

# 金刺梨果渣游离态多酚对三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抗增殖活性及其作用机制

王钰<sup>1</sup>, 王瑜<sup>2,3</sup>, 吴健<sup>3</sup>, 郑必胜<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 贵州省天然产物研究中心, 贵州贵阳 550014) (3. 贵州得宝农业科技有限公司, 贵州安顺 561000)

**摘要:** 为了阐明金刺梨果渣多酚的组成特征及其靶向抗癌分子机制, 本研究采用 UPLC-MS/MS 技术对其酚类组成进行鉴定, 并以普通刺梨果渣多酚进行组分对比, 客观揭示了金刺梨发挥抗氧化与抑癌作用的物质基础。在此基础上, 通过 PSC、ORAC 法分析其抗氧化活性, 并以三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞为模型, 结合细胞划痕、Transwell 侵袭、流式细胞术及 RT-qPCR 技术, 多维度考查其抗增殖效果与分子机制。结果发现, 金刺梨果渣总酚(H-TP)含量显著优于普通刺梨, 该核心差异主要源于其游离酚(H-FP)含量的提升; H-FP 含有更为丰富的儿茶素类和酚类糖苷衍生物, 表现出最强的抗氧化能力。细胞实验证实, H-FP 能显著抑制 MDA-MB-231 细胞增殖( $EC_{50}$  值为  $2.21 \text{ mg mL}^{-1}$ ), 可将细胞周期阻滞于 S 期并诱导细胞发生早期凋亡。此外, H-FP 显著降低了肿瘤细胞愈合率, 使侵袭细胞数由 170.2 个锐减至 10.2 个。分子通路研究表明, H-FP 能够通过上调 CHK2、Bax 并下调 AKT、PI3K、CDK2 等关键基因的表达, 依靠多酚组分的多靶点协同效应发挥强效抗癌作用。综上所述, 本研究明确了金刺梨果渣多酚多途径抑制三阴性乳腺癌细胞的能力, 为刺梨果渣资源的高值化利用及天然抗肿瘤功能食品的开发提供了理论依据。

**关键词:** 金刺梨; 果渣; 多酚提取物; 三阴性乳腺癌; 抗增殖活性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0321

## Anti-Proliferative Activity and Underlying Mechanisms of Free Polyphenols from *Rosa sterilis* Pomace Against Triple-Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cells

WANG Yu<sup>1</sup>, WANG Yu<sup>2,3</sup>, WU Jian<sup>3</sup>, ZHENG Bisheng<sup>1</sup>

(1.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550014, China)

(3.Guizhou Debao Agricultural Technology Co. Ltd., Anshun 561000, China)

**Abstract:** To elucidate the compositional characteristics and targeted anti-cancer molecular mechanisms of *Rosa sterilis* pomace polyphenols, this study utilized UPLC-MS/MS technology for the precise identification of their phenolic profiles. By comparing the components with those of normal *Rosa roxburghii* pomace polyphenols, the material basis for the antioxidant and tumor-suppressive effects of *Rosa sterilis* was objectively revealed. Based on this, their antioxidant activities were analyzed using Peroxyl Radical Scavenging Capacity (PSC) and Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assays. Furthermore, using triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells as a model, their anti-proliferative effects and molecular mechanisms were multidimensionally investigated by combining wound healing, Transwell invasion, flow cytometry, and RT-qPCR assays. The results demonstrated that the total phenolic content of *Rosa sterilis* pomace (H-TP) was significantly higher than that of normal *Rosa roxburghii*, and this core difference primarily stemmed from the elevation in its free phenolics (H-FP) content. H-FP contained more abundant catechins and phenolic glycoside derivatives, exhibiting the most potent antioxidant capacity. Cellular experiments confirmed that H-FP significantly inhibited the proliferation of MDA-MB-231 cells (with an  $EC_{50}$  value of  $2.21 \text{ mg mL}^{-1}$ ), induced S-phase cell cycle arrest, and promoted early cell apoptosis. Additionally, H-FP significantly suppressed the tumor cell healing rate and

收稿日期: 2026-03-05; 修回日期: 2026-05-24; 接受日期: 2026-05-25

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合中引地【2025】014)资助

作者简介: 王钰(2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然活性产物, E-mail: 1831103982@qq.com

通讯作者: 郑必胜(1996-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能耐水化合物, 糖类物质及药物制备, E-mail: febzhang@scut.edu.cn

drastically decreased the number of invading cells from 170.2 to 10.2. Molecular pathway studies revealed that H-FP exerted potent anti-cancer effects by upregulating the expression of key genes such as CHK2 and Bax, while downregulating AKT, PI3K, and CDK2, relying on the multi-target synergistic effect of its polyphenolic components. In summary, this study clarifies the multi-pathway inhibitory capabilities of *Rosa sterilis* pomace polyphenols against triple-negative breast cancer cells, providing a theoretical foundation for the high-value utilization of pomace resources and the development of natural anti-tumor functional foods.

**Keywords:** *rosa sterilis*; fruit pomace; polyphenol extract; triple-negative breast cancer; anti-proliferative activity

刺梨 (*Rosa roxburghii* Tratt.) 是我国西南地区 (尤其是贵州省) 极具特色的药食同源植物, 凭借其卓越的生态、经济与药用价值, 已成为推动区域大健康产业发展与乡村振兴的核心支柱资源。作为天然的营养宝库, 刺梨果实富含多种高生物活性因子, 尤以极高的维生素 C 含量著称 (约为苹果的 455~800 倍), 同时富含维生素 P (黄酮类物质)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及丰富的植物多酚, 享有“维 C 之王”与“三王水果”的美誉<sup>[1-3]</sup>。在产业持续优化的过程中, 贵州特有的优良变种金刺梨 (*Rosa sterilis* S.D.shi Var.leioclada, 又名无籽刺梨) 因其涩味轻、甜度高且感官品质佳, 展现出了极为广阔的果汁加工与应用前景<sup>[4]</sup>。

植物多酚是刺梨发挥营养健康功效与药理活性的关键物质基础。现代医学与食品科学研究证实, 刺梨多酚及相关提取物具有卓越的抗氧化、抗炎及抗肿瘤生理活性。在抗肿瘤干预方面, Yang 等<sup>[5]</sup>的研究表明, 刺梨乙醇提取物能有效抑制人结肠癌细胞 HCT116 及乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖; 卢薇等<sup>[6]</sup>通过对比沙棘、蓝莓等 5 种果汁发现, 刺梨汁对 HepG2 肝癌细胞展现出最强的抗增殖活性, 且对正常细胞组织毒性极低。

然而, 当前刺梨多酚的研究与深度开发仍面临显著问题与瓶颈。在刺梨深加工 (如榨汁) 产业链中, 高达原料总质量 50% 的果渣多被作为废弃物, 仅用于动物饲料或粗膳食纤维处理。这导致大量未被压榨释放的游离态与结合态多酚残留在果渣中遭到严重浪费, 远未实现资源的高值化开发<sup>[7]</sup>。与此同时, 根据世界卫生组织 (WHO) 下属国际癌症研究机构 (IARC) 2025 年发布的报告, 乳腺癌 (Breast Cancer) 已成为全球女性发病率最高且致死人数最多的恶性肿瘤; 其中三阴性乳腺癌 (Triple-negative Breast Cancer, TNBC) 因高侵袭性、易复发及缺乏有效靶点, 临床预后极差, 被称作“乳腺癌之王”<sup>[8]</sup>。而针对刺梨加工废弃物 (果渣) 多酚对 TNBC 的靶向干预潜力及其深层分子机制, 目前尚处于研究空白。

基于上述产业资源痛点与医学干预需求, 本研究拟以刺梨果渣为切入点, 首先系统对比金刺梨与普通刺梨果渣中多酚的组分差异, 确立金刺梨游离酚 (H-FP) 为核心物质基础; 进而以高侵袭性的 MDA-MB-231 细胞为体外模型, 深度解析 H-FP 抑制乳腺癌细胞恶性增殖的信号级联网络与作用机制。本研究旨在填补刺梨果渣多酚靶向抗肿瘤机制的研究空白, 为刺梨加工副产物由“低端废弃物”向“高附加值天然抗癌功能配料”的转化提供严谨的科学依据, 进而助力刺梨产业循环经济的高质量发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 实验原材料

金刺梨果渣和普通刺梨果渣, 由贵州德宝农业科技有限公司提供;

三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞, 来自苏州海星生物科技有限公司。

主要试剂: 丙酮, 购自广州同源化工; 甲醇、乙腈、乙酸铵, 购自德国 Merk 公司; 甲酸, 购自 TCI 公司; 标准品, BioBioPha/SigmaAldrich; 乙酸乙酯、ABAP, 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; Trolox 标准品, 维生素 C 标准品、二氯荧光黄双乙酸酯 (2',7'-Dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA), 购自西格玛奥德里奇公司; 细胞周期检测试剂盒, 购自碧云天生物技术有限公司; MTT 试剂盒、Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所; Transwell 小室, 购自无锡耐思生命公司; 0.1%结晶紫, 购自比克曼生物公司; TRIzol RNA 提取试剂, Thermo Fisher 公司; Evo M-MLV 反转录试剂盒、SYBR Green Premix pro TaqHS qPCR 试剂盒, 购自艾科瑞生物公司; DMEM 培养基、双抗 (青霉素-链霉素液) 和胰酶, 购自美国 Thermo Fisher 公司; 胎牛血清, 购自依科赛生物 ExCell Bio 公司。

#### 1.1.2 实验仪器

Acquity I-Class PLUS 超高效液相、Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (1.8  $\mu\text{m}$ , 2.1 $\times$ 100 mm), 美国沃特世 (Waters) 公司; Qtrap 6500+高灵敏度质谱仪, SCIEX 公司; infinite 200 pro 型荧光酶标仪, 瑞士 Tecan 公司; 细胞 CO<sub>2</sub> 培养箱 (3111 型), 美国 Thermo Fisher 公司; Cyto FLEX 型流式细胞仪, 贝克曼库尔特 Beckman Coulter 公司; PCR 仪, 美国 BIO-RAD 公司。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 果渣中多酚物质的提取

将金刺梨和普通刺梨果渣分别于烘箱中烘干 24 h (45  $^{\circ}\text{C}$ ), 然后粉碎, 按以下方法提取游离酚和结合酚。

#### 1.2.1.1 游离酚的提取

称取 40 g 刺梨果渣粉末于 4  $^{\circ}\text{C}$  预冷 80% 丙酮中 (1:8,  $m/V$ ), 在高速均质机下提取 5 min, 离心收集上清, 残渣重复上述操作直至上清无色。合并上清, 45  $^{\circ}\text{C}$  真空旋转浓缩, 用超纯水复溶、定容至 50 mL, 得到 800  $\text{mg mL}^{-1}$  的游离酚类提取物, 分装并保存于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱。金刺梨游离酚记作 H-FP (H-Free Polyphenol, H-FP), 普通刺梨游离酚记为 P-FP (P-Free Polyphenol, P-FP)。

#### 1.2.1.2 结合酚的提取

向上述步骤中所剩残渣加入 4  $\text{mol L}^{-1}$  NaOH (1:4,  $m/V$ )。在磁力搅拌器作用下密封消化 1~2 h, 消化完毕后加入浓盐酸, 将 pH 值调整至 2.0, 加入等体积乙酸乙酯, 提取上述混合物中的结合酚, 直至上清无色, 采用旋转蒸发真空回收乙酸乙酯。最后用超纯水复溶、定容至 50 mL, 得到 800  $\text{mg mL}^{-1}$  的结合酚类提取物, 分装并保存于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱。金刺梨结合酚记作 H-BP (H-Bound Polyphenol, H-BP), 普通刺梨游离酚记为 P-BP (P-Bound Polyphenol, P-BP)。

#### 1.2.1.3 总酚的提取

游离酚和结合酚的提取同上, 分别定容至 25 mL, 各自混合均匀得到两种刺梨果渣 800  $\text{mg mL}^{-1}$  的总酚提取物, 金刺梨果渣总酚记为 H-TP (H-Total Polyphenol, H-TP), 普通刺梨果渣总酚记为 P-TP (P-Total Polyphenol, P-TP)。

### 1.2.2 总酚和总黄酮的测定

#### 1.2.2.1 总酚含量测定

采用福林酚法<sup>[9]</sup>测定刺梨果渣提取物中总酚含量。样品中的总酚含量以没食子酸的量相对测定, 用每 100 g 刺梨果渣粉末中相当于没食子酸 (Gallic Acid, GA) 的毫克数表示 ( $\text{mg GA}/100 \text{ g}$ )。

#### 1.2.2.2 总黄酮含量测定

采用硼氢化钠/四氯对醌比色法 (Sodium Borohydride/Chloranil-based assay, SBC)<sup>[10]</sup>测定刺梨果渣多酚中的黄酮含量。以标准品儿茶素的量对刺梨果渣多酚中总黄酮含量进行相对测定, 结果表示为每 100 g 刺梨果渣粉末中相当于儿茶素 (Catechin, CE) 的毫克数 ( $\text{mg CE}/100 \text{ g}$ )。

#### 1.2.2.3 两种刺梨果渣多酚中酚类物质鉴定

采用高效液相色谱串联质谱 (UPLC-MS/MS), 对样本中的酚类物质准确的定性和物质内定量比对。液相色谱模式如下: 1) 正离子模式: 流动相 A: 0.1% ( $\varphi$ ) 甲酸, 5  $\text{mmol L}^{-1}$  乙酸铵水溶液; 流动相 B: 0.1% ( $\varphi$ ) 甲酸乙腈; 2) 负离子模式同上; 3) 洗脱梯度: 0 min B 相比比例为 2% ( $\varphi$ ), 并维持在 2% ( $\varphi$ ) 1.5 min, 5.00 min 内 B 相比比例线性增加到 50% ( $\varphi$ ), 并维持在 50% ( $\varphi$ ) 4 min, 9.00 min 内 B 相比比例线性增加到 98% ( $\varphi$ ), 并维持在 98% ( $\varphi$ ) 1 min, 10.00~11.00 min, B 相比比例降为 2% ( $\varphi$ ), 并以 2% ( $\varphi$ ) 平衡至 14 min; 4) 其他色谱条件: 流速 0.35  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 4  $\mu\text{L}$ 。

LIT 和三重四极杆 (QQQ) 扫描是在三重四极杆线性离子阱质谱仪 (Q TRAP), AB6500 QTRAP MS/MS 系统上获得的。质谱参数如下: 电喷雾离子源温度 550  $^{\circ}\text{C}$ ; 离子喷雾电压 5 500 V (正离子模式) /-4500 V (负离子模式); 离子源气体 I, 气体 II 和气帘气分别设置为 50、55 和 35 psi, 碰撞诱导电离参数设置为中等。在 QQQ 和 LIT 模式下分别用 10 和 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  聚丙二醇溶液进行仪器调谐和质量校准。QQQ 扫描使用 MRM 模式, 并将碰撞气体 (氮气) 设置为中等。通过进一步的去簇电压和碰撞能优化, 根据每个时期内洗脱的代谢物, 在每个时期监测一组特定的 MRM 离子对。

### 1.2.3 刺梨果渣多酚的抗氧化活性测定

### 1.2.3.1 PSC

参考文献<sup>[11]</sup>方法进行过氧自由基清除能力 (Peroxyl Radical Scavenging Capacity, PSC) 值分析。首先配制标准品维生素 C 溶液和提取物分别加入 100  $\mu\text{L}$  于 96 孔板中, 加入 DCFH-DA 工作液 (DCFH-DA 母液与 KOH 溶液混合) 和 ABAP 激发剂。37  $^{\circ}\text{C}$  下通过荧光酶标仪测定 (激发光波长为 485 nm、散射光波长为 535 nm)

$$PSC = 1 - \frac{S}{C} \quad (1)$$

式中:

S——是样品/标准品的积分面积值 (RFU min);

C——是对照组的积分面积值 (RFU min)。

### 1.2.3.2 ORAC

参考文献<sup>[12]</sup>方法进行氧自由基吸收能力 (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) 值分析。将样品及标准品分别加入 96 孔黑板中, 空白孔加入 PBS 缓冲液, 之后每孔加入荧光素钠溶液, 加入 ABAP 溶液 (除空白孔)。混合均匀后, 置于荧光酶标仪中进行检测, 检测条件设同 PSC, 使用 Sigmaplot 14.0 分析曲线下面积 (AUC), 通过以下公式计算得到净 AUC:

$$ORAC = \frac{S - B}{T - B} \quad (2)$$

式中:

S——是样品曲线下面积值 (RFU min);

B——是空白的曲线下面积值 (RFU min);

T——是标准品的曲线下面积值 (RFU min)。

### 1.2.4 细胞培养

MDA-MB-231 细胞, 用含有 10% ( $\varphi$ ) 胎牛血清、1% ( $\varphi$ ) 双抗 (青霉素-链霉素液) 的 DMEM 培养基于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5% ( $\varphi$ )  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。

### 1.2.5 细胞毒性测定

细胞毒性测定采用 MTT 法。使用胰蛋白酶处理生长良好的细胞, 将细胞置于 96 孔板内。24 h 更换培养基 (空白组、对照组和含有不同浓度提取物的实验组) 继续培养 24 h, PBS 缓冲液清洗后, 加入含 MTT 的完全培养基, 37  $^{\circ}\text{C}$  染色 4 h, 弃去上清液, 每孔加入 DMSO 充分溶解结晶后测定吸光值 (490 nm)。计算细胞存活率与半数毒性剂量  $\text{CC}_{50}$  值 ( $\text{mg mL}^{-1}$ )。

细胞存活率 (%) = [(实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)]  $\times 100\%$ 。半数毒性剂量  $\text{CC}_{50}$  由软件 Calcsyn 拟合得到。

### 1.2.6 细胞抗增殖活性测定

根据毒性测定的结果选择并确定适当的提取物浓度, 采用 MTT 法进行抗增殖活性测定, 基本实验步骤同 1.2.5。参考南京建成试剂盒说明书, 细胞在 96 孔板培养 4 h 更换培养基, 继续培养 72 h 后, 进行染色和吸光度值测定。计算细胞存活率和半数抑制有效剂量  $\text{EC}_{50}$  值 ( $\text{mg mL}^{-1}$ )。通过分析和比较选择性指数 (Selectivity Index, SI) 对刺梨果渣多酚提取物进行筛选, 并进行后续活性指标研究。

细胞存活率和半数抑制有效剂量  $\text{EC}_{50}$  同 1.2.5, 选择性指数 (Selectivity Index, SI) 计算公式为:  $\text{SI} = \text{CC}_{50} / \text{EC}_{50}$ 。

### 1.2.7 细胞周期

按照碧云天细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒说明书操作。具体步骤如下: 使用 6 孔板, 培养 24 h, 加入含刺梨果渣多酚的完全培养基, 浓度设置为 0.5、1、2、3、4  $\text{mg mL}^{-1}$ , 处理结束, 用流式细胞仪检测, 使用 ModFit LT 5.0 软件进行数据分析, 得到细胞周期分布结果。

### 1.2.8 细胞凋亡

按照南京建成 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒说明书操作。加入含刺梨果渣多酚的完全培养基, 浓度设置为 0.5、2、4  $\text{mg mL}^{-1}$ 。流式细胞仪检测激发波长 488 nm, 发射波长 530 nm 下的红色和绿色荧光强度。使用 Flow Jo 10.8.1 分析数据。

### 1.2.9 细胞划痕 (细胞迁移)

采用 6 孔板, 每孔加入  $6 \times 10^5$  个细胞, 待细胞生长密度达到 90% 及以上, 用无菌枪头划在每孔内划一道垂直竖线, 加入 PBS 缓冲液轻轻润洗 2-3 次吸净。对照组和提取物实验组, 提取物浓度同 1.2.8, 处理 0、24 和 48 h 后, 在倒置显微镜下拍下划痕。使用 ImageJ 处理划痕情况得到划痕面积。

### 1.2.10 Transwell 侵袭

对生长状况良好的 MDA-MB-231 细胞进行 16 h 饥饿处理 (无胎牛血清培养基培养), 防止细胞侵袭能力受血清中生长因子的影响。将细胞悬浮液加入至上室 (每小室预涂基质胶)。24 孔板中加入含 20% ( $\varphi$ ) 胎牛血清培养基 (对照组和含有不同提取物浓度的实验组), 浓度设置同 1.2.7。侵袭 48 h 后, 固定、染色、并用棉棒擦去上室残余基质胶, 使用倒置显微镜拍照, 并用 ImageJ 处理。

### 1.2.11 抗增殖相关基因表达

抗增殖基因表达分析采用荧光实时定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 法。细胞铺板密度设置为每孔  $5 \times 10^5$  个, 样品浓度设置低、中、高浓度, 分别为 0.5、2、4 mg mL<sup>-1</sup>。

#### 1.2.11.1 总 RNA 提取

细胞总 RNA 的提取采用 TRIzol RNA 提取法, 参考 Joy 等<sup>[13]</sup>发表方法稍作修改。全程操作过程注意使用异丙醇擦拭实验台面及移液枪, 并使用无 RNA 酶离心管, 防止 RNA 降解。得到 RNA 沉淀物, 用适量 DEPC 水溶解。测定 RNA 纯度及浓度后进行后续实验。

#### 1.2.11.2 反转录得到 cDNA

根据反转录试剂盒说明书指示, 将上述步骤得到的各组细胞总 RNA 逆转录获取 cDNA, 并收集至离心管中。

#### 1.2.11.3 Real-time PCR

以 cDNA 为模板, 参照 SYBR Green 试剂盒说明书进行 PCR 实验。内参基因为 *GADPH*, 选择 *P53*、*P21*、*Caspase-9*、*Caspase-3*、*Bax*、*Bad*、*Chk2*、*Chk1*、*Cdk2*、*Bcl-2*、*Bcl-xl*、*PI3K* 和 *AKT* 等细胞周期和凋亡等相关基因进行机制研究。根据实验所测的循环阈值 (Ct 值) 处理得到相对基因表达值, 采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算。(mean  $\pm$  SD,  $n=3$ )。

## 1.3 数据分析

每组实验均有三组平行重复, 所得结果以平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD,  $n=3$ ) 形式表示。其中 Analyst 1.6.3 分析质谱数据; SigmaPlot 14.0 用来计算曲线下面积; CalcuSyn 用于计算 EC<sub>50</sub> 与 CC<sub>50</sub> 数值; 组内与组间相关性通过 IBM SPSS Statistics 27 中单因素 ANOVA 检验分析, 其中有显著差异性用  $P < 0.05$  来表示; Image J 用来处理划痕图片并计算面积; ModFit LT 5.0 用来分析细胞周期; 使用 Flow Jo 10.8.1 处理细胞凋亡; 图表的绘制采用 GraphPad Prism 10。

## 2 结果与讨论

### 2.1 刺梨果渣多酚提取物的总酚和总黄酮

#### 2.1.1 总酚和总黄酮含量

刺梨果渣的总酚与总黄酮含量测定结果见图 1。由图 1A 可知, 金刺梨果渣的总酚含量表现出显著优势, 约为普通刺梨的 1.5 倍。进一步分析发现, 两品种间的含量差异主要源于游离组分: 金刺梨果渣游离酚 (H-FP) 含量达 2 596.19 mg GAE/100 g, 占 H-TP (金刺梨总酚) 含量的 80% 左右, 显著高于普通刺梨 (P-FP) 的 1 635.48 mg GAE/100 g; 而两者的结合酚含量则无显著统计学差异。

总黄酮含量的分布趋势与总酚高度一致 (图 1B)。金刺梨果渣游离组分中的黄酮含量 (1 550.97 mg CE/100 g) 远高于普通刺梨 (284.17 mg CE/100 g), 表现出极显著的品种差异, 而两者的结合组分黄酮含量依然处于相近水平。

本研究测定结果显示, 金刺梨果渣中含有较高含量的游离态多酚与黄酮类化合物。结合前人关于刺梨加工过程中活性组分分布特征的研究背景<sup>[14]</sup>, 本实验数据进一步揭示了金刺梨果渣作为天然抗氧化与抗肿瘤活性物质来源的良好潜力, 为其副产物的高值化利用提供了实验依据。

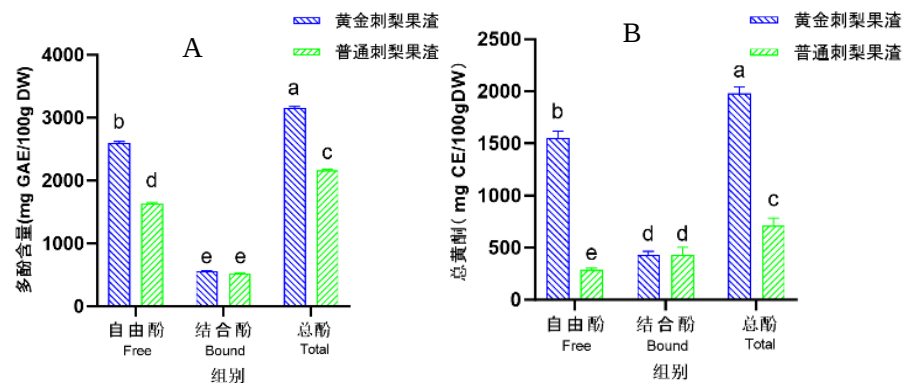


图1 两种刺梨果渣的总酚和总黄酮含量

Fig.1 The total phenolic and total flavonoid contents of two kinds of Rosa pomace

注：A 图为总酚含量；B 图为总黄酮含量。图中不同小写字母表示具有显著差异（ $P<0.05$ ）。

2.1.2 酚类物质鉴定

鞣花酸、没食子酸、儿茶素、槲皮素、表没食子儿茶素、表儿茶素、阿魏酸和羟基苯甲酸等是目前已有报道的刺梨果渣中存在的酚类物质，其中鞣花酸被认为是刺梨果渣多酚提取物中最丰富的酚类物质<sup>[3]</sup>。本研究采用 UPLC-MS/MS 法对刺梨果渣多酚类物质进行了分析鉴定，如图 2 和表 1 所示，结果表明 H-TP 和 P-TP 均含有丰富的鞣花酸、槲皮素、没食子酸和儿茶素等。两者鉴定出的化合物之间种类和含量具有显著差异，如 H-TP 中儿茶素及其衍生物含量远高于 P-TP 的，其中(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin Gallate, EGCG) 和(+)-没食子儿茶素只存在于 H-TP 中。而查尔酮类作为儿茶素类代谢通路的前体物质<sup>[15-16]</sup>，在 P-TP 中有更丰富的含量。另外，H-TP 中具备更丰富的酚类糖苷衍生物，如 H-TP 的槲皮素类物质以异槲皮苷、3-O 衍生物和 7-O 衍生物为主，而 P-TP 以槲皮素和 7-O 衍生物为主。

值得注意的是，定量分析显示游离酚 (Free Polyphenol, FP) 是刺梨果渣总酚 (Total Polyphenol, TP) 的主要存在形式，其中 H-FP 占 H-TP 总量的 80%以上。基于此物质分布特征，本研究认为 H-TP 与 P-TP 间的组分差异足以表征 H-FP 与 P-FP 的化学差异。因此，在后续讨论中，将 H-TP 中的特异性代谢物视作 H-FP 的关键差异组分，以深入探究其生物活性机制。

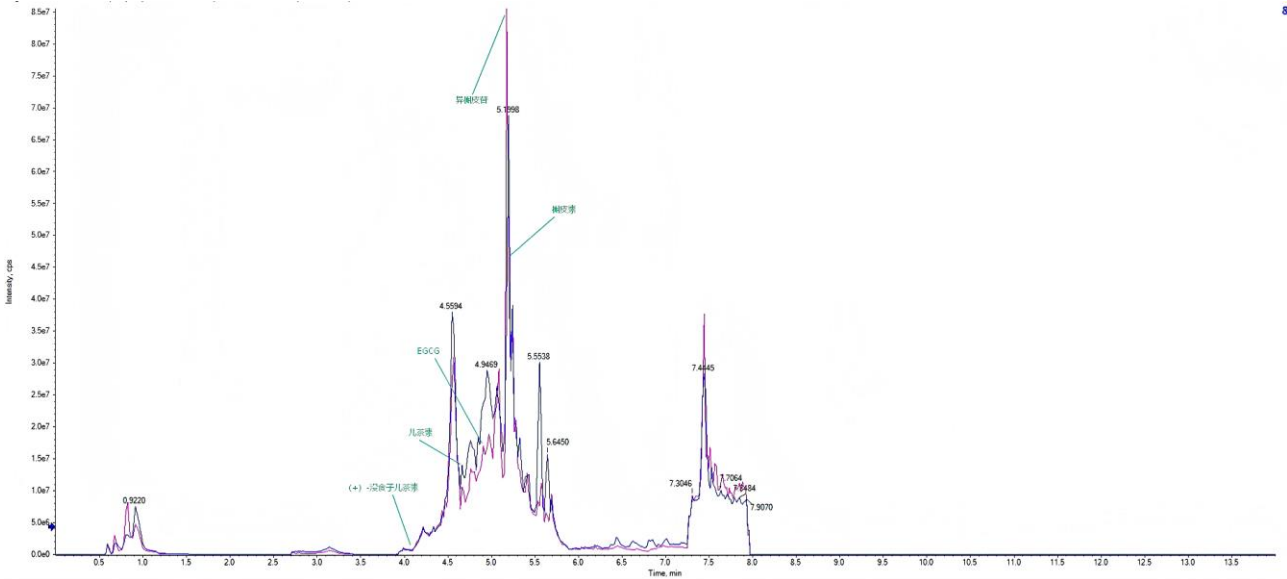


图2 两种刺梨果渣多酚类物质总离子图（正离子图）

Fig.2 Total Ion Chromatogram of Polyphenolic Compounds of two kinds of Rosa roxburghii fruit pomace

注：红色代表金刺梨果渣总多酚提取物、蓝色代表普通刺梨果渣总多酚提取物。

表 1 两种刺梨果渣的多酚主要物质

| Table 1 Polyphenol Differentiated Substances in Two Types of Rosa roxburghii pomace |       |       |                            |                            |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|----------------------------|----------------------------|----------|
| 成分                                                                                  | Q1/Da | Q3/Da | H-TP                       | P-TP                       | 保留时间/min |
| 儿茶素                                                                                 | 289.1 | 245.1 | 77 883 909.19 <sup>a</sup> | 55 352 438.66 <sup>b</sup> | 4.64     |
| (+)-没食子儿茶素                                                                          | 305.1 | 125   | 540 905.18 <sup>a</sup>    | 10.01 <sup>b</sup>         | 4.09     |
| (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯                                                                    | 457.1 | 169.2 | 65 445.49 <sup>a</sup>     | 10.01 <sup>b</sup>         | 4.84     |
| 柚皮素查耳酮                                                                              | 271   | 151   | 627 978.64 <sup>b</sup>    | 2 080 239.50 <sup>a</sup>  | 5.97     |
| 鞣花酸                                                                                 | 301   | 300   | 24 723.73 <sup>b</sup>     | 31 643.67 <sup>a</sup>     | 11.37    |
| 槲皮素                                                                                 | 301   | 150.8 | 48 817 364.88 <sup>b</sup> | 69 454 199.98 <sup>a</sup> | 5.21     |
| 异槲皮苷                                                                                | 463   | 300   | 9 380 981.31 <sup>a</sup>  | 4 923 027.27 <sup>b</sup>  | 5.12     |
| 槲皮素 3-O-槐糖                                                                          | 627.4 | 303   | 64 090.85 <sup>a</sup>     | 10.01 <sup>b</sup>         | 4.83     |
| 槲皮素-7-O-葡萄糖苷                                                                        | 465.3 | 303.2 | 10 643 953.41 <sup>b</sup> | 22 779 984.91 <sup>a</sup> | 5.09     |

注：组内相对含量以峰面积表示。表中物质均为一级质谱数据结果。右肩不同的小写字母表示具有显著差异（ $P<0.05$ ）。下同。

2.2 刺梨果渣多酚提取物的抗氧化活性

本研究采用PSC（过氧化自由基清除能力）与ORAC（氧自由基吸收能力）两种评价体系对刺梨果渣多酚的体外抗氧化活性进行了测定（如表2所示）。结果表明，四种提取物的PSC活性与其总酚及总黄酮含量呈现出显著的正相关性。在游离酚组分中，H-FP的PSC清除能力表现突出，约为P-FP的2倍；而在结合酚组分中，H-BP的活性略高于P-BP。

在基于氢原子转移（HAT）机制的ORAC评价体系中，H-FP同样表现出极强的抗氧化潜能，其活性数值显著高于其余三组提取物（H-BP、P-FP、P-BP）。首先，在品种差异层面，金刺梨展现出了显著的优越性。结合UPLC-MS/MS结果，金刺梨不仅在游离多酚的绝对积累量上远超普通刺梨，而且特异性富集了表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）、儿茶素等多羟基高活性组分。这些高度羟基化的结构为氢原子的快速捐献提供了极为密集的活性位点，从而使其在猝灭氧自由基时表现出比普通刺梨更高的效率。

其次，游离酚（FP）多以低分子量或游离糖苷形式存在，其亲水性极佳，且酚羟基完全裸露，能够直接、快速地与反应体系中的过氧自由基发生氢原子转移。相比之下，结合酚（BP）由于部分酚羟基参与了与植物细胞壁大分子的共价交联或酯化结合，存在显著的空间位阻，导致其释放氢原子的有效比率和速率受限。综上所述，金刺梨优良品种带来的高丰度、多羟基组分优势，共同造就了H-FP在四组提取物中更为突出的ORAC抗氧化表现。

表 2 两种刺梨果渣多酚的 PSC 和 ORAC 活性分析

Table 2 The PSC and ORAC values of Polyphenols in Two Types of Rosa roxburghii pomace (mean±SD, n=3)

| 样品   | PSC 值/(μmol equiv.vit.C/100 g DW) | ORAC/(μmol TE/100 g DW)  |
|------|-----------------------------------|--------------------------|
| H-FP | 9 850.93±369.72 <sup>a</sup>      | 132.67±2.5 <sup>a</sup>  |
| H-BP | 6 981.36±276.17 <sup>b</sup>      | 110.96±2.97 <sup>b</sup> |
| P-FP | 4 381.77±423.58 <sup>c</sup>      | 102.97±3.18 <sup>c</sup> |
| P-BP | 4 994.34±265.42 <sup>c</sup>      | 90.29±2.78 <sup>d</sup>  |

2.3 两种刺梨果渣多酚的细胞抗增殖活性

刺梨果渣多酚对MDA-MB-231三阴性乳腺癌细胞的细胞毒性及抗增殖活性见图3与表3。在CC<sub>10</sub>（细胞存活率为90%）的无毒浓度范围内，通过对比四种提取组分的半最大效应浓度（EC<sub>50</sub>）及选择性指数（SI），筛选具有最佳抗增殖效应的酚类组分。结果表明，H-FP的EC<sub>50</sub>值为2.21 mg mL<sup>-1</sup>，显著低于其他三类组分，且其SI值最高，表现出对MDA-MB-231细胞卓越的增殖抑制能力。

该结果不仅与前述总酚、总黄酮含量及抗氧化活性的测定结果高度吻合，也进一步印证了定性分析中发现的规律：H-FP中丰富的酚类含量赋予了其更强的抗氧化活性和抗增殖活性。鉴于H-FP在生物安全性和抗增殖能力方面的双重优势，本研究选取H-FP作为后续研究对象，深入探讨其针对MDA-MB-231细胞的抗增殖指标及相关作用机制。

结合 UPLC-MS/MS 数据可知, H-FP 中特异性富集了表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素及异槲皮苷等高活性成分。作为 H-FP 中的典型特征组分, 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的抗乳腺癌活性已获得广泛关注, 并有多项研究证明。雌激素受体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 作为乳腺癌药物干预的关键靶点<sup>[17]</sup>, 在疾病进展中发挥核心作用。Pan 等<sup>[18]</sup>研究阐明, EGCG 可通过靶向调节, 下调 MDA-MB-231 细胞中 ER $\alpha$ 36 受体的表达水平, 从而直接阻断细胞的增殖途径。但植物粗提物的强效抗癌活性也并非依赖于单一化合物的作用, 而是源于复杂多酚组分间的协同效应, 因此, 本研究后续将聚焦于 H-FP 这一整体多酚组合物, 从细胞周期调控、线粒体途径凋亡诱导以及迁移侵袭干预等多维度, 系统揭示其靶向抑制三阴性乳腺癌细胞增殖与扩散的具体信号通路。

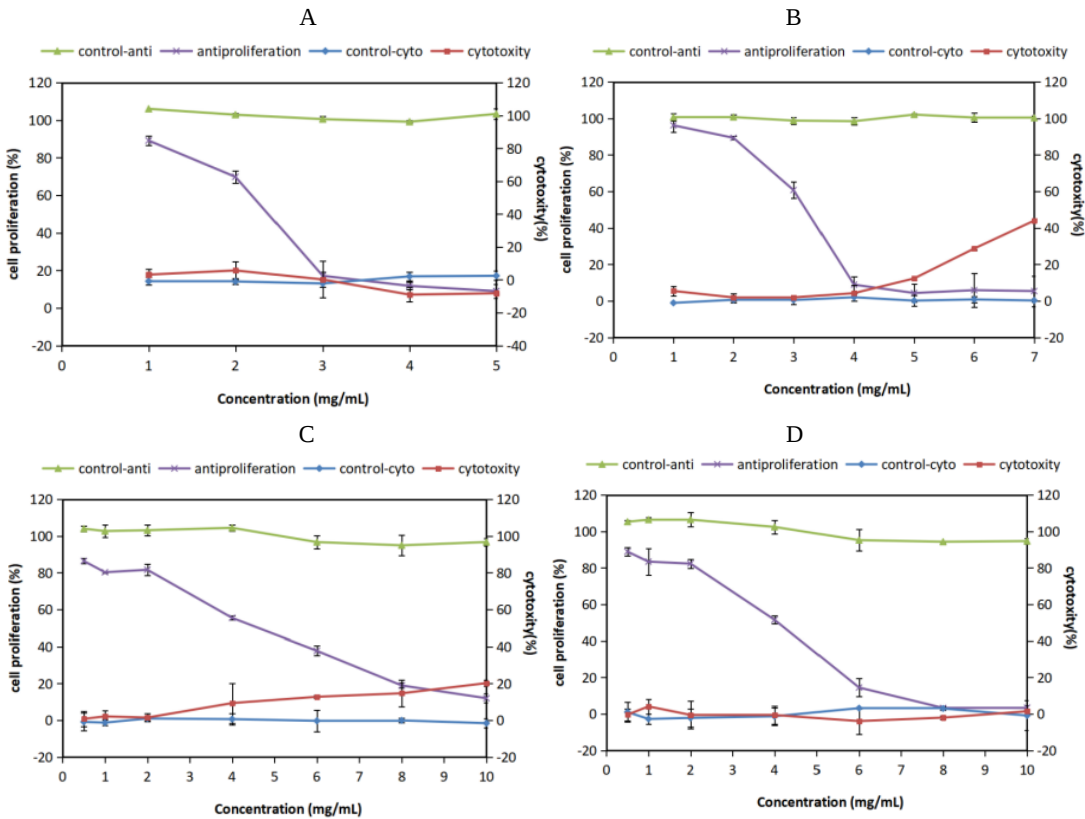


图 3 两种刺梨果渣多酚对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的毒性和抗增殖活性

Fig.3 The cytotoxicity and antiproliferative activity of Polyphenols in Two Types of Rosa roxburghii pomace breast cancer cell MDA-MB-231

注: 左侧纵坐标表示抗细胞增殖活性。右侧纵坐标表示样品对细胞的毒性大小, 两者均以细胞(存活率 or 死亡率)表示。A、B、C、D 依次为 H-FP、H-BP、P-FP、P-BP。

表 3 两种刺梨果渣多酚对 MDA-MB-231 细胞的 EC<sub>50</sub> 值、CC<sub>50</sub> 值和 SI 值

Table 3 The EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> and SI values of in Two Types of Rosa roxburghii pomace on MDA-MB-231 cells (mean ±SD, n=3)

| 样品   | CC <sub>50</sub> /(mg mL <sup>-1</sup> ) | EC <sub>50</sub> /(mg mL <sup>-1</sup> ) | SI                      |
|------|------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------|
| H-FP | 26.7±0.36 <sup>b</sup>                   | 2.21±0.18 <sup>b</sup>                   | 12.12±1.14 <sup>a</sup> |
| H-BP | 7.89±0.29 <sup>c</sup>                   | 3.1±0.23 <sup>b</sup>                    | 2.56±0.27 <sup>c</sup>  |
| P-FP | 30.85±1.73 <sup>a</sup>                  | 5.22±0.61 <sup>a</sup>                   | 5.97±0.86 <sup>b</sup>  |
| P-BP | 26.57±2.59 <sup>b</sup>                  | 4.39±0.49 <sup>a</sup>                   | 6.05±0.08 <sup>b</sup>  |

注: 右肩不同的小写字母表示具有显著差异 (P<0.05)。

1.4 金刺梨果渣游离酚对细胞周期的影响

诱导癌细胞周期阻滞是天然产物发挥抗肿瘤活性的核心机制之一。为深入探讨刺梨果渣提取物 H-FP 发挥抗增殖效应的作用机理, 本研究通过流式细胞术分析了其对 MDA-MB-231 细胞周期的调节作用。

结果表明, H-FP 显著诱导 MDA-MB-231 细胞产生 S 期阻滞 (图 4)。实验观察到明显的剂量依赖性: 低浓

度组对细胞周期分布的影响较小；而随处理浓度升至中、高水平，G1 期与 G2/M 期细胞占比相较于对照组均出现不同程度的下降。具体而言，经  $4\text{ mg mL}^{-1}$  H-FP 处理后，G1 期占比由对照组的 53.22% 降至 40.55%，G2/M 期占比的下调尤为显著，由 10.79% 锐减至 2.53%。与此同时，S 期细胞占比从对照组的 35.99% 显著上升至 54.89%。

本研究流式细胞结果显示，金刺梨游离多酚（H-FP）显著诱导了 MDA-MB-231 细胞的 S 期阻滞。这一特异性现象可能与 H-FP 中高度富集的槲皮素及其糖苷衍生物、儿茶素（如 EGCG）等多酚组分的协同作用密切相关。作为 H-FP 中的特异组分，表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）的周期阻滞效应已在多种肿瘤细胞中得到证实。例如，Katta 等<sup>[19]</sup>在最新的药理学研究中发现，EGCG 能够显著下调 MDA-MB-231 细胞中与核苷酸代谢相关的关键基因表达，引发严重的 DNA 复制应激（Replication stress），从而将细胞精准阻滞在 S 期并抑制其侵袭。此外，富含 EGCG 的天然茶多酚提取物同样被证实能在 24 小时促使 MDA-MB-231 细胞大量积聚于 S 期并触发凋亡<sup>[20]</sup>。并且，槲皮素能够对乳腺癌等肿瘤细胞产生显著的细胞毒性，并通过直接与 DNA 发生相互作用（DNA 嵌合或引发损伤），特异性地导致测试的癌细胞在细胞周期进程中发生 S 期阻滞<sup>[21]</sup>。

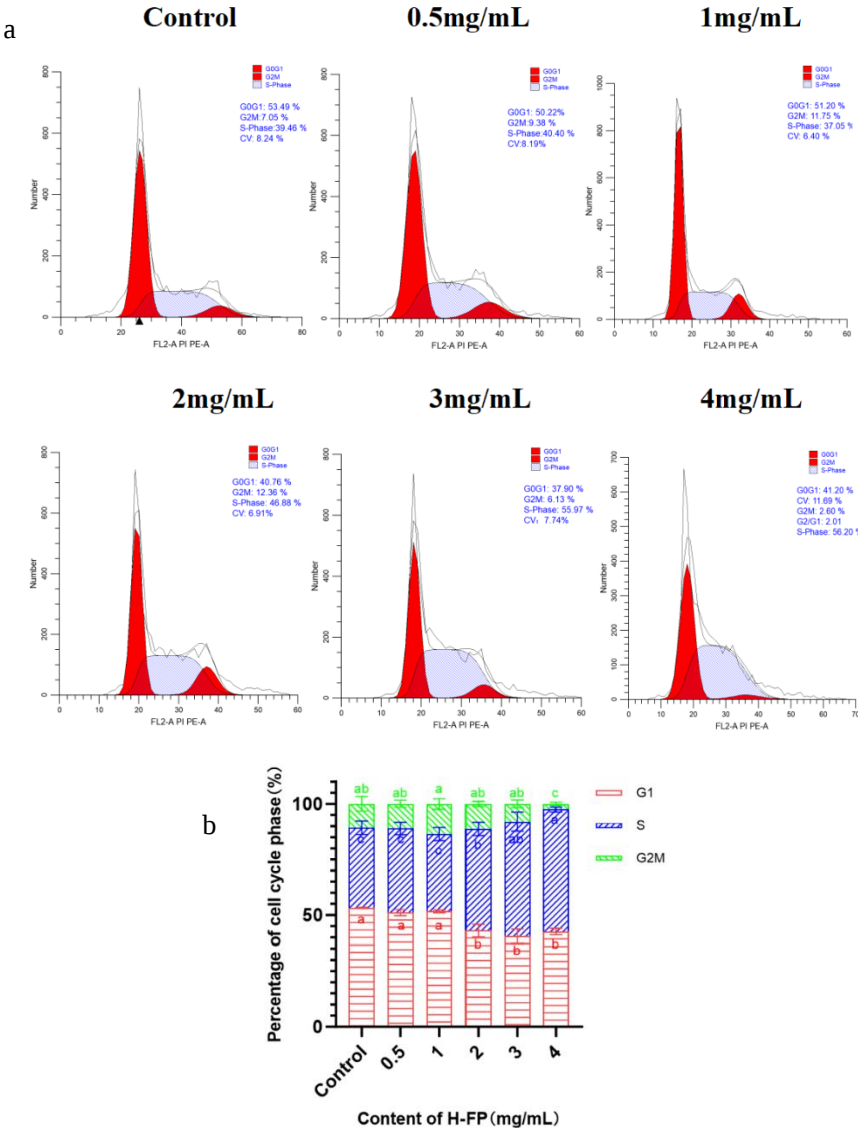


图 4 金刺梨果渣游离多酚对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞周期的影响

Fig.4 Effect of Free Phenols from *Rosa roxburghii* Fruit pomace on the Cell Cycle of Breast Cancer MDA-MB-231 Cells

注：（b）柱上组内不同的小写字母代表具有显著性差异（ $P < 0.05$ ）。下图同。

1.5 金刺梨果渣游离酚对细胞凋亡的影响

细胞凋亡分析结果显示，H-FP 主要通过诱导 MDA-MB-231 细胞发生早期凋亡，进而抑制其增殖活动。如图

5 所示,随着 H-FP 干预浓度的增加,细胞早期凋亡比例表现出显著的剂量依赖性,分别为 2.08%、4.09%、7.65% 和 25.4%; 其中,最高浓度组 ( $4.0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) 的诱导效果约是低浓度组 ( $0.5 \text{ mg mL}^{-1}$ ) 的 6 倍。流式细胞术散点图 (图 4a) 清晰展示了细胞群体从 Q4 象限 (活细胞区) 向 Q3 象限 (早期凋亡区) 的明显偏移。上述结果表明,诱导程序性细胞死亡是 H-FP 发挥抗乳腺癌效应的核心机制之一。

细胞凋亡 (Apoptosis) 作为由基因调控的自主性死亡过程,在维持机体内环境稳态及抑制肿瘤发生中具有关键作用。H-FP 表现出的强效促凋亡活性,并非单一化合物作用的结果,而更可能是由于 H-FP 中复杂的天然多酚组成协同干预所产生的强效作用。结合前文的定性分析,H-FP 中高度富集了表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)、儿茶素及槲皮素等多种高活性多酚。已有文献证实,这些组分均具备诱导癌细胞凋亡的潜力。胡烘陶等<sup>[22]</sup>的研究表明,EGCG 单体可显著上调肿瘤细胞的早期及晚期凋亡比例。此外,EGCG 与葡萄籽原花青素、二氢杨梅素等天然活性物质具有显著的协同抗肿瘤效应,能通过多途径增强对乳腺癌 4T1 细胞的抑制作用<sup>[23]</sup>。综上所述,EGCG 作为 H-FP 中的核心功能组分,通过触发凋亡通路有效遏制了 MDA-MB-231 细胞的恶性增殖。

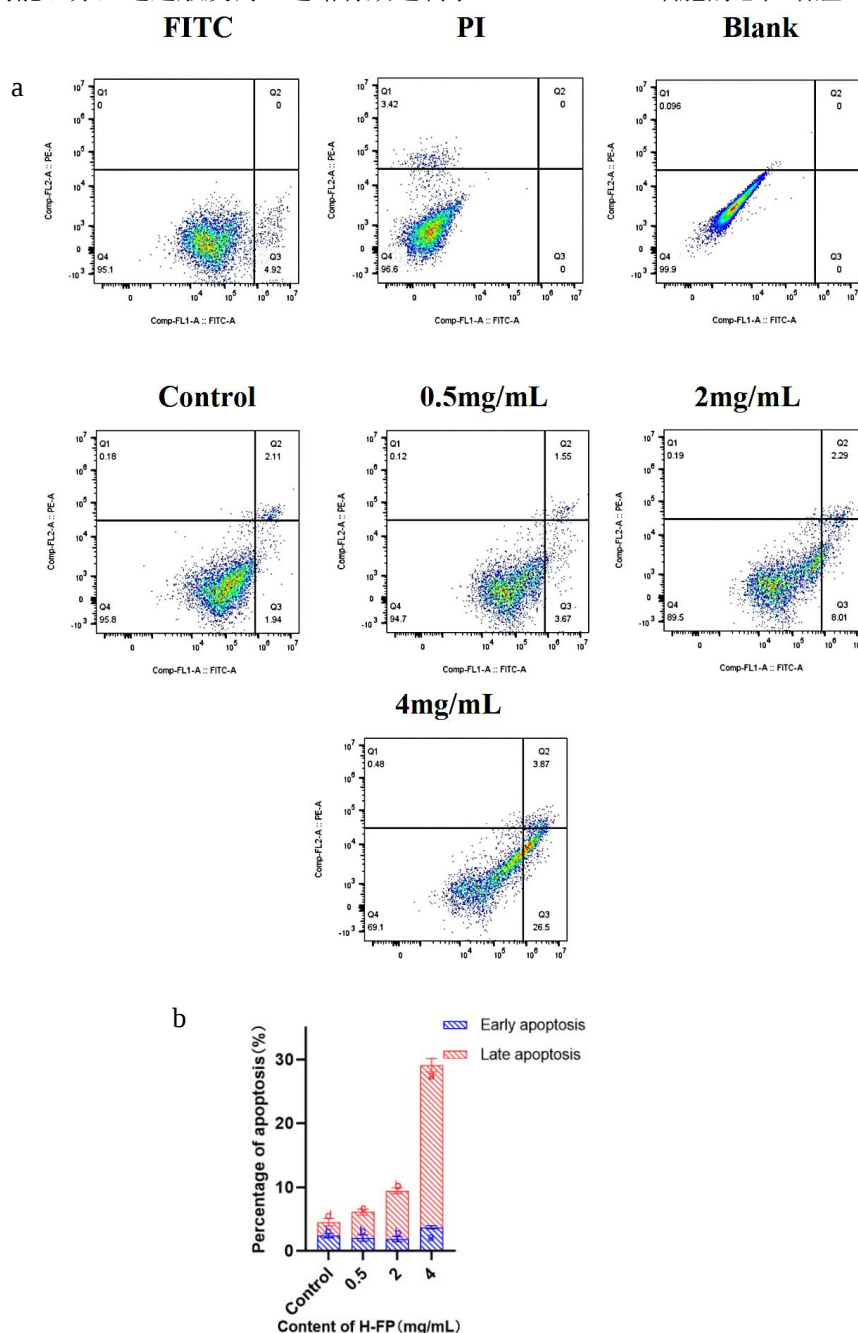


图 5 金刺梨果渣游离酚对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响

Fig.5 Effects of Free Phenols from *Rosa roxburghii* Fruit pomace on Apoptosis of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells

## 2.6 金刺梨果渣游离酚抑制细胞迁移

划痕愈合实验结果表明, H-FP 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的迁移能力具有显著的浓度依赖性抑制作用(图6)。实验数据显示, H-FP 在 24 h 与 48 h 时间节点均能有效遏制伤口愈合进程。具体而言, 经 0.5、2.0 和 4.0 mg mL<sup>-1</sup> 浓度的 H-FP 干预 24 h 后, 细胞愈合率分别仅为对照组的 42%、18%和 6%; 至 48 h 时, 各剂量组的愈合率进一步下调至对照组的 22%、17%和 7%。结果提示, 中、高浓度的 H-FP 能近乎完全阻断癌细胞的运动轨迹, 展现出优异的抗迁移活性。

在肿瘤生物学领域, 细胞迁移(Migration)是癌细胞突破细胞外基质、实现远端播散的关键生物学环节。临床统计显示, 约 90%的癌症死亡案例归因于肿瘤转移, 而非原发灶本身。本研究结果表明, H-FP 对高侵袭性的三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的体外迁移展现出了强烈的抑制作用。这一卓越的抗转移潜能, 并非源于某一种孤立化合物的单一效能, 而更可能是 H-FP 作为天然复合多酚提取物, 其内部多种高活性组分协同干预的综合体现。

研究证实, 鞣花酸是拮抗肿瘤转移的主要生物活性化合物。韦柳霞等<sup>[24]</sup>的研究指出, 鞣花酸显著消减了 MDA-MB-231 细胞(包括 BRCA1 基因沉默及过表达细胞株)的创伤愈合能力, 有效抑制了其侵袭与迁移效率。与此同时, H-FP 中的另一关键成分 EGCG 及其衍生物在阻断乳腺癌扩散方面亦表现出显著效能。Shin 等<sup>[25]</sup>的研究证实, EGCG 衍生物(如 EGCG-3e)可通过精准调控转移相关因子的表达, 大幅降低 MDA-MB-231 细胞的转移潜能。因此, 当这些天然活性物质以特定的自然比例共存于 H-FP 这一复合体系中时, 产生协同作用。综上推测, H-FP 表现出的优异抗迁移活性, 正是凭借其富含的鞣花酸、EGCG 及其他酚类物质的强效协同, 从而在整体水平上显著遏制了三阴性乳腺癌细胞的恶性扩散与转移潜能。

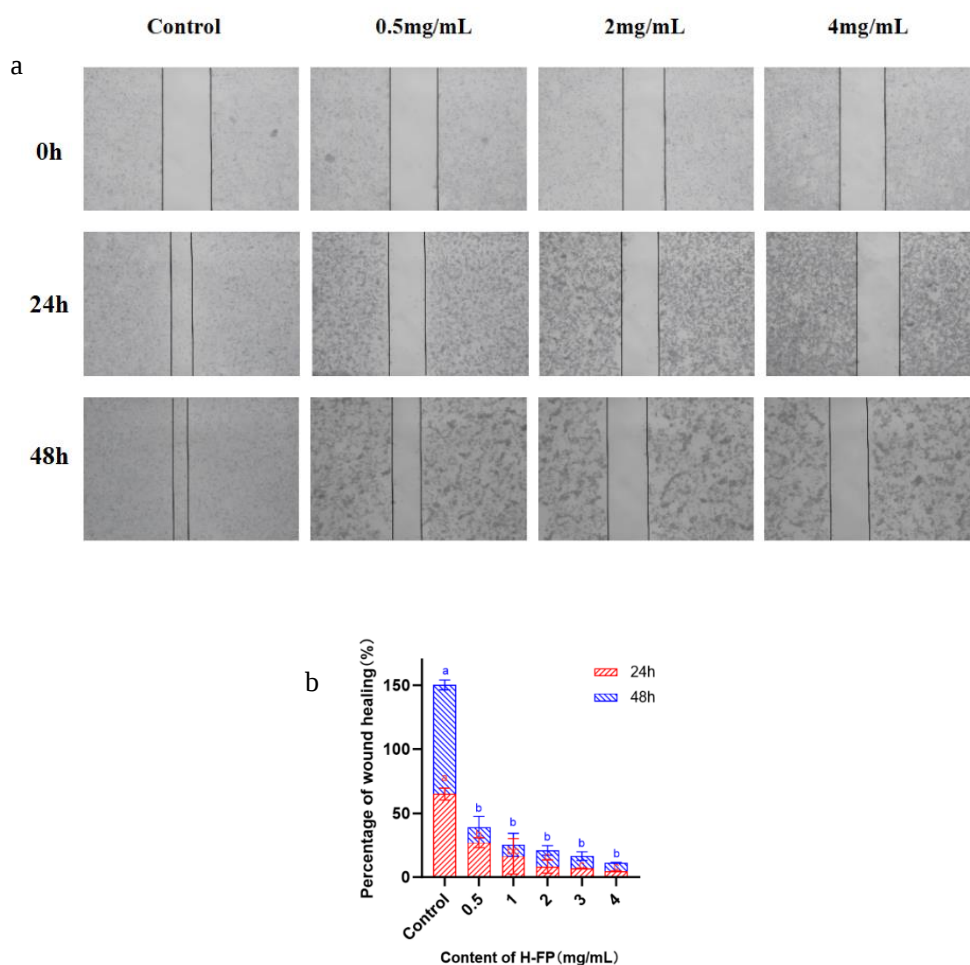


图6 金刺梨果渣游离酚对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞迁移的影响

Fig.6 Effects of Free Phenols from *Rosa roxburghii* Fruit pomace on the Migration of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells

## 2.7 金刺梨果渣游离酚抑制细胞侵袭

Transwell 侵袭实验结果显示, H-FP 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的穿透力表现出显著的浓度依赖性抑制作用(图 7)。定量分析发现, 随着 H-FP 干预浓度的递增, 穿透基底膜的细胞数量由对照组的 170.2 个呈梯次大幅缩减, 各剂量组的相对侵袭率分别仅为对照组的 64%、42%、37%、17%和 8%。尤其在高浓度组( $4\text{ mg mL}^{-1}$ )干预下, 细胞的侵袭潜能几乎被完全抑制。鉴于三阴性乳腺癌(TNBC)具有极高的侵袭性及临床预后差的特点, 本研究结果提示 H-FP 在阻断 TNBC 转移级联反应中具有重要的潜在应用价值。

细胞侵袭(Invasion)是恶性肿瘤演进的标志性特征, 涉及肿瘤细胞对基底膜的选择性降解及向邻近组织的深度演进。本研究中 H-FP 展现出了优异的抗侵袭活性, 这可能与其特异性富集了表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等关键多酚分子有关。证据显示, EGCG 是天然产物中干预癌细胞侵袭转移的关键效应分子。其作用机制与调控上皮-间质转化(EMT)过程密切相关: EGCG 通过激活乳腺癌细胞内 SCUBE2 基因的表达, 诱导上皮标志物 E-钙黏蛋白(E-Cadherin)上调, 同时抑制间质标志物波形蛋白(Vimentin)的表达, 从而通过逆转 EMT 表型有效锁定细胞的迁移与侵袭能力<sup>[26-28]</sup>。此外, EGCG 在复杂体内环境中亦能阻断乳腺癌细胞的早期播散, 显著降低肺部及肝脏的器官转移率, 并对骨组织结构发挥保护作用<sup>[28]</sup>。综上所述, H-FP 通过富集 EGCG 等关键活性成分, 对 MDA-MB-231 细胞的侵袭进程实施了高效遏制。

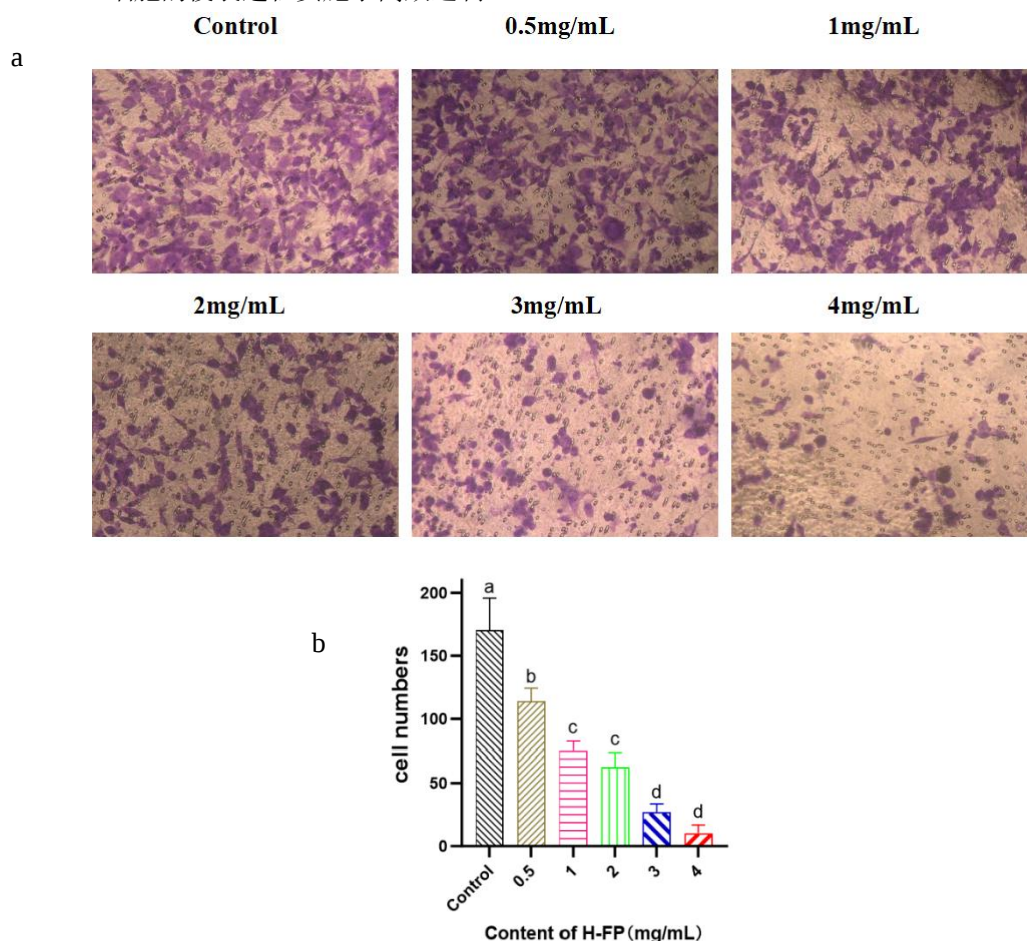


图 7 金刺梨果渣游离酚对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞侵袭的影响

Fig.7 Effects of Free Phenols from *Rosa roxburghii* Fruit pomace on the Invasion of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells

## 2.8 金刺梨果渣游离酚对细胞抗增殖相关基因表达的影响

细胞周期的有序推进依赖于细胞周期蛋白(Cyclins)与周期蛋白依赖性激酶(CDKs)的协调合成、激活及受控降解。研究表明, 细胞周期调控基因的突变在肿瘤发生发展中具有关键作用<sup>[29]</sup>。本研究通过 RT-qPCR 检测发现, H-FP 显著上调了 *p53*、*p21* 及 *CHK2* 的表达, 并相应下调了 *CHK1* 和 *Cdk2* 的转录水平(图 8)。推测在该通

路中, *p53* 与 *p21* 表达量的增加显著抑制了 Cyclin-CDKs 复合物的活性; 同时, 激活的 Chk2 激酶通过调节 Cdc25A 的磷酸化促进其降解, 导致 Cdk2 无法正常脱磷酸化, 最终使 Cyclin A/Cdk2 复合体处于失活状态, 从而引起细胞 S 期阻滞<sup>[30-33]</sup>。据此推断, H-FP 可能通过激活 ATM/CHK2/*p53* 信号通路诱导细胞周期阻滞。

此外, 细胞凋亡除受凋亡途径本身调控外, 还受到 PI3K/AKT 和 RAS/MAPK 等信号通路的严密调节。其中, PI3K/AKT 通路 with 肿瘤细胞的侵袭和迁移能力密切相关, 抑制该通路可显著降低细胞的运动潜能。已有研究证实, 作为 H-FP 的关键组分, EGCG 能够有效靶向抑制 MDA-MB-231 细胞中的 PI3K 和 mTOR 信号 (其对 PI3K/mTOR 靶点的 *K<sub>i</sub>* 值处于纳摩尔级别)<sup>[34]</sup>。在乳腺癌病理研究中发现, AKT 的过度活化会促进促凋亡蛋白 Bad 与抗凋亡蛋白 Bcl-2 或 Bcl-xL 解离, 解离后的 Bad 与 14-3-3 蛋白结合, 导致抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平代偿性升高, 从而发挥抗凋亡作用<sup>[35]</sup>。因此, 通过抑制该通路可有效降低抗凋亡蛋白的水平, 并触发 Caspase 家族介导的内源性线粒体凋亡途径。

实验数据 (图 8) 显示, 在高浓度 H-FP 处理组中, AKT 与 PI3K 的表达水平分别下降至对照组的 0.48 倍和 0.2 倍, 表明该通路受到了极其显著的抑制。与此同时, 效应蛋白 Caspase-3/9 的转录水平分别较对照组上调了 5.56 倍和 9.77 倍。此外, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 与 Bcl-xL 呈现不同程度的下降, 而促凋亡蛋白水平相应升高。上述结果表明, H-FP 通过多靶点协同作用, 有效诱导了肿瘤细胞的程序性死亡。

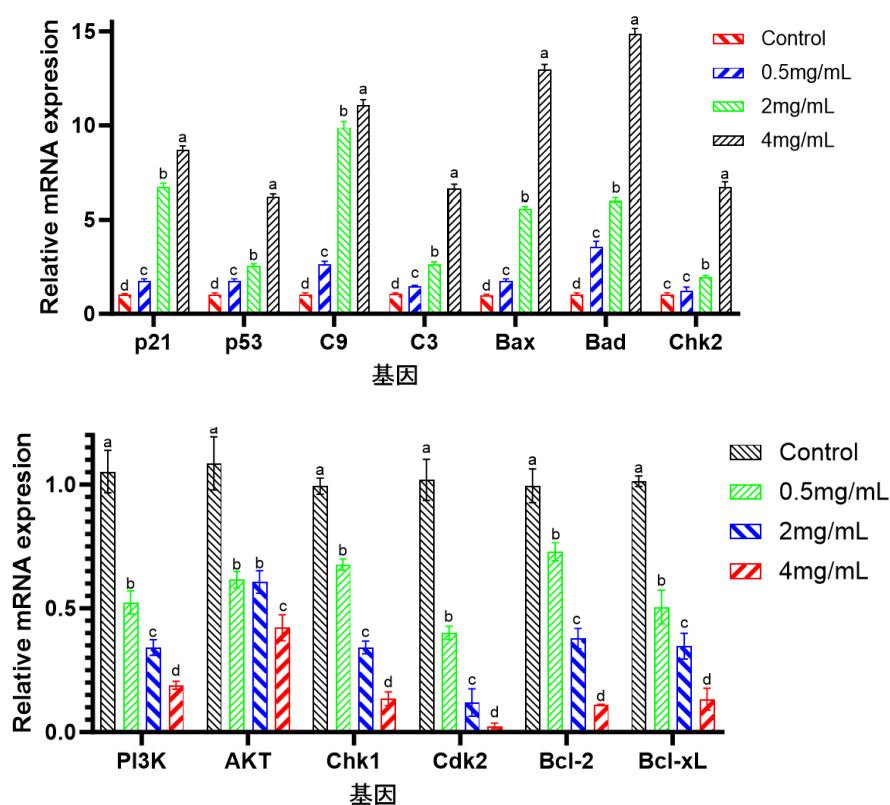


图 8 金刺梨果渣游离酚对对抗增殖相关基因表达的影响

Fig.8 The effects of Free Phenols from *Rosa roxburghii* Fruit pomace on the expression levels of anti-proliferation related genes

### 3 结论

三阴性乳腺癌 (TNBC) 呈现出侵袭性强、易复发及临床预后极差的恶性特征, 且目前仍缺乏有效的靶向治疗手段。以往研究虽证实了刺梨相关提取物具备一定的抗癌活性, 但针对其加工副产物——刺梨果渣, 特别是优良变种金刺梨果渣中的多酚类物质在干预 TNBC 方面的生物活性及深层分子机制, 尚缺乏系统且详实的阐明。

本研究立足于资源的高值化利用, 通过对比分析发现, 金刺梨果渣在游离态多酚的积累及特定活性成分的富集方面显著优于普通刺梨, 具有更强的体外抗氧化潜力。以此物质基础为支撑, 本研究以人三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞为模型, 证实了金刺梨游离多酚 (H-FP) 展现出卓越的靶向抗增殖效应。生物学功能实验表

明, H-FP 能够精准诱导细胞产生显著的 S 期周期阻滞并激活细胞凋亡程序, 实现对癌细胞恶性增殖的多维度遏制; 同时, 划痕与 Transwell 实验进一步确证了其对 TNBC 细胞水平迁移与垂直侵袭能力的强力抑制作用。

在分子调控层面, H-FP 发效的核心并非依赖于单一化合物的孤立作用, 而是源于其内部多种高活性多酚组分产生的协同效应。机制解析显示, H-FP 表现出清晰的双重信号干预特征: 一方面通过激活 ATM/CHK2/p53 信号轴, 有效调控 DNA 损伤响应并介导 S 期细胞周期检查点阻滞; 另一方面, 通过协同抑制 PI3K/AKT 信号通路的转录活性, 阻断了细胞的生存、迁移及侵袭信号级联。

综上所述, 本研究不仅深入阐明了金刺梨果渣游离多酚抑制三阴性乳腺癌的分子调控网络, 也为后续开发基于刺梨天然多酚的新型抗癌功能食品或药物辅助制剂提供了关键的理论支撑。同时, 研究结论为刺梨副产物由“低价值废弃”向“高附加值转化”的循环利用模式提供了科学依据, 对推动西南地区刺梨产业的可持续发展及农业资源的高效利用具有重要的现实意义。

## 参考文献

- [1] FREDDIE B, MATHIEU L, HYUNA S, et al. Global cancer statistics 2022: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] WANG L, WEI T T, ZHENG L, et al. Recent advances on main active Ingredients, pharmacological activities of Rosa roxburghii and Its development and utilization [J]. Foods, 2023, 12(5): 1051.
- [3] LI X, WANG Q, WANG F, et al. Rosa roxburghii Tratt (Cili) has a more effective capacity in alleviating DSS-induced colitis compared to Vitamin C through B cell receptor pathway [J]. Food Research International, 2024, 195: 114950.
- [4] HUANG D S, LI C, CHEN Q, et al. Identification of polyphenols from Rosa roxburghii Tratt pomace and evaluation of in vitro and in vivo antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131922.
- [5] DENG Y H, KAN H A, LI Y H, et al. Analysis of volatile components in Rosa roxburghii Tratt and Rosa sterilis using headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Molecules, 2023, 28(23): 7879.
- [6] WANG L Q, LI Y L, XIA R, et al. Component analysis and anti-pulmonary fibrosis effects of Rosa sterilis juice [J]. Food & Function, 2022, 13(24): 12915-12924.
- [7] YANG Q Q, ZHANG D, FARHA A K, et al. Phytochemicals, essential oils, and bioactivities of an underutilized wild fruit Cili (Rosa roxburghii) [J]. Industrial Crops and Products, 2020, 143: 111928.
- [8] 卢薇, 费建军, 沈晓梅, 等. 五种果汁的酚类组成及其抗氧化、抗肿瘤细胞增殖活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 65-371.
- [9] 熊磊. 枸杞多酚提取物抗衰老活性及其作用机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [10] HE XIANGJIU, LIU DONG, LIU RUIHAI. Sodium borohydride/chloranil-based assay for quantifying total flavonoids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(20): 9337-9344.
- [11] 葛依婷. 燕麦和燕麦麸皮的多酚提取物抗衰老和降血糖活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2024.
- [12] 张跃超, 谢普军, 张彩虹, 等. 超声波辅助低共熔溶剂提取银杏叶酚类化合物工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2026, 52(6): 173-181.
- [13] TONI S L, GARCIA M A, JEFFREY A D, et al. Optimization of phenol-chloroform RNA extraction [J]. MethodsX, 2018, 5: 599-608.
- [14] 周笑犁, 王瑞, 高蓬明, 等. 刺梨果渣膳食纤维的体外吸附性能[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(2): 187-191.
- [15] DONG N, LIN H. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(1): 180-209.
- [16] NABAVI M S, ŠAMEC D, TOMCZYK M, et al. Flavonoid biosynthetic pathways in plants: versatile targets for metabolic engineering [J]. Biotechnology Advances, 2020, 38: 107316.
- [17] 乔如颖, 李明, 郑新强, 等. 茶叶及其儿茶素类对乳腺癌的抑制作用[J]. 茶叶科学, 2016, 36(6): 557-566.
- [18] PAN X H, ZHAO B W, SONG Z, et al. Estrogen receptor- $\alpha$ 36 is involved in epigallocatechin-3-gallate induced growth inhibition of ER-negative breast cancer stem/progenitor cells [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2016, 130(2): 85-93.
- [19] MADHU K, A. M L. Distinct classes of flavonoids and epigallocatechin gallate, polyphenol affects an oncogenic mutant p53 protein, cell growth and invasion in a TNBC breast cancer cell line [J]. Cells, 2021, 10(4): 797.
- [20] 胡烘陶. EGCG 氧化物作用于 Notch1 抑制三阴性乳腺癌的研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2024.

- [21] 张姝萍. EGCG、葡萄籽原花青素与二氢杨梅素协同抗氧化及对小鼠乳腺癌 4T1 细胞的协同抑制作用研究[D]. 杭州. 浙江大学, 2019.
- [22] XIE J, YU H S, SONG S, et al. Pu-erh tea water extract mediates cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cells [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8: 190.
- [23] 韦柳霞. 鞣花酸对 BRCA1 基因沉默和过表达的三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 增殖、迁移和侵袭作用研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2020.
- [24] SUNHYE S, KIM M K, JUNG W, et al. (-)-Epigallocatechin gallate derivatives reduce the expression of both urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 to inhibit migration, adhesion, and invasion of MDA-MB-231 cells [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(10): 2086-2096.
- [25] VICTOR M, VIVIANA B, REBECA P, et al. The potential role of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in breast cancer Treatment [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(13): 10737.
- [26] SHENG J, SHI W L, GUO H, et al. The inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on breast cancer progression via reducing methylation and DNMT activity [J]. *Molecules*, 2019, 24(16): 2899.
- [27] LUO K W, KO C H, YUE G G L, et al. Green tea (*Camellia sinensis*) extract inhibits both the metastasis and osteolytic components of mammary cancer 4T1 lesions in mice [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2014, 25(4): 395 -403.
- [28] SUSKI JAN M, MARCIN B, VLADISLAV S, et al. Targeting cell-cycle machinery in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(6): 759-778.
- [29] KURT E. Cell cycle arrest through indirect transcriptional repression by p53 [J]. *Cell Death and Differentiation*. 2018, 25(1): 114-132.
- [30] 江海媚. 大黄素调节 ATM/CHK2/p53 通路诱导神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞 S 期阻滞的机制研究[D]. 广州. 广州中医药大学, 2022.
- [31] 刘建通, 方育, 高洪波, 等. 基于 ATM/CHK2/p53 信号通路探究下调 XRCC6 对结直肠癌细胞的影响[J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志*, 2021, 8(6): 615-619.
- [32] 陈松. MELK 通过 ATM/CHK2/p53 途径促进膀胱癌生长的机制研究[D]. 武汉. 武汉大学, 2020.
- [33] YUNJU H, KAILEE W, HSIN YUAN C, et al. Protective effects of Epigallocatechin Gallate (EGCG) on endometrial, Bbreast, and ovarian cancers [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11): 1481.
- [34] GERTA H, D B M. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism [J]. *Nature Reviews. Cancer*, 2020, 20(2): 74-88.
- [35] SHIKHA S, R R S, MAHESH H, et al. Quercetin, a Natural Flavonoid Interacts with DNA, Arrests Cell Cycle and Causes Tumor Regression by Activating Mitochondrial Pathway of Apoptosis [J]. *Scientific reports*, 2016, 6(1): 24049.