

不同加工方式的油茶籽油对变应性接触性皮炎的抗炎效果

陈宇¹, 杨纪元¹, 邱之阳¹, 张笑¹, 邱昌扬¹, 周凯^{1,2}, 郝泽金³, 陈志敏⁴

(1. 九江学院 江西油茶研究中心/药学与生命科学学院/九江市食品加工与安全重点实验室, 江西 九江 332005; 2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室 河源分中心, 广东 河源 517001; 3. 江西神州通油茶科技有限公司, 江西 九江 332801; 4. 江西晟启农业科技有限公司, 江西 九江 332621)

摘要:为了明确不同加工方式的油茶籽油对变应性接触性皮炎(ACD)的治疗效果,并探究油茶籽油中的主要抗炎物质,分别制备低温压榨油茶籽油、热榨油茶籽原油、热榨精炼油茶籽油、土榨油茶籽油和超临界CO₂油茶籽油,分析不同加工方式及添加不同活性物质的油茶籽油对ACD模型小鼠耳廓肿胀的影响,并结合ELISA法、HE染色和免疫组化探究其对小鼠炎症的抑制效果。结果表明:超临界CO₂油茶籽油对ACD小鼠耳廓肿胀的抑制率最高,与阳性对照组相比其小鼠血清中炎症因子TNF- α 、IL-1 β 和IL-6含量降低率超过10%,炎症细胞浸润程度明显好转,耳廓肿胀组织中NF- κ B阳性表达量与阴性对照组相比无显著差异;预防性给药的抗炎效果普遍低于造模后给药;倍数添加角鲨烯和生育酚的油茶籽油对ACD小鼠耳廓肿胀的抑制率显著提高,在50%左右,且角鲨烯、生育酚处理组小鼠耳廓组织中NF- κ B阳性表达量与阴性对照组无显著差异。因此,外用超临界CO₂萃取的油茶籽油治疗小鼠ACD效果最佳,其抗炎效果并非源于单一活性成分,与角鲨烯和生育酚等活性成分均密切相关。

关键词:油茶籽油;抗炎;变应性接触性皮炎;超临界CO₂萃取

中图分类号:TS224; R758.22 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)07-0061-07

Anti-inflammatory effect of oil-tea camellia seed oil extracted by different methods on allergic contact dermatitis

CHEN Yu¹, YANG Jiyuan¹, QIU Zhiyang¹, ZHANG Xiao¹, QIU Changyang¹, ZHOU Kai^{1,2}, HAO Zejin³, CHEN Zhimin⁴

(1. Institute of Jiangxi Oil-tea Camellia/College of Pharmacy and Life Sciences/Jiujiang Key Laboratory of Food Processing and Safety, Jiujiang University, Jiujiang 332005, Jiangxi, China; 2. Heyuan Branch, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Heyuan 517001, Guangdong, China; 3. Jiangxi Sinomaster Oil Camellia Technology Co., Ltd., Jiujiang 332801, Jiangxi, China; 4. Jiangxi Shengqi Agricultural Technology Co., Ltd., Jiujiang 332621, Jiangxi, China)

收稿日期:2023-03-20;修回日期:2024-04-15

基金项目:岭南现代农业科学与技术广东省实验室河源分中心(DT20220005);江西省卫生健康委科技计划项目(SKJP220201588);江西省中医药管理局科技计划项目(2020A0373);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ211804);江西省林业局油茶专项项目(YCYJZX[2023]333)

作者简介:陈宇(2003),女,在读本科,食品质量与安全专业(E-mail)1328241445@qq.com;杨纪元(2001),男,在读本科,生物科学专业(E-mail)18970203497@139.com。陈宇与杨纪元为共同第一作者。

通信作者:周凯,副教授(E-mail)zkjy1990@163.com。

Abstract: In order to clarify the therapeutic effect of oil-tea camellia seed oil extracted by different methods on allergic contact dermatitis (ACD), and further explore the potential active substances of anti-inflammatory in oil-tea camellia seed oil, cold pressed oil-tea camellia seed oil, hot pressed crude oil-tea camellia seed oil, hot pressed-refined oil-tea camellia seed oil, native pressed oil-tea camellia seed oil, and supercritical CO₂ extracted oil-tea camellia seed oil were prepared, the effects of different

processing methods of oil – tea camellia seed oils and different active substances added with oil – tea camellia seed oils on auricular swelling in ACD model mice were analyzed, and their anti – inflammatory effect in mice were studied by combining ELISA method, HE staining, and immunohistochemistry. The results showed that the supercritical CO₂ extracted oil – tea camellia seed oil showed the highest inhibition rate on auricular swelling of ACD mice, and the inflammatory factors, such as TNF – α , IL – 1 β and IL – 6 were reduced more than 10% compared with positive control. The degree of inflammatory infiltration significantly improved, and there was no significant difference in NF – κ B positive expression of auricular tissue between supercritical CO₂ extracted oil – tea camellia seed oil treatment group and negative control. However, the anti – inflammatory effect of prophylactic administration was generally lower than that of post modeling administration. The oil – tea camellia seed oil that supplemented with multiple squalene and tocopherol increased the inhibition rate of auricular swelling about 50%. There was no significant difference in NF – κ B positive expression of auricular tissue between the squalene and tocopherol group and the negative control. In general, supercritical CO₂ extracted oil – tea camellia seed oil exhibits the best therapeutic effect on ACD mice, and the active anti – inflammatory ingredients are closely related to squalene and tocopherol.

Key words: oil – tea camellia seed oil; anti – inflammatory; allergic contact dermatitis; supercritical CO₂ extraction

小儿尿布皮炎是新生儿和婴幼儿常见的皮肤疾病,临床表现为臀部发红、皮疹、糜烂等,严重时甚至会并发细菌感染而引起全身性感染,对新生儿生命安全造成威胁。小儿尿布皮炎多属变应性接触性皮炎(Allergic contact dermatitis, ACD),临床上 ACD 患者病变部位皮肤会出现增生变厚、红斑及苔藓样变,并伴有瘙痒,属于典型的 IV 型超敏反应^[1]。

目前国内外用于治疗 ACD 的药物主要包括糖皮质激素、抗组胺药及免疫调节剂等^[2],这些药物长期外用有导致皮肤萎缩、色素沉着、继发感染等副作用,并且停药后病情易反复发作,极大降低了患者的生活质量。ACD 是一种由 T 淋巴细胞和多种细胞因子介导和调节的皮肤炎症反应。肿瘤坏死因子 α (TNF – α)是促炎细胞因子之一,可激活内皮细胞分泌 IL – 1 β 、IL – 6 等白细胞介素细胞因子,促进局部炎症发生^[3]。IL – 1 β 主要由单核吞噬细胞产生,在中性粒细胞趋化和激活过程中发挥重要作用。IL – 6 是一种同时具备促炎性和抗炎性的细胞因子,促炎因子等多种刺激均会促进 IL – 6 合成。此外,固有免疫系统中核转录因子 – κ B(NF – κ B)的活化是导致 ACD 半抗原炎症的关键,NF – κ B 被认为是极具潜力的炎症性疾病治疗新靶点^[1],一些抗炎物质的研究均围绕此开展。

油茶籽油是油茶籽经过压榨、浸出等方法制得的木本植物油,具有“油中珍品”的美誉。研究表明,油茶籽油中除较高含量的油酸、亚油酸外,还有

多种生理活性物质,如角鲨烯、甾醇、生育酚、茶多酚等,具有抗衰老、抗炎、抗肿瘤等多种功能^[4]。民间一直流传用油茶籽油涂抹皮肤来预防与治疗炎症的习惯,油茶籽油对小儿尿布皮炎有一定的治疗效果^[5]。然而,不同加工方式的油茶籽油中生理活性成分及含量各有差异^[6],用于预防及治疗 ACD 的效果也不同,且目前尚未明确油茶籽油中抗炎的主要有效成分。除油茶籽油外,棉籽油^[7]与菜籽油^[8]中富含的亚油酸、维生素 E、萜烯和酚类物质等也均具有明显的抗炎作用,民间也有采用二者涂抹皮肤进行消毒愈伤的做法^[9]。因此,本研究以幼龄小鼠 ACD 模型为研究对象,以棉籽油与菜籽油作为对照,分析不同加工方式油茶籽油对小鼠耳廓肿胀的缓解效果,并探究主要作用物质,以期能为油茶籽油外用治疗小儿尿布皮炎提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

油茶果,江西神州通油茶科技有限公司(2020 年 10 月采摘自庐山市);二级压榨棉籽油、二级压榨菜籽油,购买于九江市场。PF 级 KM 小鼠,江西中医药大学动物实验室。角鲨烯、油酸、亚油酸、生育酚、没食子酸等均为分析纯,阿拉丁试剂有限公司;2,4 – 二硝基氟苯(DNFB)、硫化钠,上海麦克林生化科技有限公司;小鼠 TNF – α ELISA 试剂盒、IL – 6 ELISA 试剂盒、IL – 1 β ELISA 试剂盒,江苏酶免实业有限公司。

70型双螺杆压榨机,郑州丰安隆机械设备有限公司;DD85G型单螺杆定点压榨机,德国科美特公司;卧式楔子压榨机,木制自组装;超临界流体萃取仪,广州晟启能源设备有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 不同加工方式油茶籽油的制备

油茶果经自然干燥脱壳获得油茶籽。将油茶籽经150℃加热10 min,通过双螺杆压榨机压榨制油,过0.15 mm(100目)孔径滤网过滤得到热榨油茶籽原油;将热榨油茶籽原油经50℃水化脱胶、80℃碱液脱酸、活性炭脱色(活性炭添加量为原料质量的0.5%)及0℃冬化过夜制备热榨精炼油茶籽油;采用单螺杆定点压榨机压榨油茶籽制油,经过精滤即为低温压榨油茶籽油;将油茶籽粉碎后于100℃下蒸料20 min,压制成饼状后采用卧式楔子压榨机人工挤压制油,经过24 h沉淀后取上层清油即为土榨油茶籽油;将油茶籽粉碎后过1.2 mm网孔筛,采用超临界流体萃取仪在温度60℃、压力30 MPa、萃取时间1 h条件下制备油茶籽油(以下简称“超临界CO₂油茶籽油”)。

1.2.2 动物试验

预防性给药组:取6周龄小鼠,正常喂养5 d后随机分成7组,每组5只。首先采用10%硫化钠溶液对小鼠腹部脱毛,涂抹60 μL含5%二硝基氟苯的丙酮,用棉签揉搓吸收。4 h后在每组小鼠左耳耳廓处涂抹20 μL植物油,用棉签揉搓吸收,每天上午、下午重复给药各1次。第4天上午给药2 h后,用棉签清理小鼠左耳耳廓处的植物油,并在左耳耳廓相应位置涂抹15 μL含5%二硝基氟苯的丙酮,右耳不做处理,正常喂养2 d。

造模后给药组:取6周龄小鼠,正常喂养5 d后随机分成7组,每组5只。首先采用10%硫化钠溶液对小鼠腹部脱毛,涂抹60 μL含5%二硝基氟苯的丙酮,用棉签揉搓吸收。正常喂养4 d后,在小鼠左耳耳廓处涂抹15 μL含5%二硝基氟苯的丙酮进行造模,用棉签揉搓吸收。1 h后在每组小鼠左耳耳廓相应位置涂抹20 μL不同植物油,用棉签揉搓吸收,并每隔2 h重复一次,直至给药8次,右耳不做处理。

有效成分组:将造模后给药组处理中的植物油替换成额外添加50 mg/kg没食子酸、100 mg/kg角鲨烯和100 mg/kg生育酚的低温压榨油茶籽油,以及油酸和亚油酸,其他处理与造模后给药组一致。

对照组:以正常喂养且不做处理的小鼠作为阴性对照组,造模后不给药的小鼠作为阳性对照组。

试验完成后,所有试验小鼠从眼球采血于1 mL

离心管中,37℃水浴1 h后,5 000 r/min离心10 min,取血清存于-20℃冰箱备用。用6 mm打孔器剪下小鼠双耳给药对应部位并称量,随后放入4%多聚甲醛中进行固定。

1.2.3 小鼠耳廓肿胀率与肿胀抑制率的测定

分别按式(1)和式(2)计算小鼠耳廓肿胀率(S)和肿胀抑制率(I)。

$$S = m_1/m_2 \times 100\% \quad (1)$$

$$I = \frac{(S_1 - S_0) - (S_2 - S_0)}{S_1 - S_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: m_1 和 m_2 分别为小鼠打孔左耳廓和打孔右耳廓的质量; S_0 、 S_1 、 S_2 分别为阴性对照组、阳性对照组和造模后给药组小鼠耳廓肿胀率。

1.2.4 小鼠血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 含量测定

参照试剂盒说明书采用ELISA法检测小鼠血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的含量。

1.2.5 小鼠耳廓肿胀组织病理观察

小鼠耳廓肿胀组织病理观察采用常规病理切片并用HE染色:将1.2.2固定的耳廓,用乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋后切片,HE染色后在光学显微镜下观察并拍照。

1.2.6 小鼠耳廓组织NF- κ B表达分析

按1.2.5对小鼠耳廓肿胀组织切片后,用过氧化氢处理10 min,再用枸橼酸液高压修复2 min,加入NF- κ B一抗冷藏过夜,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后二抗室温处理15 min,PBS再次清洗后用DAB显色,苏木素复染,乙醇脱水,二甲苯透明,树脂胶封片后在光学显微镜下观察并拍照,采用Image J图像分析软件测量NF- κ B阳性表达区积分光密度(IOD),并通过阳性像素面积计算平均光密度。

1.2.7 油茶籽油主要成分测定

油酸、亚油酸含量测定参考GB 5009.168—2016中第三法;总酚含量测定参考武利梅等^[10]的方法;角鲨烯含量测定参考NY/T 3673—2020;生育酚含量测定参考GB 5009.82—2016中第一法。

1.2.8 数据统计与分析

数据结果以“平均值 \pm 标准差”表示,采用Origin作图,SPSS19.0统计软件进行统计学分析,用Duncan多重比较进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同加工方式油茶籽油对ACD小鼠的抗炎效果

2.1.1 对耳廓肿胀的抑制效果

不同加工方式油茶籽油对ACD小鼠耳廓肿胀率和肿胀抑制率的影响如表1所示。

表1 不同加工方式油茶籽油对 ACD 小鼠耳廓肿胀率和肿胀抑制率的影响 %

组别	耳廓肿胀率	肿胀抑制率 %
阴性对照组	-2.56 ± 3.95 ^{aA}	-
阳性对照组	141.47 ± 25.79 ^{dBC}	-
造模后给药组		
低温压榨油茶籽油	125.53 ± 30.07 ^{cd}	11.07
热榨油茶籽原油	138.07 ± 15.88 ^d	2.36
热榨精炼油茶籽油	111.95 ± 12.04 ^{bed}	20.50
土榨油茶籽油	95.37 ± 17.09 ^{bc}	32.01
超临界 CO ₂ 油茶籽油	86.42 ± 14.97 ^b	38.22
棉籽油	136.85 ± 27.58 ^d	3.21
菜籽油	123.70 ± 11.24 ^{cd}	12.34
预防性给药组		
低温压榨油茶籽油	185.62 ± 29.17 ^D	-30.65
热榨油茶籽原油	120.61 ± 22.37 ^B	14.48
热榨精炼油茶籽油	114.76 ± 23.58 ^B	18.54
土榨油茶籽油	162.08 ± 25.39 ^{CD}	-14.31
超临界 CO ₂ 油茶籽油	164.12 ± 17.29 ^{CD}	-15.73

注:不同小写字母表示阴性对照、阳性对照与造模后给药各处理组间在 0.05 水平上具有显著差异;不同大写字母表示阴性对照、阳性对照与预防性给药各处理组间在 0.05 水平上具有显著差异。下同

由表 1 可知,阴性对照组小鼠左、右耳给药对应

部位质量在饲养期内存在 -2.56% 的差别。阳性对照组小鼠耳廓肿胀率达到 141.47%,肉眼可见明显的红肿。给药造模后小鼠左耳肿胀,出现红斑且皮肤结皮,耳廓皮肤血管扩张,说明 ACD 小鼠模型构建成功。造模后各给药组中植物油对 ACD 小鼠耳廓肿胀均有一定的抑制作用,油茶籽油的效果总体较菜籽油和棉籽油好,其中土榨油茶籽油与超临界 CO₂ 油茶籽油缓解 ACD 小鼠耳廓肿胀效果最好,施药 8 次后肿胀抑制率分别达到了 32.01% 和 38.22%。与阳性对照组相比,预防性给药组抑制 ACD 小鼠耳廓肿胀效果不显著,并且低温压榨油茶籽油、土榨油茶籽油和超临界 CO₂ 油茶籽油加重了小鼠耳廓肿胀程度,说明预先擦涂油茶籽油的预防效果并不理想。因此,基于耳廓肿胀程度分析,利用油茶籽油对 ACD 进行预防效果一般,超临界 CO₂ 油茶籽油能够显著抑制 ACD 小鼠耳廓肿胀。

2.1.2 对炎症因子、组织病理与 NF- κ B 表达的影响

2.1.2.1 炎症因子

不同加工方式油茶籽油对 ACD 小鼠血清中炎症因子的影响如表 2 所示。

表2 不同加工方式油茶籽油对 ACD 小鼠血清中炎症因子的影响

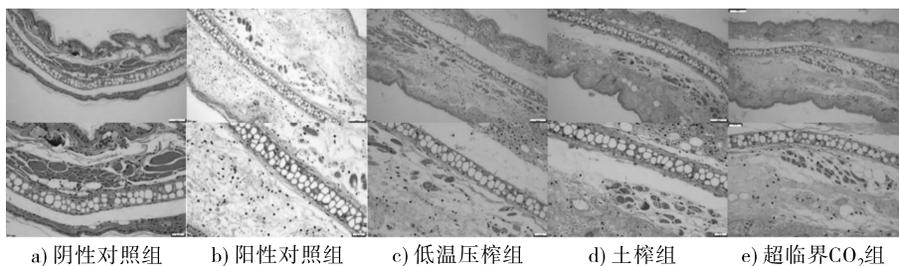
组别	TNF- α		IL-1 β		IL-6	
	含量/(pg/mL)	降低率/%	含量/(pg/mL)	降低率/%	含量/(pg/mL)	降低率/%
阴性对照组	66.35 ± 13.93 ^{aA}	-	25.95 ± 5.27 ^{aA}	-	30.47 ± 2.77 ^{aA}	-
阳性对照组	384.93 ± 12.35 ^{deCD}	-	181.32 ± 1.44 ^{dB}	-	222.14 ± 17.81 ^{cC}	-
造模后给药组						
低温压榨油茶籽油	354.25 ± 45.57 ^d	7.97	173.80 ± 1.85 ^c	4.15	208.46 ± 9.95 ^c	6.16
热榨油茶籽原油	438.64 ± 14.04 ^f	-13.95	190.40 ± 4.35 ^c	-5.01	193.33 ± 17.55 ^c	12.97
热榨精炼油茶籽油	346.76 ± 17.34 ^d	9.92	206.25 ± 1.18 ^g	-13.75	181.12 ± 15.95 ^b	18.47
土榨油茶籽油	365.84 ± 52.55 ^{de}	4.96	177.19 ± 1.22 ^{cd}	2.28	198.88 ± 22.17 ^c	10.47
超临界 CO ₂ 油茶籽油	257.59 ± 23.80 ^b	33.08	160.62 ± 4.10 ^b	11.42	195.88 ± 12.39 ^c	11.82
棉籽油	301.75 ± 30.66 ^c	21.61	175.22 ± 0.30 ^c	3.36	189.07 ± 11.40 ^c	14.89
菜籽油	402.02 ± 13.69 ^{ef}	-4.44	198.14 ± 3.77 ^f	-9.28	203.12 ± 15.31 ^c	8.56
预防性给药组						
低温压榨油茶籽油	433.93 ± 11.87 ^E	-12.73	176.06 ± 14.67 ^B	2.90	194.05 ± 7.30 ^B	12.64
热榨油茶籽原油	418.28 ± 29.71 ^{DE}	-8.66	248.08 ± 55.53 ^C	-36.82	198.48 ± 2.32 ^B	10.65
热榨精炼油茶籽油	341.21 ± 14.82 ^C	11.36	171.50 ± 3.25 ^B	5.42	204.35 ± 3.12 ^B	8.01
土榨油茶籽油	364.73 ± 51.32 ^C	5.25	181.32 ± 4.30 ^B	0.00	195.65 ± 12.10 ^B	11.92
超临界 CO ₂ 油茶籽油	265.91 ± 22.75 ^B	30.92	176.75 ± 10.75 ^B	2.52	190.72 ± 3.88 ^B	14.14

注:降低率是与阳性对照组相比

由表 2 可知,阴性对照组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 均维持在较低水平,阳性对照组小鼠血清中三者含量分别达 384.93、181.32 pg/mL 和 222.14 pg/mL,显著高于阴性对照组。与阳性对照组小鼠相比,造模后给药组中除了热榨油茶籽原油

和菜籽油外,其他给药组中 TNF- α 的含量均有一定程度的下降,但均显著高于阴性对照组,说明 8 次给药均能减轻 ACD 炎症,但无法在短时间内恢复到正常水平。其中,超临界 CO₂ 油茶籽油和棉籽油效果最佳,TNF- α 分别降低到 257.59 pg/mL 和

301.75 pg/mL,尤其是超临界 CO₂油茶籽油,其 TNF- α 含量较阳性对照组降低了 33.08%。类似的情况发生在造模后给药组小鼠的 IL-1 β 含量中,超临界 CO₂油茶籽油的 IL-1 β 含量较阳性对照组下降最多,降低率达 11.42%。造模后各给药组 IL-6 含量均较阳性对照组降低,但除了热榨精炼油茶籽油外,均没有显著差异。综合考虑,超临界 CO₂油茶籽油对小鼠 ACD 模型的抗炎效果较好,在短时间内可有效降低炎症因子含量。在预防性给药组中,预先擦涂超临界 CO₂油茶籽油能够显著降低 TNF- α 和 IL-6 含量,有利于减轻小鼠炎症。



注:放大倍数为上层 20 \times 10 倍,下层 40 \times 10 倍。下同

图1 不同加工方式油茶籽油对 ACD 小鼠耳廓肿胀组织的影响

由图 1 可知:阴性对照组小鼠耳廓表皮、真皮及皮下组织形态结构正常,组织结构致密、未见疏松、充血及炎症细胞浸润;阳性对照组小鼠耳廓组织明显肿胀,血管与软骨层肿大且大量炎症细胞浸润;低温压榨油茶籽油、土榨油茶籽油和超临界 CO₂油茶籽油组处理 ACD 小鼠的耳廓肿胀与炎症细胞浸润程度明显好转。

2.1.2.3 NF- κ B 表达

考察外用低温压榨油茶籽油、土榨油茶籽油和超临界 CO₂油茶籽油对 ACD 小鼠耳廓肿胀组织 NF- κ B 表达的影响,结果见图 2。

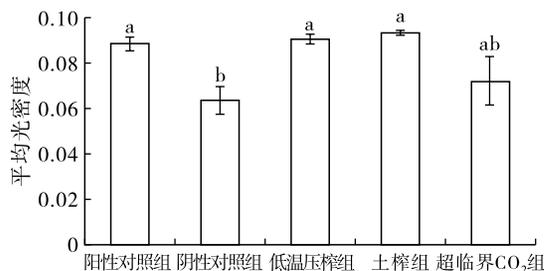


图2 不同加工方式油茶籽油对 ACD 小鼠耳廓肿胀组织 NF- κ B 表达的影响

由图 2 可知,与阴性对照组相比,阳性对照组小鼠耳廓组织中 NF- κ B 阳性表达量显著提升,平均光密度提升了 38.78%。3 种油茶籽油施药后,ACD 小鼠耳廓组织中 NF- κ B 阳性表达量无显著变化。与阴性对照组相比,超临界 CO₂组的平均光密度增

2.1.2.2 组织病理

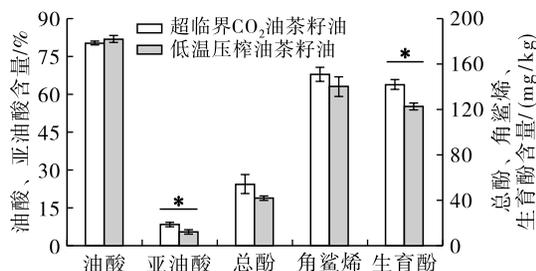
低温压榨油茶籽油因其加工温度较低,无需精炼,能够很好地保留营养成分,具有优良的抗氧化稳定性和贮藏性能^[11]。土榨油茶籽油工艺简单,也不经过精炼。二者在造模后给药组中效果虽远不及超临界 CO₂油茶籽油,但对小鼠耳廓肿胀有一定的抑制作用(见表 1),且能在一定程度上降低炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的含量(见表 2)。因此,考察外用低温压榨油茶籽油、土榨油茶籽油和超临界 CO₂油茶籽油对 ACD 小鼠耳廓组织的影响,结果见图 1。

加了 12.62%,但无显著差异。

2.2 油茶籽油中治疗小鼠 ACD 的物质探究

2.2.1 超临界 CO₂油茶籽油与低温压榨油茶籽油的主要活性成分

低温压榨油茶籽油与超临界 CO₂油茶籽油均为低温制取工艺所得油脂,其活性成分含量较热榨等方式提取的油茶籽油更高^[12]。超临界 CO₂油茶籽油与低温压榨油茶籽油的主要活性成分见图 3。



注: * 表示两个样品在 0.05 水平上具有显著差异

图3 超临界 CO₂油茶籽油与低温压榨油茶籽油的主要活性成分含量

由图 3 可知,两种油茶籽油中油酸、总酚与角鲨烯含量无显著差异,超临界 CO₂油茶籽油的亚油酸和生育酚含量显著高于低温压榨油茶籽油。

2.2.2 活性成分对耳廓肿胀的抑制效果

为了进一步探究油茶籽油中活性成分的抗炎效果,向低温压榨油茶籽油中分别添加 50 mg/kg 没食子酸、100 mg/kg 角鲨烯和 100 mg/kg 生育酚,同时

将油酸和亚油酸(油茶籽油中的主要脂肪酸)外用于 ACD 小鼠,探究这些活性成分的抗炎效果。油茶籽油中不同活性成分对 ACD 小鼠耳廓肿胀率和肿胀抑制率的影响见表 3。

表 3 油茶籽油活性成分对 ACD 小鼠耳廓肿胀率和肿胀抑制率的影响

组别	耳廓肿胀率	肿胀抑制率/%
阴性对照组	-2.56 ± 3.95 ^a	-
阳性对照组	141.47 ± 25.79 ^d	-
试验组		
没食子酸	142.73 ± 33.52 ^d	-0.87
角鲨烯	65.07 ± 4.79 ^b	53.04
生育酚	70.71 ± 23.65 ^b	49.13
油酸	111.16 ± 18.45 ^{cd}	21.04
亚油酸	101.46 ± 13.79 ^{bc}	27.78

注:不同字母表示各处理组在 0.05 水平上具有显著差异。下同

表 4 油茶籽油活性成分对 ACD 小鼠血清中炎症因子的影响

组别	TNF- α		IL-1 β		IL-6	
	含量/(pg/mL)	降低率/%	含量/(pg/mL)	降低率/%	含量/(pg/mL)	降低率/%
阴性对照组	66.35 ± 13.93 ^a	-	25.95 ± 5.27 ^a	-	30.47 ± 2.77 ^a	-
阳性对照组	384.93 ± 12.35 ^c	-	181.32 ± 1.44 ^c	-	222.14 ± 17.81 ^d	-
试验组						
没食子酸	459.56 ± 19.71 ^d	-19.39	209.79 ± 4.93 ^d	-15.70	198.67 ± 8.38 ^c	10.57
角鲨烯	311.19 ± 31.60 ^b	19.16	180.66 ± 5.06 ^c	0.37	203.74 ± 16.14 ^c	8.29
生育酚	301.14 ± 18.90 ^b	21.77	167.59 ± 22.34 ^c	7.57	200.78 ± 5.40 ^c	9.62
油酸	301.37 ± 39.64 ^b	21.71	220.78 ± 19.53 ^d	-21.76	175.89 ± 5.60 ^b	20.82
亚油酸	280.89 ± 21.62 ^b	27.03	110.79 ± 3.78 ^b	38.90	200.86 ± 1.93 ^c	9.58

由表 4 可知,与 ACD 小鼠耳廓肿胀程度结果类似,角鲨烯、生育酚组和亚油酸组中 3 种炎症因子均较阳性对照组降低(但有些无显著差异)。除了角鲨烯组的 IL-1 β 外,这 3 组中的 3 种炎症因子含量均低于低温压榨油茶籽油,但高于超临界 CO₂ 油茶

籽油(见表 2)。由表 3 可知,与阳性对照组相比,没食子酸组和油酸组无显著差异,说明添加没食子酸的油茶籽油和油酸对 ACD 小鼠耳廓肿胀无显著抑制作用,添加角鲨烯和生育酚的油茶籽油和亚油酸均能够显著抑制 ACD 小鼠耳廓肿胀,且添加角鲨烯和生育酚的油茶籽油的肿胀抑制率均显著超过低温压榨油茶籽油的(表 1)($p < 0.05$),与超临界 CO₂ 油茶籽油的接近(表 1)。角鲨烯和生育酚均有很强的抗炎效果^[13-14],亚油酸是一种多不饱和脂肪酸,研究发现,亚油酸和亚油酸甲酯对巴豆油所致小鼠耳肿胀有明显的抑制作用^[15]。

2.2.3 活性成分对炎症因子、组织病理与 NF- κ B 表达的影响

2.2.3.1 炎症因子

油茶籽油活性成分对 ACD 小鼠血清中炎症因子的影响见表 4。

籽油(见表 2)。

2.2.3.2 组织病理

油茶籽油主要活性成分对 ACD 小鼠耳廓组织的影响见图 4。

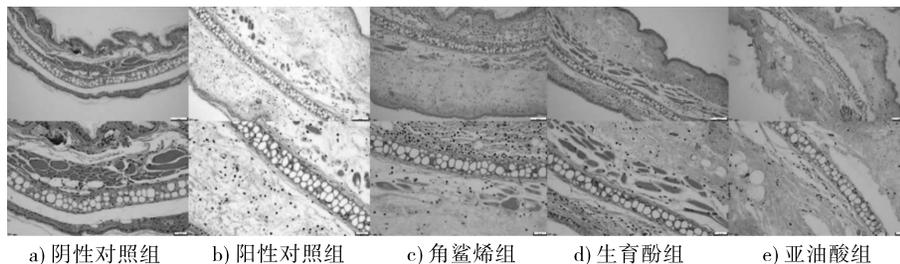


图 4 油茶籽油主要活性成分对 ACD 小鼠耳廓肿胀组织的影响

由图 4 可知,与阳性对照组相比,3 组活性成分处理组 ACD 小鼠的耳廓肿胀均得到了不同程度的改善,角鲨烯组和生育酚组效果更佳,与 2.2.2 结果类似,这两组 ACD 小鼠耳廓组织的肿胀,炎症细胞

浸润症状得到明显缓解。

2.2.3.3 NF- κ B 表达

油茶籽油主要活性成分对 ACD 小鼠耳廓肿胀组织 NF- κ B 表达的影响见图 5。

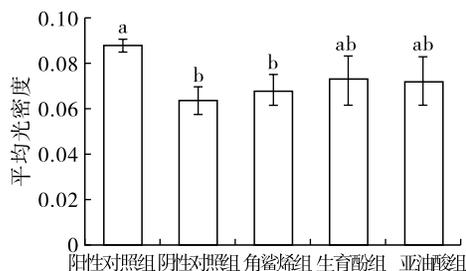


图5 油茶籽油主要活性成分对 ACD 小鼠耳廓肿胀组织 NF-κB 表达的影响

由图5可知,生育酚组和亚油酸组 ACD 小鼠耳廓肿胀组织中 NF-κB 阳性表达量低于阳性对照组,但高于阴性对照组,均无统计学差异,二者平均光密度分别较阴性对照组增加了 13.55% 和 12.64%。角鲨烯组小鼠 ACD 的耳廓组织中 NF-κB 阳性表达量显著低于阳性对照组,与阴性对照组无显著差异。

3 结论

不同加工方式油茶籽油中,超临界 CO₂ 油茶籽油缓解 ACD 小鼠耳廓肿胀效果最佳,在施药 8 次后其对 ACD 小鼠耳廓的肿胀抑制率达 38.22%,小鼠血清中 TNF-α 含量降低了 33.08%,且耳廓肿胀组织 NF-κB 阳性表达量与阴性对照组无显著差异,油茶籽油对 ACD 小鼠抗炎的预防效果不及造模后给药。倍数添加角鲨烯和生育酚的油茶籽油对 ACD 小鼠耳廓的肿胀抑制率均显著提升,与阳性对照组相比,ACD 小鼠血清中 TNF-α 和 IL-6 含量显著降低,且耳廓肿胀组织中 NF-κB 阳性表达量与阴性对照组无显著差异,表明角鲨烯、生育酚可能是油茶籽油中抗炎的主要作用因子。综上,外用超临界 CO₂ 油茶籽油治疗小鼠 ACD 效果最佳,超临界 CO₂ 油茶籽油的良好抗炎效果并非源于单一活性成分,而是角鲨烯、生育酚等活性成分的综合作用结果。以没食子酸为代表的酚类物质对 ACD 小鼠抗炎效果作用有限,但不同酚类物质的抗炎效果需进一步确认。

参考文献:

[1] 李陈. 外用复方紫草油治疗小儿尿布皮炎的抗炎机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.

[2] LEE B, HONG S, KIM M, et al. *Lycii radidis* Cortex inhibits glucocorticoid-induced bone loss by downregulating Runx2 and BMP-2 expression[J/OL]. Int J Mol Med, 2021, 48(2): 155 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4988>.

[3] KIM J M, HEO H J. The roles of catechins in regulation of systemic inflammation[J]. Food Sci Biotechnol, 2022, 31

(8): 957-970.

[4] LUAN F, ZENG J, YANG Y, et al. Recent advances in *Camellia oleifera* Abel: A review of nutritional constituents, biofunctional properties, and potential industrial applications[J/OL]. J Funct Foods, 2020, 75: 104242 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104242>.

[5] 冯秋瑜, 宋宁, 黄慧学, 等. 山茶油的药用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 215-220.

[6] ZHANG F, ZHU F, CHEN B, et al. Composition, bioactive substances, extraction technologies and the influences on characteristics of *Camellia oleifera* oil: A review[J/OL]. Food Res Int, 2022, 156: 111159 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111159>.

[7] RIAZ T, IQBAL M W, MAHMOOD S, et al. Cottonseed oil: A review of extraction techniques, physicochemical, functional, and nutritional properties[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2023, 63(9): 1219-1237.

[8] TILEUBERDI N, TURGUMBAYEVA A, YESKALIYEVA B, et al. Extraction, isolation of bioactive compounds and therapeutic potential of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J/OL]. Molecules, 2022, 27(24): 8824 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.3390/molecules27248824>.

[9] 郝治, 龚海峰, 刘丽梅, 等. 中药油剂愈溃油对大鼠糖尿病皮肤溃疡模型创面愈合及 Wnt/notch 通路的影响[J]. 四川中医, 2022, 40(8): 51-56.

[10] 武利梅, 吴丽华, 赵晶晶, 等. 漆树籽油脂肪酸组成及其油脂伴随物分析[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(7): 128-134.

[11] LI G, MA L, YAN Z, et al. Extraction of oils and phytochemicals from *Camellia oleifera* seeds: Trends, challenges, and innovations[J/OL]. Processes, 2022, 10(8): 1489 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.3390/pr10081489>.

[12] 聂明. 加工与贮藏对茶油品质特性影响研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.

[13] WANG N, XU C, LI N, et al. Synergistic anti-inflammatory effects of resveratrol and vitamin E in lipopolysaccharide-induced RAW_{264.7} cells[J/OL]. Food Sci Technol, 2022, 42: 24122 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.1590/fst.24122>.

[14] FERNANDO I P S, SANJEEWA K K A, SAMARAKOON K W, et al. Squalene isolated from marine macroalgae *Caulerpa racemosa* and its potent antioxidant and anti-inflammatory activities[J/OL]. J Food Biochem, 2018, 42(5): e12628 [2023-03-20]. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12628>.

[15] 赵敏. 亚油酸及亚油酸甲酯的抗炎作用研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2012.