, et al. Content determination of chlorogenic acid, protocatechuic acid and total phenolics in *Chaenomeles sinensis* from different areas[J]. *China Pharmacy*, 2015, 26(24): 3399-3403.]
- [18] ZHANG S Y, HAN L Y, ZHANG H, et al. *Chaenomeles speciosa*: A review of chemistry and pharmacology[J]. *Biomedical Reports*, 2014, 2(1): 12-18.
- [19] DENT M, VERICA D, PENIC M, et al. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts[J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2013, 51(1): 84-91.
- [20] 苗静. 木瓜等六种中药对照饮片加工炮制及机理研究[D]. 天津: 天津大学, 2018. [MIAO J. Study on the processing and processing mechanisms of six reference decoction pieces including *Chaenomeles fructus* and so on[D]. Tianjin: Tianjin University, 2018.]
- [21] ZHENG X, WANG H W, ZHANG P, et al. Chemical composition, antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Chaenomeles speciosa* from four production areas in China[J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 2518.
- [22] ZHOU Y F, CAO Y X, LI J X, et al. Screening and characterization of phenolic compounds by LC-ESI-QTOF-MS/MS and their antioxidant potentials in papaya fruit and their by-products activi-

- ties[J]. *Food Bioscience*, 2023, 52: 102480.
- [ 23 ] TANG Y, YU X P, MI M T, et al. Antioxidative property and antiatherosclerotic effects of the powder processed from *Chaenomeles speciosa* in Apoe<sup>-/-</sup> mice[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2010, 34: 535–548.
- [ 24 ] DIAB F, KHALIL M, LUPIDI G, et al. Influence of simulated *in vitro* gastrointestinal digestion on the phenolic profile, antioxidant, and biological activity of *Thymbra spicata* L. extracts[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1778.
- [ 25 ] XIE X F, ZOU G L, LI C H. Purification, characterization and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharide from *Chaenomeles speciosa*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 92: 702–707.
- [ 26 ] HUANG W F, HE J W, NISAR M F, et al. Phytochemical and pharmacological properties of *Chaenomeles speciosa*: An edible medicinal chinese mugua[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 2018: 9591845.
- [ 27 ] FUJIMOTO T, GOTOH H. Feature selection for the interpretation of antioxidant mechanisms in plant phenolics[J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1454.
- [ 28 ] JI S Y, BANG E, HWANGBO H, et al. Hydrolyzed oyster extracts suppress lipopolysaccharide-mediated inflammation and oxidative stress in RAW264.7 murine macrophages[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2024, 29: 494–504.
- [ 29 ] ZHAO L, MIAO Y, SHAN B, et al. Theabrownin isolated from Pu-Erh tea enhances the innate immune and anti-inflammatory effects of RAW264.7 macrophages via the TLR2/4-mediated signaling pathway[J]. *Foods*, 2023, 12(7): 1468.
- [ 30 ] ONTAWONG A, DUANGJAI A, VADDHANAPHUTI C S, et al. Chlorogenic acid rich in coffee pulp extract suppresses inflammatory status by inhibiting the p38, MAPK, and NF- $\kappa$ B pathways[J]. *Heliyon*, 2023, 9(3): e13917.
- [ 31 ] LIU Y, DONG H J, SUN D X, et al. Three anti-inflammatory polysaccharides from *Lonicera japonica* Thunb: Insights into the structure-function relationships[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2024, 13(4): 2197–2207.
- [ 32 ] ZHU Q, LIAO C L, LIU Y M, et al. Ethanolic extract and water-soluble polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* fruit modulate lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophage cells[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 144(2): 441–447.
- [ 33 ] HOU J J, GONG H X, GONG Z, et al. Structural characterization and anti-inflammatory activities of a purified polysaccharide from fruits remnants of *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt. et Smith[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 267: 131534.