

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.04.003

黄桷树叶黄酮的提取纯化及抗 BV-2 细胞炎性活化的作用研究*

赖 凤¹,李琪莹²,杨蕊菡³,高洁莹¹,肖 虹¹,贾 燕¹,汪 洋⁴,白群华^{1△}

(1. 重庆医科大学公共卫生与管理学院,重庆 400016;2. 重庆美华友好医院有限公司,重庆 400011;
3. 新疆维吾尔自治区昌吉州人民医院 831100;4. 重庆医科大学实验教学中心,重庆 401331)

[摘要] **目的** 探讨黄桷树叶黄酮的提取、纯化方法以及纯化产物对 BV-2 小胶质细胞脂多糖炎性活化的抑制作用。**方法** 采用乙醇浸提和 AB-8 大孔树脂对黄桷树叶中的黄酮进行提取和纯化;采用 BV-2 细胞脂多糖炎性活化模型,通过对细胞活力、细胞形态、一氧化氮和白细胞介素-1 β (IL-1 β)的检测,研究黄酮纯化物对 BV-2 细胞炎性活化的抑制作用。**结果** 50%乙醇提取 20 min 具有最高的黄酮提取效率,可达到 8.29%;春季树叶具有最高的黄酮含量;AB-8 大孔树脂吸附后,70%乙醇洗脱物具有最高的黄酮纯度,为 88.95%;20.0、50.0 mg/L 黄酮纯化物能明显抑制 BV-2 细胞在 1.0 mg/mL 脂多糖刺激下产生的炎性活化的形态以及细胞培养液中一氧化氮、IL-1 β 水平升高。**结论** 黄酮纯化物对 BV-2 小胶质细胞炎性活化具有良好的抑制作用。

[关键词] 黄酮;黄桷树叶;乙醇浸提;BV-2 小胶质细胞

[中图分类号] R965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)04-0554-05

Extraction and purification of total flavonoids from leaves of Ficus Lacor and its anti-inflammation activation effects of BV-2 cells*

LAI Feng¹,LI Qiying²,YANG Ruihan³,GAO Jieying¹,
XIAO Hong¹,JIA Yan¹,WANG Yang⁴,BAI Qunhua^{1△}

(1. School of Public Health and Management,Chongqing Medical University,Chongqing
400016,China;2. Chongqing Meihua Friendship Hospital Co. Ltd.,Chongqing 400011,China;
3. Changji Prefecture People's Hospital,Xinjiang Uygur Autonomous Region 831100,
China;4. Center for Lab Teaching,Chongqing Medical University,Chongqing 401331)

[Abstract] **Objective** To investigate the extraction and purification method of total flavonoids from the leaves of Ficus Lacor and the inhibiting effect of purified products on LPS inflammatory activation of BV-2 cells. **Methods** The ethanol extraction and AB-8 macroporous resin were used to extract and purify the total flavonoids in the leaves of Ficus Lacor. The lipopolysaccharide (LPS) inflammation activation model of BV-2 cells was adopted. The inhibiting effect of the flavonoids purification on inflammatory activation of BV-2 cells was investigated by detecting the cellular morphology, cell viability, nitric oxide (NO) and IL-1 β . **Results** 50% ethanol extraction for 20 min had the highest total flavonoids extracting efficiency, which reached 8.29%, moreover the leaves in spring had the highest total flavonoids content. In the purification of the flavonoids extract, after AB-8 macroporous resin adsorption, 70% ethanol eluate had the highest flavonoids purity, which was 88.95%. The flavonoids purification material at the concentration of 20.0 mg/L and 50.0 mg/L could significantly inhibit the inflammatory activation morphology of BV-2 cells under 1.0 mg/mL LPS stimulation and the increase of NO and IL-1 β contents in the cell culture fluid. **Conclusion** Ethanol purification material has good inhibiting effect on the inflammatory activation of BV-2 cells.

[Key words] flavone; leaf of Ficus Lacor; ethanol; AB-8 macroporous resin; BV-2 microglial cell

黄桷树又名大叶榕,为桑科榕属高大落叶乔木,普遍生长于中国南部和西南部,其根叶在这些地区民间经验用药比较常见^[1]。但现代对黄桷树的药用价值研究不多,对其有效成分和药理活性,尚未见系统、科学的研究报道。黄酮类物质具有较高的生物活性,在食品工业中,黄酮类作为抗氧化剂,能够阻遏食物

* 基金项目:重庆市科委前沿与应用基础研究计划基金项目(cstc2014jcyjA10019);重庆市渝中区科技计划基金项目(20160121)。 作者简介:赖凤(1994—),在读硕士,主要从事卫生检验与人体健康方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:1253811562@qq.com。

氧化作用引起的氧化腐蚀^[2-3]；在医学上，黄酮类具有抗炎和抗氧化作用，在治疗冠心病、老年性痴呆、脑血栓、神经系统疾病、肿瘤等方面有一定的效果，且不良反应较少^[4-5]。笔者在前期研究中发现黄桷树叶中含有大量黄酮类物质，其粗提物具有保护 A549 细胞氧化损伤的作用^[6-7]。本研究进一步研究了黄桷树叶黄酮的提取、纯化方法，并利用 BV-2 小胶质细胞脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 炎性活化的细胞模型，探讨纯化产物的抗炎作用。

1 材料与方法

1.1 材料 黄桷树叶采自重庆医科大学校园内；芦丁标准品购自中国药品生物制品检定所；AB-8 大孔吸附树脂购自北京索莱生物科技有限公司；BV-2 小胶质细胞来源于重庆医科大学分子遗传教研室；DMEM 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司；CCK-8 试剂盒购自碧云天生物技术有限公司；一氧化氮 (nitric oxide, NO) 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所；小鼠白细胞介素-1 β (IL-1 β) 酶联免疫吸附试验试剂盒购自欣博盛生物科技有限公司；LPS、二甲亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 购自 Sigma 公司；其他试剂全部为分析纯，购自商业试剂公司。

1.2 黄酮纯化物的制备

1.2.1 黄桷树叶总黄酮的提取与黄酮含量的测定 参考文献[8]，将新采集的黄桷树叶洗净、晾干、剪碎并冷冻干燥、打成粉后，使用不同浓度乙醇于 25℃ 浸提不同时间，浸提液经纱布过滤后，用三氯甲烷以 1:3 的比例萃取 2 次，取上层黄色液体经硅藻土絮凝后，3 500 r/min 离心 1 h 的上清液为提取液。然后将提取液以芦丁为标准，采用亚硝酸钠-硝酸铝显色法对提取液中总黄酮进行定量^[9-10]。

1.2.2 AB-8 大孔树脂对黄酮提取物的纯化 AB-8 大孔树脂的预处理：按 5.0 g 大孔树脂加入 20.0 mL 50% 乙醇的比例完全浸泡，静置 24 h 后备用。

AB-8 大孔树脂对提取物黄酮的吸附能力的静态测定：称取 5.0 g 湿大孔树脂，加入黄酮浓度为 C1 mg/mL 的黄桷树叶提取物溶液 20.0 mL，室温振荡 24 h 后，测量溶液中剩余的黄酮浓度，记为 C2 mg/mL，按下式计算 AB-8 大孔树脂 (g) 对提取物黄酮 (mg) 的吸附能力 A：

$$A = (C1 - C2) \times 20 / 5 \quad (1)$$

乙醇对 AB-8 大孔树脂吸附的黄酮的解吸能力的测定：将上述 5.0 g 已吸附黄酮的大孔树脂，用滤纸吸干表面液体后，加入一定浓度的乙醇 20.0 mL，室温振荡 24 h 后，测量该乙醇溶液中黄酮浓度，记为 C3 mg/mL，按下式计算该浓度乙醇的黄酮洗脱能力 B：

$$B(\%) = [C3 / (C1 - C2)] \times 100\% \quad (2)$$

纯化柱的准备：将预处理过的大孔树脂进行湿法装柱，柱长 30.0 cm，直径为 3.0 cm；然后用 50% 乙醇 200.0 mL 以每秒 1 滴的速度进行洗柱，再以相同的速度用 100.0 mL 蒸馏水洗柱；洗柱完成后准备上样。

提取物上样液的制备：提取液于真空冷冻干燥机中，先在常温下抽真空挥去乙醇，再于 -50℃，20 Pa 以下抽真空除去水分进行浓缩，然后测定浓缩液黄酮浓度；再根据上述大孔树脂对提取物黄酮的吸附能力，确定浓缩提取液的上样量。

提取物的纯化：将浓缩的提取液加入纯化柱后，静置 24 h，再以 100.0 mL 蒸馏水洗柱，然后用最佳浓度的乙醇洗脱，待流出液颜色由无色变为有色时，开始以 2.0 mL 每管的体积进行收集至流出液无色。然后对收集的各留分进行黄酮浓度的测定，并对部分黄酮浓度较高的留分经真空冷冻干燥至固体后，使用天秤称取干燥后物质的质量；然后再以蒸馏水溶解干燥物，并测量其中黄酮的浓度；再以此计算各留分黄酮的纯度。

1.3 黄酮纯化物的抗炎活性测定

1.3.1 BV-2 细胞 LPS 炎性活化模型的建立 BV-2 细胞于含 10% 灭活 FBS、100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素的 DMEM 培养基中于 37℃，5% CO₂ 孵箱中常规培养，当细胞达到对数生长期时用 0.125% 的胰酶消化传代。细胞接种培养 16 h 贴壁后进行相应的药物处理。LPS 以 DMSO 溶解后，用 DMEM 培养基稀释成相应浓度处理细胞；黄酮纯化物用 DMEM 培养基稀释成相应浓度处理细胞。再根据细胞活力试验结果，选择最佳的 LPS 和黄酮纯化物的干预浓度。

1.3.2 细胞活力的测定 (CCK-8 法) BV-2 细胞以每孔 3 000 个，100.0 μ L 体积接种于 96 孔培养板中。药物处理至预定时间后，每孔加入 10.0 μ L 的 CCK-8 溶液，孵育 2 h，待培养基颜色变深，用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。以空白对照组为标准计算细胞存活率。计算细胞存活率公式为：

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{\text{药物处理组吸光度值}}{\text{空白对照组吸光度值}} \times 100\% \quad (3)$$

1.3.3 细胞形态的观察 BV-2 细胞以每孔 3 万个接种于 24 孔培养板细胞爬片上。药物处理至预定时间后，用 40.0 g/L 多聚甲醛固定 10 min，倒置显微镜观察细胞形态。

1.3.4 细胞培养上清液中 NO 水平的测定 BV-2 细胞以每孔 30 万个接种于 6 孔培养板。药物处理至预定时间后，收集上清液，3 000 r/min 离心 2 min 后，以 Griess 试剂法测定培养上清液中的 NO 水平。

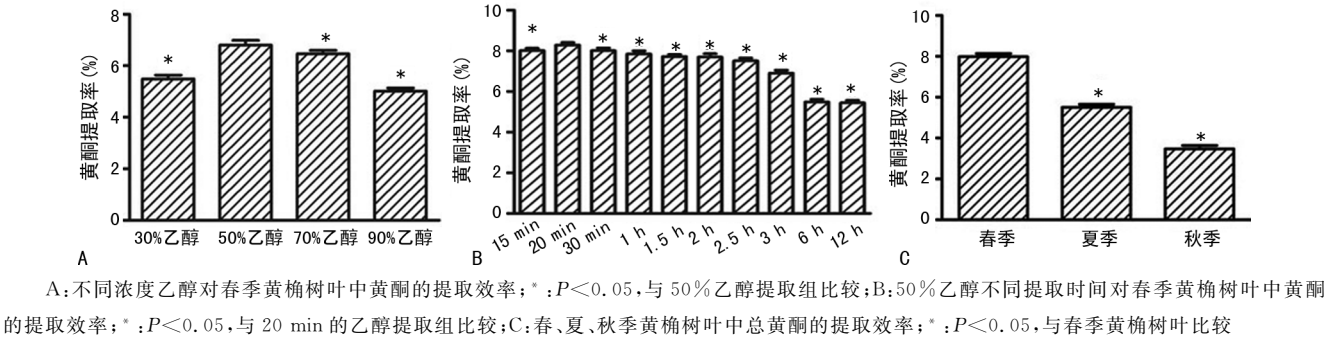


图 1 黄桷树叶黄酮的提取效率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

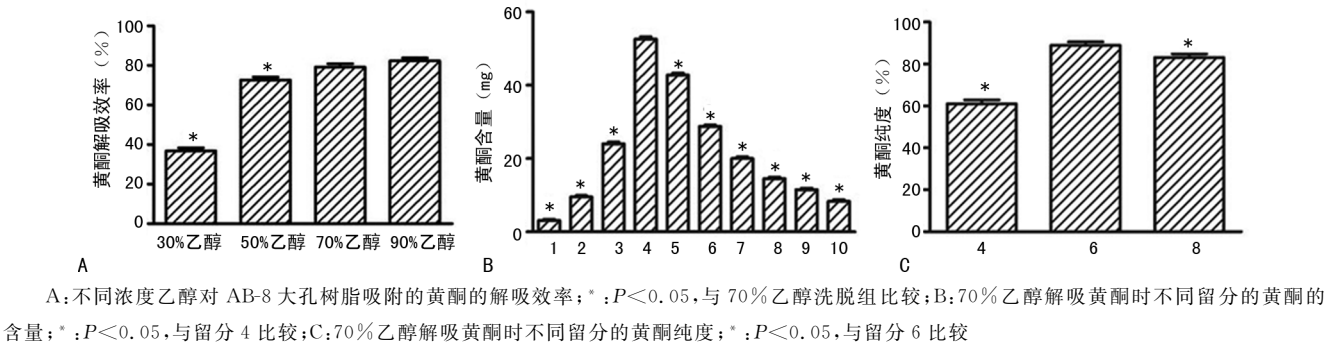


图 2 黄桷树叶黄酮提取液中黄酮成分的纯化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

1.3.5 细胞培养上清液中 IL-1 β 水平的测定 BV-2 细胞以每孔 30 万个接种于 6 孔培养板。药物处理至预定时间后,收集上清液,3 000 r/min 离心 2 min,取 50.0 μ L 于 96 孔板,按酶联免疫吸附试验(ELISA)测定试剂盒说明书操作测定细胞培养上清液中的 IL-1 β 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用 Student's t 检验,多组间比较用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄桷树叶总黄酮的提取 25.0 g 春季黄桷树叶粉末分别经 30%、50%、70%、90% 乙醇溶液在 25 $^{\circ}$ C 下提取 3 h,再经萃取、絮凝、离心后,对得到的提取液进行黄酮浓度的测定,并计算总黄酮的提取效率。结果显示(图 1A),50% 乙醇具有最高的总黄酮提取效率。

使用 50% 乙醇按上述方法,对春季黄桷树叶进行了 15 min,20 min,30 min,1 h,1.5 h,2 h,2.5 h,3 h,6 h,12 h 共 10 个时间的提取,结果(图 1B)显示,使用 50% 乙醇提取 20 min,对黄桷树叶中总黄酮具有最高提取率,可以达到(8.29 $\pm$ 0.12)%。

将春、夏、秋 3 个季节采摘的黄桷树叶于 50% 乙醇进行了 30 min 浸提,结果(图 1C)显示,其提取效率分别为(7.98 $\pm$ 0.16)%、(5.50 $\pm$ 0.15)%、(3.47 $\pm$ 0.17)%,故后续实验选用黄酮提取效率最高的春季

黄桷树叶为提取纯化对象。

2.2 黄桷树叶黄酮成分的纯化 本研究利用 AB-8 大孔树脂吸附和乙醇解吸进行黄酮提取效率最高的黄桷树叶黄酮提取液中黄酮成分的纯化。

2.2.1 确定 AB-8 大孔树脂纯化时的最佳上样量 首先测定了树脂对提取物中黄酮的静态吸附能力。结果测得 AB-8 大孔树脂对提取物中黄酮的吸附能力为(1.26 $\pm$ 0.14)mg/g。

2.2.2 确定 AB-8 大孔树脂纯化时的最佳乙醇解吸浓度 本研究用 30%、50%、70%、90% 的乙醇分别对吸附黄酮的大孔树脂进行洗脱,研究结果显示(图 2A),70% 乙醇的解吸率为(79.1 $\pm$ 1.7)%,与 90% 乙醇解吸率[(82.3 $\pm$ 1.5)%]比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。且由于 90% 乙醇洗脱时有较多气泡产生,干扰洗脱,故选用 70% 乙醇作为解吸剂。

2.2.3 测定 70% 乙醇对大孔树脂吸附黄酮的洗脱效果 本研究将 7.35 mL 浓缩提取液(含黄酮 367.5 mg)上样于处理好的 AB-8 大孔树脂柱后,以 70% 乙醇进行洗脱,每 2.0 毫升为一留分收集洗脱液,并测量每留分的黄酮含量(图 2B)。结果显示,洗脱时出峰较快,留分 3、4、5、6、7 均具有较高的黄酮含量,每留分为 20~50 mg,其中留分 4 含量最高,为(52.6 $\pm$ 0.62)mg。

2.2.4 测定大孔树脂对黄桷树叶总黄酮的纯化效果 将按以上方法得到的留分 4、留分 6、留分 8 分别测定计算了各留分的黄酮纯度。实验结果(图 2C)显

示,AB-8大孔树脂对黄桷树叶总黄酮具有较好的纯化效果,留分4~8的黄酮纯度可达到61%~88%,其中留分6具有最高的黄酮纯度,为(88.45±1.55)%,且黄酮的浓度也较高,故将留分6用于后续的分析测试。

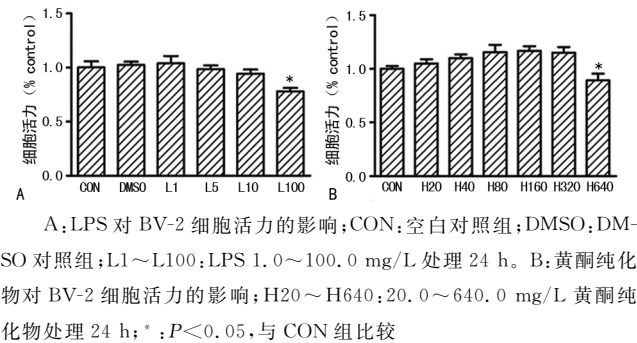


图3 LPS与黄酮纯化物对BV-2细胞活力的影响($\bar{x}\pm s,n=6$)

2.3 黄酮纯化物对BV-2细胞LPS炎性活化的影响

2.3.1 黄酮纯化物与LPS对BV-2细胞活力的影响

为了建立有效的实验模型,首先分析LPS和黄酮纯化物在实验条件下对细胞活力的直接影响,以排除药

物的细胞毒性对模型的干扰。结果显示,不同浓度LPS(1.0~100.0 mg/L)作用于BV-2细胞24 h,与DMSO组和CON组相比,LPS(1.0~10.0 mg/L)对细胞活力无明显影响(图3A);不同浓度黄酮纯化物(20.0~640.0 mg/L)作用BV-2细胞24 h,与CON组相比,浓度在20.0~320.0 mg/L范围对细胞活力无明显影响(图3B),此药物浓度以内可用于后续实验研究。

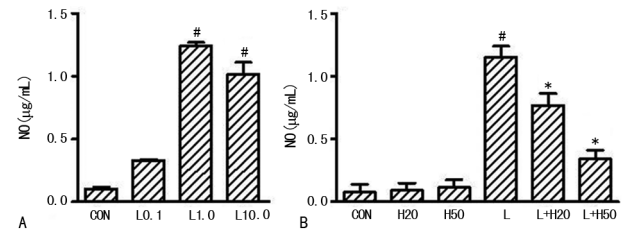
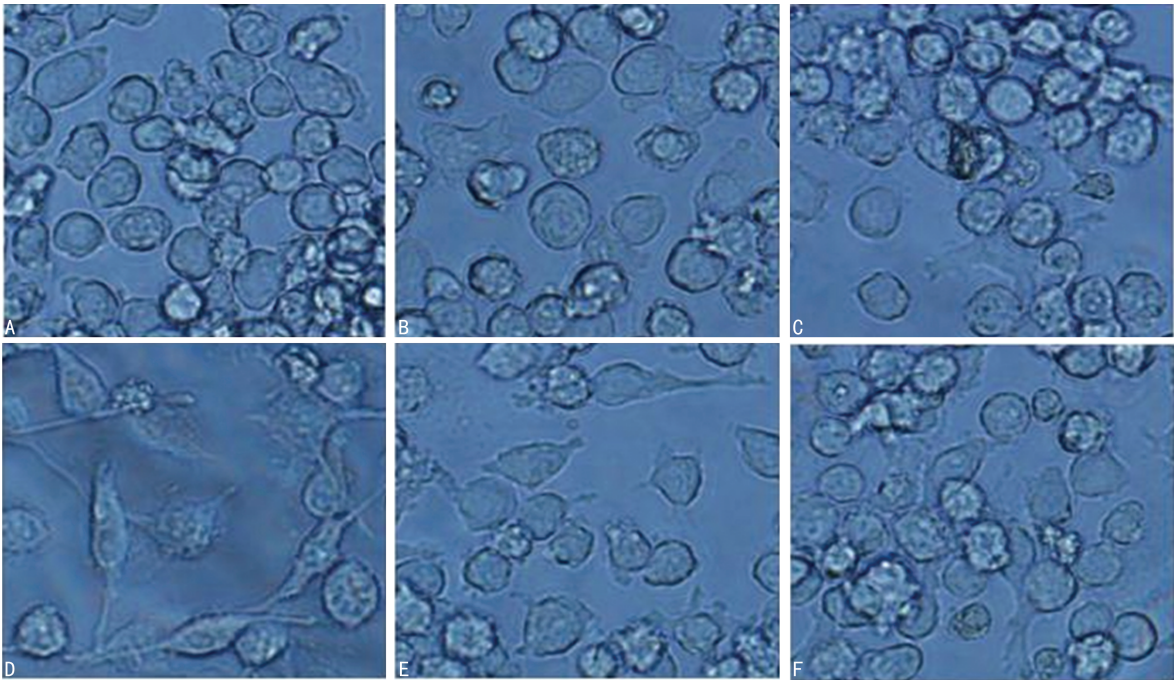


图4 LPS和黄酮纯化物对BV-2细胞培养液中NO水平的影响($\bar{x}\pm s,n=6$)



A:空白对照组;B:20.0 mg/L黄酮纯化物处理组;C:50.0 mg/L黄酮纯化物处理组;D:1.0 mg/L LPS处理组;E:1.0 mg/L LPS与20.0 mg/L黄酮纯化物处理组;F:1.0 mg/L LPS与50.0 mg/L黄酮纯化物处理组

图5 黄酮纯化物与LPS处理24 h对BV-2细胞形态的影响

2.3.2 BV-2细胞LPS炎性活化模型的建立及纯化物对模型炎性活化时NO生成的影响

为了建立有效的BV-2细胞LPS炎性活化模型,将0.1、1.0、10.0 mg/L 3个不同浓度的LPS分别作用于BV-2细胞24 h,结果显示(图4A),LPS浓度为1.0、10.0 mg/L时可明显升高细胞培养液中NO水平($P<0.01$),其中

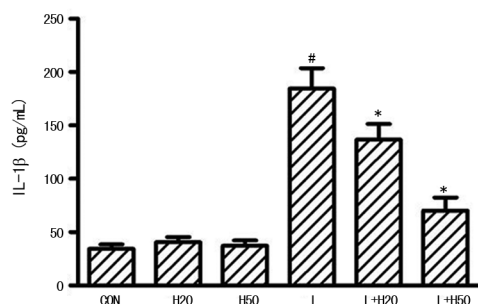
1.0 mg/L的LPS,使培养液中的NO水平由CON组的(0.11±0.01)μg/mL增加至(1.24±0.03)μg/mL。因此,运用1 mg/L的LPS可建立有效BV-2细胞的炎性活化模型。

将黄酮纯化物和LPS(1.0 mg/L)单独或同时作用于BV-2细胞24 h后,结果显示(图4B),1.0 mg/L

的 LPS 加用 20.0 mg/L 和 50.0 mg/L 黄酮纯化物即能显著抑制 LPS 单独作用时导致的胞外 NO 的产生,使培养液中的 NO 水平由 LPS 单独作用时的 $(1.15 \pm 0.27) \mu\text{g/mL}$ 降低至加用 20.0 mg/L 黄酮纯化物的 $(0.77 \pm 0.14) \mu\text{g/mL}$ ($P < 0.05$) 和加用 50.0 mg/L 黄酮纯化物时的 $(0.34 \pm 0.07) \mu\text{g/mL}$ ($P < 0.05$)。

2.3.3 黄酮纯化物对 LPS 活化 BV-2 细胞形态的影响 使用黄酮纯化物 (20.0、50.0 mg/L) 及 1.0 mg/L LPS 单独或同时处理 BV-2 细胞 24 h, 对其形态的影响见图 5。结果显示, 与空白对照组相比, 黄酮纯化物单独作用时, 20.0、50.0 mg/L 的浓度对 BV-2 细胞形态无明显影响 (图 5B、C); 1.0 mg/L LPS 单独作用时明显导致了细胞胞体增大, 有较多突起 (图 5D)。当 1.0 mg/L LPS 加用黄酮纯化物处理细胞时, 则黄酮纯化物 20.0、50.0 mg/L 的浓度均明显使伸长的细胞突起回缩变短且胞体变圆。

2.3.4 黄酮纯化物对 LPS 诱导 BV-2 细胞 IL-1 β 产生的影响 本研究测定了黄酮纯化物 (20.0、50.0 mg/L) 及 1 mg/L LPS 单独或同时处理 BV-2 24 h 后, 细胞培养液中 IL-1 β 的水平 (图 6)。结果显示, 与空白对照组相比, 20.0 mg/L 与 50.0 mg/L 黄酮纯化物单独处理时 IL-1 β 水平无明显变化, 而 1.0 mg/L LPS 单独处理时 IL-1 β 水平则由空白对照组的 $(34.32 \pm 4.24) \text{pg/mL}$ 增加至 $(184.41 \pm 19.33) \text{pg/mL}$ ($P < 0.05$); 而 LPS 加用 20.0 mg/L 与 50.0 mg/L 黄酮纯化物处理后, IL-1 β 水平则分别降至 $(116.64 \pm 9.69) \text{pg/mL}$ ($P < 0.05$) 和 $(70.13 \pm 8.17) \text{pg/mL}$ ($P < 0.05$)。



CON: 空白对照组; L: 1.0 mg/L LPS 处理组; H20、H50: 20.0 mg/L 与 50.0 mg/L 黄酮纯化物处理组。#: $P < 0.05$, 与 CON 组比较, *: $P < 0.05$, 与 L 组比较

图 6 黄酮纯化物与 LPS 处理 24 h 对 BV-2 细胞培养液 IL-1 β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3 讨 论

在黄桷树叶总黄酮的提取中, 乙醇浸提法是常用的方法, 提取的乙醇浓度和提取时间是影响提取效率的重要因素。本研究结果发现, 用 50% 乙醇提取 20 min 具有最高的提取效率, 随着乙醇浓度增加和提取时间延长, 提取效率反而下降。这可能是由于随着乙

醇浓度增加和提取时间延长, 增加了其他杂质的溶出, 而杂质妨碍了黄酮的溶出并影响了黄酮结构的完整性。而在此条件下, 总黄酮的最高提取效率可达到 8.29%, 说明黄桷树叶总黄酮含量非常丰富, 具有较高的开发利用价值。在民间, 常采摘春季嫩叶作为食用和药用; 而本研究对不同季节树叶的黄酮提取率进行测定, 春、夏、秋分别为 7.98%、5.5%、3.47%, 说明季节对其黄酮含量的影响很大, 春季树叶具有最高的含量, 最具有开发价值。在对黄桷树叶黄酮成分的纯化中, AB-8 大孔树脂吸附和乙醇解吸是常用的方法。本研究表明, AB-8 大孔树脂对提取物中黄酮的吸附能力可以达到 $(1.26 \pm 0.14) \text{mg/g}$, 具有较高的吸附能力。而乙醇洗脱方面, 随着乙醇的浓度增加, 洗脱能力增加, 但 70% 乙醇的解吸效果为 79.1%, 与 90% 乙醇解吸率 (82.3%) 相当, 说明 AB-8 大孔树脂吸附易被乙醇解吸。而用 AB-8 大孔树脂柱对提取的黄酮进行纯化时, 发现 70% 乙醇洗脱时, 黄酮出峰很快, 但黄酮含量最高的留分其杂质含量也高, 如黄酮含量最高的留分 4 (含黄酮 52.6 mg) 及其后收集的留分 6 (含黄酮 28.7 mg) 的黄酮纯度分别为 61.05%、88.95%。文献 [11] 显示, 用 AB-8 大孔树脂进行分离纯化时, 上样液的 pH 值、上样流速、洗脱液体积分数等也可对纯化效率有一定的影响, 故需进一步优化 AB-8 大孔树脂的纯化条件, 提高黄酮的纯化效率。

黄桷树为榕属植物, 虽然至今已从本属植物中分离到降血糖、降血压、抗肿瘤、抗菌、抗疟的单体成分 [12], 证实具有治疗腹泻、关节炎、抑制细胞凋亡和调节记忆、焦虑、癫痫的作用 [1], 但黄桷树叶的药效成分还未见报道。因抗炎活性是黄酮类的重要药用功效, 本研究利用 BV-2 小胶质细胞 LPS 炎性活化的细胞模型, 初步研究了其黄酮纯化物的抗炎活性。小胶质细胞是神经系统内的巨噬细胞来源的免疫细胞, 当其发生炎性活化时, 可通过产生大量的毒性因子包括 NO 和促炎细胞因子 (如 IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α) 等, 促进神经退行性疾病的发生 [13-14]。

研究结果表明, 所得到的黄酮纯化物能够明显抑制 LPS 导致的小胶质细胞形态的活化和炎性相关因子 NO、IL-1 β 的分泌, 提示黄桷树叶黄酮可能具有良好的抑制小胶质细胞炎性活化的作用, 可能在防治帕金森病、阿尔茨海默病等神经退行性疾病中具有良好的应用前景。但本研究所用的黄酮纯化物仍然含有一定量的杂质, 且黄酮的种类很多, 需要进一步结合多种分离纯化方法, 得到高纯度的成分, 并结合使用质谱、多种光谱技术, 鉴定其确切的成分, 再进行进一步的药理活性研究, 以明确其确切的抗炎药效成分, 并进行进一步的药效与机制的研究, (下转第 563 页)

34402-34413.

[21] YANG J B,CHATTERJEE-KISHORE M,STAUGAITIS S M,et al. Novel roles of unphosphorylated STAT 3 in oncogenesis and transcriptional regulation[J]. Cancer Res,2005,65(3):939-947.

[22] CHEN J,WANG J Q,LIN L,et al. Inhibition of STAT3 signaling pathway by nitidine chloride suppressed the angiogenesis and growth of human gastric cancer[J]. Mol Cancer Ther,2012,11(2):277-287.

[23] XIONG H,DU W,WANG J L,et al. Constitutive activation of STAT3 is predictive of poor prognosis in human gastric cancer[J]. J Mol Med (Berl),2012,90(9):1037-1046.

[24] MASTORAKI A,BENETOU C,MASTORAKI S,et al. The role of surgery in the therapeutic approach of gastric cancer liver metastases[J]. Indian J Gastroenterol,2016,35(5):331-336.

[25] JIANG X M,WANG W F,YANG Y M,et al. Identification of circulating microRNA signatures as potential non-invasive biomarkers for prediction and prognosis of lymph node metastasis in gastric cancer[J]. Oncotarget,2017,8(39):65132-65142.

[26] KAGAWA S,SHIGEYASU K,ISHIDA M,et al. Molecular diagnosis and therapy for occult peritoneal metastasis in gastric cancer patients [J]. World J Gastroenterol,2014,20(47):17796-17803.

[27] MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B M, SOUCEK P. FOLFOX/FOLFIRI pharmacogenetics;the call for a personalized approach in colorectal cancer therapy[J]. World J Gastroenterol,2014,20(30):10316-10330.

[28] WANG X L,LEE K H. New developments in the chemistry and biology of the bioactive constituents of Tanshen [J]. Med Res Rev,2007,27(1):133-148.

[29] MORA L B,BUETTNER R,SEIGNE J,et al. Constitutive activation of Stat3 in human prostate tumors and cell lines;direct inhibition of Stat3 signaling induces apoptosis of prostate cancer cells[J]. Cancer Res,2002,62(22):6659-6666.

(收稿日期:2018-08-22 修回日期:2018-11-01)

(上接第 558 页)
为进一步研究开发打下基础。

参考文献

[1] 张丽霞,管志斌. 西双版纳药用榕树资源[J]. 亚热带植物科学,2004,33(2):60-62.

[2] HUYAERE K,SKIBSTED L H. Flavonoids protecting food and beverages against light[J]. J Sci Food Agric,2015,95(1):20-35.

[3] 吴京平. 天然植物性抗氧化剂在食品工业中的应用[J]. 北京联合大学学报(自然科学版),2007,21(2):63-66.

[4] 王忠雷,杨丽燕,张小华,等. 中药黄酮类抗氧化活性成分研究进展[J]. 世界科学技术(中医药现代化),2013,15(3):551-554.

[5] 羊波,应茵,陈冬丽,等. 黄酮类化合物抗炎作用机制研究进展[J]. 中国药师,2016,19(7):1369-1373.

[6] 董兰岚,吕娟,何元,等. 黄桷树叶中总黄酮的乙醇超声提取工艺研究[J]. 应用化工,2017,46(11):2188-2190.

[7] 汪洋,胡魁,陈玲,等. 黄桷树叶总黄酮提取物对 A549 细胞的保护作用研究[J]. 重庆医学,2017,46(16):2178-2182.

[8] 王小红,曹阳,吴阳,等. 大叶榕须有效成分提取工艺研究[J]. 化学研究与应用,2010,22(12):1486-1491.

[9] 丁嘉信,李万忠,李慧芬,等. 银杏叶提取物总黄酮紫外分光光度法含量测定的适应性研究[J]. 食品与药品,2012,14(4):260-263.

[10] ORIHUELA R,MCPHERSON C A,HARRY G J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states[J]. Br J Pharmacol,2016,173(4):649-665.

[11] 骆党委,叶静,黄雅燕,等. AB-8 大孔吸附树脂精制芦柑皮总黄酮及黄酮类化合物的分离[J]. 食品科学,2014,35(6):30-35.

[12] 陈胜发,刘彦超,龙凤来. 榕属植物化学成分研究进展[J]. 杨凌职业技术学院学报,2010,9(3):13-17.

[13] PERRY V H,HOLMES C. Microglial priming in neurodegenerative disease[J]. Nat Rev Neurol,2014,10(4):217-224.

[14] XU L,HE D,BAI Y. Microglia-mediated inflammation and neurodegenerative disease[J]. Mol Neurobiol,2016,53(10):6709-6715.

(收稿日期:2018-08-23 修回日期:2018-11-13)