DOI:10.12441/spyswjs.20240909001 [文章编号] 1673-1689(2025)11-0100-09

(+)-儿茶素及(−)-表儿茶素对HEK293T细胞抗氧化的影响及差异

孙 畅 夏 宁 王 超 秦凤贤 吕呈蔚 刘 建 李铁柱*

(吉林省农业科学院农产品加工研究所,吉林 长春 130033)

摘要:【目的】探究天然抗氧化剂(+)-儿茶素及其同分异构体(−)-表儿茶素基于Nrf2-ARE通路对HEK293T细胞抗氧化的影响及差异。**【方法】**以(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素为试验对象,利用MTT法探究对HEK293T细胞活力的影响,应用报告基因探究对ARE基因转录水平的调控作用,利用RT-PCR和Western blot方法探究对Nrf2-ARE信号通路下游基因(*GCLM*、*NQO1*和*HO-1*)和蛋白(GCLM、NQO1和HO-1)表达的影响。**【结果】**报告基因显示,(+)-儿茶素及(−)-表儿茶素分别在20、10 μmol/L显著诱导了ARE介导的转录激活。RT-PCR及Western blot结果表明,当浓度为40 μmol/L时,(+)-儿茶素可以显著上调*GCLM*、*NQO1*和*HO-1*基因表达,(−)-表儿茶素可以显著上调*NQO1*和*HO-1*基因表达;当浓度为10 μmol/L时,(+)-儿茶素可以上调GCLM、NQO1和HO-1蛋白表达,(−)−表儿茶素可以上调GCLM、HO-1蛋白表达。**【结论】**(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对细胞的最低影响浓度不同。二者均有激活Nrf2-ARE信号通路的能力,(−)-表儿茶素激活通路所需浓度低于(+)-儿茶素,对于Nrf2-ARE信号通路下游基因及蛋白的表达也有差异,相同浓度时(+)-儿茶素抗氧化基因和蛋白表达效果更好。

关键词:(+)-儿茶素;(−)-表儿茶素;Nrf2-ARE通路;HEK293T细胞;抗氧化

Effects and Differences of (+)-Catechin and (−)-Epicatechin on Antioxidant Activity of HEK293T Cells

*SUN Chang XIA Ning WANG Chao QIN Fengxian LYU Chengyu LIU Jian LI Tiezhu**

(Institute of Agro-food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to investigate the effects and differences of the natural antioxidant (+)-catechin and its isomer (−)-epicatechin on the antioxidant activity of HEK293T cells based on the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)-antioxidant response element (ARE) pathway. [**Method**] The effects of (+)-catechin and (−)-epicatechin on the viability of HEK293T cells were investigated *via* the methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. Reporter genes were employed to investigate the regulatory effects on the activation of ARE. The effects of (+)-catechin and (−)-epicatechin on the mRNA and proteins levels of the downstream factors [glutamate-cysteine ligase modifier subunit (GCLM), NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 (NQO1), and heme oxygenase-1 (HO-1)] of the Nrf2-ARE signaling pathway were explored by RT-PCR and Western blot, respectively. [**Result**] The expression of reporter genes showed that ARE-mediated transcriptional activation was significantly induced by (+)-catechin and (−)-epicatechin at 20 μmol/L and 10 μmol/L, respectively. RT-PCR and Western blot results showed that (+)-catechin at 40 μmol/L significantly up-regulated the mRNA levels of *GCLM*,

基金项目:吉林省科技发展重点研发计划(20250203072SF);吉林省预算内基本建设资金(2024C016-6);吉林省肉牛产业化发展重大科技专项(YDZJ202203CGZH049)。

通信作者:李铁柱(1978—),男,博士,研究员,主要从事食品营养与安全研究。E-mail:ltzjlu@126.com

收稿日期:2024-09-09 **修回日期:**2025-12-02

NQO1, and *HO-1*, and (−)-epicatechin at the same concentration significantly up-regulated the mRNA levels of *NQO1* and *HO-1*. At 10 μmol/L, (+)-catechin up-regulated the protein levels of GCLM, NQO1, and HO-1, and (−)-epicatechin up-regulated the protein levels of GCLM and HO-1. [**Conclusion**] (+)-Catechin and (−)-epicatechin have different minimum effect concentrations on cells. Both of them have the ability to activate the Nrf2-ARE signaling pathway, and the required concentration of (−)-epicatechin to activate the pathway is lower than that of (+)-catechin. In addition, the two compounds have different effects on the expression of genes and proteins downstream of the Nrf2-ARE signaling pathway, with (+)-catechin outperforming (−)-epicatechin at the same concentration.

Keywords: (+)-catechin; (−)-epicatechin; Nrf2-ARE pathway; HEK293T cell; antioxidant

人体在与外界持续接触的过程中，会不断产生活性氧[1-2]，当体内活性氧产生或积累过多时，就会引起氧化应激反应[3]，导致DNA羟基化、蛋白质变性、脂质过氧化和细胞凋亡，继而引发各种疾病[4]。抗氧化剂能清除活性氧，其中天然抗氧化剂副作用小，安全系数高[5-6]，受喜爱程度越来越高[7-8]。

(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素是存在于茶叶、花生等植物中的天然抗氧化剂，二者是同分异构体，属于多酚类物质[9]，具有清除自由基、抗氧化、防治心血管疾病、预防癌症等多种生理活性[10-11]。近年来，由于(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素的抗氧化活性促使它们在食品工业、制药、农业等领域被广泛应用[12]。同时，随着对环境友好及无污染材料开发的日益重视，利用天然资源保存食品吸引了越来越多的关注。所以，近年来有很多研究深入探索了天然抗氧化剂的区别与联系，天然抗氧化剂同分异构体之间的抗氧化差异性也是热门探究之一。对于同分异构体之间抗氧化差异，Anitha等[13]认为是由二者氢键相互作用和分子间电荷转移造成的。Mendoza-Wilson等[14]通过测定(+)-儿茶素和(−)-表儿茶素的结构、化学电位和能量性质等方面，同样解释了它们氧化能力差异是由二者立体结构的关系不同引起的。Zhou等[15]研究发现，增加氢键可以提高儿茶素、表儿茶素的抗菌性及稳定性。目前，已有较少的研究比较了二者基于细胞抗氧化通路的抗氧化差异。

Nrf2-ARE信号通路是细胞抗氧化的重要途径，该通路能够预防、调节和治疗细胞的损伤[16]。Nrf2是抗细胞氧化应激的主要转录因子，Nrf2能够控制抗氧化酶和其他相关基因的表达，从而帮助机体保持调节氧化应激的能力[17-18]。有研究表明，在食品行业的发展中，应该使用不同的人类细胞系对天然抗氧化剂和植物中的粗提取物进行毒理学安全性评估[19]。作者选取转染效率高、易于培养和繁殖的人类胚胎肾HEK293T细胞[20-21]，探究(+)-儿茶素与其同分异构体(−)-表儿茶素对细胞抗氧化的影响及差异，旨在为抗氧化剂的开发和应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

HREK293T细胞：中国科学院细胞库；(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素：分析纯，上海源叶生物科技有限公司；叔丁基对苯二酚(TBHQ)、二甲基亚砜(DMSO)：分析纯，美国Sigma-Aldrich公司；ARE报告质粒、海肾质粒：吉林省农业科学院实验室；质粒大提试剂盒、HiFiS cript gDNA Removal RT MasterMix：康为世纪生物科技股份有限公司；Lipofectamine 2000转染试剂：美国英杰生命技术有限公司；双萤光素酶报告基因检测试剂盒：普洛麦格(北京)生物技术有限公司；Trizol reagent、蛋白Marker：美国赛默飞世尔科技有限公司；2×AugeGreen qPCR Master Mix：苏州宇恒生物科技有限公司；PVDF膜：美国GE HealthCare公司；超敏ECL发光液、TBS-T：莫纳(苏州)生物科技有限公司；蛋白酶抑制剂：美国Cell Signaling Technology公司；RIPA裂解液、羊抗小鼠IgG-HRP：江苏凯基生物技术股份有限公司；GCLM、NQO1、HO-1：美国Proteintech公司；Anti-GAPDH：北京义翘神州科技股份有限公司。

显微镜：CKX41O1型，上海聚慕医疗器械有限公司；多功能酶标仪：SpectraMax i3x型，美谷分子(仪器)上海有限公司；超微量分光光度计：Nanodrop2000C型，美国赛默飞世尔科技公司；

PCR 仪：ETC811 型，苏州东胜兴业科学仪器有限公司；荧光定量 PCR 仪：Q225 型，惠州酷博科技有限公司；蛋白电泳系统：Mini P-4 型，北京凯元信瑞仪器公司；转膜仪：Trans-Blot®SD 型，伯乐生命医学产品（上海）有限公司；一体式化学发光显影系统：ChemiScope 6000 型，上海勤翔科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 （+）-儿茶素及（−）-表儿茶素对细胞活力的影响

细胞培养：取出冻存细胞（HEK293T）在 37 ℃水浴锅中摇晃至融化，将体积分数 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、链霉素混合均匀，与 DMEM 配制成细胞培养液。盛有细胞的培养皿置于温度为 37 ℃、CO_2 体积分数 5% 的细胞培养箱中静置培养，每 1~2 d 换一次液，采用 MTT 法测定细胞活力[22]。MTT 试验中（+）-儿茶素与（−）-表儿茶素作用浓度分别为 0、25、50、200、450、750、1 000 μmol/L。

1.2.2 （+）-儿茶素及（−）-表儿茶素对 ARE 报告基因的激活作用

萤光素酶报告基因检测参考 Ma 等[23]和冷玥[24]的方法。在转染的 ARE 中加入 HEK293T 细胞（每孔 5×10^4），同时用 500 μL 不同浓度的（+）-儿茶素及（−）-表儿茶素（10、20、40 μmol/L）作用 24 h。阳性对照组用 500 μL、12.5 μmol/L 的 TBHG 作用 24 h；空白对照组用 500 μL 体积分数 0.01% 的 DMSO 作用 24 h。作用完成后，弃去培养基，加 PBS 洗涤 2 次，加入报告基因细胞裂解液，室温振荡 30 min，振荡后，吸取 80 μL 裂解后的细胞，依次加入萤火虫萤光素酶（100 μL/孔）、海肾萤光素酶（100 μL/孔），用多功能酶标仪进行检测。通过计算得到样品的双萤光素酶活性。

1.2.3 （+）-儿茶素、（−）-表儿茶素对 *GCLM*、*HO-1* 和 *NQO1* mRNA 表达的影响

试验组分：空白对照组（体积分数 0.01% DMSO）、H_2O_2 组、10 μmol/L+H_2O_2 组、20 μmol/L 样品+H_2O_2 组、40 μmol/L 样品+H_2O_2 组、阳性对照组（12.5 μmol/L TBHQ）。试验步骤：按照 2.5×10^5 个/孔将 HEK293T 细胞均匀铺于六孔板中并培养 24 h，将（+）-儿茶素、（−）-表儿茶素溶解于 DMSO 溶液中，与 DMEM 培养基配制成相应浓度后作用于培养皿中的细胞 18 h，加入过氧化氢孵育 8 h。提取细胞总 RNA，逆转录合成 cDNA，以 cDNA 为模板，进行 RT-PCR 检测。反应体系：cDNA 0.8 μL，Forward Primer 0.8 μL，Reverse Primer 0.8 μL，2×AugeGreen Master Mix 5 μL，H_2O 2.6 μL。反应程序见表 1，循环数均为 40。反应完成后，以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算基因相对表达量[25-26]，引物序列见表 2。

表 1 荧光定量 PCR 反应程序

Table 1 Fluorescence quantitative PCR procedure

温度/℃	时间/s
50	60
95	300
95	5
60	15

表 2 Real-time PCR 表达分析所用引物序列

Table 2 Primer sequences used for real-time PCR expression analysis

基因	引物
NQO1F	GCCGAGTCTGTTCTGGCTTATT
NQO1R	CATGGCAGCGTAAGTGTAAGCA
HO-1F	GGCAGAGGGTGATAGAAGAGG
HO-1R	TAAGGACCCATCGGAGAAGC
GCLMF	AACTGACTTAGGAGCATAACTTACC
GCLMR	TATCTGCCTCAATGACACCA
GAPDHF	GAAGACGGGCGGAGAGAAAC
GAPDHR	GCCCAATACGACCAAATCCG

1.2.4 （+）-儿茶素、（−）-表儿茶素对 Nrf2 下游蛋白表达的影响

1）样品制备：HEK293T 细胞均匀铺于培养皿中（5×10^6 个/孔），每孔加 10 mL 细胞培养基，培养 24 h。弃去培养基上清液，分别选取（+）-儿茶素和（−）-表儿茶素的暴露浓度为 10、20、40 μmol/L，阳性对照组 TBHQ 浓度为 12.5 μmol/L，继续培养 18 h，加入 500 μmol/L 的 H_2O_2 继续培养 8 h，各进行 6 组平行试验。

2）细胞总蛋白质提取：细胞离心（700 r/min、5 min），取沉淀，用 PBS 重悬清洗细胞 2 次，加入 250 μL 细胞裂解液（与 PMSF 按照体积比 100∶1 配制）。将裂解液移至 EP 管中，冰上静置 20 min。4 ℃、10 000 r/min 离心 5 min，上清即为样品蛋白，−20 ℃保存。

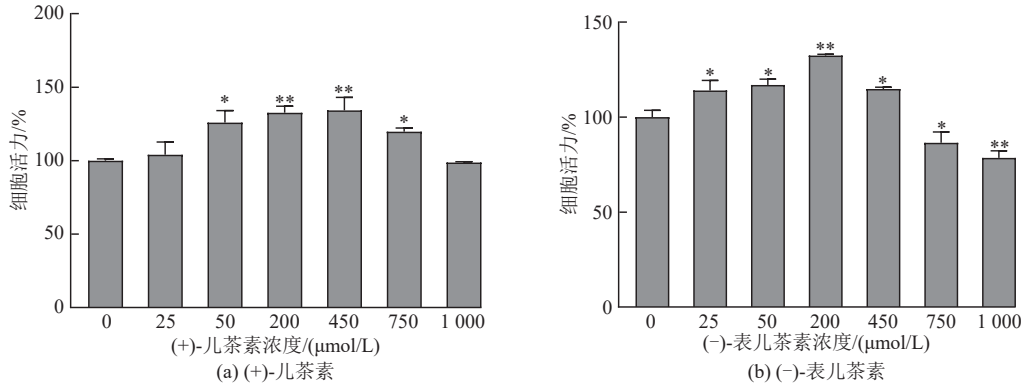
3）Western blot 试验：配制丙烯酰胺凝胶（12、5 g/dL 的分离胶、浓缩胶），依次注入玻璃板，安装电泳仪器，凝胶凝固后，加入蛋白 Marker 或蛋白质样

品(10 μg)进行电泳。恒压80 V至样品从分离胶电泳到浓缩胶时，将电压调至恒压120 V。将电泳后的凝胶按照蛋白质相对分子质量(31 000左右为anti-NQO1，33 000左右为anti-GCLM，34 000左右为anti-HO-1)切胶，转移至PVDF膜中，采用恒流模式，电流200 mA，冰浴反应2 h。PVDF膜放入封闭液中，室温摇床孵育60 min；分别加入GCLM、NQO1和HO-1抗体，4 ℃孵育过夜；使用TBS-T洗膜5次，每次洗涤5 min；加入羊抗小鼠二抗室温摇床孵育60 min；洗膜；制备ECL发光液并使用一体式化学发光显影系统进行拍照。

2　结果与讨论

2.1　(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对HEK293T细胞活力的影响

为了探究(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对细胞的安全浓度范围，进行MTT试验，结果见图1。图1(a)显示，细胞活力随(+)-儿茶素浓度的增加呈现先增加再降低的趋势，在浓度为50~750 μmol/L时，(+)-儿茶素对细胞活力有显著促进作用(P<0.05)，表明在一定浓度范围内(+)-儿茶素可以促进细胞增殖。这与王海等[27]的研究结果相似。图1(b)显示，细胞活力随(−)-表儿茶素浓度的增加呈现先增加后降低的趋势，浓度为25~450 μmol/L时对细胞活力有显著促进作用(P<0.05)，浓度为750~1 000 μmol/L时对细胞活力有显著抑制作用(P<0.05)。为了进一步探究两种物质基于Nrf2-ARE通路对HEK293T细胞抗氧化的影响及差异，进行ARE激活试验。在安全浓度范围内选择对细胞影响较温和的浓度，同时为了统一(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素反应浓度，选择10、20、40 μmol/L进行后续试验。



*—与对照比较，P<0.05；**—与对照比较，P<0.01。

图1　(+)-儿茶素及(−)-表儿茶素对HEK293T细胞活力的影响

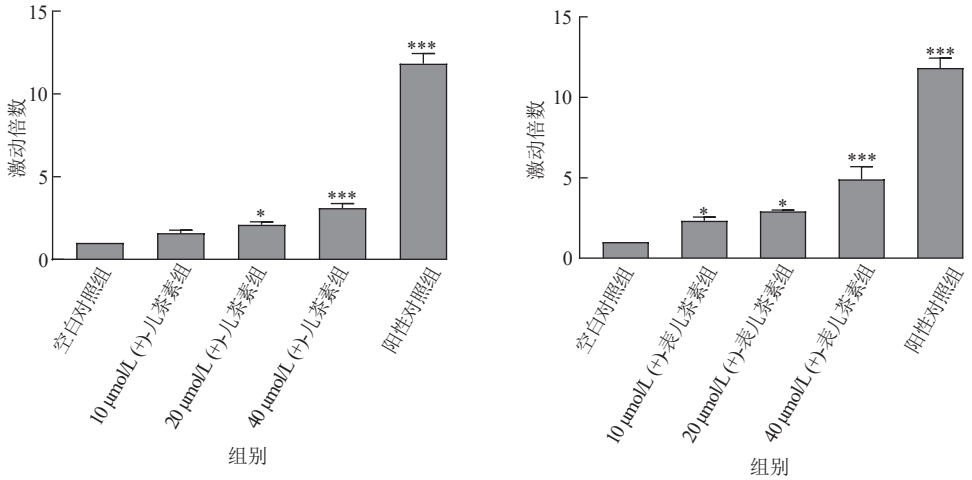
Fig. 1　Effects of (+)-catechins and (−)-epicatechin on HEK293T cell viability

2.2　(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对ARE报告基因的激活作用

ARE是一种具有特定DNA序列的调节元件，激活ARE，细胞可以产生一系列的保护效应，包括抵御氧化应激和减轻炎症反应等[28]。作者通过萤光素酶报告基因的方法，探究(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对ARE转录活性的影响，同时以TBHQ作为阳性对照来评估(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素的调控能力。如图2所示，(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素在浓度为40 μmol/L时，能明显诱导ARE激活，与空白对照相比激动倍数分别为(3.1±0.3)、(4.9±0.8)。10 μmol/L的(−)-表儿茶素对ARE有明显的诱导激活效果(P<0.05)，而同浓度的(+)-儿茶素则无明显效果。激活效果的差异可能与(+)-儿茶素和(−)-表儿茶素取代基的空间结构和位置有关。Delgado等[29]研究表明，(−)-表儿茶素和(+)-儿茶素能通过减少DNA断裂的敏感位点减轻NDBA或NPIP诱导的DNA损伤。AER作为特定的DNA序列，(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对ARE的激活效果不同可能与减少DNA断裂敏感位点有关。

2.3　(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对*GCLM*、*HO-1*和*NQO1* mRNA表达的影响

当细胞受到氧化应激时，ARE会启动下游一系列抗氧化基因，其中包括*NQO1*、*HO-1*、*GCLM*[30-31]。为了探究(+)-儿茶素与(−)-表儿茶素在Nrf2-ARE抗氧化通路的作用机制及差异，考察二者对*GCLM*、*HO-1*、*NQO1*基因表达的影响。如



*—与空白对照组比较，P<0.05；***—与空白对照组比较，P<0.001。

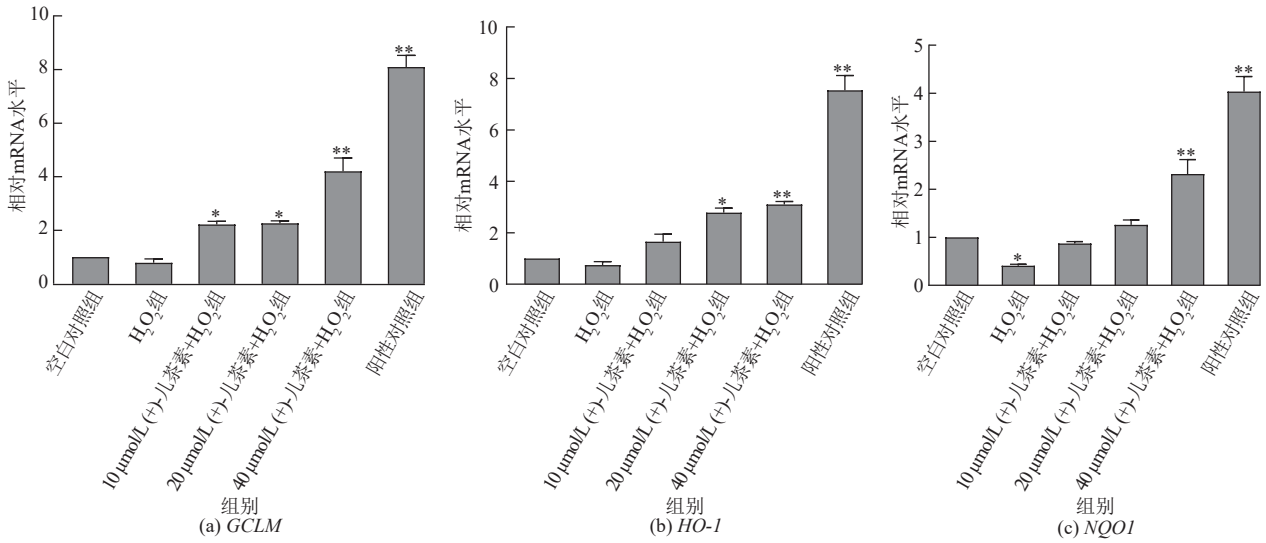
图 2 (+)-儿茶素及(−)-表儿茶素对 ARE 报告基因的激活作用

Fig. 2 Activating effects of (+)-catechin and (−)-epicatechin on ARE reporter genes

图 3 所示，与对照组相比，(+)-儿茶素浓度为 10 μmol/L 时能显著性上调 *GCLM* 基因转录水平（P<0.05），在浓度 20 μmol/L 时能显著性上调 *GCLM*、*HO-1* 基因转录水平（P<0.05），在浓度 40 μmol/L 时能极显著性上调 *GCLM*、*HO-1*、*NQO1* 基因的转录水平（P<0.01）。如图 4 所示，与对照组相比，(−)-表儿茶素在浓度为 10、20 μmol/L 时能显著性上调 *HO-1* 基因的转录水平（P<0.05），在浓度 40 μmol/L 时能极显著性上调 *HO-1*、*NQO1* 基因转录水平（P<0.01）。综上所述，*GCLM*、*HO-1*、*NQO1* 转录水平随样品浓度的增加而上调，(+)-儿茶素对激活 3 种基因转录效果优于(−)-表儿茶素。

2.4 (+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对 Nrf2 下游蛋白质表达的影响

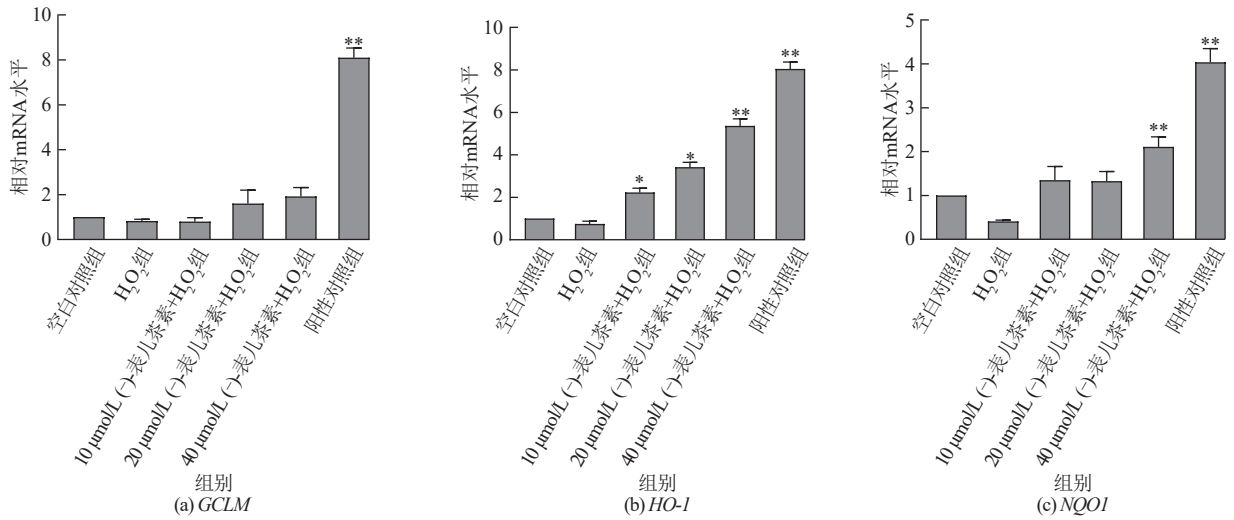
Nrf2 下游通路中，常用于抗氧化相关作用机制研究的是，谷氨酸半胱氨酸连接酶（GCLM）、NAD(P)H：醌氧化还原酶 1（NQO1）和血红素加氧酶 1（HO-1）[32]。HO-1 是一种重要的抗氧化酶，通过促进血红素降解和防止氧化来保护血管，NQO1 和 GCLM 可以清除体内因氧化应激产生的自由



*—与空白对照组比较，P<0.05；**—与空白对照组比较，P<0.01。

图 3 (+)-儿茶素对 *GCLM*、*HO-1* 和 *NQO1* mRNA 表达的影响

Fig. 3 Effects of (+)-catechin on the mRNA levels of *GCLM*, *HO-1*, and *NQO1*



*—与空白对照组比较，P<0.05；**—与空白对照组比较，P<0.01。

图4　(−)-表儿茶素对*GCLM*、*HO-1*和*NQO1* mRNA表达的影响

Fig. 4　Effects of (−)-epicatechin on the mRNA levels of *GCLM*, *HO-1*, and *NQO1*

基。NQO1可以还原醌类物质，保护神经细胞免受凋亡，GCLM能维持细胞内的氧化还原状态[33-35]。

采用Western blot方法，进一步探究(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对H_2O_2诱导的细胞损伤中Nrf2-ARE信号通路下游蛋白质GCLM、HO-1、NQO1表达水平的调控作用。如图5(a)和图6(a)~(c)所示，(+)-儿茶素在浓度为10、20、40 μmol/L时均能够显著上调细胞内GCLM、HO-1、NQO1蛋白质的表达水平，且上调的水平随儿茶素浓度的增大而提高。如图5(b)和图6(d)~(f)所示，(−)-表儿茶素在浓度为20、40 μmol/L时能极显著性上调GCLM、HO-1、NQO1蛋白质的表达水平(P<0.01)，浓度为10 μmol/L时能显著性上调GCLM、HO-1蛋白质的表达水平(P<0.05)。

不同浓度的(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对相应的基因和蛋白质响应程度不同，二者互为同分异构体，对于同分异构体之间抗氧化差异的区别，可能是由于二者氢键相互作用和分子间电荷转移造成的影响[13]。

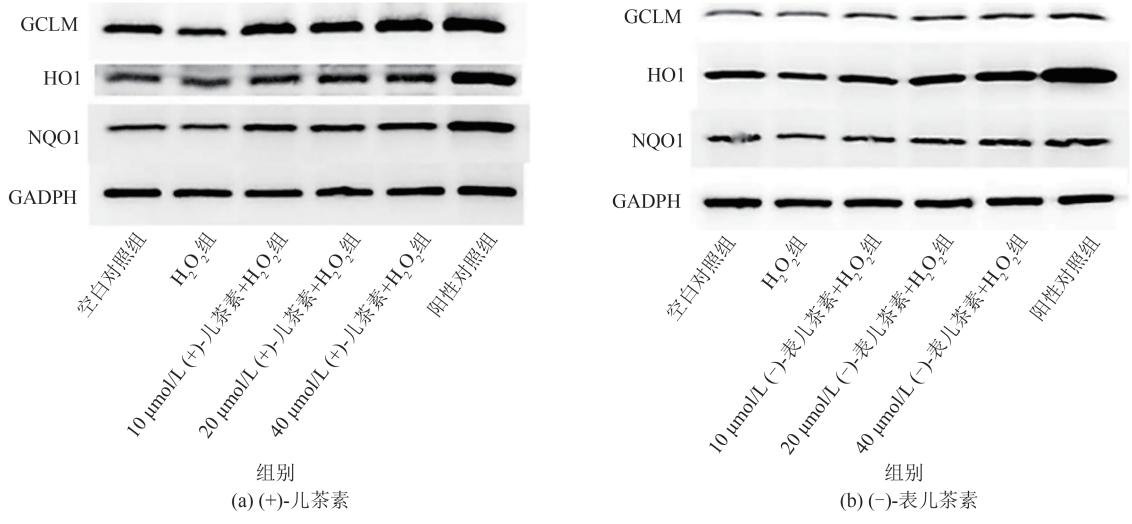
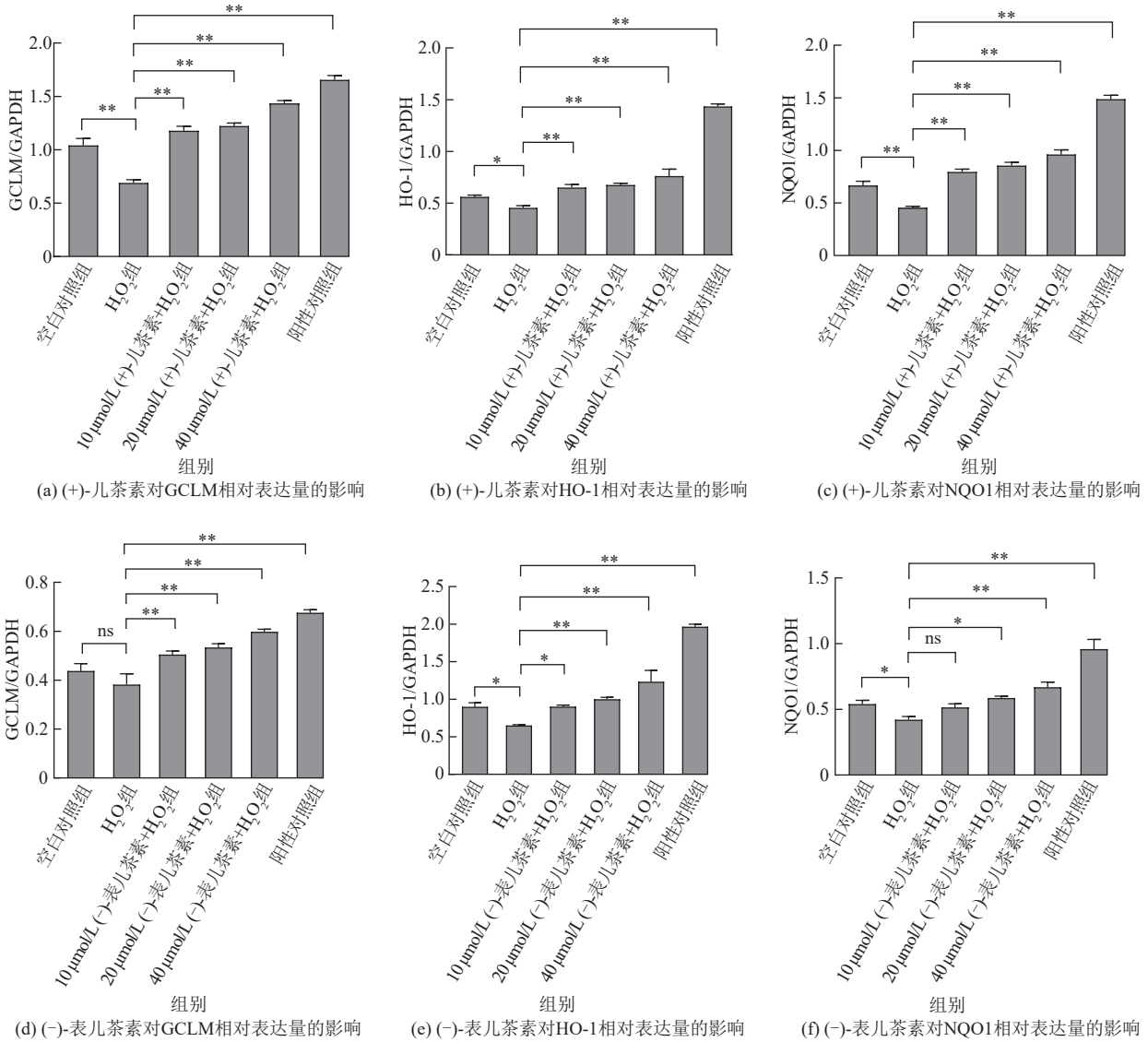


图5　(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对下游蛋白质表达的影响

Fig. 5　Effects of (+)-catechin and (−)-epicatechin on the expression of downstream proteins



(a) (+)-儿茶素对GCLM相对表达量的影响　(b) (+)-儿茶素对HO-1相对表达量的影响　(c) (+)-儿茶素对NQO1相对表达量的影响

(d) (−)-表儿茶素对GCLM相对表达量的影响　(e) (−)-表儿茶素对HO-1相对表达量的影响　(f) (−)-表儿茶素对NQO1相对表达量的影响

*—P<0.05；**—P<0.01；ns—P>0.05。

图 6　(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素对 HEK293T 细胞 GCLM、HO-1 及 NQO1 相对表达量的影响

Fig. 6　Effects of (+)-catechin and (−)-epicatechin on the relative expression of GCLM, HO-1, and NQO1 in HEK293T cells

3　结论

(+)-儿茶素与(−)-表儿茶素可以通过激活 Nrf2-ARE 信号通路发挥抗氧化作用，且均对 ARE 有激活作用。在试验浓度范围内，激活效果随(+)-儿茶素、(−)-表儿茶素浓度增加而上升；二者对抗氧化基因和抗氧化蛋白的影响不同，低浓度时，(+)-儿茶素激活 *GCLM*、*HO-1*、*NQO1* 3 种抗氧化基因的转录效果优于(−)-表儿茶素。该研究细化了(+)-儿茶素及(−)-表儿茶素对 ARE 及下游抗氧化基因及蛋白质的浓度效应关系，对比了二者基于 Nrf2-ARE 通路对 HEK293T 细胞抗氧化的影响及差异，为后续同分异构体类化合物的功能研究提供了新的思考角度。后续将拓展细胞系范围，引入肝细胞、心肌细胞等多种功能细胞，验证(+)-儿茶素与(−)-表儿茶素作用的细胞特异性，并构建氧化应激动物模型，观察(+)-儿茶素与(−)-表儿茶素在体内的抗氧化效果及安全性，为将其开发为抗氧化相关功能产品或药物提供更充分的理论支撑。

参考文献

[1] DOMINELLI P B, WIGGINS C C, ROY T K, et al. The oxygen cascade during exercise in health and disease[J]. Mayo Clinic Proceedings, 2021, 96(4): 1017-1032.

[2] NILSSON R，LIU N G. Nuclear DNA damages generated by reactive oxygen molecules（ROS）under oxidative stress and their relevance to human cancers，including ionizing radiation-induced neoplasia part I：physical，chemical and molecular biology aspects[J]. Radiation Medicine and Protection，2020，1(3)：140-152.

[3] SALEH E A M，AL-DOLAIMY F，QASIM ALMAJIDI Y，et al. Oxidative stress affects the beginning of the growth of cancer cells through a variety of routes[J]. Pathology，Research and Practice，2023，249：154664.

[4] HANCHI H，SEBEI K，MOTTAWEA W，et al. An agar-based bioassay for accurate screening of the total antioxidant capacity of lactic acid bacteria cell-free supernatants[J]. Journal of Microbiological Methods，2022，195：106437.

[5] RUAN L，LU L，ZHAO X Y，et al. Effects of natural antioxidants on the oxidative stability of *Eucommia ulmoides* seed oil：experimental and molecular simulation investigations[J]. Food Chemistry，2022，383：132640.

[6] 余梅，焦迎春. 柴达木大肥菇多糖的体内外抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(12)：101-109.
YU M，JIAO Y C. Study on *in vivo* and *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides from *Agaricus bitorquis*（Quél.）Sacc.[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(12)：101-109.(in Chinese)

[7] 陈荣荣，李文，吴迪，等. 大球盖菇风味肽的制备及其抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(10)：140-152.
CHENG R R，LI W，WU D. Preparation of flavor peptides from *Stropharia rugosoannulata* and study of their antioxidant activity[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(10)：140-152.(in Chinese)

[8] 陈誉，罗磊，王硕，等. 咖啡果壳多酚的提取及抗氧化和抗炎特性[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(8)：104-111.
CHEN Y，LUO L，WANG S，et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of polyphenols extracted from coffee cherry husks[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(8)：104-111.(in Chinese)

[9] ELENA TARNOK M，AGUILAR L F，BRAVO M A. Nonchromatographic analysis of polyphenols in red wine samples：evaluation of front-face fluorescence spectroscopy and third-order multivariate calibration to quantify catechin and epicatechin[J]. Microchemical Journal，2023，195：109506.

[10] SIDHU D，VASUNDHARA M，DEY P. The intestinal-level metabolic benefits of green tea catechins：mechanistic insights from pre-clinical and clinical studies[J]. Phytomedicine，2024，123：155207.

[11] 乔小燕，陈栋，刘仲华. 茶叶儿茶素的癌症化学预防增效机制研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2021，40(2)：1-9.
QIAO X Y，CHEN D，LIU Z H. Advances in synergistic mechanism of tea catechins on cancer chemoprevention[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40(2)：1-9.(in Chinese)

[12] AHMAD R，ALDHOLMI M，ALQATHAMA A，et al. The effect of natural antioxidants，pH，and green solvents upon catechins stability during ultrasonic extraction from green tea leaves（*Camellia sinensis*）[J]. Ultrasonics Sonochemistry，2023，94：106337.

[13] ANITHA S，KRISHNAN S，SENTHILKUMAR K，et al. A comparative investigation on the scavenging of 2，2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical by the natural antioxidants（+）-catechin and（-）-epicatechin[J]. Journal of Molecular Structure，2021，1242：130805.

[14] MENDOZA-WILSON A M，GLOSSMAN-MITNIK D. Theoretical study of the molecular properties and chemical reactivity of（+）-catechin and（-）-epicatechin related to their antioxidant ability[J]. Journal of Molecular Structure：THEOCHEM，2006，761(1/2/3)：97-106.

[15] ZHOU P F，TANG D B，ZOU J H，et al. An alternative strategy for enhancing stability and antimicrobial activity of catechins by natural deep eutectic solvents[J]. LWT-Food Science and Technology，2022，153：112558.

[16] ADINOLFI S，PATINEN T，JAWAHAR DEEN A，et al. The KEAP1-NRF2 pathway：targets for therapy and role in cancer[J]. Redox Biology，2023，63：102726.

[17] 王秋丹，赵凯迪，林长青. 沙棘多糖对胰岛素抵抗HepG2细胞氧化应激的保护作用与机制[J]. 食品与机械，2022，38(3)：167-172.
WANG Q D，ZHAO K D，LIN C Q. Study on the protective effect and mechanism of seabuckthorn polysaccharides on insulin-resistant HepG2 cells from oxidative stress[J]. Food & Machinery，2022，38(3)：167-172.(in Chinese)

[18] 张丽媛，刘丹丹，李海燕，等. 葡萄籽原花青素通过Nrf2信号通路拮抗高糖高脂诱导的MIN6细胞铁死亡[J]. 食品科学，2023，44(1)：140-148.
ZHANG L Y，LIU D D，LI H Y，et al. Grape seed procyanidin extract inhibited high glucose and high fat-induced ferroptosis through the Nrf2 signaling pathway in MIN6 cells[J]. Food Science，2023，44(1)：140-148.(in Chinese)

[19] XU Y Q，GAO Y，GRANATO D. Effects of epigallocatechin gallate，epigallocatechin and epicatechin

gallate on the chemical and cell-based antioxidant activity, sensory properties, and cytotoxicity of a catechin-free model beverage[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128060.

[20] 宋超群. 酿酒酵母孢子表面RNA绑定的机制及功能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.

[21] HU J W, HAN J Z, LI H R, et al. Human embryonic kidney 293 cells: a vehicle for biopharmaceutical manufacturing, structural biology, and electrophysiology [J]. Cells Tissues Organs, 2018, 205(1): 1-8.

[22] LUO Y. Application of proteomics mass spectrometry to the Keap1/Nrf2 chemoprevention pathway[D]. Chicago: University of Illinois at Chicago, 2008.

[23] MA X Q, LI Y Q, LV C Y, et al. Modulation of Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway by oxyresveratrol, a derivative of resveratrol from grape skin [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102162.

[24] 冷玥. 糖皮质激素受体介导的PAEs内分泌干扰效应的体外研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.

[25] SCHÄCKE H, REHWINKEL H, ASADULLAH K, et al. Insight into the molecular mechanisms of glucocorticoid receptor action promotes identification of novel ligands with an improved therapeutic index [J]. Experimental Dermatology, 2006, 15(8): 565-573.

[26] JOHANSSON M, JOHANSSON N, LUND B O. Xenobiotics and the glucocorticoid receptor: additive antagonistic effects on tyrosine aminotransferase activity in rat hepatoma cells[J]. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2005, 96(4): 309-315.

[27] 王海, 连燕娜, 高丽萍, 等. 儿茶素对顺铂所致人胚肾细胞氧化损伤的影响[J]. 癌变•畸变•突变, 2017, 29(1): 51-54.
WANG H, LIAN Y N, GAO L P, et al. Effect of catechin on cisplatin-induced oxidative damage in human embryonic kidney cells[J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2017, 29(1): 51-54.(in Chinese)

[28] JEDDI F, SOOZANGAR N, SADEGHI M R, et al. Contradictory roles of Nrf2/Keap1 signaling pathway in cancer prevention/promotion and chemoresistance [J]. DNA Repair, 2017, 54: 13-21.

[29] DELGADO M E, HAZA A I, GARCÍA A, et al. Myricetin, quercetin, (+)-catechin and (−)-epicatechin protect against *N*-nitrosamines-induced DNA damage in human hepatoma cells[J]. Toxicology in Vitro, 2009, 23(7): 1292-1297.

[30] 陆世华. HO-1下调导致细胞衰老及其表达调控的机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.

[31] 陈娟. Nrf2/ARE信号通路介导的原花青素对PC12细胞和斑马鱼模型神经保护作用机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2022.

[32] AL WASIDI A S, HASSAN A S, NAGLAH A M. *In vitro* cytotoxicity and druglikeness of pyrazolines and pyridines bearing benzofuran moiety [J]. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2020, 10(4): 142-148.

[33] YE F, LI X Y, LI L L, et al. The role of Nrf2 in protection against Pb-induced oxidative stress and apoptosis in SH-SY5Y cells [J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 86: 191-201.

[34] NIU Q, MU L T, LI S G, et al. Proanthocyanidin protects human embryo hepatocytes from fluoride-induced oxidative stress by regulating iron metabolism [J]. Biological Trace Element Research, 2016, 169(2): 174-179.

[35] HAN X, DING C H, ZHANG G D, et al. Liraglutide ameliorates obesity-related nonalcoholic fatty liver disease by regulating Sestrin2-mediated Nrf2/HO-1 pathway[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 525(4): 895-901.