

橘皮素生物活性及其对运动性哮喘的潜在功效

刘 猛^{1,2}, 章 政¹, 高炳宏^{1*}, 周志钦^{3,4}

¹上海体育学院, 上海 200438; ²重庆市体育科学研究所, 重庆 400010;

³西南大学, 重庆 400700; ⁴西南果品营养研究院, 重庆 400054

摘要:运动性哮喘(exercise-induced asthma, EIA)作为运动员群体的第一大慢性疾病,正日益受到关注。虽然 EIA 的病理研究及药物治疗研究已取得一定进展,但长期服用 EIA 治疗药物不仅危害运动员身心健康,而且极易导致兴奋剂阳性问题。因此,亟需寻求一种安全、健康、有效的干预方法以替代药物治疗或降低药物依赖度。橘皮素是一种天然柑橘提取化合物,近年多项研究指出它在治疗 EIA 方面有巨大潜力。本文归纳、梳理与分析了橘皮素的多种生物活性,如:抗炎、抗氧化、抗肿瘤活性、调节尿酸与皮质醇合成分泌、调节糖脂代谢与抗肥胖、神经保护等,为深入研究和开发橘皮素食品、保健品及药品并用于 EIA 治疗提供思路与理论支撑。

关键词:橘皮素;运动性哮喘;生物活性;抗炎;抗氧化

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)6-1088-12

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.6.018

Biological activity of tangeretin and its potential efficacy in exercise-induced asthma: a review

LIU Meng^{1,2}, ZHANG Zheng¹, GAO Bing-hong^{1*}, ZHOU Zhi-qin^{3,4}

¹College of Physical Education and Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China;

²Chongqing Institute of Sport Science, Chongqing 400010, China; ³Southwest University, Chongqing 400700, China;

⁴Southwest Institute of Fruits Nutrition, Chongqing 400054, China

Abstract: Exercise-induced asthma (EIA) is one of the most frequent chronic diseases among athletes and is gaining increasing concern. The pathological mechanisms and pharmacology-based treatments of EIA have been widely studied and some progress has been made, however, long-term using EIA drugs would induce health-related side effects and even doping violations. Thus, a safe, healthy and effective alternative of traditional treatment methods is particularly required. Tangeretin extracted from a natural citrus was recently reported to show great promise in EIA treatment. Therefore, the current article specifically reviewed the biological activities of tangeretin referring to anti-inflammatory, antioxidant, anti-cancer, regulation of uric acid and cortisol secretion, regulation of glucolipid metabolism and anti-obesity, neuroprotection. It would provide ideas and theoretical support for further studying and developing tangeretin-based food, healthcare products or drugs in EIA treatment.

Key words: tangeretin, exercise-induced asthma, biological activity, anti-inflammatory, anti-oxidation

运动性哮喘(exercise-induced asthma, EIA)是指在剧烈运动中出现的暂时性气道狭窄,可单独发生,亦会伴有呼吸不适症状^[1]。EIA 作为一种慢性呼吸道疾病,诱发过度喘息、胃痛、呼吸困难等不适症状的同时,还会对身心健康产生负面影响。例如,生理方面,EIA 会造成呼吸道炎症、肺通气功能下降、最

大摄氧量下降、尿酸含量升高、皮质醇分泌失衡及肌肉氧化应激损伤增加等问题^[2,3],严重时会导致慢阻肺、肺动脉高压及肺心病等,甚至会诱发运动性猝死^[4];心理或精神健康方面,EIA 会导致睡眠质量下降,降低运动员的积极情绪与幸福生活指数,加剧抑郁倾向,扰乱参赛备战心理节奏,增加重要赛事期间的心理发挥失常风险^[1]。EIA 选手出现上述问题会进一步削弱其运动能力,阻碍竞技水平的正常发挥,最终丧失赛场竞争优势。

橘皮素(tangeretin),又称为5,6,7,8,4'-五甲氧

收稿日期:2022-03-28 接受日期:2022-06-01

基金项目:冬季项目运动疲劳消除关键技术研究与应用(2019 YFF0301603);上海市人类运动能力开发与保障重点实验室项目(17DZ2273100)

*通信作者 Tel:86-013817671181;E-mail:binghong.gao@hotmail.com

基黄酮,是一种广泛存在于柑橘水果(甜橙、宽皮柑橘等)中的多甲氧基黄酮(polymethoxyflavones, PMFs)化合物^[5,6],详见图1。由于生物化学结构特殊,橘皮素极性小且脂溶性强,易溶于苯、乙醚等有机物质,因此,更易穿过磷脂双分子层进入细胞膜内发挥相应作用^[7]。研究表明^[8],橘皮素具有多甲氧基黄酮类活性物质80%以上的生物活性功效,对多种慢性疾病,如,2型糖尿病、心血管疾病、恶性肿瘤及神经退行性疾病等,均具有积极功效^[9],且已广泛应用于生物、医药及保健食品等多个领域。此外,橘皮素还具有理化性质稳定,类药性佳,口服利用率高,及“零”兴奋剂禁用物质等独特优点,相比其他营养素或化合类营养补剂,橘皮素更适合运动员群体使用^[10,11]。

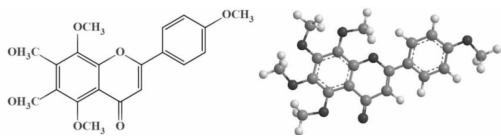


图1 橘皮素化学结构式(左)与三维化学结构式(右)

Fig. 1 Tangeretin chemical structure (left) and 3D chemical structure (right)

多项研究^[11-14]提示,橘皮素可能在体育科学领域蕴藏有巨大的应用潜力。本研究团队率先对橘皮素在运动领域的应用进行了探索研究,其中,动物实验发现:橘皮素能显著提高昆明鼠的运动耐力,改善抗氧化酶活性,明显减轻力竭运动诱发的氧化应激损伤^[12];人体实验发现:口服5周橘皮素(200 mg/d)后,举重选手的主观疲劳感明显缓解,且清晨空腹时的血清皮质醇、尿酸水平显著下降^[11];补充4周橘皮素(200 mg/d)后,田径选手的血清睾酮水平明显上升,身体成分明显改善^[13];另外,橘皮素还能有效缓解剧烈运动引发的皮质醇应激反应及氧化应激损伤,加速消除疲劳,促进机体恢复^[14]。尽管橘皮素富含多种生物活性,但在运动领域的应用尚处于探索阶段。利用橘皮素干预治疗EIA的研究,更是鲜见报道。因此,本文通过梳理国内外相关研究文献,对EIA的发病机制,橘皮素的生物活性及其对EIA的潜在功效进行了整理、分析与归纳,旨在为国内体育科学领域开展橘皮素相关研究提供参考依据,也为橘皮素应用于EIA的干预治疗提供研究思路和借鉴。

1 EIA 发生机制

运动员长期在非健康(干冷、雾霾、刺激物等)

的训练环境中剧烈运动是导致EIA的主要原因^[1]。呼吸过程中,人体会对进入呼吸道的干冷空气进行加温增湿处理,这一过程会造成呼吸道表层组织水分和热量丢失^[1,15]。安静状态或低强度运动时,机体会通过自我调节机制进行体液的平衡性补充,以维持气道内的体液平衡和粘膜渗透压稳定。高强度运动时,呼吸道通气量陡增(最高可达220 L/min),大量干冷气体直接灌入下呼吸道,造成气道表面水分热量的迅速流失^[16],并引发 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 等离子浓度升高,粘膜纤毛清除率下降以及粘膜表面体液渗透压升高,进而刺激肥大细胞释放白三烯、前列腺素E2等炎症介质。白三烯等炎症介质会激活特异性受体,引发气道平滑肌收缩与粘液分泌,最终诱发EIB^[2]。运动结束后,气道会开启重加温过程,这会引发粘膜反应性充血,微血管通透性增加等连锁反应,并导致气道水肿及炎症介质释放,进一步促进EIA的产生^[17]。

除呼吸道炎症外,剧烈运动或环境刺激所导致的氧化应激损伤,也是EIA的主要诱因。Comhair等^[18]指出,剧烈运动造成的体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性下降,进而增加呼吸道上皮细胞损伤和脱落,刺激肥大细胞释放组胺等,直接导致气道高反应性、气道重塑及气道阻塞等问题。Hulsmann等^[19]也报道,剧烈运动产生的大量ROS会刺激呼吸道平滑肌收缩,进而间接诱发EIA。此外,也有部分研究^[1,2,15]报道,长期剧烈运动或精神压力刺激导致的尿酸、皮质醇水平升高以及多巴胺、褪黑素水平下降,也会直接或间接增加EIA发病。综合而言,运动员EIA的发生机制是一个复杂的病理生理学过程,是诸多外部因素(温度湿度、雾霾粉尘、运动等)与人体内部系统(呼吸、免疫、神经等)长期相互作用的结果(见图2)。正因如此,相比其它运动损伤或疾病,EIA的治疗更为复杂。寻找一种天然、健康的营养物质以针对性解决诱发EIA的关键因素(如:炎症、氧化损伤等),已成为体育科学领域关注的焦点^[1,15]。

2 橘皮素生物活性及其对EIA的潜在功效

2.1 抗炎活性

抗炎活性是橘皮素最有效的活性功能之一,在直接清除体内炎症因子的同时,还能调节相关炎症信号通路或增强内源性防御机制,对炎症反应起到抑制作用^[6,20,21]。Pan等^[21]发现,橘皮素能干扰脂

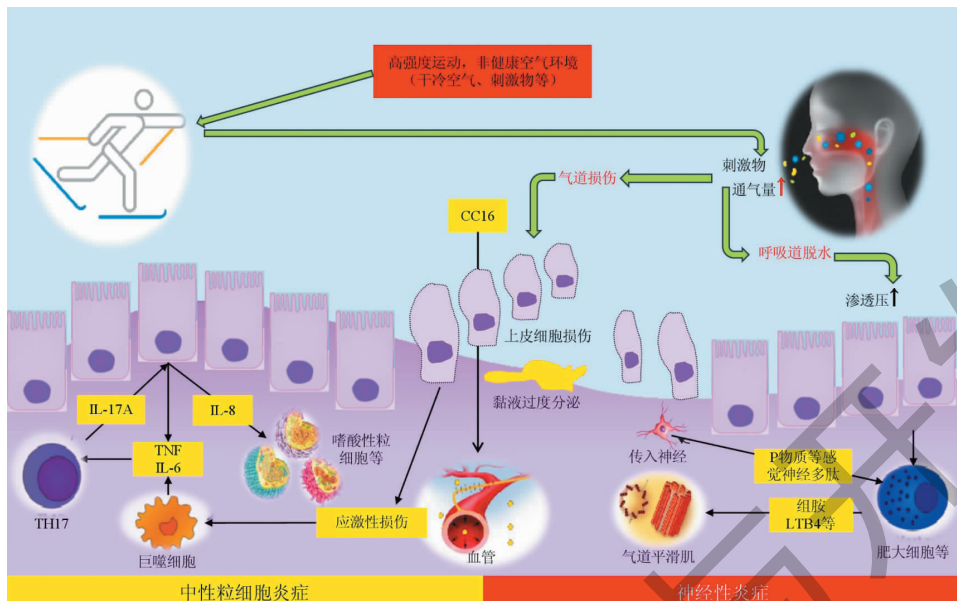


图2 运动性哮喘的发生机制图^[1]

Fig. 2 The mechanisms of EIA

多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE₂) 及各类炎症因子的产生, 并能选择性地下调环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的基因表达; 另外, 橘皮素还可通过阻滞细胞内信号通路 (如: p38 MAPK、JNK、PI3K 等) 来限制 JNB6P + 小鼠皮肤表皮细胞中 COX-2 的基因表达; Arab 等^[22] 报道, 橘皮素能缓解氯氨铂引发的肾脏内炎症损伤, 并显著降低促炎因子——肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的水平, 增强抗炎因子——白介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α) 的活性。Hagenlocher 等^[23] 报道, 橘皮素可通过影响相关信号通路及关键促炎介质的产生, 有效抑制 LPS 和免疫球蛋白 E 介导 (immunoglobulin E, IgE) 的人体肠道肥大细胞活化, 表现出良好的临床应用潜力; Manthey 等^[24] 通过 LPS 诱导的人体单核细胞炎症反应试验发现, 50 mg/kg 剂量的橘皮素能有效抑制韦伯斯特小鼠内 TNF 受体的产生, 抑制效果明显高于其他种类多甲氧基黄酮; Bas 等^[25] 还发现, 橘皮素能改善药物诱导的耳水肿, 并能通过减少细胞过滤及炎症介质 (如, 白介素-2、白介素-4 等) 产生, 抑制延迟型超敏反应。另有研究表明^[26], 橘皮素的出色抗炎活性与其抗氧化活性有关, 后者能间接抑制诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和 COX-2 活性, 促进机体抗炎能力提高。

橘皮素在呼吸道疾病 (如: 哮喘、咽炎等) 的干

预治疗方面, 蕴藏巨大潜力。Lee 等^[26] 发现, 橘皮素能通过抑制 IL-1 β 、IL-5、TNF- α 等炎症因子, 有效减轻 BALB/c 小鼠由人呼吸道合胞病毒诱发的炎症状况; Liu 等^[27] 报道, 14 天橘皮素干预 [50 mg/(kg · d)] 显著降低 P12 小鼠体内的辅助型 T 细胞 2 (T helper 2 cell, Th2)、Th17 及 IgE 等炎症因子水平, 明显消除气道高反应性症状, 降低力竭运动诱发的支气管炎症反应, 显现出良好的呼吸道炎症抑制效果; Jang 等^[28] 临床发现, 橘皮素对组胺及其化合物 48/80 产生一定抑制作用, 相比抗组胺药物——氮卓斯汀 (常用于哮喘治疗), 橘皮素能更有效抑制组胺引起的相关炎症症状; 此外, Xu 等^[29] 还发现, 橘皮素可通过抑 Notch1/Jagged1 的表达, 促进调节性 T 细胞反应和 Foxp3/Treg 细胞分化, 从而缓解过敏性鼻炎, 减轻患者炎症反应。本团队前期研究发现^[11]: 5 周橘皮素 (200 mg/d) 干预后, 举重选手的丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、肌酸激酶 (creatinase, CK) 及 IL-6、IL-8 水平明显下降, 其中 2 名哮喘选手的呼吸不适症状明显缓解; 4 周橘皮素 (200 mg/d) 干预后, 短跑运动员的中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、IL-6 等炎症指标水平明显下降^[1]。尽管多项研究已证实橘皮素的抗炎活性及炎症抑制作用 (见图 3), 但是, 橘皮素能否有效抑制 EIA 运动员的呼吸道炎症仍需进一步研究论证。

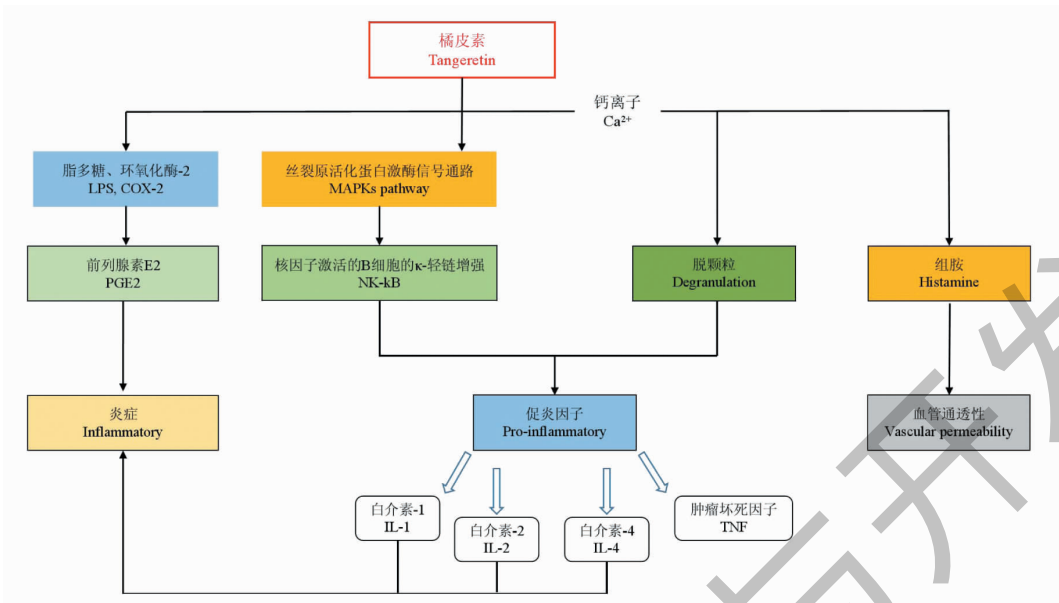


图3 橘皮素的抗炎机制

Fig. 3 The anti-inflammation mechanisms of tangeretin

2.2 抗氧化活性

橘皮素作为一种天然果蔬抗氧化剂,其抗氧化活性已在多个层面得到有效验证。Shan 等^[30]基于体外化学实验发现,10 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素处理可显著清除 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐自由基 (ABTS $^{\cdot+}$) 和 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基 (DPPH \cdot),清除率依次为 8% 和 10%。Liang 等^[31]发现,20 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素处理 (24 h) 可有效保护 HepG2 细胞,并使其免受过氧化氢叔丁基 (tert-butylhydroperoxide, t-BHP) 诱导的细胞毒性侵害,其机制可能是通过 MAPK-Nrf2-ARE 信号通路上调抗氧化酶 NQO1 和 HO-1 的表达,从而减少肝细胞损伤。Lakshmi 等^[32]基于动物试验发现,橘皮素对 7,12-二甲基苯并蒽诱导的乳腺癌大鼠肾脏组织的氧化应激有抑制作用,4 周橘皮素 [50 mg/(kg·d)] 干预后大鼠肾脏组织内的炎症细胞因子 (TNF- α 、IL-6 等) 水平显著下降,谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽-s 转移酶和谷胱甘肽还原酶等明显上升;本研究团队^[12]的动物试验结果显示,4 周橘皮素 [50 mg/(kg·d)] 补充能显著增加昆明鼠的机体抗氧化酶活性,明显缓解力竭运动造成的心肌与骨骼肌氧化应激损伤,有效的保护了心肌超微结构形态;另外,本研究团队^[33]还发现:橘皮素还能激活 Keap1/Nrf2 信号通路,增强心肌细胞内 SOD 和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的活性,降低了 MDA 水平,提升了机体

的整体抗氧化能力。团队前期人体试验研究发现^[13],补充 4 周橘皮素 (200 mg/d) 后,短跑运动员清晨空腹时的血清 SOD 水平明显上升;剧烈运动后,橘皮素组的 SOD 水平维持稳定,安慰剂组则大幅下降,并显著低于同期橘皮素组^[14]。

EIA 与人体内外环境中产生的氧化应激密切相关^[34]。体内炎症反应和外界环境中的雾霾粉尘、氯气尾气等会刺激机体产生大量的 ROS 和自由基,进而引发气道高反应性、气道重塑及气道阻塞等一系列问题,刺激并诱发 EIA^[2]。Hulsmann 等^[19]报道,剧烈运动时,大量产生的 ROS 能直接诱发呼吸道平滑肌收缩,且在呼吸道上皮损伤情况下更加明显;Adam 等^[35]发现,ROS 会增加迷走神经张力,降低呼吸道纤毛摆动,加剧呼吸道上皮细胞的氧化损伤及脱落,刺激肥大细胞释放组胺,间接增加 EIA 发病风险。少量研究指出,补充抗氧化剂能有效减少氧化应激损伤,缓解呼吸道炎症,进而降低 EIA 发病风险^[36]。Litonjua 等^[37]通过 6 年追踪研究发现,长期补充维生素 D 能缓解青少年运动员运动呼吸不适症状,能在一定程度上降低 EIA 发病风险;Hodge 等^[38]报道,补充 6 个月 Omega-3 脂肪酸 (1.2 g/d) 后,EIA 青少年的 TNF- α 、嗜酸性粒细胞计数等指标显著下降,肺通气功能也明显改善;Fabian 等^[39]报道,经过 12 周混合抗氧化剂 (含:维生素 A、辅酶 Q10) 干预,EIA 患者的呼出气一氧化氮 (fractional

exhaled nitric oxide, FeNO) 等呼吸道炎症指标明显下降, 多项肺通气功能指标(如: 第一秒呼气容积等) 得到不同程度改善。

2.3 抗肿瘤活性

癌症是威胁人类健康的主要疾病之一, 它的产生与环境因素密不可分(如: 紫外辐射、尼古丁等)。研究表明, 橘皮素具有良好的抗肿瘤活性^[6,40], 它在吸收紫外辐射的同时, 还能抑制强致癌物——苯并(a)芘的生物活化。Walle 等^[41]在细胞试验中发现, 40 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素(24 h) 处理能显著降低癌细胞内 CYP1A1、CYP1B1 在 mRNA 和蛋白水平上的催化活性, 进而抑制苯并(a)芘的生物活性, 最终使其无法与 DNA 结合发生突变。此外, DNA 损伤和错误的 DNA 修复过程共同作用造成的基因突变, 是诱发癌症的另一个主要原因, 而橘皮素则对缺乏 DNA 双链断裂修复能力的癌细胞具有抑制作用^[6]。有研究指出^[42], SGS1 基因对 DNA 双链断裂的修复起应答作用, 橘皮素可以加剧 SGS1 基因缺失酵母细胞的 DNA 损伤, 加速其凋亡, 从而防止 SGS1 基因缺失酵母细胞突变引起的癌症。另外, 橘皮素在乳腺癌、肺癌、胃癌和人类胶质母细胞瘤细胞中具有广泛的抗增殖活性, 它可通过影响多条信号传导通路或调控关键信号蛋白等途径, 抑制甚至逆转癌细胞的增殖^[40]。细胞周期阻滞是抗增殖的主要机制, 橘皮素可能在有丝分裂间期阻断细胞周期的进程, Morley 等^[43]通过细胞试验发现, 54 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素处理能有效抑制人乳腺癌细胞和结肠癌细胞的增殖, 且无细胞毒性。Arivazhagan 等^[44]也发现, 在二甲苯蒽诱导的大鼠乳腺癌模型中, 4 周橘皮素(50 mg/d) 灌胃干预能上调细胞周期调控蛋白 P53/P21, 并有效降低肿瘤细胞增殖标志物——COX-2、增殖细胞核抗原等物质的水平, 进而将癌细胞的分裂阻止在 G1/S 期。

诱导癌细胞凋亡, 是橘皮素的另一种抗癌途径。多项研究指出, 橘皮素可通过提高 P53 基因表达水平或降低 BCL-2/Bax 比值, 诱导癌细胞凋亡。Dong 等^[45]通过细胞试验发现, 在人胃癌腺癌细胞中, 60 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素(48 h) 处理能造成细胞内线粒体功能障碍, 并上调半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-8、P53 和 Bax 等促细胞凋亡蛋白水平, 进而诱发细胞凋亡。Gul 等^[46]动物试验发现, 在 DMBA 诱导大鼠乳腺癌模型中, 30 天橘皮素(50 mg/kg) 灌胃干预在下调基

质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9 和血管内皮生长因子的同时, 还上调了 P53、P21 的蛋白表达水平, 从而产生了良好的癌细胞抑制转移和诱导凋亡作用。另外, 血管生成是肿瘤持续生长的必要条件, 而血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 则是肿瘤血管生成的关键, 其中一项研究发现, 40 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素(24 h) 处理可有效降低人卵巢癌细胞系(OVCAR-3、A2780 和 CP70) 中 VEGF 的表达水平, 展现出了良好的抗血管生成活性。此外, 除诱导细胞凋亡和抗血管生长外, 橘皮素还能限制肿瘤转移和降低耐药性, Zhu 等^[47]研究发现, 在前列腺癌细胞(PC-3 和 LNCaP) 中, 75 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素处理(72 h) 通过靶向调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 让间充质细胞中的波形蛋白、CD44 和 N-钙粘蛋白分别降低了 3.0、2.0 和 3.5 倍, 而让 E-钙黏蛋白和细胞角蛋白分别提高了 2.2 和 3.0 倍, 有效的限制了肿瘤细胞的转移。Lust 等^[48]发现, 橘皮素通过凋亡机制增加了小鼠 K562 白血病细胞断点簇区对伊马替尼的细胞杀伤效应敏感度, 这提示橘皮素可在 K562 细胞中实现与抗肿瘤药物伊马替尼的协同抑制作用。Miyata 等^[49]报道, 相比单独使用阿霉素, 橘皮素(50 和 100 $\mu\text{mol/L}$) 与阿霉素联合使用, 可提高乳腺癌细胞(MCF-7 和 T47D) 中细胞毒性作用, 该研究认为这可能与橘皮素抑制了多药耐药(multidrug resistance, MDR) 基因表达有关。

2.4 调控尿酸代谢与皮质醇分泌

尿酸是嘌呤代谢的终末产物, 其中, 黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO) 与黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH) 是人体尿酸生成的关键^[50]。研究表明^[51], 抑制 XO、XDH 活性, 是减少尿酸产生、降低体内血尿酸水平的有效途径。柑橘多甲氧基黄酮(如, 橘皮素、甜橙黄酮等) 具有较强的 XO、XDH 抑制作用^[11,52,53]。Guo 等^[52]通过 XO 体外活性和酶动力学实验, 首次发现, 柑橘属植物中提取的川陈皮素和橘皮素具有较高的 XO 抑制活性, 在 200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 川皮素和橘皮素对 XO 的抑制率分别为(59.44 \pm 0.83)% 和(28.22 \pm 0.02)%。以上研究表明橘皮素可通过抑制体内黄嘌呤氧化酶活性, 减少尿酸的过度生成。而 Lan 等^[54]发现, 肾茶提取物(富含甜橙黄酮、异橙黄酮、5-羟基-7,3',4'-三甲氧基黄酮等) 在氧嗪酸钾诱导的小鼠高尿酸血症和 D-半乳糖诱导的亚急性衰老模型中, 对黄嘌呤

氧化酶及超氧化物歧化酶活性都具有显著影响,3.3 g/kg 肾茶提取物处理可显著抑制小鼠 XO 活性,升高 SOD 活力,降低 MDA 含量,提高抗氧化能力。本团队的人体试验研究^[11]发现,在 5 周橘皮素(200 mg/d)干预过程中,举重选手的血尿酸水平呈逐步下降变化趋势;4 周橘皮素(200 mg/d)干预后,短跑运动员的血清尿酸水平为 4.9 ± 1.2 mg/dL,较干预前显著下降(6.1 ± 0.8 mg/dL, $P = 0.003$),而同期安慰剂组则无明显变化^[55]。以上研究结果说明,橘皮素能有效降低人体内的血尿酸水平,但是举重和短跑运动员的血尿酸水平下降是否完全归因于橘皮素对 XO、XDH 的抑制作用,尚需进一步研究证实。

血尿酸水平与 EIA 紧密相关,前者是临床上判断 EIA 病情程度或治疗效果的重要指标^[55]。Li 等^[56]对 217 名 EIA 患者和 142 名健康受试者的临床研究发现:健康受试者和 EIA 轻度、中度、重度患者的清晨血清尿酸水平,分别为 185.7 ± 56.9 、 200.1 ± 44.7 、 265.4 ± 62.8 和 341.5 ± 86.3 $\mu\text{mol/L}$,血清尿酸水平与 EIA 病情程度显著正相关,并与肺通气功能呈显著负相关($r = -0.507$, $P < 0.001$);另外, Li 等还发现, EIA 急性发作期(301.4 ± 92.1 $\mu\text{mol/L}$)与缓冲期(185.7 ± 56.9 $\mu\text{mol/L}$)的血清尿酸水平差距较大,血清尿酸水平可作为 EIA 急性发作严重程度的预测指标。Li 等^[55]还发现:以 379.5 $\mu\text{mol/L}$ 血清尿酸水平为截断值,诊断 EIA 急性发作的敏感度为 73.7%,特异度为 85.2%,该研究认为,血清尿酸可作为评估 EIA 发病风险或发病程度的生物标记物。此外,另有研究指出^[57,58], EIA 的发生也是造成机体血尿酸水平升高的重要原因,当人体进行高强度运动时,各种内外因素(如:剧烈呼吸、环境污染等)造成的呼吸道上皮细胞大量破损凋亡以及诱发的相关炎症反应,会造成嘌呤核苷酸的代谢产物增加,增强 XO 酶的活性,进而造成血尿酸水平升高。

皮质醇对于维持人体正常生理功能至关重要,当人体感知到内外压力或刺激时,下丘脑-垂体-肾上腺轴会加速皮质醇分泌,提升血液内糖脂物质浓度,激活糖异生途径,促使人体做好“战斗或逃走”准备^[59]。但是,反复高强度刺激(如:剧烈运动等)或持续低强度压力(如:疲劳压抑等)会造成皮质醇水平长期慢性升高,进而导致肌肉萎缩、过敏性疾

病、库欣式综合征等。研究表明,PMFs 能有效调控皮质醇应激反应,抑制皮质醇过度分泌^[60]。Chen 等^[61]通过体外研究发现,在 H295R 细胞培养过程中,橘皮素(80 $\mu\text{g/mL}$)处理 24 h 后, H295R 细胞内 11β -羟基类固醇脱氢酶(11β -HSD)的 mRNA 表达水平下降 46%。在其他 PMFs 研究中, Hasegawa 等^[62]还发现, 30 $\mu\text{mol/L}$ 甜橙素(24 h)处理可有效降低 H295R 细胞内 3β -羟基类固醇脱氢酶的活性,从而显著降低皮质醇水平。Ohno 等^[63]研究发现:川陈皮素和 $3,3',4',5,6,7,8$ -七甲氧基黄酮($\text{IC}_{50} = 0.5 \sim 2.7$ $\mu\text{mol/L}$)均可抑制细胞色素 P450 酶 3β -HSD 的活性,进而减少 H295R 细胞内皮质醇的合成分泌。Vanhoecke 等^[64]动物试验发现:雌性瑞士小鼠口服 4 周橘皮素(1×10^{-4} mol/L)后,血清皮质醇水平下降 16.3%,该研究认为橘皮素会抑制小鼠体内的皮质醇反应。团队前期人体试验发现^[11,13]:举重选手口服 5 周橘皮素(200 mg/d)后,血清皮质醇水平由 424.3 ± 106.5 ng/mL 降至 334.9 ± 65.8 ng/mL($P = 0.016$);田径运动员补充 4 周橘皮素(200 mg/d)后,血清皮质醇水平(418.8 ± 118.5 ng/mL)较干预前显著下降(339.8 ± 82.4 ng/mL, $P = 0.017$),身体肌肉量(29.2 ± 4.3 kg)较干预前明显增加(31.2 ± 4.3 kg, $P = 0.024$);另外,团队还发现^[14]:经 4 周橘皮素干预(200 mg/d),运动员剧烈抗阻运动后的即刻血清皮质醇水平,由干预前的 300.4 ± 58.1 ng/mL 大幅降至 218.7 ± 25.7 ng/mL。上述研究说明,橘皮素能有效抑制皮质醇分泌,并能缓解剧烈运动诱发的皮质醇应激反应。

2.5 调节糖脂代谢与抗肥胖

糖脂代谢紊乱,是指机体内的碳水化合物、蛋白质、脂肪等能量物质发生代谢紊乱的病理性状态。目前多项研究已在不同层面证实了橘皮素的糖脂代谢调节功效^[40,49,65]。体外实验^[49]发现:橘皮素(32 、 64 $\mu\text{mol/L}$)能有效提升细胞内蛋白激酶 A 的活性,加速脂肪甘油三酯脂肪酶的磷酸化,进而抑制 3T3-L1 脂肪细胞的肥大与增殖。动物实验^[40]发现:饲喂橘皮素(25 mg/kg)8 周后,实验小鼠的血清低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯水平明显下降,该研究认为这主要归因于橘皮素对肝脏脂代谢的调节作用;Green 等^[66]还发现:饲喂橘皮素(50 mg/kg)49 d,能显著降低高胆固醇血症大鼠的血清胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇水平及肝脏内羟甲基戊二酰辅酶 A

还原酶的活性。人体试验^[1]发现:补充橘皮素(200 mg/kg)4周后,运动员的脂肪量(8.5 ± 2.3 kg)和体脂率($14.1\% \pm 3.8\%$)分别较干预前(7.9 ± 1.9 kg, $P=0.033$; $12.7\% \pm 3.9\%$, $P=0.026$)明显下降,且显著低于同期对照组;而对照组(试验期间补充同等剂量安慰剂)的脂肪量和体脂率,则在干预前、后无显著变化。

Kang等^[67]通过细胞和动物实验证明,橘皮素能通过调控AMP活化蛋白激酶(amp-activated protein kinase, AMPK)信号通路增强葡萄糖的摄取能力。其中细胞实验报道^[67],将小鼠C2C12成肌细胞体外诱导分化为肌管后,采用100 $\mu\text{mol/L}$ 的橘皮素干预不仅能显著提升肌管对2-脱氧-D-葡萄糖的摄取量,还能通过骨骼肌细胞蛋白激酶B(PKB/Akt)效应因子Akt底物蛋白160(AS160)磷酸化,调节胰岛素信号通路,刺激葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)从胞内迅速转移至细胞膜,从而进一步促进葡萄糖的吸收。在动物实验中,Kang等^[67]通过高脂饮食诱导的糖尿病小鼠模型,在肌肉组织中验证了橘皮素(200 mg/kg)能激活AMPK信号通路,增加葡萄糖摄取,并改善肥胖引起的葡萄糖不耐受。在Kim等研究基础上,Sundaram等^[68]通过建立链脲佐菌素诱导实验性糖尿病大鼠模型,进一步探讨了橘皮素对糖代谢的调节作用,结果显示:饲喂30 d橘皮素[100 mg/(kg·d)]后,糖尿病大鼠的血糖、糖化血红蛋白及胰岛素水平均显著下降;此外,大鼠肝脏中的多种糖代谢关键酶,如:糖激酶、丙酮酸激酶、葡萄糖-6-磷酸酶等也基本恢复至正常水平;其他研究还发现:橘皮素不仅显著改善了高脂饮食诱导小鼠的体重增加、葡萄糖耐受能力降低等状况,脂联素、瘦素、抵抗素以及IL-6、胰岛素抵抗因子(MCP-1)水平也得到了显著改善。团队前期在对运动员的橘皮素(200 mg/d)干预试验中发现^[13,14]:干预4周后,橘皮素组运动员的糖异生促进激素——皮质醇(促进糖异生,维持或升高血糖水平)浓度虽然出现明显下降,但是高强度运动(橘皮素组与安慰剂组采用相同运动负荷、强度)结束后即刻,橘皮素组和对照组的血糖水平分别为 5.3 ± 0.6 、 5.5 ± 0.6 mmol/L,组间无明显差异。本研究推断这可能与橘皮素的糖代谢调节作用有关,但其具体作用机制尚需进一步研究证实。

2.6 神经保护作用

氧化损伤与神经炎症是诱发各类神经退行性疾病(如:阿尔茨海默病、帕金森病等)的主要原因。研究报道,橘皮素具有良好的神经保护作用,其可通过相应神经分子保护机制,诸如:抗氧化活性、抗炎活性以及信号调控等,减弱多巴胺能神经毒素^[69],干预神经退行性病变,促进脑功能的改善^[70]。Wu等^[71]报道,橘皮素能直接参与细胞内ROS的清除,抑制神经细胞的氧化应激损伤,同时提升HT-22神经元活性抵御过氧化氢诱发的神经细胞凋亡。Su等^[72]通过细胞试验发现:橘皮素及其代谢物3'-去甲基川陈皮素能抵御PC12大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞内过氧化氢诱发的氧化损伤,有效促进了神经细胞的发育,同时还能抑制ROS合成,降低caspase-3蛋白酶活性,增加超氧化物歧化酶和谷胱甘肽的活性。Nakajima等^[73]发现:在认知障碍阿尔茨海默病模型(早期)中,90 d橘皮素(30 mg/kg)灌胃补充,不仅能有效降低SAMP8和SAMR1小鼠海马体内的ROS水平,还可通过抑制Tau蛋白活化和氧化应激改善因衰老而造成的认知障碍。Belkacemi等^[74]也发现:橘皮素可透过血脑屏障进入神经细胞内清除ROS,加速内源性抗氧化酶的生成,进而抑制 $A\beta$ 诱发的神经细胞氧化损伤,进而为神经元细胞提供了有效保护。

橘皮素对小胶质细胞激活介导的神经炎症具有良好抑制效果,Shu等^[75]发现:橘皮素能降低NO、TNF- α 、IL-1 β 、IL-5等炎症因子水平,并有效抑制了NOS、COX-2在蛋白水平上的转录和表达。Ho等^[76]通过细胞试验发现:100 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素处理能有效抑制LPS诱发的神经炎症,抑制率高达50%。Shu等^[75]还发现:80 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素(24 h)处理可降低LPS诱发的原代大鼠小胶质细胞神经毒性,减少NO、TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的产生,同时还能抑制LPS诱导的ERK、JNK和P38磷酸化。此外,脑部长期缺血、缺氧和低血糖,也会导致脑细胞凋亡,进而加速神经退行性病变,Yasuda等^[77]报道:在脑缺血再灌注大鼠中,7 d橘皮素(25 mg/kg)灌胃干预能显著抑制中性粒细胞侵袭缺血区,同时减少缺血半球脑细胞的凋亡。Yang等^[78]在1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶诱导的大鼠帕金森病模型试验中发现:20 d橘皮素(50 mg/kg)灌胃干预显著抑制了帕金森大鼠的神经功能减退,减轻了脑组织炎症水平,并明

显改善了帕金森大鼠的记忆功能衰退和认知障碍。

受益于橘皮素对神经细胞内的 ROS 清除和炎症抑制作用,多巴胺、褪黑素等指标也会随之改善。细胞试验报道:10 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素(3 h)处理能显著提升多巴胺 D_2 受体活性,间接促进了多巴胺的分泌^[79];Fatima 等^[80]发现,10 $\mu\text{mol/L}$ 橘皮素(5 h)处理后,果蝇体内的多巴胺水平显著升高。动物实验发现:28 d 橘皮素(50 mg/kg)灌胃干预后,帕金森小鼠(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶诱导)的各项抗氧化和炎症指标明显改善,多巴胺水平比橘皮素干预前升高了 17.3% ($P = 0.02$)^[81]。人体试验方面,Arcusa 等^[82]发现:经过 16 周的柑橘活性物质补剂干预(含:橘皮素 200 mg/d,川陈皮素 100 mg/d),53 名健康受试者的低密度脂蛋白(干预前 78.9 ± 24.5 ng/mL,干预后 69.5 ± 15.6 ng/mL)和 C-反应蛋白(干预前 1.5 ± 0.3 mg/L,干预后 1.4 ± 0.4 mg/L)显著下降,多巴胺水平(干预前 15.4 ± 2.7 pg/mL,干预后 19.6 ± 5.7 pg/mL)明显升高。另有研究指出^[83],补充柑橘活性物质能促进褪黑素合成,进而对睡眠质量产生积极影响;Sae 等^[84]报道,补充柑橘活性物质 2 h 后健康受试者的血清褪黑素水平由干预前的 40 pg/mL 迅速升至 151 pg/mL。

EIA 的产生与多巴胺、褪黑素等神经调节指标的变化存在一定关联。研究指出^[85],多巴胺及其受体能促进哮喘中 Th17 细胞的活化,调节 Treg 细胞功能,纾解呼吸道平滑肌紧张,对于抑制呼吸道炎症和缓解 EIA 症状具有积极作用。Cosentino 等^[86]报道:Treg 细胞的过度消耗会加重哮喘症状,但多巴胺能通过激活 Treg 细胞中的多巴胺 $D1$ 受体,抑制 Treg 细胞活性,进而缓解哮喘症状或降低哮喘发作风险;Lambrecht 等^[87]报道,多巴胺能抑制 Th2 释放 IL-4、IL-5 等促过敏炎症因子,减少嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞数量,减少各级支气管黏液分泌;另外,Cabezas 等^[88]还发现,除抑制呼吸道炎症外,多巴胺还能激活平滑肌细胞内 cAMP 的多个潜在信号通路,进而诱导支气管扩张。而关于褪黑素,研究则发现^[89],褪黑素 MT_2 受体在呼吸道平滑肌上有表达,其能通过增加 Ca^{2+} 浓度以及减少环腺苷酸的产生,来调节呼吸道平滑肌张力;Liu 等^[90]也报道,得益于其出色的抗氧化活性,褪黑素可抑制肺内核因子激活的 B 细胞的 κ -轻链增强(nuclear factor kappa-b, NF- κ B),进而减少相关炎症因子的产生。然

而,尽管上述研究指出橘皮素会在细胞、动物和人体层面优化或调节多巴胺、褪黑素分泌,但是橘皮素是否能通过调节体内多巴胺、褪黑素水平,进而对 EIA 产生防治作用,还尚需进一步探讨和研究证实。

3 总结与展望

相比其它化合类补剂,橘皮素具有生物活性多样、理化性质稳定、无兴奋剂禁用物质等诸多优点,基于前期橘皮素应用于运动员群体显现出来的积极效果,我们认为,橘皮素可能更适合运动员群体使用。但是,在大规模推广应用橘皮素膳食补剂或干预药物之前,有待解决以下三个问题:第一,橘皮素的提取问题。植物中的橘皮素含量较低,且离散分布。若大规模产业化势必会大量破坏或浪费相关植物资源,甚至导致部分植物消失或灭绝^[91]。由于容易与其他次生代谢物、矿物质、纤维等形成复合物,橘皮素的提取工艺复杂,分离、纯化难度大^[92]。第二,水溶性低的问题。由于机型小、水溶性差、易在体内快速降解和代谢,橘皮素往往无法在体内充分发挥其活性优势。利用纳米医学技术(如:球形纳米颗粒、聚酯纳米粒子等)可靶向性提升药物生物利用度和药代动力学^[93],但是,该技术能否有效用于橘皮素补剂或药物研发,目前尚不明确。第三,安全性问题。前期动物毒理试验^[94]结果认为,每日补充 1~5 mg/kg 橘皮素几乎不会对机体产生的任何负面影响;本团队的前期研究也证实,受试者接受 4 周(200 mg/d)^[1,13,14]或 5 周(200 mg/d)^[11]橘皮素干预后未出现任何身体不适症状(如:呕吐、恶心、过敏等)。尽管如此,此类研究持续时间相对较短,目前尚无关于长期服用橘皮素补剂或大剂量补充橘皮素对机体影响的研究报道,也缺少系统的药代动力学和毒理学特性研究,橘皮素的安全性有待进一步研究论证。

综上,橘皮素的生物活性与各种 EIA 症状或衍生问题(如:炎症、氧化应激损伤、尿酸代谢紊乱等)之间,存在较高的契合度与弥补性(见图 4)。橘皮素出色的抗炎、抗氧化活性及对尿酸、多巴胺、褪黑素等指标的调节作用,提示:橘皮素可能对 EIA 产生潜在的积极功效,有望为运动员 EIA 干预治疗提供一种全新途径。未来研究应聚焦橘皮素干预治疗 EIA 的具体作用机制,并通过系统开展药理机制研究、临床试验研究和产品开发研究为推广橘皮素用于 EIA 干预治疗提供理论支撑。

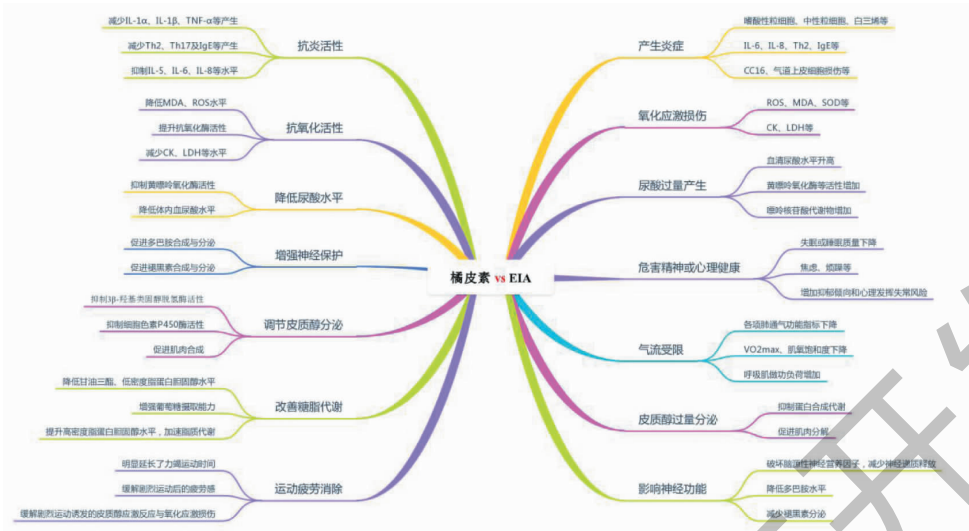


图4 橘皮素生物活性与 EIA 干预治疗

Fig. 4 The biological activity of tangeretin and its potential efficacy of in EIA

参考文献

- Liu M, et al. Review of exercise-induced bronchoconstriction in competitive athletes: mechanism, diagnosis, management and impact on sport performance[J]. Chin Sport Sci Technol (中国体育科技), 2022, 58, 23-32.
- Ali Z, et al. Mechanisms and management of exercise-induced asthma in elite athletes[J]. J Asthma, 2012, 49, 480-486.
- Price OJ, et al. The impact of exercise-induced bronchoconstriction on athletic performance: a systematic review[J]. Sports Med, 2014, 44, 1749-1761.
- Price OJ, et al. Asthma-related sudden death in athletes: a retrospective analysis of the US NCCSIR database (1982-2018)[J]. Eur Respir J, 2021, 58, 88-96.
- Li Z, et al. Simultaneous separation and purification of five polymethoxylated flavones from "Dahongpao" tangerine (*Citrus tangerina* Tanaka) using macroporous adsorptive resins combined with prep-HPLC[J]. Molecules, 2018, 23, 2660-2677.
- Zhao G, et al. Chemical structures, bioactivities and molecular mechanisms of citrus polymethoxyflavones[J]. J Funct Foods, 2018, 40, 498-509.
- Hung WL, et al. Pharmacokinetics, bioavailability, tissue distribution and excretion of tangeretin in rat[J]. J Food Drug Anal, 2018, 26, 849-857.
- Ting Y, et al. Effect of a labile methyl donor on the transformation of 5-demethyltangeretin and the related implication on bioactivity[J]. J Agr Food Chem, 2013, 61, 8090-8097.
- Li JW, et al. Inhibitory effect of citrus flavonoids on trypsin activity and preliminary study on its mechanism[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2021, 33, 1735-1740.
- Liu M, et al. Determination of diuretics in human urine using HPLC coupled with magnetic solid-phase extraction based on a metal-organic framework[J]. Biomed Chromatogr, 2020, 34, 166-174.
- Liu M, et al. Citrus active substances improve elite weightlifters' aerobic exercise and resilience[J]. Med Sci Sport Exer, 2019, 51, 89.
- Kou G, et al. Citrus tangeretin reduces the oxidative stress of the myocardium, with the potential for reducing fatigue onset and myocardial damage[J]. J Funct Foods, 2019, 54, 249-253.
- Liu M, et al. Effects of the combination of tangeretin and whey protein on testosterone and cortisol in sprinters at winter training season[J]. Chin J Appl Physiol (中国应用生理学杂志), 2021, 37, 678-682.
- Liu M, et al. Effects of tangeretin on cortisol stress response induced by high-intensity resistance exercise[J]. Chin J Appl Physiol (中国应用生理学杂志), 2021, 37, 523-528.
- Cao Z, et al. Exercise-induced bronchoconstriction in winter elite athletes: risk, diagnosis and treatment[J]. China Sport Sci (体育科学), 2021, 41, 78-87.
- Niinimaa V, et al. The switching point from nasal to oronasal breathing[J]. Respir Physiol, 1980, 42, 61-71.
- Bougault V, et al. Airway remodeling and inflammation in competitive swimmers training in indoor chlorinated swimming pools[J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129, 351-358.
- Comhair SA, et al. Redox control of asthma: molecular mech-

- anisms and therapeutic opportunities [J]. *Antioxid Redox Signal*,2010,12:93-124.
- 19 Hulsmann AR, et al. Oxidative epithelial damage produces hyperresponsiveness of human peripheral airways [J]. *Am J Respir Crit Care Med*,1994,149:519-525.
- 20 Funaro A, et al. Enhanced anti-inflammatory activities by the combination of luteolin and tangeretin [J]. *J Food Sci*,2016, 81:1320-1327.
- 21 Pan MH, et al. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids [J]. *Food Funct*,2010,1:15-31.
- 22 Arab HH, et al. Tangeretin attenuates cisplatin-induced renal injury in rats; Impact on the inflammatory cascade and oxidative perturbations [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 258: 205-213.
- 23 Hagenlocher Y, et al. Citrus peel polymethoxyflavones nobiletin and tangeretin suppress LPS- and IgE-mediated activation of human intestinal mast cells [J]. *Eur J Nutr*, 2017, 56: 1609-1620.
- 24 Manthey JA, et al. Anti-inflammatory activity of an orange peel polymethoxylated flavone, 3',4',3,5,6,7,8 -heptamethoxyflavone, in the rat carrageenan/paw edema and mouse lipopolysaccharide-challenge assays [J]. *J Agr Food Chem*, 2008, 56:9399-9403.
- 25 Bas E, et al. Demethylnobiletin inhibits delayed-type hypersensitivity reactions, human lymphocyte proliferation and cytokine production [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 152: 1272-1282.
- 26 Lee YR, et al. Hesperidin partially restores impaired immune and nutritional function in irradiated mice [J]. *J Med Food*, 2011;14:475-482.
- 27 Liu LL, et al. Tangeretin has anti-asthmatic effects via regulating PI3K and Notch signaling and modulating Th1/Th2/Th17 cytokine balance in neonatal asthmatic mice [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 50:599-607.
- 28 Jang SE, et al. Nobiletin and tangeretin ameliorate scratching behavior in mice by inhibiting the action of histamine and the activation of NF- κ B, AP-1 and p38 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 17:502-507.
- 29 Xu S, et al. Tangeretin promotes regulatory T cell differentiation by inhibiting Notch1/Jagged1 signaling in allergic rhinitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72:402-412.
- 30 Shan Y, et al. *In vitro* antioxidation activity of multimethoxyl flavonoids from citrus peel [J]. *Food Sci (食品科学)*, 2007, 28:1007-1011.
- 31 Liang F, et al. Attenuation of tert-butyl hydroperoxide (*t*-BHP)-induced oxidative damage in HepG2 Cells by tangeretin; relevance of the Nrf2-ARE and MAPK signaling pathways [J]. *J Agr Food Chem*, 2018, 66:6317-6325.
- 32 Lakshmi A, et al. Tangeretin ameliorates oxidative stress in the renal tissues of rats with experimental breast cancer induced by 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene [J]. *Toxicol Lett*, 2014, 229:333-348.
- 33 Kou G, et al. Citrus tangeretin improves skeletal muscle mitochondrial biogenesis via activating the AMPK-PGC1- α pathway *in vitro* and *in vivo*; A possible mechanism for its beneficial effect on physical performance [J]. *J Agr Food Chem*, 2018, 66:11917-11925.
- 34 Couto M, et al. Mechanisms of exercise-induced bronchoconstriction in athletes; current perspectives and future challenges [J]. *Allergy*, 2018, 73:8-16.
- 35 Adam L, et al. Nitric oxide modulates β 2-adrenergic receptor palmitoylation and signaling [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 26337-26343.
- 36 Milan SJ, et al. Vitamin C for asthma and exercise-induced bronchoconstriction [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 2013:10391-10398.
- 37 Litonjua AA, et al. Six-year follow-up of a trial of antenatal vitamin D for asthma reduction [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382:525-533.
- 38 Hodge L, et al. Effect of dietary intake of omega-3 and omega-6 fatty acids on severity of asthma in children [J]. *Eur Respir J*, 1998, 11:361-365.
- 39 Fabian E, et al. Nutritional supplements and plasma antioxidants in childhood asthma [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2013, 125:309-315.
- 40 Tripoli E, et al. Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review [J]. *Food Chem*, 2013, 104:466-479.
- 41 Walle T. Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass? [J]. *Semin Cancer Biol*, 2007, 17:354-362.
- 42 Chong SY, et al. Tangeretin sensitizes SGS1-deficient cells by inducing DNA damage [J]. *J Agr Food Chem*, 2013, 61: 6376-6382.
- 43 Morley KL, et al. Tangeretin and nobiletin induce G1 cell cycle arrest but not apoptosis in human breast and colon cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2007, 251:168-178.
- 44 Arivazhagan L, et al. Tangeretin, a citrus pentamethoxyflavone, exerts cytostatic effect via p53/p21 up-regulation and suppresses metastasis in 7, 12-dimethylbenz (α) anthracene-induced rat mammary carcinoma [J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25:1140-1153.
- 45 Dong Y, et al. Tangeretin, a citrus polymethoxyflavonoid, induces apoptosis of human gastric cancer AGS cells through

- extrinsic and intrinsic signaling pathways [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31:1788-1794.
- 46 Gul HF, et al. The combined effect of pomegranate extract and tangeretin on the DMBA-induced breast cancer model [J]. *J Nutr Biochem*, 2021, 89:108566.
- 47 Zhu WB, et al. Dietary flavonoid tangeretin induces reprogramming of epithelial to mesenchymal transition in prostate cancer cells by targeting the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15:433-440.
- 48 Lust S, et al. The flavonoid tangeretin activates the unfolded protein response and synergizes with imatinib in the erythroleukemia cell line K562 [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54:823-832.
- 49 Miyata Y, et al. Regulation of adipocytokine secretion and adipocyte hypertrophy by polymethoxy-flavonoids, nobiletin and tangeretin [J]. *Life Sci*, 2011, 88:613-618.
- 50 Bonifacio A, et al. Uric acid and evolution [J]. *Rheumatology*, 2010, 49:2010-2015.
- 51 Day RO, et al. Xanthine oxidoreductase and its inhibitors: relevance for gout [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130:2167-2180.
- 52 Guo BH. Research on the material basis of xanthine oxidase inhibition by herbs of the genus *Trifolium* and *Citrus* [D]. Qingdao: Qingdao University (青岛大学), 2016.
- 53 Liu M, et al. Effects of 4-week tangeretin supplementation on serum uric acid in sprinters [C]//The 12th National Sports Science Conference (第十二届全国体育科学大会), 2022.
- 54 Lan LL. Protective effect and mechanism of Shencha on hyperuricemia and gouty nephropathy [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2016.
- 55 Li YL, et al. Corelation of serum uric acid with severity of acute asthma attack and pulmonary function in asthmatic patients [J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2018, 32:1166-1168.
- 56 Li L, et al. An unexpected role for serum uric acid as a biomarker for severity of asthma exacerbation [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2014, 32:93-99.
- 57 Webb R, et al. Uric acid directly promotes human T-cell activation [J]. *Am J Med Sci*, 2009, 337:23-27.
- 58 Wang H, et al. High serum uric acid was a risk factor for incident asthma: an open cohort study [J]. *Risk Manag Healthc P*, 2020, 13:2337-2346.
- 59 Viru A, et al. Cortisol--essential adaptation hormone in exercise [J]. *Int J Sports Med*, 2004, 25:461-464.
- 60 An L, et al. The total flavonoids extracted from xiaobuxin-tang up-regulate the decreased hippocampal neurogenesis and neurotrophic molecules expression in chronically stressed rats [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2008, 32:1484-1490.
- 61 Chen XM, et al. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities [J]. *Food Chem*, 2017, 218:15-21.
- 62 Hasegawa E, et al. Effect of polyphenols on production of steroid hormones from human adrenocortical NCI-H295R cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36:228-237.
- 63 Ohno S, et al. Effects of flavonoid phytochemicals on cortisol production and on activities of steroidogenic enzymes in human adrenocortical H295R cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2002, 80:355-363.
- 64 Vanhooecke BW, et al. A safety study of oral tangeretin and xanthohumol administration to laboratory mice [J]. *In Vivo*, 2005, 19:103-107.
- 65 Zeng SL, et al. Citrus polymethoxyflavones attenuate metabolic syndrome by regulating gut microbiome and amino acid metabolism [J]. *Sci Adv*, 2020, 6:6208-6215.
- 66 Green C, et al. Hypolipidemic effects of ortanique peel polymethoxylated flavones in rats with diet induced hypercholesterolemia [J]. *J Food Biochem*, 2011, 35:1555-1560.
- 67 Kang SI, et al. Immature citrus sunki peel extract exhibits anti-obesity effects by β -oxidation and lipolysis in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35:223-230.
- 68 Sundaram R, et al. Effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21:793-799.
- 69 Takano K, et al. Methoxyflavones protect cells against endoplasmic reticulum stress and neurotoxin [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292:353-361.
- 70 Braidy N, et al. Neuroprotective effects of citrus fruit-derived flavonoids, nobiletin and tangeretin in alzheimer's and parkinson's disease [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2017, 16:387-397.
- 71 Wu C, et al. Tangeretin protects human brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation-induced injury [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120:4883-4891.
- 72 Su JD, et al. 3',4'-didemethylnobiletin induces phase II detoxification gene expression and modulates PI3K/Akt signaling in PC12 cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52:126-141.
- 73 Nakajima A, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid, ameliorates cognitive impairment, oxidative burden, and hyperphosphorylation of tau in senescence-accelerated mouse [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 250:351-360.
- 74 Belkacemi A, et al. Innovative anthocyanin/anthocyanidin formulation protects sk-n-sh cells against the amyloid- β pep-

- tide-induced toxicity; relevance to Alzheimer's disease [J]. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2015, 16:37-49.
- 75 Shu Z, et al. Tangeretin exerts anti-neuroinflammatory effects via NF- κ B modulation in lipopolysaccharide -stimulated microglial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19:275-282.
- 76 Ho SC, et al. Hesperidin, nobiletin, and tangeretin are collectively responsible for the antineuro inflammatory capacity of tangerine peel (*Citri Reticulatae Pericarpium*) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 71:176-182.
- 77 Yasuda N, et al. Neuroprotective effect of nobiletin on cerebral ischemia-reperfusion injury in transient middle cerebral artery-occluded rats [J]. *Brain Res*, 2014, 1559:46-54.
- 78 Yang JS, et al. Tangeretin inhibits neurodegeneration and attenuates inflammatory responses and behavioural deficits in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinson's disease dementia in rats [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25:471-484.
- 79 He Y, et al. Bioactivity-guided separation of potential D₂ dopamine receptor antagonists from *aurantiifructus* based on molecular docking combined with high-speed counter-current chromatography [J]. *Molecules*, 2018, 23:31-35.
- 80 Fatima A, et al. Protective effect of tangeritin in transgenic drosophila model of Parkinson's disease [J]. *Front Biosci (Elite)*, 2017, 9:44-53.
- 81 Pangestika I, et al. Inhibitory effects of tangeretin and trans-ethyl caffeate on the HMG-CoA reductase activity: potential agents for reducing cholesterol levels [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27:1947-1960.
- 82 Arcusa R, et al. Effects of a fruit and vegetable-based nutraceutical on biomarkers of inflammation and oxidative status in the plasma of a healthy population; a placebo-controlled, double-blind, and randomized clinical trial [J]. *Molecules*, 2021, 26:3604-3610.
- 83 Yasuda N, et al. Neuroprotective effect of nobiletin on cerebral ischemia-reperfusion injury in transient middle cerebral artery-occluded rats [J]. *Brain Res*, 2014, 1559:46-54.
- 84 Sae TM, et al. Serum melatonin levels and antioxidant capacities after consumption of pineapple, orange, or banana by healthy male volunteers [J]. *J Pineal Res*, 2013, 55:58-64.
- 85 Pelletier M, et al. Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells [J]. *Blood*, 2010, 115:335-343.
- 86 Cosentino M, et al. Human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells selectively express tyrosine hydroxylase and contain endogenous catecholamines subserving an autocrine/paracrine inhibitory functional loop [J]. *Blood*, 2007, 109:632-642.
- 87 Lambrecht BN, et al. The cytokines of asthma [J]. *Immunity*, 2019, 50:975-991.
- 88 Cabezas GA, et al. DA1 receptors modulation in rat isolated trachea [J]. *Am J Ther*, 2010, 17:301-305.
- 89 Sasaki H, et al. Melatonin MT2 receptor is expressed and potentiates contraction in human airway smooth muscle [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321:991-1005.
- 90 Liu X, et al. Melatonin prevents allergic airway inflammation in epicutaneously sensitized mice [J]. *Biosci Rep*, 2021, 41:202-208.
- 91 Seca A, et al. Plant secondary metabolites as anticancer agents: successes in clinical trials and therapeutic application [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19:263-269.
- 92 Amawi H, et al. Cancer chemoprevention through dietary flavonoids; what's limiting? [J]. *Chin J Cancer*, 2017, 36:50-58.
- 93 Fakhri S, et al. The neuroprotective effects of astaxanthin; therapeutic targets and clinical perspective [J]. *Molecules*, 2019, 24:2640-2645.
- 94 Nakajima A, et al. An evaluation of the genotoxicity and sub-chronic toxicity of the peel extract of ponkan cultivar 'ohta ponkan' (*Citrus reticulata* Blanco) that is rich in nobiletin and tangeretin with anti-dementia activity [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2020, 114:104670.