

生物活性结合 UPLC-Q/TOF 分析的芒果核仁中抗炎药效物质筛选研究

聂妍¹, 侯媛媛^{1*}, 李云鹃², 侯小涛², 白钢¹, 邓家刚²

1. 南开大学药学院, 天津市分子药物研究重点实验室, 天津 300071

2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530021

摘要: 目的 探究芒果 *Mangifera indica* 核仁的抗炎活性, 并筛选出其中具有抗炎作用的药效物质。方法 利用二甲苯诱导的小鼠耳肿胀模型和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导的人胚肾细胞 293 (HEK-293) 炎症模型对芒果核仁提取物的抗炎作用进行评价, 并采用 UPLC-Q/TOF 结合核因子- κ B (NF- κ B) 荧光素酶报告基因检测系统进行谱效关系研究, 筛选芒果核仁提取物中具有抗炎活性的药效物质。结果 芒果核仁提取物能显著改善小鼠耳廓的肿胀情况并能显著抑制细胞中 NF- κ B 的表达; 经 UPLC-Q/TOF 谱效关系分析筛选出 10 个具有 NF- κ B 抑制活性的化合物为芒果苷和没食子酸鞣质类化合物, 后者包括: 没食子酸、1-没食子酰- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 4)- β -D-半乳糖苷、1-没食子酰- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 6)- β -D-半乳糖苷、1,2,3-三-O-没食子酰- β -D-葡萄糖、1,2,3,4-四没食子酰- β -D-葡萄糖、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖、六没食子酰葡萄糖。结论 芒果核仁提取物具有较好的抗炎作用, 芒果苷和没食子酸系列衍生物为其提取物中主要的抗炎活性物质。

关键词: 芒果核仁; 谱效关系; 核因子- κ B 抑制剂; 芒果苷; 没食子鞣质; 抗炎

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)18-2743-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.18.013

Screening of anti-inflammatory components in *Mangiferae Indicae Semen* based on bioactivity-integrated UPLC-Q/TOF analysis

NIE Yan¹, HOU Yuan-yuan¹, LI Yun-juan², HOU Xiao-tao², BAI Gang¹, DENG Jia-gang²

1. Tianjin Key Laboratory of Molecular Drug Research, College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China

2. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530021, China

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory effects of *Mangiferae Indicae Semen* (MIS) and to screen its bioactive components on nuclear factor- κ B (NF- κ B) inhibition. **Methods** The anti-inflammatory effects of MIS were assessed in the swelling of mouse ear induced by dimethylbenzene and the HEK293 inflammatory models induced by TNF- α . UPLC-Q/TOF MS coupled with NF- κ B activity luciferase reporter assay system was applied to detect the potential anti-inflammatory components in MIS extract. **Results** MIS extract could ameliorate the edema in swelling of mouse ear induced by dimethylbenzene. Ten components were screened to have the potential NF- κ B inhibitory effects based on the bioactivity-integrated UPLC-Q/TOF assay system. MIS could contribute to the alleviation of inflammation in the swelling of mouse ear and inhibit the expression of NF- κ B. Ten potential active ingredients were found to have anti-inflammatory effects as NF- κ B inhibitors, which were mangiferin and gallotannins. The gallotannins included gallic acid, 1-galloyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside, 1-galloyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopyranoside, 1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose, 1,2,3,4-tetragalloyl- β -D-glucose, 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose, and hexagalloylglucose. **Conclusion** Mangiferin and gallotannins are verified to be the main bioactive compounds in MIS.

Key words: *Mangiferae Indicae Semen*; spectrum-effect relationship; NF- κ B inhibitor; mangiferin; gallotannins; anti-inflammation

芒果 *Mangifera indica* L. 为漆树科芒果属热带常绿大乔木, 为“热带水果之王”, 是热带、亚热带地区的重要经济作物^[1], 芒果中主要含有黄酮、甙

体、萜类、苷类和酚类等化合物^[2], 具有抗炎、抑菌、抗癌、抗氧化、调节免疫等药理作用^[3], 具有较高的药用开发价值。现代药理学研究表明, 芒果

收稿日期: 2015-05-07

基金项目: 广西中药药效研究重点实验室开放课题 (14-045-12)

作者简介: 聂妍 (1988—), 女, 硕士在读, 研究方向为复方药物与系统生物学。Tel: (022)23504933 E-mail: nyMISle@126.com

*通信作者 侯媛媛, 女, 博士, 副教授, 主要从事复方药物与系统生物学研究。Tel: (022)23506930 E-mail: houyy@nankai.edu.cn

叶及其提取物有抗脂质过氧化、平喘、止咳、祛痰、镇痛、抗炎的作用^[4]。芒果皮具有止咳、化痰、抗炎的作用^[5]；芒果核仁具有健脾、止咳、化痰、抗炎、抑菌的功效^[6-7]。但是，其果皮及果核在日常生产活动中，常常被作为废弃物丢弃或焚烧，造成环境的污染及资源的浪费。因此，将农作物废弃物“变废为宝”成为科研人员关注的重点之一。

炎症是机体对各种致炎因素引起的局部损伤所产生的具有防御意义的应答性反应，是十分常见而又重要的基本病理过程，可以发生于机体的任何部位和任何组织，人类的大多数疾病都与炎症过程有着密切的联系。核因子- κ B (NF- κ B) 是一种重要的核转录因子，它可以高效诱导多种细胞因子、受体分子、黏附分子等的基因表达，同时也能调控参与炎症级联效应的多种酶的基因表达^[8]。因此，抑制 NF- κ B 的活性可以阻断炎症的关键起始步骤及其次级炎症反应。

本实验在建立二甲苯诱导的小鼠耳肿胀炎症模型和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导的细胞炎症模型评价芒果核仁的抗炎活性的基础上，利用超高效液相色谱-四级杆/飞行时间质谱 (UPLC-Q/TOF) 结合 NF- κ B 荧光素酶报告基因检测系统筛选芒果核仁中具有抗炎活性的化学成分，阐释芒果核仁的抗炎药效物质基础，为进一步研究其抗炎的作用机制提供思路，同时也为芒果废弃物的再利用提供理论依据。

1 仪器与材料

超高效液相色谱仪串联四极杆/飞行时间质谱 (Waters Acquity UPLC-Q/TOF Premier)，配自动进样器、柱温箱、PDA 检测器、Masslynx 4.1 工作站 (美国 Waters 公司)；Milli-Q 超纯水仪 (美国 Millipore 公司)；DZF-6020 型真空干燥箱 (河南予华仪器有限公司)；HF151UV 型 CO₂ 细胞培养箱 (上海 Heal Force 公司)；XD-101 型倒置显微镜 (南京东海光电子股份有限公司)；MIKRO 220R 型高速冷冻离心机 (德国 Hettich 公司)；AB104-N 型电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司)；Bio Absorbance Reader ELX800 (美国 Bio-Tek 公司)；Modulus 荧光检测仪 (美国 Turner Designs 公司)。

DMEM-高糖培养基 (美国 HyClone 公司)；双抗 (氨苄青霉素和链霉素)、胎牛血清、胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司)；TNF- α (美国 Peprotech 公司)；地塞米松 (Dex, 美国 Sigma 公司)；PGL4.32 质粒和

海肾荧光素酶质粒、细胞裂解液、双荧光素酶报告基因试剂盒 (美国 Promega 公司)；脂质体 2000 转染试剂 (美国 Invitrogen 公司)；芒果苷 (质量分数 95.0%，批号 130502，武汉宏信康精细化工有限公司)；没食子酸 (质量分数 98.5%，批号 E1309071，上海晶纯生化科技股份有限公司)；色谱纯甲醇、乙腈 (美国 Fisher 公司)；色谱纯甲酸 (比利时 Acros 公司)；亮氨酸-脑啡肽醋酸盐 (美国 Sigma-Aldrich 公司)；超纯水由 Milli-Q 制备。其他所用试剂均为分析纯。

芒果核仁 (*Semen Mangiferae Indicae*, MIS) 采自广西百色国家农业示范基地，经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为芒果 *Mangifera indica* L. 的核仁。

ICR 小鼠 (雄性，体质量 18~22 g) 购自北京军事医学科学院实验动物中心，许可证号 SCXK-(军) 2007-004XC。人胚肾细胞 (HEK293) 购自上海拜力生物技术有限公司。

2 方法

2.1 MIS 实验样品的制备

MIS 磨成粉，过 100 目筛，取 10 g 粉末加入 70% 乙醇水溶液 100 mL 超声 (40 kHz) 提取 30 min，提取液滤过后旋蒸得 MIS 提取物，于 4 °C 保存，备用。

2.2 UPLC-Q/TOF 分析及样品馏份收集

液相条件：Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (Waters, 100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m)，流动相为乙腈 (A)，0.1% 甲酸-水 (B)，体积流量为 0.4 mL/min，柱温 35 °C，进样浓度 10 mg/mL，进样量 2 μ L，二元梯度洗脱：0~2 min，2% A；2~4 min，2%~5% A；4~6 min，5%~10% A；6~11 min，10%~20% A；11~13 min，20%~23% A；13~13.5 min，23%~45% A；13.5~15 min，45%~90% A。

质谱条件：采用正、负 2 种模式扫描测定，仪器参数如下：电喷雾离子源 (ESI)；V 模式；毛细管电压 3.0 kV (正模式)，2.5 kV (负模式)；锥孔电压 30 V；离子源温度 100 °C；脱溶剂气温度 350 °C；脱溶剂氮气流量 600 L/h；锥孔气流量 50 L/h；采样频率 0.1 s；间隔 0.02 s；质量数扫描范围 m/z : 100~1 200；内参校正液 Lockmass 采用亮氨酸-脑啡肽醋酸盐 LEA (555.293 1 [M+H]⁺；553.277 5 [M-H]⁻)。数据采集工作站为 MassLynx 4.1。

馏份收集：采用样品分流同时进行，90% 用于馏份制备，10% 用于质谱分析，使用 96 孔深孔板进行馏份收集，按照 UPLC 分离时间，每隔 30 s 收集 1 份。40 °C 减压干燥，残渣用 100 μ L 细胞培养基

溶解后进行抗炎活性分析。

2.3 小鼠耳肿胀实验^[9]

雄性 ICR 小鼠随机分组, 每组 10 只, 分别 ig 0.5% 羧甲基纤维素 (模型组)、Dex (阳性药组) 及不同剂量的 MIS 提取物或芒果苷、没食子酸 (给药组)。各组均每天 ig 给药 1 次, 连续给药 3 d。末次给药 45 min 后, 小鼠乙醚麻醉下将 100% 二甲苯 0.02 mL 均匀涂在小鼠右耳前后两面, 左耳作对照。1.5 h 后将小鼠脱颈处死, 沿耳廓基线剪下两耳, 用 9 mm 直径打孔器分别在左右耳的同一部位打下圆耳片, 电子天平称质量, 以两耳片的质量差作为耳肿胀度, 计算肿胀抑制率。

$$\text{耳肿胀度} = \text{右耳片质量} - \text{左耳片质量}$$

$$\text{耳肿胀抑制率} = (\text{模型组耳肿胀度} - \text{给药组耳肿胀度}) / \text{模型组耳肿胀度}$$

2.4 MIS 对 NF-κB 抑制能力的测定^[10]

HEK 293 细胞培养于 96 孔板中, 细胞融合至 60%~70% 时用转染试剂 PEI 将 NF-κB 荧光素酶报告基因质粒 pGL4.32 (每孔 100 ng) 和内参海肾荧光素酶报告基因质粒 Renilla (每孔 9.6 ng) 共转染入细胞内, 转染试剂 PEI (1 mg/mL) 与 pGL4.32 的比例为 8:1, 转染 24 h 后分别加入用培养基适当稀释的 Dex 或不同质量浓度的 MIS 提取物或收集的馏分或芒果苷或没食子酸溶液孵育 6 h, 再加入 TNF-α (10 ng/mL) 造模 6 h, 空白组加入等体积培养基, 经细胞裂解液裂解细胞, 用双荧光素酶报告基因试剂盒分别检测各组细胞 NF-κB 的荧光值和内参 Renilla 的荧光值。数据以相对荧光比值表示: 相对荧光比值 = NF-κB 荧光值 / 内参 Renilla 荧光值。

2.5 数据处理和统计分析方法

采用 SPSS 18.0 软件进行数据统计, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

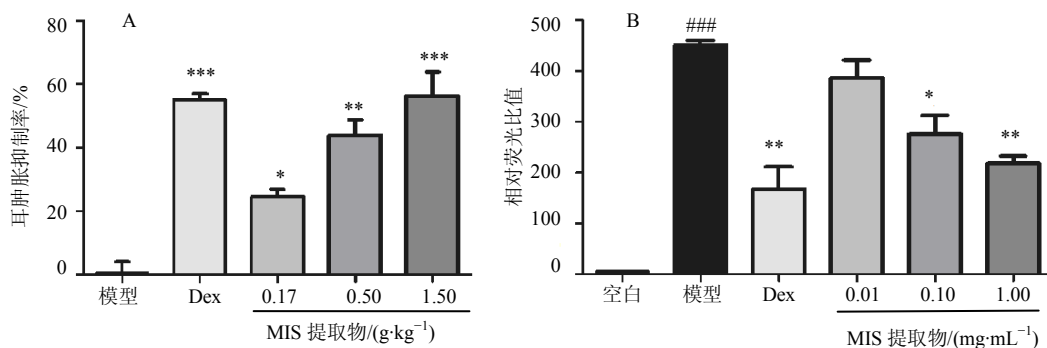
3.1 MIS 提取物抗炎的药效学评价

MIS 提取物对小鼠耳肿胀抑制率的结果见图 1-A, MIS 提取物低、中、高剂量 (生药 0.17、0.50、1.50 g/kg) 组均不同程度地抑制了二甲苯导致的小鼠耳肿胀 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 且鼠耳肿胀抑制率与剂量呈正相关; Dex 10 mg/kg 对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀具有显著抑制作用 ($P < 0.001$); MIS 提取物高剂量组与 Dex 组作用强度相当, 差异无统计学意义。

MIS 提取物在细胞水平上对 NF-κB 的抑制活性评价结果见图 1-B, TNF-α 刺激的模型组 NF-κB 的表达量与空白组相比显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 阳性药 Dex (1×10^{-5} mol/L) 组 NF-κB 的表达量显著降低 ($P < 0.01$); 虽然 MIS 提取物低剂量组 (0.01 mg/mL) 与模型组之间无显著性差异, 但中剂量 (0.10 mg/mL) 和高剂量组 (1.00 mg/mL) 均显著抑制了 NF-κB 的表达 ($P < 0.05$ 、0.01)。说明 MIS 提取物能够较好地抑制 TNF-α 刺激后细胞 NF-κB 的表达。

3.2 MIS 提取物中抗炎活性成分的筛选

为了进一步确认 MIS 中的抗炎活性成分, 将 MIS 提取物经 UPLC 分离, 再进行细胞水平的 NF-κB 抑制实验的谱效分析, 比较每个馏份对 NF-κB 的抑制效果。图 2 为 MIS 提取物的谱效关系图。图中显示了与 UPLC 保留时间相对应的馏份对 NF-κB 的抑制率, 从中得到 10 个色谱峰, 其中抑制率大于空白的 3 倍为抑制 NF-κB 表达的潜在活性物质。

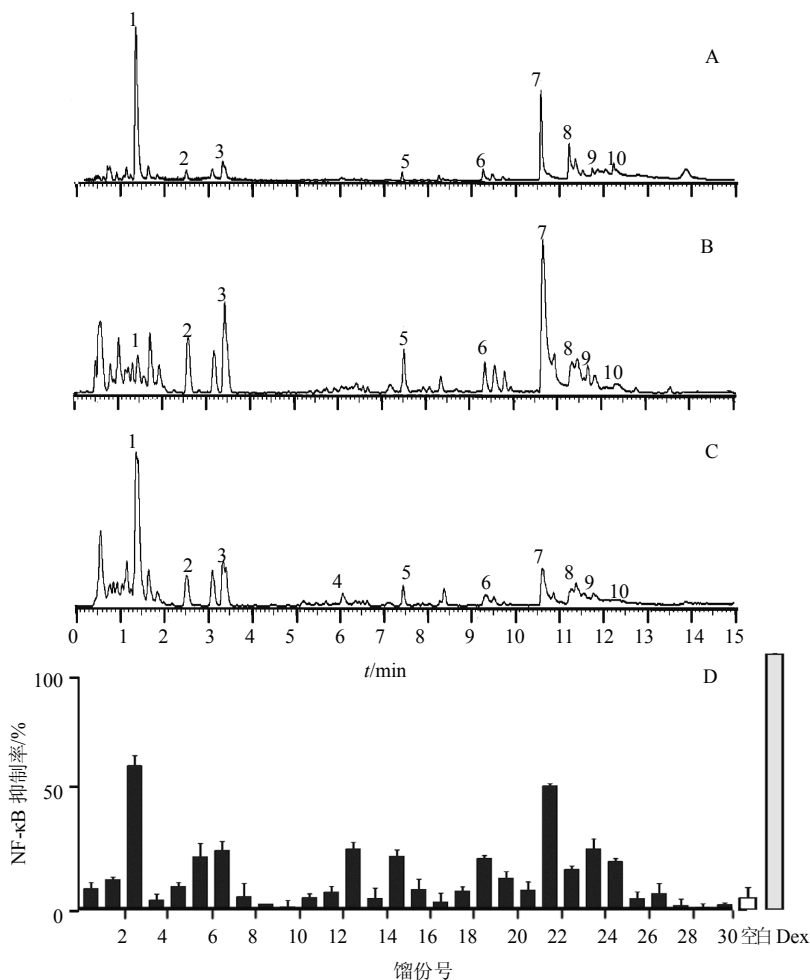


A-对小鼠耳肿胀的影响 B-对 NF-κB 的抑制活性评价; 与空白组比较: #### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

A-effects on swelling of mouse ear B-effects on NF-κB inhibition; #### $P < 0.001$ vs blank group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group

图 1 MIS 提取物抗炎药效学评价 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Pharmacodynamic evaluation on anti-inflammation by MIS extract ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A-HPLC-PDA 吸收谱图 B-正离子模式 BPI 图 C-负离子模式 BPI 图 D-NF-κB 抑制率

A-HPLC-PDA absorption spectrum chromatogram B-BPI chromatogram in positive ion mode C-BPI chromatogram in negative ion mode D-NF-κB inhibitory rate

图 2 UPLC-Q/TOF 结合荧光素酶报告基因检测系统筛选 MIS 提取物中抑制 NF-κB 活性的单体成分

Fig. 2 Screening of NF-κB inhibitors in MIS extract from using UPLC-Q/TOF coupled with luciferase reporter assay system

3.3 抗炎活性成分的鉴定

为鉴定出 MIS 中的抗炎活性成分，使用 UPLC-Q/TOF 对细胞实验所筛选出的几个抗炎活性单体进行二级质谱鉴定。经质谱信息分析和文献比对可知，活性成分主要分为 2 类：吡喃（xanthone）类化合物芒果苷（5）和没食子酸鞣质类化合物（1~4、6~10），其中包括以没食子酸为母核，糖基为取代基的化合物没食子酸（1）、1-没食子酰-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-半乳糖苷（2）、1-没食子酰-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-半乳糖苷（3）和以葡萄糖为母核、没食子酰基取代的化合物 1,2,3-三-O-没食子酰-β-D-葡萄糖（4）、1,2,3,4-四没食子酰-β-D-葡萄糖（6）、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖（7）、六没食子酰葡萄糖混合物（8~10）。以 5 号峰化合物为例阐释其质谱解析过程。此化合物紫外光谱的

最大吸收波长为 256、316 和 365 nm，这与吡喃类化合物的紫外特征一致；通过一级质谱信息得知，其负离子模式的分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 421.075 4，正离子模式的分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 423.094 4。按照精确质量数推测化学式为 $C_{19}H_{18}O_{11}$ ；分析其二级质谱图可知，负离子模式下出现 301 的分子碎片，推断为 $[M-H-H_2O-C_4H_6O_3]^-$ ；正离子模式下出现 405 和 303 的分子碎片，分别与 $[M+H-H_2O]^+$ 和 $[M+H-H_2O-C_4H_6O_3]^+$ 相一致。上述裂解规律与文献报道一致^[11]，因此推断 5 号峰化合物为芒果苷，质谱数据见表 1。以此类推，解析其他活性成分，质谱解析图见图 3。此外，需要特殊说明的是，8~10 号峰的质谱数据完全一致，查阅文献可知，它们可能的结构为六没食子酰葡萄糖，但仅依靠质谱数据不能确定第 6 个半乳糖的连接位点，因此只

表 1 MIS 提取物中具有抗炎活性化合物的质谱数据

Table 1 MS/MS data of anti-inflammatory compounds in MIS extract

峰号	t_R /min	化合物	m/z (+)	MS/MS	m/z (-)	MS/MS	化学式	文献
1	1.48	没食子酸	171.028 4	171 [M+H] ⁺ , 127 [M+H-CO ₂] ⁺	169.014 1	169 [M-H] ⁻ , 125 [M-H-CO ₂] ⁻ , 107 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	C ₇ H ₆ O ₅	12
2	2.63	1-没食子酰-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→4)-β-D-半乳糖苷	477.125 3	477 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 315 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	493.121 2	987 [2M-H] ⁻ , 493 [M-H] ⁻ , 313 [M-H-Glu] ⁻	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	13
3	3.22	1-没食子酰-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→6)-β-D-半乳糖苷	477.125 3	477 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 315 [M+H-Glu] ⁺	493.121 2	987 [2M-H] ⁻ , 493 [M-H] ⁻ , 313 [M-H-Glu] ⁻	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅	13
4	6.15	1,2,3-三-O-没食子酰-β-D-葡萄糖			635.081 9	635 [M-H] ⁻ , 616 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 483 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 465 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 169 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁻	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	12
5	7.51	芒果苷	423.094 4	423 [M+H] ⁺ , 405 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 387 [M+H-2H ₂ O] ⁺ , 369 [M+H-3H ₂ O] ⁺ , 351 [M+H-4H ₂ O] ⁺ , 303 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₆ O ₃] ⁺	421.075 4	421 [M-H] ⁻ , 301 [M-H-H ₂ O] ⁻ , C ₄ H ₆ O ₃ ⁻	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	11
6	9.41	1,2,3,4-四没食子酰-β-D-葡萄糖	771.109 3	771 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 619 [M+H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 449 [M+H-2C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 279 [M+H-3C ₇ H ₆ O ₅] ⁺	787.093 4	787 [M-H] ⁻ , 635 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 617 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 465 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	14
7	10.70	1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖	923.124 8	923 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 771 [M+H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 431 [M+H-3C ₇ H ₆ O ₅] ⁺	939.113 3	939 [M-H] ⁻ , 787 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 769 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 617 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	14
8~10	11.50~12.20	六没食子酰葡萄糖	1 075.125 1	1 075 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 923 [M+H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 771 [M+H-C ₇ H ₆ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁺	1 091.112 7	1 091 [M-H] ⁻ , 939 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 769 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	C ₄₈ H ₃₆ O ₃₀	14-15

能推测这一出峰时间段的化合物为六没食子酰葡萄糖混合物。

3.4 代表性成分抗炎活性的验证

为了确证筛选结果的可信性,选取 MIS 提取物中代表性的抗炎活性成分进行验证。从上述结果可以看出,芒果核仁中的活性成分为芒果苷和没食子酸的衍生物,因此选取芒果苷和没食子酸作为代表活性成分进行验证,验证实验分为整体动物水平和细胞水平两部分。

芒果苷和没食子酸对小鼠耳肿胀的抑制作用见图 4-A。与模型组相比,芒果苷低、中、高剂量(3、10、30 mg/kg)组均抑制了二甲苯致小鼠耳肿胀($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),且耳肿胀抑制率与剂量呈正相关。没食子酸低剂量(3 mg/kg)组呈现轻微抑制作用($P < 0.05$),但是中剂量(10 mg/kg)和高剂量(30 mg/kg)没食子酸均显著抑制了小鼠耳肿胀($P < 0.001$)。

芒果苷和没食子酸对 NF-κB 的抑制作用见图 4-B, TNF-α 刺激的模型组 NF-κB 的表达比空白组明显升高($P < 0.001$),而与模型组相比,阳性药 Dex (1×10^{-5} mol/L)组 NF-κB 的表达显著降低($P < 0.001$)。芒果苷和没食子酸低剂量组(1×10^{-7} mol/L)对 NF-κB 的抑制作用不明显,但中剂量(1×10^{-6} mol/L)和高剂量组(10^{-5} mol/L)芒果苷和没食子酸均显著抑制了 NF-κB 的表达($P < 0.05$ 、 0.01)。说明芒果苷和没食子酸在细胞水平上可以很好地抑制 NF-κB 的表达,且两者的抑制活性相当。

4 讨论

目前国内针对芒果的药用研究主要集中在芒果叶和芒果皮上,研究表明它们在抗细菌、抗病毒、抗辐射、抗氧化及免疫调节^[3]等方面均有一定的作用。但针对芒果核仁的研究较为局限,大多集中在芒果核仁有效部位的筛选、功能成分的提取层面上^[16],虽有报道表明芒果核仁具有抗炎作用,但是

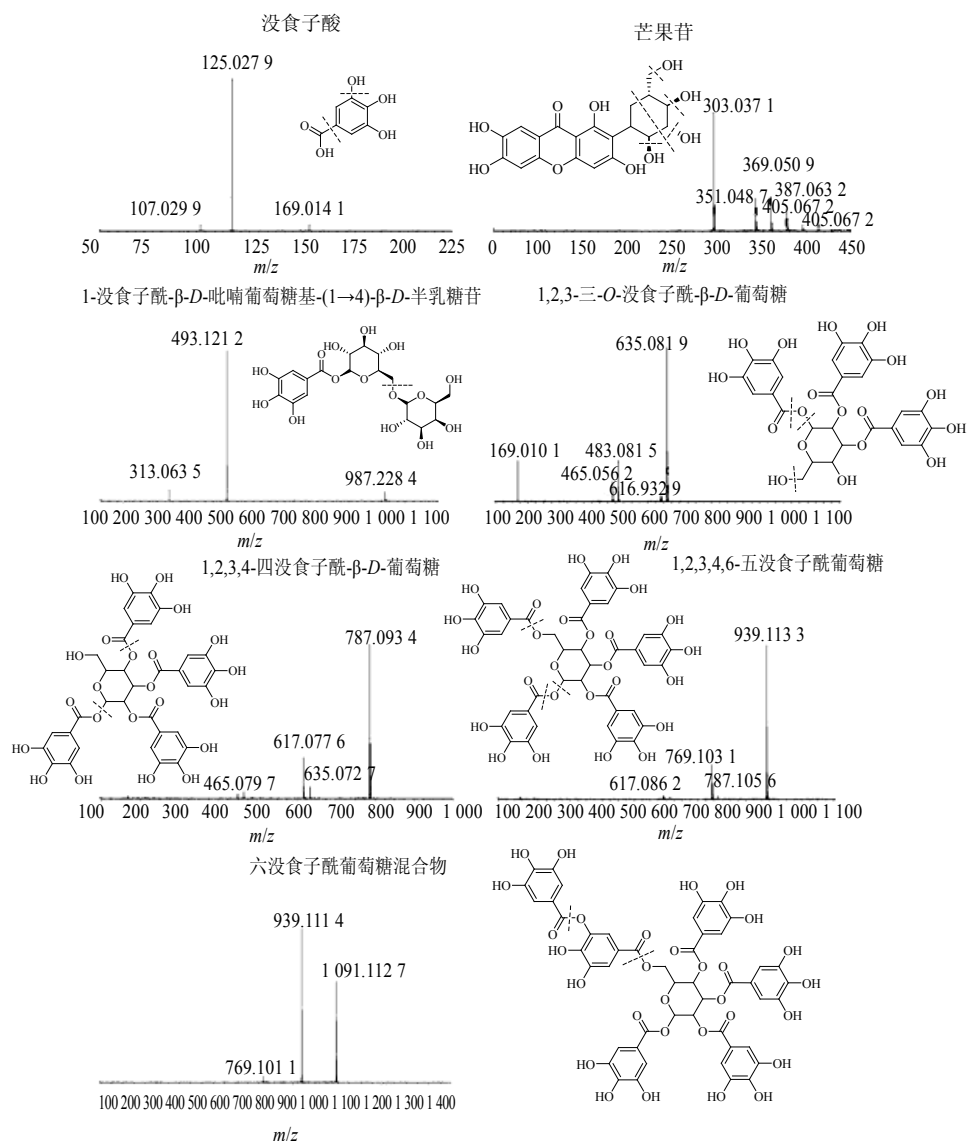
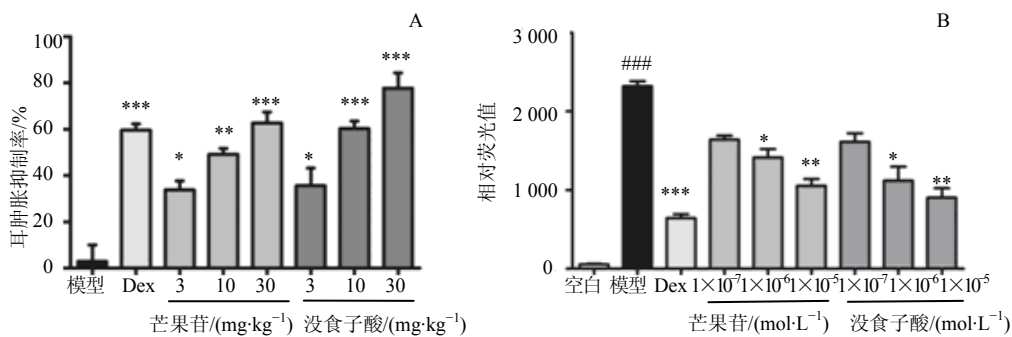


图 3 MIS 提取物抗炎活性成分质谱解析图

Fig. 3 MS spectra of anti-inflammatory compounds from MIS extract



A-对小鼠耳肿胀的影响 B-对 NF-κB 的抑制作用; 与对照组比较: ###*P*<0.001; 与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001
A-effects on swelling of mouse ear B-effects on NF-κB inhibition; ###*P*<0.001 vs control group; **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001 vs model group

图 4 芒果苷和没食子酸抗炎药效学评价 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Anti-inflammatory pharmacodynamic evaluation on mangiferin and gallic acid ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

并未见关于芒果核仁抗炎活性成分筛选的报道。

芒果苷和没食子酸在近期的药理研究中呈现了良好的抗炎作用,卫智权等^[17-18]通过脂多糖(LPS)诱导大鼠慢性炎症模型表明,芒果苷可以通过下调白细胞NF-κB基因表达抑制LPS诱导的慢性炎症。Gong等^[19]通过败血症介导的小鼠肺损伤模型表明,芒果苷可以通过上调血红素氧化酶-1起到抗炎的作用。Ho等^[20]证明没食子酸可以抑制NF-κB活性和下调PI3K/AKT信号通路。Couto等^[21]通过角叉菜胶鼠爪肿胀模型证明没食子酸具有抗炎的作用。没食子酸鞣质是鞣质中一类重要的化合物具有抗感染、止血收敛和抑制肠道的蠕动等多种重要的药理作用^[22]。本研究通过小鼠耳肿胀模型和NF-κB抑制实验证明了MIS提取物的抗炎效果,并通过UPLC-Q/TOF结合NF-κB荧光素酶报告基因检测系统筛选出了以芒果苷和没食子酸鞣质为代表的10个抗炎活性成分,这为后续研究芒果核仁的资源合理利用和开发提供了理论依据。

参考文献

[1] 张少若. 热带作物营养与施肥 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.

[2] 黄世好. 芒果核化学成分及应用工艺研究 [D]. 南宁: 广西师范大学, 2012.

[3] 王瑞兰, 张培丽. 芒果皮活性成分的萃取及其生理活性研究 [J]. 怀化学院学报, 2010, 29(2): 72-74.

[4] 黄敏琪, 林忠文, 曾宪彪, 等. 芒果皮提取物止咳化痰和抗炎作用研究 [J]. 中草药, 2007, 38(8): 1233-1234.

[5] 黄潇, 彭志刚. 芒果苷药理作用研究概况 [J]. 中国药师, 2007, 10(1): 73-74.

[6] 黄丽芳, 闫林, 范睿, 等. 芒果实生资源遗传多样性的SSR分析 [J]. 热带作物学报, 2011, 32(10): 1828-1832.

[7] 梁耀光, 徐巧林, 谢海辉, 等. 芒果核仁的化学成分及其抑菌活性 [J]. 热带亚热带植物学报, 2010, 18(4): 445-448.

[8] Krishnamoorthy S, Honn K V. Inflammation and disease progression [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2006, 25(3): 481-491.

[9] 魏伟. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.

[10] 韩彦琪, 周梦鸽, 王增勇, 等. 基于生物活性导向的UPLC-Q/TOF方法的玫瑰花抗炎药效物质基础研究 [J]. 中草药, 2014, 45(19): 2797-2802.

[11] Suryawanshi S, Asthana R K, Gupta R C. Simultaneous estimation of mangiferin and four secoiridoid glycosides

in rat plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic study of herbal preparation [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 858(1/2): 211-219.

[12] Chávez-González M L, Guyot S, Rodríguez-Herrera R, et al. Production profiles of phenolics from fungal tannic acid biodegradation in submerged and solid-state fermentation [J]. *Process Biochem*, 2014, 49(4): 541-546.

[13] Regazzoni L, Arlandini E, Garzon D, et al. A rapid profiling of gallotannins and flavonoids of the aqueous extract of *Rhus coriaria* L. by flow injection analysis with high-resolution mass spectrometry assisted with database searching [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 72: 202-207.

[14] Rodríguez H, de las Rivas B, Gómez-Cordovés C, et al. Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum* [J]. *Food Chem*, 2008, 107(2): 664-670.

[15] Tuominen A, Toivonen E, Mutikainen P, et al. Defensive strategies in *Geranium sylvaticum*. Part 1: Organ-specific distribution of water-soluble tannins, flavonoids and phenolic acids [J]. *Phytochemistry*, 2013, 95: 394-407.

[16] 陈昱洁, 盛占武, 施瑞城, 等. 响应面法优化芒果核多酚提取工艺 [J]. 食品科学, 2011, 32(12): 78-82.

[17] 卫智权, 邓家刚, 阎莉, 等. 芒果苷对脂多糖诱导慢性炎症的抗炎作用 [J]. 中国药理与临床, 2011, 27(2): 43-45.

[18] 卫智权, 阎莉, 邓家刚, 等. 芒果苷对脂多糖诱导的慢性炎症大鼠MAPK通路及血清细胞因子的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 52-58.

[19] Gong X, Zhang L, Jiang R, et al. Anti-inflammatory effects of mangiferin on sepsis-induced lung injury in mice via up-regulation of heme oxygenase-1 [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(6): 1173-1181.

[20] Ho H H, Chang C S, Ho W C, et al. Anti-metastasis effects of gallic acid on gastric cancer cells involves inhibition of NF-κB activity and downregulation of PI3K/AKT/small GTPase signals [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8/9): 2508-2516.

[21] Couto A G, Kassuya C A L, Calixto J B, et al. Anti-inflammatory, antiallodynic effects and quantitative analysis of gallic acid in spray dried powders from *Phyllanthus niruri* leaves, stems, roots and whole plant [J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2013, 23(1): 124-131.

[22] 杜国成. 中药鞣质成分的药理作用探析 [J]. 中国医药科学, 2011, 1(16): 27-33.