

doi:10.12301/spxb202100862

文章编号:2095-6002(2022)03-0043-13

引用格式:郁永辉,周琳悦,刘柯杉,等. 燕麦蒽酰胺的制备及其促肺癌细胞凋亡机制研究[J]. 食品科学技术学报,2022,40(3):43-55.



YU Yonghui, ZHOU Linyue, LIU Keshan, et al. Study on preparation of avenanthramides and mechanism of avenanthramides-induced apoptosis of lung cancer cells[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022,40(3):43-55.

燕麦蒽酰胺的制备及其促肺癌细胞凋亡机制研究

郁永辉, 周琳悦, 刘柯杉, 李欣萍, 王静*

(北京工商大学中加食品营养与健康联合实验室/食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京 100048)

摘要: 燕麦蒽酰胺(avenanthramides, Avns)作为燕麦中特有的活性成分,具有广泛的生理功能,但其天然含量较低。为提升燕麦籽粒中 Avns 天然含量、优化提取条件并分析其健康功效,采用发芽方式促进燕麦籽粒中 Avns 的生物转化,通过单因素实验分析不同条件对 Avns 提取量的影响,利用响应面试验优化提取工艺,并探究 Avns 促肺癌细胞凋亡的分子机制。燕麦米经发芽后,采用超声辅助传统有机溶剂浸提法对 Avns 进行提取;采用高效液相色谱对提取的 Avns 进行定性和定量分析;以标准品 Avn C 为对照,采用蛋白印迹法分析核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)相关通路蛋白和 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-link inhibitor of apoptosis, XIAP)表达情况,利用流式细胞术检测 Avns 对非小细胞肺癌 H1299 和 A549 细胞凋亡的影响。实验结果表明:Avns 最优提取条件为料液比(g/mL)1:22.2,超声功率 87.6 W,乙醇体积分数 84.2%,该条件下 Avns 的提取量为 849.251 μ g/g;蛋白印迹和流式细胞术实验结果显示,Avn C 和 Avns 均可下调 NF- κ B/p65 蛋白磷酸化及抗凋亡蛋白 XIAP 表达,且剂量依赖性促进 H1299 和 A549 细胞凋亡。研究结果表明,天然 Avns 可能通过抑制 NF- κ B/XIAP 信号通路活性进而促进肺癌细胞凋亡,本研究有望为全谷物燕麦特有活性成分 Avns 应用于肺癌防控提供理论依据。

关键词: 燕麦蒽酰胺;肺癌细胞;核转录因子- κ B;X 连锁凋亡抑制蛋白;凋亡

中图分类号: TS201.4; TS210.1

文献标志码: A

燕麦作为全谷物中一种营养价值较高的全球性栽培物,具有悠久的种植和食用历史^[1-2]。燕麦富含蛋白质、膳食纤维、维生素、矿物质等营养素及黄酮类、多酚类等生物活性成分^[3-4]。燕麦蒽酰胺(avenanthramides, Avns)是燕麦中独特存在的一种醇溶性化合物,自然条件下主要由燕麦中邻氨基苯甲酸及其衍生物和肉桂酸及其衍生物在相应酶作用下脱水缩合而生成^[5]。目前已发现的 Avns 已达 40 余种^[6-7],主要分布在燕麦麸皮及糊粉层中。燕麦

蒽酰胺 2p(N-4'-羟基肉桂酰-5-羟基邻氨基苯甲酸)、2f(N-4'-羟基-3-甲氧基肉桂酰-5-羟基邻氨基苯甲酸)和 2c(N-3',4'-二羟基肉桂酰-5-羟基邻氨基苯甲酸),又称为 Avn A、Avn B 和 Avn C,是燕麦中含量较高的 3 种主要活性成分^[8]。此外,燕麦蒽酰胺 D、E、F、G、H、K、X、Y、Z 九种结构是由邻氨基苯甲酸及其衍生物分别与 *p*-香豆酸、阿魏酸和咖啡酸脱水缩合而成;O、P、Q、L、M、N、R、S、T、U、V、W 十二种结构分别由邻氨基苯甲酸 2,4-戊二烯及其邻

收稿日期:2021-12-16

基金项目:北京市科技新星计划项目(Z181100006218043);北京市属高校高水平教师队伍建设支持计划项目(IDHT20180506);2022年北京工商大学研究生科研能力提升计划项目。

第一作者:郁永辉,男,副教授,博士,主要从事谷物营养与健康方面的研究。

*通信作者:王静,女,教授,博士,主要从事谷物营养与健康方面的研究。

羟基甲氧基取代物、邻羟基的羟基取代物结合生成^[9-10]。Avns的天然含量较低,且受生长环境及基因型等因素的影响,含量差异较大,报道显示,Avns的天然含量在2~290 mg/kg^[11-12]。本课题组先前的报道表明,发芽过程可改变燕麦籽粒中Avns合成相关酶活性,参与Avns合成的羟氨基苯甲酸-*N*-羟基肉桂酸转移酶(hydroxycinnamoyl-CoA: hydroxyanthranilic acid *N*-hydroxycinnamoyl acyltransferase, HHT)活性明显提高,有效促进Avns的生物转化^[7],这为获取足量天然来源的Avns提供了理论基础。

已有报道显示,Avns在维持机体健康方面发挥着重要作用,具有良好的抗氧化、缓解炎症、抑制过敏反应、调节肠道菌群及预防肿瘤等功效^[7,12]。研究表明,Avns的体外抗氧化活性是燕麦中其他酚酸类物质如咖啡酸、阿魏酸的10~30倍^[13],并可显著缓解氧化应激导致的神经细胞损伤^[14];动物实验和临床研究也证实,富含Avns饮食有助于降低核转录因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)活性并抑制运动等诱发的肌肉组织中促炎因子表达^[7];另外,Avns具有良好的抗过敏活性,Avns干预可显著抑制肥大细胞等参与的过敏反应^[15],临床研究也显示含有Avns的护肤品可有效降低儿童过敏性皮炎的发生率^[16]。目前,Avns类似物曲尼司特已被广泛应用于治疗过敏性疾病;Avns及其代谢产物也是优良的肠道菌群调节剂,Avns的体内代谢依赖于肠道菌群,同时酚酸类代谢产物又可显著改善机体肠道菌群^[7,17];研究也证实Avns可在抑制结肠癌、肝癌和乳腺癌等癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡方面发挥重要作用^[18-20],且随着全球癌症患病人数和死亡人数的逐年增加,Avns在防控肿瘤方面的作用也备受关注。

据国际癌症研究机构统计,肺癌是全球发病率和致死率最高的一种癌症^[21],其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)在肺癌中占比可达85%^[22]。2015年的统计数据 displays,我国肺癌的发病率和死亡率分别为每10万人中733.3人和610.2人,且预计到2030年死亡率还会增加约40%^[23-24]。临床组织样本分析发现,肺癌组织中X连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis, XIAP)表达以及核转录因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)活性均明显高于正常组织,且NF- κ B的激活可上调XIAP蛋白表达,从而增强XIAP在

NSCLC细胞中的抗凋亡作用^[25-26]。因此,XIAP是参与肺癌细胞抗凋亡调控的关键蛋白,抑制XIAP蛋白表达将有助于肺癌防控。尽管先前的研究已证实Avns在癌症防控中发挥作用,但其对NSCLC细胞的调控作用尤其是XIAP蛋白表达的影响尚未见报道。本研究拟采用燕麦发芽方式对Avns进行生物转化,优化其提取条件,重点探究天然Avns对NSCLC细胞H1299和A549凋亡相关NF- κ B/XIAP通路及细胞凋亡的影响,进而揭示天然Avns参与肺癌防控的潜力及其作用机制,希望为全谷物燕麦特有活性成分Avns应用于肺癌防控提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

正己烷(分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司;无水乙醇(分析纯)、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、十二烷基硫酸钠(SDS),美国MREDA公司;标准品Avn A、Avn B、Avn C,美国Sigma公司;非小细胞肺癌细胞系H1299、A549,南京草之源生物科技有限公司;胎牛血清(FBS)、双抗(青霉素+链霉素)、DMEM高糖培养基、RPMI 1640培养基、质量分数为0.25%胰蛋白酶,美国Gibco公司;p-p65抗体、p65抗体、XIAP抗体、 β -actin抗体,武汉爱博泰克(ABelonal)生物科技有限公司;CCK-8检测试剂盒,东仁(DOJINDO)化学科技(上海)有限公司;BCA蛋白定量试剂盒、Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;0.5 mol/L Tri-HCl缓冲液(pH值6.8)、1.5 mol/L Tri-HCl缓冲液(pH值8.8),武汉卡诺斯科技有限公司;30%制胶液、甘氨酸、RIPA组织/细胞快速裂解液,北京索莱宝科技有限公司;TEMED,上海阿拉丁股份有限公司;牛血清白蛋白(BSA),上海源叶科技有限公司;T25细胞培养瓶、PVDF膜,美国Thermo公司;细胞计数板、96孔板、6孔板,美国Corning公司;滤纸,美国BIO-RAD公司。

1.2 仪器与设备

800C型磨粉机,上海久品实业科技有限公司;BILON-1000CT型超声波提取机,上海比朗仪器制造有限公司;JK-MSH-Pro-6A型六联磁力搅拌器,郑州科达机械仪器有限公司;R-300型旋转蒸发系统,瑞士步琦有限公司;Freezone 12plus型冷冻干燥机,美国Labconco公司;Synergy H1M型多功能酶标

仪,美国 Bio Tek 公司;3K15 型高速冷冻离心机,德国 Sigma Laborzentrifugen GmbH 公司;LC-20A 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;TD6 型台式低速离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;伯乐 Trans-Blot Turbo 型蛋白转印系统,美国 BIO-RAD 公司;YXQ-LS-50A 型立式压力蒸汽灭菌器,浙江新丰医疗器械有限公司;IX73P1F 型活细胞成像倒置显微镜,日本奥林巴斯公司;ChemiDoc MP 型电泳凝胶成像分体系统,美国 BIO-RAD 公司;CytoFLEX S 型流式细胞仪,美国贝克曼库尔特公司。

1.3 实验方法

1.3.1 燕麦米前处理

对燕麦米进行筛选,去除破碎籽粒,用去离子水冲洗两遍,纱布盖好后放入 16 ℃ 生化培养箱中进行发芽培养。分别在第 3 天、第 6 天收取发芽后的燕麦米,并保存在 -80 ℃ 冷冻 24 h。冷冻干燥后,将干燥的发芽燕麦米在磨粉机中磨碎并过 60 目筛。将过筛后的燕麦粉放入烧杯中,加入燕麦粉 2 倍体积的正己烷,磁力搅拌 1 h,8 000 r/min 离心 10 min,倒掉上清液加入新的正己烷,重复以上操作至上清液为无色。脱脂后的燕麦粉放在通风柜中过夜干燥,干燥后的燕麦粉放在自封袋中,4 ℃ 保存待用。

1.3.2 燕麦蕈酰胺的提取

精确称取 1.00 g 脱脂后的燕麦粉于 50 mL 离心管中,按照料液比(g/mL)为 1:20 加入体积分数为 80% 的无水乙醇,涡旋混匀后将离心管置于设置功率为 80 W 的恒温超声波提取机中超声 10 min,然后置于 50 ℃ 六联磁力搅拌器中搅拌 2 h,常温下离心,得到上清液。重复操作 3 次,并将得到的上清液合并置于旋蒸瓶中,旋蒸至干,用色谱级甲醇复溶并定容至 5 mL,4 ℃ 保存待测。

1.3.3 燕麦蕈酰胺含量检测

采用分析型 HPLC (C18 色谱柱 150 mm × 3.0 mm, 5 μm) 对燕麦蕈酰胺进行定性和定量检测,检测条件为流动相 A:0.1% 乙酸水,流动相 B:乙腈,流速 0.8 mL/min,柱温箱 30 ℃,检测波长 340 nm,进样量设置 10 μL,梯度洗脱程序:0~4 min (体积分数为 20% 的乙腈),4~14 min (体积分数为 20%~60% 的乙腈),14~15 min (体积分数为 60% 的乙腈),15~21 min (体积分数为 60%~20% 的乙腈),21~25 min (20% 的乙腈)。

1.3.4 燕麦蕈酰胺提取单因素实验

以 Avns 含量为评价指标,分别考察超声功率

(60、70、80、90 W)、料液比(g/mL)(1:5、1:10、1:20、1:30、1:40)、乙醇体积分数(50%、60%、70%、80%、90%)等不同提取条件对 Avns 含量的影响。

1.3.5 燕麦蕈酰胺提取工艺响应面优化试验

在单因素实验基础上,选取超声功率(F1)、料液比(F2)、乙醇体积分数(F3)为 3 个考察因素,以 Avns 含量为评价指标,进行响应面优化试验,因素水平编码如表 1。

表 1 响应面设计因素及水平

Tab. 1 Design factors and level of response surface test

水平	因素		
	P(超声)/ W	料液比/ (g·mL ⁻¹)	φ(乙醇)/ %
-1	60	1:10	70
0	80	1:20	80
1	100	1:30	90

1.3.6 肺癌细胞培养及传代

无菌条件下将 H1299 细胞或 A549 细胞分别培养于含有体积分数为 10% 的 FBS、1% 双抗的 DMEM 培养基和 RPMI 1640 培养基中,置于体积分数为 5% 的 CO₂ 培养箱中 37 ℃ 培养。采用倒置显微镜观察细胞生长情况,细胞密度达到 80% 以上时经质量分数为 0.25% 的胰蛋白酶消化进行传代培养。

1.3.7 实验分组方法

设置对照组、燕麦蕈酰胺 C 标准品(Avn C)组和燕麦蕈酰胺混合物(Avns)组。对照组:正常培养。Avn C 组:标准品 Avn C 经 DMSO 溶解后,采用 DMEM 作为溶媒介将 Avn C 稀释成终质量浓度为 20、40 mg/mL 的溶液。Avns 组:Avns 经 DMSO 溶解后,采用 DMEM 作为溶媒介将提取的 Avns 稀释成终质量浓度为 20、40 mg/mL 的溶液。所配制的溶液在后续细胞实验分析中稀释使用。

1.3.8 CCK-8 分析

将生长密度和活力适宜的 H1299 细胞或 A549 细胞用 0.25% 胰酶消化后进行细胞计数,调整细胞密度至 5 × 10⁴ 个/mL,接种于 96 孔板培养 24 h,分别加入 3 种燕麦蕈酰胺标准品 Avn A、Avn B 和 Avn C,使终质量浓度为 5、10、20、40 μg/mL。每个浓度设置 4 个复孔,同时设置空白组和对照组。继续培养 24 h 后,每孔中加入 10 μL CCK-8 试剂培养 1~4 h,最后用酶标仪在 450 nm 处测量吸光度值,用公式计算各组细胞的增殖情况。

1.3.9 Annexin V-FITC/PI 流式细胞检测

对 H1299 和 A549 细胞处理 24 h 后,不同处理组细胞经胰酶消化后,1 000 r/min 离心 5 min 收集细胞,用预冷的 PBS 洗涤并 1 000 r/min 离心 5 min 收集细胞后,加入 1 × Binding Buffer 重悬细胞,调整细胞密度至 1×10^6 个/mL。取 100 μ L 细胞悬液,加入 5 μ L Annexin V-FITC 溶液,轻轻混匀,室温避光孵育 10 min。然后加入 5 μ L PI 染液室温避光孵育 5 min,预冷的 PBS 补足 500 μ L 后轻轻混匀,并在 1 h 内用流式细胞仪完成检测。

1.3.10 Western blot 检测

对 H1299 和 A549 细胞干预 24 h 后,收集不同处理组细胞,使用蛋白提取试剂盒提取总蛋白。采用 BCA 蛋白定量试剂盒对蛋白样品进行定量,依次进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜质量分数为 5% 的脱脂奶粉封闭,1:1 000 稀释的 p-p65、p65、XIAP 或 β -actin 等一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,二抗(1:10 000)室温孵育 90 min,最后用 ECL 显影液显色并置于凝胶成像系统中获取图像。以 β -actin 为内参,采用 Image J 软件进行定量分析。

1.4 数据处理

所有实验重复 3 次,采用 SPSS 17.0 软件进行方差分析,对差异显著的进行邓肯氏多重比较, $P < 0.05$ 表示组间存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 Avns 制备条件的优化分析

2.1.1 发芽前后 Avns 定性和定量分析

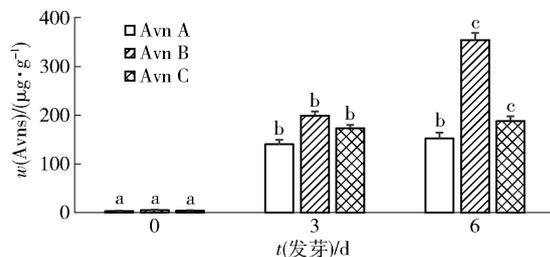
天然燕麦中 Avns 含量较低,而发芽是生物转化 Avns 的有效方式,经发芽处理后燕麦中 Avns 合成相关 HHT 活性明显增强,而 HHT 可利用游离前体邻氨基苯甲酸和肉桂酸及其衍生物作为底物,进一步催化合成 Avns^[8,27-29]。本研究采用高效液相色谱法分析了未发芽、发芽 3 d、发芽 6 d 燕麦中 Avns 含量变化,实验结果如表 2 和图 1。由表 2 可知,Avn C 的保留时间在 12.8 min 左右,Avn A 和 Avn B 的保留时间稍靠后且较接近,分别在 14.4 min 和 14.8 min 左右。由图 1 可知,未发芽燕麦中 Avns 含量较低,3 种含量较高 Avn A、Avn B 和 Avn C 的提取总量约为 12 μ g/g,但经过发芽处理后 3 种 Avns 含量明显升高,发芽 3 d 和 6 d 后其总量分别为 513 μ g/g 和 694 μ g/g。因此,后续实验选用发芽 6 d

的燕麦进行 Avns 提取的单因素实验。

表 2 标准品 Avn A、Avn B 和 Avn C 的保留时间

Tab. 2 Retention time of standard Avns A, B and C

Avns 种类	t (保留)/min
Avn A	14.397
Avn B	14.795
Avn C	12.778



每组不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

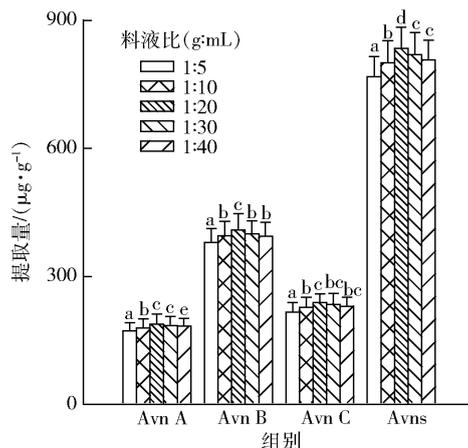
图 1 发芽对燕麦中 3 种主要 Avns 含量的影响

Fig. 1 Effect of germination on content of three main types of Avns in oat

2.1.2 Avns 提取单因素实验优化结果

2.1.2.1 料液比对 Avns 提取量的影响

料液比可能会改变目标物分子间的作用力从而会影响提取量,料液比对 3 种主要 Avns 及其提取总量的影响实验结果如图 2。由图 2 可见,本实验中料液比(g/mL)在 1:5 ~ 1:20, Avn A、Avn B 和 Avn C 三种主要成分及其总提取量有明显增加,继续增加料液比,Avn A、Avn B 和 Avn C 提取量均呈现下降趋势。可能是当料液比(g/mL)为 1:20 时,Avns 的提取已较为充分,继续增加料液比会延长浓缩时



每组不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

图 2 料液比对 3 种主要 Avns 及其提取总量的影响

Fig. 2 Effect of solid-liquid ratio on extraction amount of three main types of Avns

间,降低 Avns 的稳定性,从而造成提取量的损失。本实验结果表明,Avns 提取较为适宜的料液比(g/mL)为 1:20。

2.1.2.2 超声功率对 Avns 提取量的影响

超声的空化效应和热效应等会影响样品中目标物的释放与溶出,超声功率对 3 种主要 Avns 及其提取总量的影响,实验结果见图 3。由图 3 可知,超声功率在 60~80 W 时,Avn A、Avn B 和 Avn C 及三者总提取量均有所提高,并在超声功率为 80 W 时达到最高,这可能是超声波的剪切效应和热效应,加速了细胞内物质的释放,从而促进样品中 Avns 的浸出。当超声功率超过 80 W,Avns 提取量逐渐降低,其原因可能是超声功率过大会破坏 Avns 内部结构,从而不利于其提取。本部分结果表明,提取 Avns 较适宜的超声功率为 80 W。

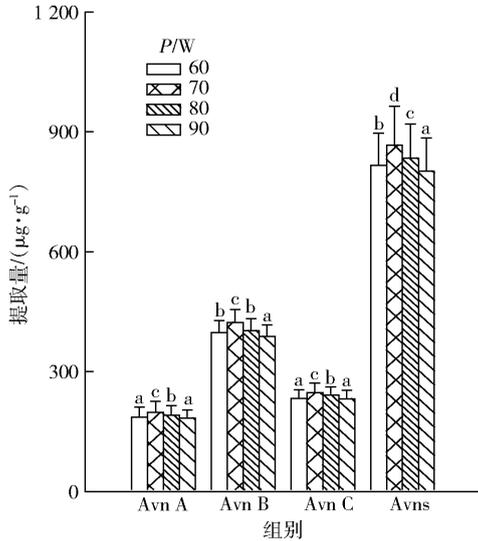


图 3 超声功率对 3 种主要 Avns 及其提取总量的影响
Fig. 3 Effect of ultrasonic power on extraction amount of three main types of Avns

2.1.2.3 乙醇体积分数对 Avns 提取量的影响

乙醇体积分数的会影响溶剂的渗透能力,乙醇体积分数对 3 种主要 Avns 及其提取总量的影响实验结果见图 4。由图 4 可知,乙醇体积分数为 50%~90% 时,Avn A、Avn B 和 Avn C 三种主要成分及其总提取量随着体积分数升高而显著提高,但 Avn A 的提取量在乙醇体积分数达到 80% 后开始降低,原因可能是适宜的乙醇体积分数可充分溶解 Avns。在乙醇体积分数达到 80% 时提取量的增加趋于稳定,因此确定较为适宜的乙醇体积分数为 80%。

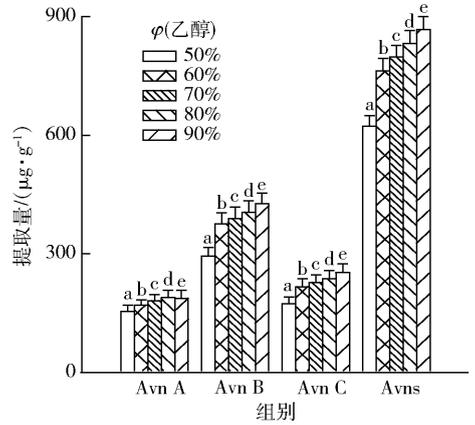


图 4 乙醇体积分数对 3 种主要 Avns 及其提取总量的影响
Fig. 4 Effect of ethanol volume fractions on extraction amount of three main types of Avns

2.1.3 响应面试验设计与结果分析

单因素实验后进一步选取较为适宜的超声功率、料液比和乙醇体积分数三因素的三水平进行响应面试验设计,响应面试验设计及其结果见表 3。

表 3 响应面试验设计与结果

序号	P(超声)/ W	料液比/ (g·mL ⁻¹)	φ(乙醇)/ %	提取量/ (μg·g ⁻¹)
1	60	1:10	80	712.312
2	100	1:10	80	860.811
3	60	1:30	80	844.863
4	100	1:30	80	829.392
5	60	1:20	70	801.531
6	100	1:20	70	806.772
7	60	1:20	90	868.244
8	100	1:20	90	859.713
9	80	1:10	70	735.086
10	80	1:30	70	806.832
11	80	1:10	90	818.606
12	80	1:30	90	879.639
13	80	1:20	80	846.589
14	80	1:20	80	842.671
15	80	1:20	80	851.520
16	80	1:20	80	846.201
17	80	1:20	80	844.135

采用软件对试验结果进行拟合。得到回归方程:
 $Y = 814.56 + 23.80 \times F1 + 30.35 \times F2 + 43.40 \times F3 - 40.82 \times F1 \times F2 + 11.56 \times F1 \times F3 - 0.0783 \times F2 \times F3 + 16.87 \times F1^2 - 19.76 \times F2^2 + 17.64 \times F3^2$ 。
 对此回归模型进行各自变量因素的方差分析,结果如表 4。

表4 自变量的方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	38 094.37	9	4 323.71	15.55	<0.001	显著
A(超声功率)	4 533.32	1	4 533.32	16.65	0.004 7	
B(料液比)	7 369.63	1	7 369.53	27.07	0.001 2	
C(乙醇体积分数)	14 997.55	1	14 997.55	55.09	0.000 1	
AB	6 664.31	1	6 664.31	24.48	0.001 7	
AC	534.24	1	534.24	1.96	0.204 0	
BC	0.025 4	1	0.025 4	0.000 1	0.992 7	
A ²	1 198.18	1	1 198.18	4.40	0.074 1	
B ²	1 643.23	1	1 643.23	6.04	0.043 7	
C ²	1 310.25	1	1 310.25	4.81	0.064 3	
剩余	1 905.50	7	272.21			
失拟	982.31	3	327.44	1.42	0.306 9	不显著
纯误差	923.19	4	230.80			
总和	39 999.87	16				
拟合度 R ²			0.952 4			

由表4可知,3个因素对提取量的影响由大到小顺序为:体积分数、料液比、超声功率。该模型P值小于0.001表明模型极显著并具有可靠性,失拟项为 $P=0.3069$ ($P>0.05$)不显著,说明该模型与实验真实值接近,适合Avns提取量的分析和预测,表明可以用此模拟方程来分析实验数据和预测实验结果。响应面分析结果见图5,由图5(a)可知,响应面图曲面陡峭,说明料液比和超声功率的交互作用显著,Avns的提取量随料液比和超声功率的递增大后减小;由图5(b)可知,在同一超声功率条件下,随着乙醇体积分数的增大,Avns的提取量逐渐提高;如图5(c)所示,在同一料液比条件下,随着乙醇体积分数的增大,Avns的提取量也逐渐增大。根据回归方程可得,最适提取条件为料液比(g/mL)1:22.2,超声功率87.6 W,乙醇体积分数84.2%,在此条件下响应面优化结果显示,Avns提取量可达850.864 $\mu\text{g/g}$ 。

利用优化后的最适条件对Avns进行提取,以验证试验模型的可靠性,实验结果见表5。如表5所示,在料液比(g/mL)1:22.2,超声功率87.6 W,乙醇体积分数84.2%的条件下,进行3次平行实验,所得燕麦中Avn A、Avn B和Avn C三种主要萜酰胺成分总量的平均值为849.251 $\mu\text{g/g}$,与模型结果相近,符合预期提取量值,证明该模型可以用来较好地预测Avns的提取量。本研究结果表明,燕麦发芽6 d后,Avns最优提取条件为料液比1:22.2,超声功

率87.6 W,乙醇体积分数84.2%,且在此条件下,Avn A、Avn B和Avn C的提取总量约为850 $\mu\text{g/g}$,其提取效果显著优于已报道的采用单纯超声波降解法制备发芽燕麦中的天然Avns^[30]。

表5 3次验证实验中Avns总提取量

Tab. 5 Avns extraction amount in three validity experiments

	实验次数		
	1	2	3
总提取量/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	842.497	854.958	850.299

2.2 Avns 促肺癌细胞凋亡机制分析

2.2.1 Avns 处理对 NSCLC 细胞活力的影响

为进一步探讨Avns对肺癌细胞的影响,本实验选取典型的NSCLC细胞H1299和A549,分析不同浓度萜酰胺标准品Avn A、Avn B和Avn C对细胞活力的影响,实验结果见图6。由图6可知,随着处理浓度的增加,H1299和A549细胞的存活率逐渐降低,Avn A和Avn C在处理前后的不同浓度下均有显著性差异($P<0.05$),而Avn B在质量浓度达到40 $\mu\text{g/mL}$ 时才呈现出显著性差异。与Avn A和Avn B处理组相比,Avn C对H1299和A549细胞活力的影响更加明显。实验结果说明Avn A、Avn B和Avn C对NSCLC细胞H1299和A549的活力均有一定的抑制效果,且Avn C的活性明显高于Avn A和Avn B,这也与文献报道的Avn C具有更好的生物活性相一致^[31]。因此,后续实验采用Avn C标准品作为阳性对照,分析发芽燕麦中天然Avns的抗癌活性。

2.2.2 Avns 处理对 NSCLC 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

XIAP是肿瘤细胞中重要的抗凋亡蛋白,通常在肿瘤组织中高表达且可通过多种途径抑制肿瘤细胞凋亡,是肿瘤发生的主要诱因之一^[32]。已有报道显示,NF- κ B通路在调控XIAP蛋白表达方面发挥重要作用,进而影响肿瘤细胞凋亡等^[33]。为进一步探讨发芽燕麦中天然Avns对NSCLC细胞凋亡相关蛋白的影响,采用不同浓度的萜酰胺标准品Avn C和天然Avns分别处理NSCLC细胞H1299和A549,所得实验结果见图7。如图7(a)所示,Western blot分析结果表明,给予标准品Avn C和天然Avns处理后,H1299细胞中NF- κ B通路p65蛋白磷酸化及XIAP蛋白表达均发生改变。与对照组相比,标准品

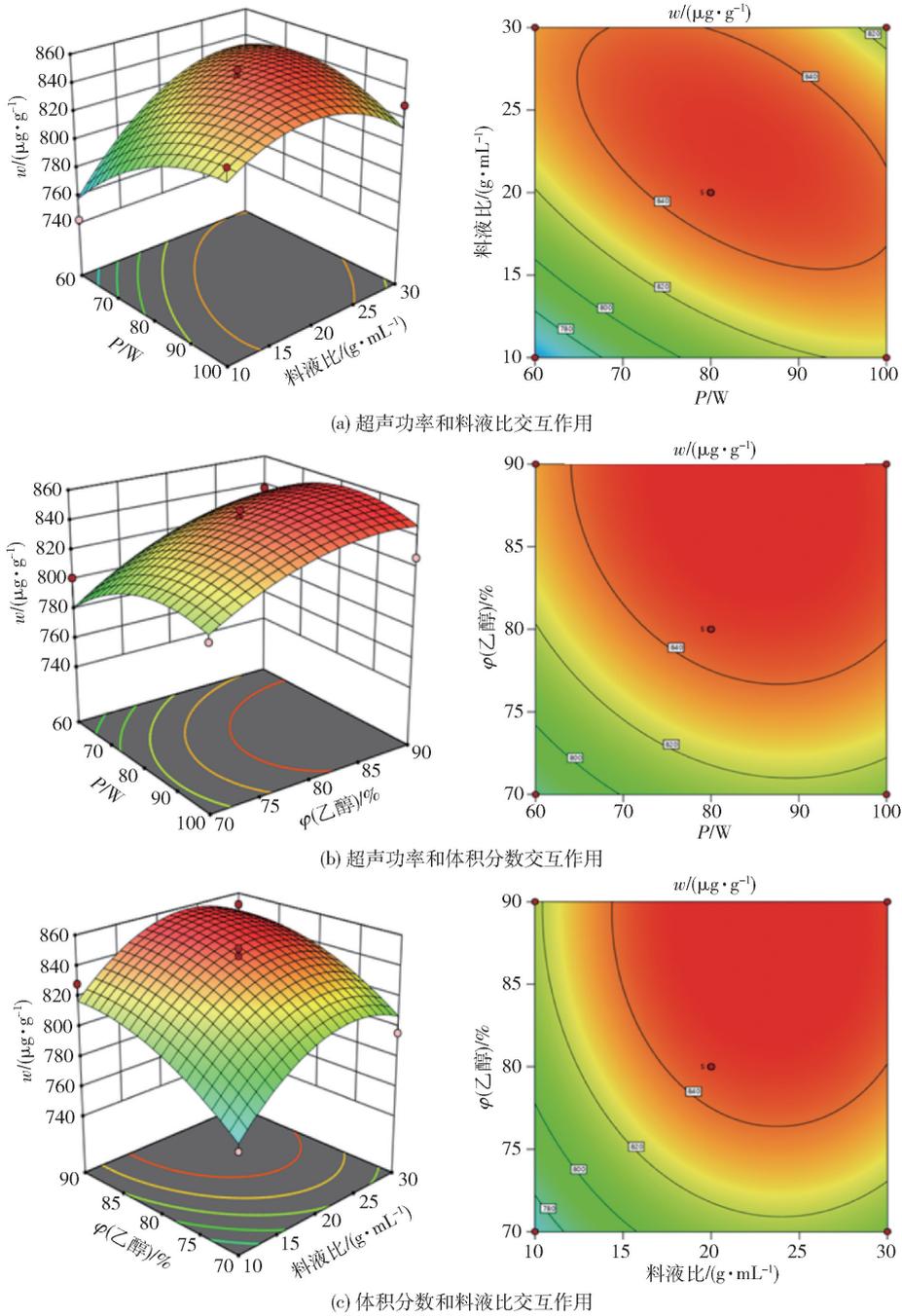
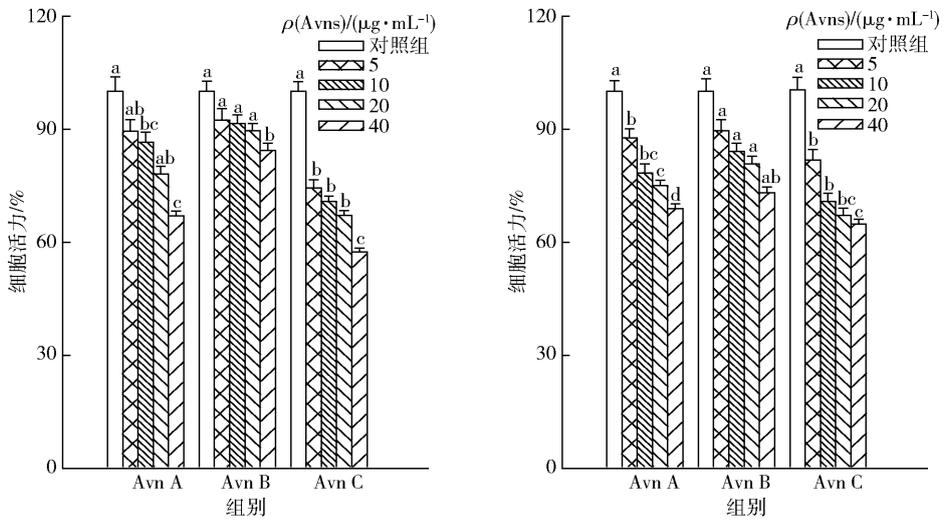


图5 不同因素对 Avns 提取量影响的响应面及等高线图

Fig. 5 Response surface and contour diagram of different factors on extraction amount of Avns

Avn C 和天然 Avns 处理均可抑制 NF-κB/p65 蛋白磷酸化并下调抗凋亡蛋白 XIAP 表达,且呈现出剂量依赖性。Image J 软件的量化分析结果也表明 [图 7(b)], Avn C 和天然 Avns 处理下调了 p-p65 和 XIAP 蛋白表达,高质量浓度 (40 μg/mL) 处理组中 p-p65 和 XIAP 蛋白水平显著降低 ($P < 0.05$),且 Avn C 作用效果优于同浓度天然 Avns。这可能是因为天然 Avns 中成分复杂,生物活性较强的 Avn C 含

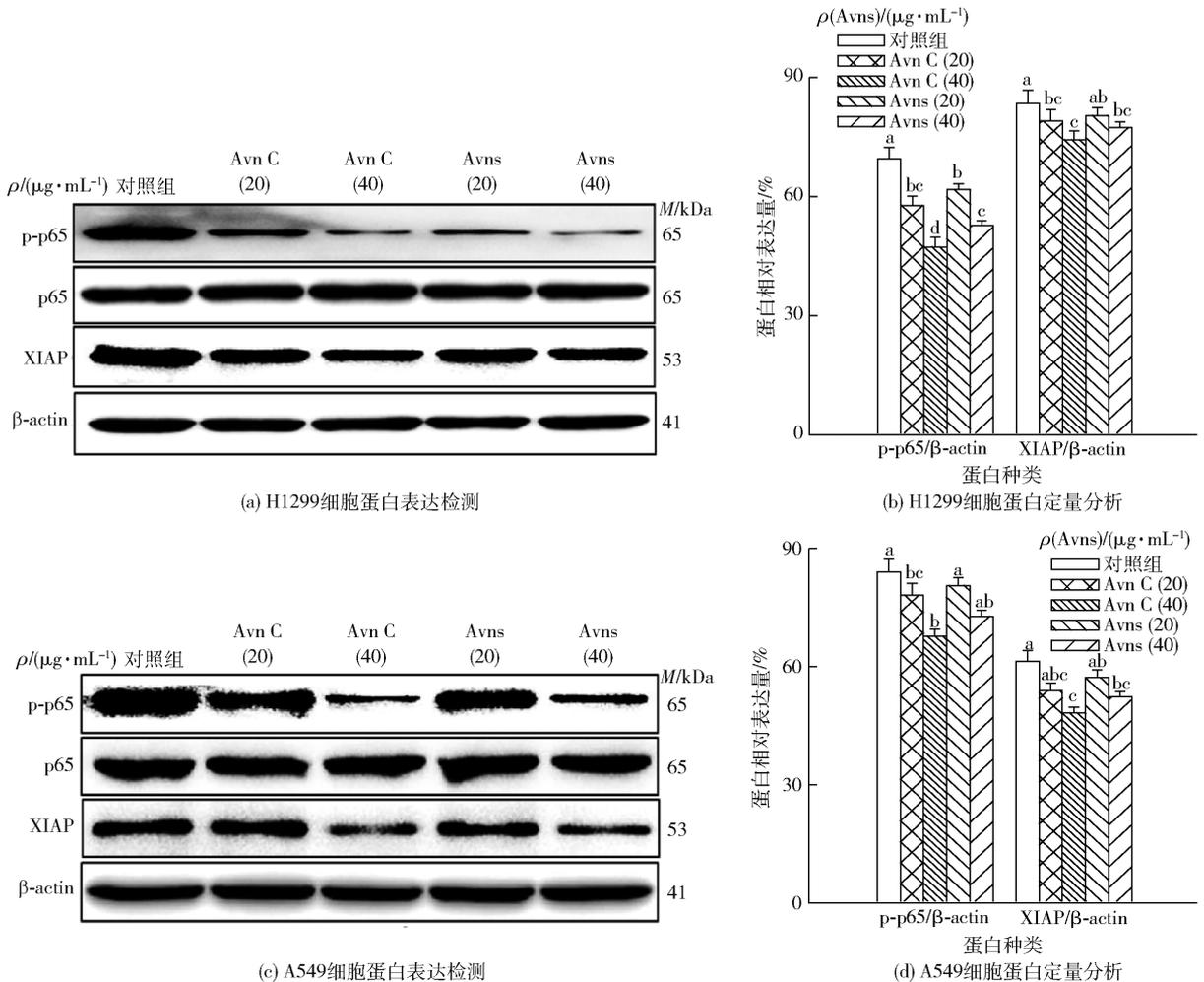
量相对不足。图 7(c)和图 7(d) 结果表明,与 H1299 细胞类似,高浓度处理显著下调 A549 细胞中 p65 蛋白磷酸化和 XIAP 蛋白表达 ($P < 0.05$),且 Avn C 效果优于天然 Avns。本部分结果说明,高质量浓度标准品 Avn C 和天然 Avns 均可抑制 p65 蛋白磷酸化及凋亡相关 XIAP 蛋白表达,提示天然 Avns 可潜在下调 NF-κB/XIAP 通路活性而促进 NSCLC 细胞凋亡。



每组不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

图6 不同 Avns 处理对 NSCLC 细胞活力的影响

Fig. 6 Effect of different Avns treatment on NSCLC cell viability



图(b)、图(d)中每组不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

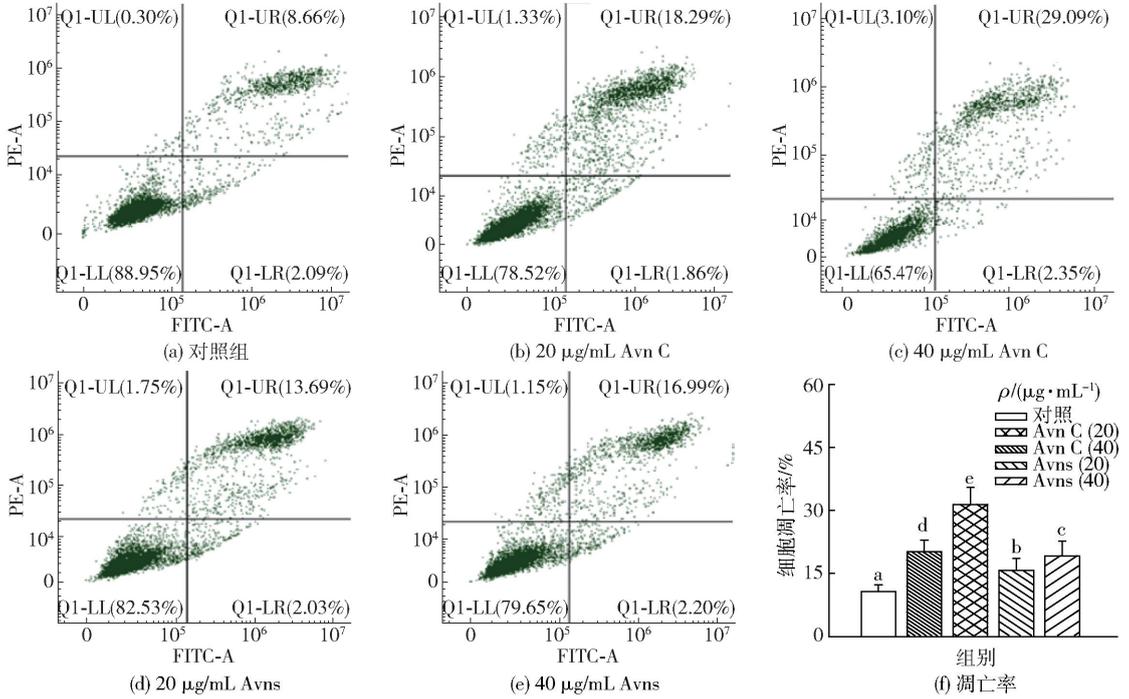
图7 不同 Avns 干预处理对 NSCLC 细胞凋亡相关蛋白的影响

Fig. 7 Effect of different Avns treatment on expression of apoptosis related proteins in NSCLC

2.2.3 Avns 处理对 NSCLC 细胞凋亡的影响

为进一步揭示 Avns 对 NSCLC 细胞凋亡的影响,采用流式细胞术分析不同处理组间细胞凋亡情

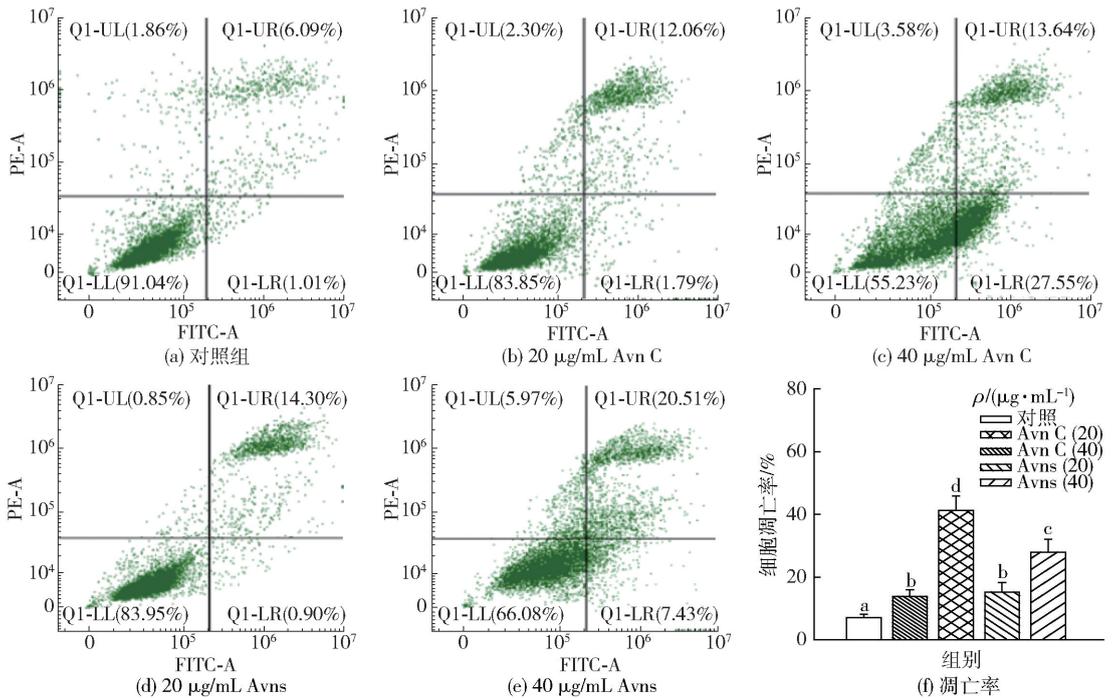
况,实验结果见图 8 和图 9。由图 8 可知,标准品 Avn C 和天然 Avns 处理均可促进 H1299 细胞凋亡,低质量浓度(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和高质量浓度(40 $\mu\text{g}/\text{mL}$)



图(f)中每组不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

图 8 不同 Avns 处理对 H1299 细胞凋亡的影响

Fig. 8 Effect of different Avns treatments on cell apoptosis of H1299



图(f)中每组不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

图 9 不同 Avns 处理对 A549 细胞凋亡的影响

Fig. 9 Effect of different Avns treatments on cell apoptosis of A549

理后细胞凋亡率分别约为20%和31%,显著高于对照组;而相应浓度天然 Avns 处理后,细胞凋亡率分别约为16%和19%,虽略低于 Avn C 处理组,但同样明显高于对照组($P < 0.05$)。与 H1299 细胞结果相类似,如图9所示,干预处理后 A549 细胞凋亡率均显著高于对照组($P < 0.05$)。给予低质量浓度(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)标准品 Avn C 和天然 Avns 干预时, A549 细胞的凋亡率相近;但高质量浓度(40 $\mu\text{g}/\text{mL}$)标准品 Avn C 处理后, A549 细胞凋亡率约为42%,而高浓度天然 Avns 处理后 A549 凋亡率约为28%,虽低于同浓度标准品 Avn C 处理组,但也明显高于对照组。说明天然 Avns 处理可剂量依赖性地促进 H1299 和 A549 细胞凋亡,可作为 NSCLC 防控的新型活性天然物质。

3 讨论

燕麦中 Avns 的天然含量较低,且受种植环境及基因型等影响较大,难以达到发挥健康功效的有效剂量,也成为制约天然 Avns 健康作用机制研究的一大障碍。目前针对谷物活性成分生物转化的研究较多,而谷物发芽是实现活性成分生物转化的有效途径。发芽技术作为一种自然方式可显著改善谷物食品品质,提升全谷物的营养价值及健康效益,且易于被消费者所接受。近年来,有关发芽处理的糙米、小麦、大麦及燕麦等研究日渐兴起,并广泛应用于谷物健康食品的生产^[34-36],本课题组先前的报道也分析了发芽促进燕麦中 Avns 生成的潜在机制^[7]。在燕麦生长过程中可通过莽草酸途径合成 L-苯丙氨酸,随后在苯丙氨酸解氨酶(pheylalanine ammonialyas, PAL)的作用下生成反式肉桂酸,并进一步在肉桂酸羧化酶和咖啡酸-O-甲基转移酶的催化下先后生成 p-香豆酸、咖啡酸和阿魏酸。最后,以 p-香豆酸、咖啡酸、阿魏酸和邻氨基苯甲酸为底物,在 HHT 催化下分别合成 Avn A、Avn C 和 Avn B^[7]。在燕麦发芽过程中, Avns 合成相关酶 PAL 和 HHT 活性与未发芽组相比均明显增加,这可能是发芽可促进 Avns 生物转化的重要原因。本研究也表明,发芽有效促进了 Avns 的生物转化,与天然燕麦相比,发芽燕麦中3种主要葱酰胺成分 Avn A、Avn B 和 Avn C 含量均显著增加,发芽3 d 和6 d 其含量分别提升约50倍和70倍。因此,发芽是实现 Avns 生物转化的有效途径,可为天然 Avns 富集提供实验依据。此外,

Avns 提取条件优化分析也表明,采用超声辅助传统有机溶剂法可有效实现发芽燕麦 Avns 的提取,在料液比(g/mL)1:22.2,超声功率87.6 W,乙醇体积分数84.2%的条件下,3种主要葱酰胺 Avn A、Avn B 和 Avn C 的总提取量可达849.251 $\mu\text{g}/\text{g}$,可为后续天然 Avns 癌症防控作用机制的研究奠定良好基础。

近年来,已有较多研究证实, Avns 具有较好的抗癌活性,且报道多集中于其在结肠癌防控中的作用^[18,36-37]。也有研究显示, Avns 对肝癌、乳腺癌甚至是埃利希固体肿瘤等有预防作用^[19-20,38],而肺癌作为全球发病率和死亡率居首的疾病, Avns,尤其是天然来源 Avns 对肺癌尤其是 NSCLC 的防控作用却鲜有报道。本研究探讨了发芽后提取的天然 Avns 对 NSCLC 细胞的凋亡调控作用,发现 Avns 处理可剂量依赖性地促进 H1299 和 A549 细胞凋亡。说明天然来源的 Avns 可能通过调控 NF- κ B/XIAP 通路促进 NSCLC 细胞凋亡而发挥肺癌防控功效。

在 Avns 防控肿瘤机制方面,报道显示, Avns 有助于下调脂多糖诱导的小鼠腹腔巨噬细胞中环氧化酶-2(cyclooxygenase 2, COX-2)的表达,抑制前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)的生成,从而预防胃肠道上皮发生癌变并降低癌变细胞的增殖活性^[37]。 Avns 也可激活结肠癌细胞和肝癌细胞内源性和外源性凋亡途径,下调血管内皮细胞生长因子和低氧诱导因子等蛋白表达,进而诱发细胞凋亡^[19,38]。在癌症尤其是肺癌发生过程中, NF- κ B/XIAP 通路发挥重要的抗凋亡活性,肺癌组织中 NF- κ B 蛋白活性及 XIAP 蛋白表达均明显增加,抑制 NF- κ B/XIAP 通路活性有助于肺癌治疗^[39]。本研究结果表明, Avns 处理可有效抑制 H1299 和 A549 细胞中 NF- κ B/p65 蛋白磷酸化,并下调抗凋亡蛋白 XIAP 表达,进而降低 NSCLC 细胞的抗凋亡活性,提示 Avns 可潜在下调 NF- κ B/XIAP 通路活性,促进 NSCLC 细胞凋亡并发挥肺癌防控功效,进一步完善 Avns 参与肿瘤防控的潜在作用机制。

4 结论

Avns 作为燕麦特有的生物活性成分,在调控人体健康方面可发挥重要作用,且采用发芽方式可显著促进 Avns 的生物转化,有效提升燕麦中天然 Avns 含量。经优化提取后的天然 Avns 可剂量依赖性地降低 NF- κ B/p65 蛋白磷酸化及 XIAP 蛋白表

达,并促进 H1299 和 A549 细胞凋亡,说明 NF- κ B/XIAP 通路可能是 Avns 的调控新靶点,进而有效下调 NSCLC 细胞的抗凋亡活性。本研究旨在为 Avns 应用于肺癌防控提供理论依据,为全谷物燕麦尤其是发芽燕麦相关健康产品的开发提供新思路。

参考文献:

- [1] NELSON K, STOJANOVSKA L, VASILJEVIC T, et al. Germinated grains: a superior whole grain functional food? [J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2013,91(6):429-441.
- [2] LIU K, WISE M L. Distributions of nutrients and avenanthramides within oat grain and effects on pearled kernel composition [J]. Food Chemistry, 2021, 336: 127668.
- [3] RASANE P, JHA A, SABIKHI L, et al. Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods;a review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015,52(2):662-675.
- [4] XU J G, TIAN C R, HU Q P, et al. Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(21):10392-10398.
- [5] SANG S, CHU Y. Whole grain oats, more than just a fiber: role of unique phytochemicals [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2017,61(7):1600715.
- [6] JAGR M, DVORACEK V, CEPKOVA P H, et al. Comprehensive analysis of oat avenanthramides using hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry: possible detection of new compounds[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2020,34(10):e8718.
- [7] YU Y, ZHOU L, LI X, et al. The progress of nomenclature, structure, metabolism, and bioactivities of oat novel phytochemical: avenanthramides[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022,70(2):446-457.
- [8] ISHIHARA A, KOJIMA K, FUJITA T, et al. New series of avenanthramides in oat seed[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2014,78(12):1975-1983.
- [9] OKAZAKI Y, ISOBE T, IWATA Y, et al. Metabolism of avenanthramide phytoalexins in oats[J]. The Plant Journal; for Cell and Molecular Biology, 2004,39(4):560-572.
- [10] GOMES MD, LECKER SH, JAGOE RT, et al. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2001,98(25):14440-14445.
- [11] NIE L, WISE M, PETERSON D, et al. Mechanism by which avenanthramide-c, a polyphenol of oats, blocks cell cycle progression in vascular smooth muscle cells [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2006,41(5):702-708.
- [12] 郁永辉,刘柯杉,王静.燕麦蕈酰胺生理功能研究进展[J].食品科学技术学报.2020,38(6):21-28.
YU Y H, LIU K S, WANG J. Research progress on physiological function of oat avenanthramides[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 38(6): 21-28.
- [13] PETERSON D M, HAHN M J, EMMONS C L. Oat avenanthramides exhibit antioxidant activities *in vitro* [J]. Food Chemistry, 2002,79(4):473-478.
- [14] HOU Y, PENG S, SONG Z, et al. Oat polyphenol avenanthramide-2c confers protection from oxidative stress by regulating the Nr2-ARE signaling pathway in PC12 cells [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2021,706:108857.
- [15] DHAKAL H, YANG E J, LEE S, et al. Avenanthramide C from germinated oats exhibits anti-allergic inflammatory effects in mast cells[J]. Scientific Reports, 2019,9(1):6884.
- [16] DILUVIO L, DATTOLA A, CANNIZZARO M V, et al. Clinical and confocal evaluation of avenanthramides-based daily cleansing and emollient cream in pediatric population affected by atopic dermatitis and xerosis[J]. Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia, 2019, 154(1):32-36.
- [17] WANG P, ZHANG S, YERKE A, et al. Avenanthramide metabolite from whole-grain oat intake is influenced by *Faecalibacterium prausnitzii* in healthy adults[J]. The Journal of Nutrition, 2021, 151(6): 1426-1435.
- [18] FU R, YANG P, SAJID A, et al. Avenanthramide a induces cellular senescence via miR-129-3p/Pirh2/p53 signaling pathway to suppress colon cancer growth[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(17):4808-4816.
- [19] ANTONINI E, IORI R, NINFALI P, et al. A combination of moringin and avenanthramide 2f Inhibits the proliferation of *Hep3B* liver cancer cells inducing intrinsic and extrinsic apoptosis [J]. Nutrition and Cancer, 2018,70(7):1159-1165.
- [20] HASTINGS J, KENEALEY J. Avenanthramide-C reduces the viability of MDA-MB-231 breast cancer cells through an apoptotic mechanism[J]. Cancer Cell International, 2017,17:93.
- [21] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021,

- 71(3):209–249.
- [22] COSTA-MACHADO L F, MARTIN-HERNANDEZ R, SANCHEZ-LUENGO M A, et al. Sirt1 protects from K-Ras-driven lung carcinogenesis [J]. *EMBO Reports*, 2018,19(9):e43879.
- [23] CHEN W, ZHENG R, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2016,66(2):115–132.
- [24] CAO M, CHEN W. Epidemiology of lung cancer in China [J]. *Thoracic Cancer*, 2019,10(1):3–7.
- [25] WU X B, LI Q H, ZHANG N, et al. MiR-142 inhibits lung cancer cell proliferation and promotes apoptosis by targeting XIAP [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019,23(17):7430–7437.
- [26] AHMAD I, IRFAN S, ALI BEG MM, et al. The SMAC mimetic AT-101 exhibits anti-tumor and anti-metastasis activity in lung adenocarcinoma cells by the IAPs/caspase-dependent apoptosis and p65-NF κ B cross-talk [J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2021, 24(7):969–977.
- [27] SKOGLUND M, PETERSON D M, ANDERSSON R, et al. Avenanthramide content and related enzyme activities in oats as affected by steeping and germination [J]. *Journal of Cereal Science*, 2008,48(2):294–303.
- [28] ISHIHARA A, OHTSU Y, IWAMURA H. Biosynthesis of oat avenanthramide phytoalexins [J]. *Phytochemistry*, 1999,50(2):237–242.
- [29] MATSUKAWA T, ISOBE T, ISHIHARA A, et al. Occurrence of avenanthramides and hydroxycinnamoyl-CoA: hydroxyanthranilate *N*-hydroxycinnamoyl transferase activity in oat seeds [J]. *Zeitschrift für Naturforschung C, Journal of Biosciences*, 2000,55(1–2):30–36.
- [30] KIM S, KIM T H, JEONG Y J, et al. Synergistic effect of methyl jasmonate and abscisic acid co-treatment on avenanthramide production in germinating oats [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021,22(9):4779.
- [31] YANG J, OU B, WISE M L, et al. *In vitro* total antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of three common oat-derived avenanthramides [J]. *Food Chemistry*, 2014,160:338–345.
- [32] FUNG S, KNOEFEL W T, KRIEG A. Clinicopathological and prognostic significance of inhibitor of apoptosis protein (IAP) family members in lung cancer: a meta-analysis [J]. *Cancers*, 2021,13(16):4098.
- [33] ZHAO C, ZHAO Q, ZHANG C, et al. miR-15b-5p resensitizes colon cancer cells to 5-fluorouracil by promoting apoptosis via the NF- κ B/XIAP axis [J]. *Scientific Reports*, 2017,7(1):4194.
- [34] CHO D H, LIM S T. Germinated brown rice and its bio-functional compounds [J]. *Food Chemistry*, 2016,196:259–271.
- [35] DIAZ-MENDOZA M, DIAZ I, MARTINEZ M. Insights on the proteases involved in barley and wheat grain germination [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019,20(9):2087.
- [36] DAMAZO-LIMA M, ROSAS-PEREZ G, REYNOSO-CAMACHO R, et al. Chemopreventive effect of the germinated oat and its phenolic-AVA extract in azoxymethane/dextran sulfate sodium (AOM/DSS) model of colon carcinogenesis in mice [J]. *Foods*, 2020,9(2):169.
- [37] GUO W, NIE L, WU D, et al. Avenanthramides inhibit proliferation of human colon cancer cell lines *in vitro* [J]. *Nutrition and Cancer*, 2010,62(8):1007–1016.
- [38] SCARPA E S, ANTONINI E, PALMA F, et al. Anti-proliferative activity of vitexin-2-*O*-xyloside and avenanthramides on CaCo-2 and HepG2 cancer cells occurs through apoptosis induction and reduction of pro-survival mechanisms [J]. *European Journal of Nutrition*, 2018,57(4):1381–1395.
- [39] CHEN X, SUN X, GUAN J, et al. Rsf-1 influences the sensitivity of non-small cell lung cancer to paclitaxel by regulating NF- κ B pathway and its downstream proteins [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 2017,44(6):2322–2336.

Study on Preparation of Avenanthramides and Mechanism of Avenanthramides-Induced Apoptosis of Lung Cancer Cells

YU Yonghui, ZHOU Linyue, LIU Keshan, LI Xinping, WANG Jing*

(China-Canada Joint Lab of Food Nutrition and Health, Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Avenanthramides (Avns), the unique active ingredients in oat, have multiple physiological functions. However, the natural content of Avns is very low. In this work, a germination procedure was

used to promote the biotransformation of Avns in oat grains in order to elevate its natural content, optimize the extraction conditions and analyze its benefit to health. The influence of different experimental parameters on extraction of Avns was carried out by a single factor experiment, and the extraction process was optimized using the response surface methodology. Finally, the potential mechanism of Avns-induced apoptosis of lung cancer cells was explored. Avns were extracted after oat germination using an ultrasonic-assisted traditional organic solvent extraction. High performance liquid chromatography (HPLC) was employed for qualitative and quantitative analysis. With Avn C as standard positive control, the Western blot was used to explore the regulating effect on expression of nuclear factor kappa B (NF- κ B) related pathway proteins and X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP). Flow cytometry analysis was performed to detect the apoptosis of non-small cell lung cancer (NSCLC) H1299 and A549 after Avns treatment. The results showed that the optimal extraction conditions for Avns yield were as follows: the solid-liquid ratio 1:22.2 g/mL, the ultrasonic power 87.6 W, the ethanol volume fraction 84.2%. In this condition, the yield of Avns was 849.251 μ g/g. The data of Western blot and flow cytometry analysis showed that both Avn C and Avns down regulated NF- κ B/p65 phosphorylation and XIAP expression, and exerted promoting effect on apoptosis of H1299 and A549 cells in a dose-dependent manner. The results indicated that Avns might induce apoptosis in lung cancer cells by inhibiting the activity of NF- κ B/XIAP signal pathway. This study aimed to provide theoretical basis of the application of Avns for lung cancer prevention.

Keywords: avenanthramides; lung cancer cell; NF- κ B; XIAP; apoptosis

(责任编辑:叶红波)

(上接第42页)

the complex were evaluated by *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) model. Results from HPSEC showed that the relative molecular weights of NOGQ and COGQ were 354 kDa and 349 kDa, respectively, which were not much different. Compared with β -glucan of oats, both complexes demonstrated several new infrared absorption peaks at 1 660 cm^{-1} , 1 243 cm^{-1} and 1 562 cm^{-1} and polysaccharide and polyphenols conjugates are amorphous. According to the NMR data, three monosaccharide residues were observed in the anomeric region of ^1H spectrum and three new proton signals at 6.5 – 8.5 were attributed to phenyl groups in the complex. Compared with the control group, COGQ and NOGQ significantly increased the average lifespan of *C. elegans* ($P < 0.05$), and the activities of SOD and CAT in both groups were significantly increased ($P < 0.01$), suggesting that COGQ and NOGQ composites may prolong the lifespan of *C. elegans* by improving the antioxidant capacity of the body. The results could provide a reference for the preparation of polysaccharides and polyphenol composites and the development and utilization of them as novel food antioxidants.

Keywords: β -glucan of oats; quercetin; polysaccharide and polyphenols composites; lifespan; *Caenorhabditis elegans*

(责任编辑:叶红波)