

DOI: 10.13376/j.cblls/2024055

文章编号: 1004-0374(2024)04-0517-10

天然萝卜硫素的提取纯化及在伤口愈合中的研究进展

邓文文^{1,2}, 杨 寒^{1,2}, 周聪雨^{1,2}, 成心怡^{1,2}, 王 军^{1,2*}

(1 湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430068; 2 湖北工业大学孤独症抑郁症诊断与干预研究所, 武汉 430068)

摘要: 伤口愈合对维持皮肤的屏障功能以及保持所有其他皮肤功能至关重要。抗菌、抗炎、抗氧化是促进伤口愈合的三个关键途径。萝卜硫素(SFN)具有抗菌、抗炎、抗氧化等多种生物活性,是治疗伤口愈合的潜在药物。天然萝卜硫素提取纯化技术具有工艺简单、得率高等优势,植物提取来源的萝卜硫素在食品和药品等方面受到广泛关注。该综述整理了天然萝卜硫素的提取纯化技术并系统介绍了SFN在伤口愈合中的作用机制,为SFN的应用与科学研究提供借鉴。

关键词: 伤口愈合; 萝卜硫素提取与纯化; 抗菌; 抗炎; 抗氧化

中图分类号: TS255.1 **文献标志码:** A

Extraction and purification of sulforaphane and its research progress in wound healing

DENG Wen-Wen^{1,2}, YANG Han^{1,2}, ZHOU Cong-Yu^{1,2}, CHENG Xin-Yi^{1,2}, WANG Jun^{1,2*}

(1 Department of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; 2 Institute for Diagnosis and Intervention of Autism and Depression, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

Abstract: Wound healing is essential to maintain the barrier function of skin, as well as other protective properties. Antibacterial ingredients, anti-inflammatory ingredients and antioxidants are the three key ways to accelerate wound healing. Due to its antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant characteristics, sulforaphane (SFN) has been considered as a potential drug for wound healing. Since the extraction and purification methods are simple and yields are high, SFN derived from natural plant has received widespread attention in food and medicine industries. In this review, we summarized the extraction and purification techniques of natural SFN, and systematically described potential mechanisms of SFN in wound healing, which will provide insights for biomedical research and application of SFN.

Key words: wound healing; extraction and purification of sulforaphane; antibacterial; anti-inflammatory; antioxidant

伤口是正常皮肤在外界致伤因子作用下所导致的损害,常伴有皮肤完整性的破坏以及一定量正常组织的丢失^[1]。在伤口愈合过程中,过度的炎症持续破坏伤口组织延迟了伤口愈合^[2]。由细菌感染引起的慢性皮肤缺损严重影响生活质量,甚至威胁人们的生命。此外,细菌感染可触发活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的产生,还可干扰信号转导级联,破坏细胞内氧化还原平衡,间接破坏了细胞的保护性防御机制^[3]。据报道,发达国家的慢性伤口患病率为总人

口的1%~2%^[4]。因此,开发能够抗菌、抗炎和抗氧化的药物对促进伤口愈合有重要意义。抗生素类药物是促进伤口愈合的药物之一。数据显示,每开发一种抗生素,就会有一种微生物对它产生抗药性^[5]。抗生素耐药性是伤口愈合过程延长的主要原因之

收稿日期: 2023-10-12; 修回日期: 2023-11-09

基金项目: 湖北省教育厅青年人才项目(Q20201406);

国家级大学生创新创业项目(202210500016)

*通信作者: E-mail: jun_wang@hbut.edu.cn

一^[6]。而天然化合物因具备多种生物活性可促进伤口愈合,例如萝卜硫素(sulforaphane, SFN)^[7]、姜黄素^[8]、槲皮素^[9]、白藜芦醇^[10]可促进伤口愈合。与姜黄素、槲皮素、白藜芦醇相比, SFN 更有效地激活核转录相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 以诱导一系列细胞保护基因的表达。此外, 由于其亲脂性和低分子量, SFN 具有更高的生物利用度^[11]。SFN 的高生物利用度和显著的 Nrf2 诱导能力更有助于促进伤口愈合。

SFN 是一种富含硫的膳食植物化学物质, 存在于十字花科蔬菜中, 如西蓝花、花椰菜、羽衣甘蓝、抱子甘蓝和卷心菜等^[12]。SFN 具有抗氧化^[13]、抗炎^[14]、抗菌^[15]、抗病毒^[16]等多种活性。SFN 除了可以促进伤口愈合, 还在预防和治疗其他疾病中起着关键作用。例如中枢神经系统疾病^[17]、癌症^[18]、孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD)^[19]等。SFN 主要以其硫代葡萄糖苷前体萝卜硫苷 (glucoraphanin, GR) 的形式存在, 在植物组织或细胞受损后, 通过黑芥子酶 (硫代葡萄糖苷葡萄糖水解酶) 将 GR 水解为 SFN^[20]。提取纯化技术会影响到 SFN 的稳定性^[21] 和生物利用度^[22], 进而影响萝卜硫素的生物活性和促进伤口愈合的效果。此外, 由于天然 SFN 提取纯化技术具有工艺简单、成本低廉、产物天然、得率高、无有毒残留物、绿色安全等优势, 基于植物提取的 SFN 已成为功能性食品、饮料、化妆品和药品中非常有前途的功能成分。在网上商店 (<https://www.amazon.com>) 可以找到近 100 种含有 SFN 的产品^[20], 例如西蓝花 SFN 修护霜, 西蓝花 SFN 修护霜因具有抗炎活性可促进伤口愈合。因此, 人们对从植物中提取和纯化 SFN 有很大的兴趣。

近年来, 很多学者对天然 SFN 的提取与纯化进行了研究。此前许多综述论文讨论了 SFN 的提取纯化技术。例如, 张旋等^[23] 综述了萝卜硫素提取纯化及其抗癌功能研究进展。李秀霞等^[24] 综述了萝卜硫素和莱菔素提取、纯化及检测方法研究进展。这些文章综述了一些传统的提取纯化技术比如液液萃取、超声波辅助提取、制备液相色谱法纯化。但是未对新型提取纯化技术, 例如低共熔溶剂 (deep eutectic solvent, DES) 提取、高压辅助提取技术进行综述。此外, 国内外多项研究表明 SFN 可通过抗菌、抗氧化、抗炎促进伤口愈合, 但是相关的综述还未见报道。本文系统地介绍了天然 SFN 的提取纯化技术及其促进伤口愈合的机制, 有利于读者和研究

人员系统地了解 SFN 促进伤口愈合的机制并为 SFN 的应用与科学研究提供借鉴。

1 SFN的提取、纯化技术

1.1 SFN提取技术

1992 年, Zhang 等^[25] 首次从西蓝花中分离出 SFN。SFN 的分离让人们对该化合物的兴趣日益增加, 因此研究者们致力于研究 SFN 多种不同的制备方法。SFN 主要通过化学合成、半合成、植物提取三种方法制备。化学合成 SFN 最常用的合成途径之一是利用硫光气对胺进行异硫氰化^[26]。吴元峰等^[27] 将两种或多种简单化合物通过化学反应形成复杂化合物, 以邻苯二甲酰亚胺钾盐与 1,4-二溴丁烷为原料再通过腈解反应得到烷基胺, 最终与硫光气反应生成 SFN。由于化学合成法副产物多, 产率低, 反应条件难以控制, 故化学合成法实际应用少。半合成法主要是先合成或制备 SFN 的前体物质 GR。GR 主要是通过 GR 的结构类似物经氧化或在高温高压的条件下催化加氢的方法获得, 之后再通过生物方法如酶法将 GR 酶解成 SFN^[28]。半合成法合成步骤繁琐, 生产成本低。基于目前各种提取技术的成熟, SFN 的制备更偏向于植物提取。表 1 对 SFN 的提取技术进行了总结。

1.1.1 液液萃取

液液萃取 (liquid-liquid extraction, LLE) 是一种液体样品制备方法^[38]。由于其具有操作简单、设备简单等明显的优势, 液液萃取在环境、食品、生物分析等领域得到了广泛的应用^[38]。2021 年, González 等^[29] 从西蓝花中提取 SFN, 结果 SFN 回收率最高的提取条件为固液比 1:50, 萃取剂乙醇含量为 80%, 提取 70 min, 每 100 g (干重) 西蓝花中 SFN 回收率为 56.6 mg。本课题组前期研究了盐析辅助 DES 提取西蓝花中 SFN 的新方法^[20]。与已知的有机溶剂为基础的液液萃取相比, 基于 N_{8881} -Cl-EG 的 DES 法对 SFN 的萃取效率很高, 其中由于 KH_2PO_4 的盐析作用, 萃取效率有了显著提高。在最优条件下, N_{8881} -Cl-EG DES 法提取 SFN 的提取率为 97.77%。

1.1.2 超声辅助提取

超声辅助提取 (ultrasound-assisted extraction, UAE) 由于其能够通过声空化 (介质中微观气泡的快速振荡运动或破裂) 修饰植物结构而受到广泛关注, 植物细胞壁的破坏导致细胞内部化合物向萃取溶剂的释放增强^[39]。2020 年, Yu 等^[32] 从油菜中提取 SFN 并且优化了提取纯化效率的主要参数, 包括提取条

表1 SFN提取技术

方法	原料	提取条件	提取结果(mg/100 g DW)	参考文献
液液萃取	西蓝花	25 °C, 80%乙醇, 70 min	56.6	[29]
超声辅助提取	西蓝花	60 °C, 7 min	173.4	[30]
超声辅助提取	西蓝花	60 °C, 4 min	118.5 ± 3	[31]
超声辅助提取	油菜叶	45 °C, CH ₂ Cl ₂ , 固液比1:20 (g/mL), 2 h	0.02873 ± 0.00248	[32]
微波辅助提取	西蓝花	60 °C, 950 W	43.43605	[33]
微波辅助提取	卷心菜	54.1 °C, 120 W, 1 min	2.4 ± 0.8	[34]
微波超声辅助提取	西蓝花	超声180.1 W/dm ² , 微波500 W	301 ± 14	[35]
高压辅助提取	西蓝花	400 MPa, 15 min	154.79 ± 7.64	[36]
脉冲电场提取	西蓝花	电场强度10 KV/cm, 150 s	12.7 ± 0.71	[37]

件以及纯化吸附剂的种类和数量。结果 SFN 的检测限和定量限分别为 0.05 µg/kg 和 0.15 µg/kg。2020 年, Mahn 等^[31] 研究超声辅助漂烫对西蓝花小花黑芥子酶活性和 SFN 含量的影响, 结果在 60 °C、超声辅助焯水 4 min 时, 黑芥子酶活性最低, SFN 含量最高。2021 年, Shokri 等^[30] 用热超声 (TS) 对西蓝花小花进行预处理, 以促进酶催化 GR 转化为生物活性成分 SFN。热超声处理显著提高了 SFN 的产量。结果在 60 °C 下热超声处理 7 min 的西蓝花产量最高, 为未处理西蓝花的 2.9 倍, 比相同条件下无超声处理 (TP) 的相应产率高 15.8%。

1.1.3 微波辅助提取

微波辅助提取 (microwave-assisted extraction, MAE) 也引起了人们的兴趣, 因为微波能量能穿透某些材料并与极性组分相互作用后在材料内部产生热量, 导致细胞结构的破坏, 从而提高提取率^[40]。2013 年, Tanongkankit 等^[34] 用微波辅助提取法 (MAE) 从卷心菜中提取 SFN。他们考察了提取条件和在微波辅助提取之前部分干燥对 SFN 提取率的影响, 并与传统提取法进行了比较。结果表明, MAE 在较短的提取时间内获得较高的 SFN 提取率。2020 年, Lu 等^[33] 用微波烹饪增加了西蓝花中的 SFN 含量。高功率微波 (950 W) 在短时间内产生的 SFN 比低功率微波处理 (40 W) 高 475% 以上。2023 年, Zheng 等^[41] 研究了微波袋装蒸煮对西蓝花品质属性、硫代葡萄糖苷含量和水解产物产量的影响。结果微波袋装烹饪显著提高了西蓝花小花的 SFN 和吲哚-3-甲醇的产量。

1.1.4 微波超声辅助提取

与单独使用超声辅助提取或微波辅助提取相比, 微波超声辅助提取法可提取的生物活性化合物含量更高。这种增强是由于声波空化和微波辐射

在植物细胞内快速加热的共同作用^[42]。2019 年, Cao 等^[35] 比较了 70 °C 微波干燥 (500 和 900W) 和空气超声 (125.2 和 180.1 W/dm²) 辅助下西蓝花的干燥动力学和详细的植物化学特征。结果表明, 超声波干燥的西蓝花样品中 SFN 的含量高于微波干燥的样品。2022 年, Liu 等^[43] 将微波处理的西蓝花种子磨碎和脱脂, 然后用超声 (UAE) 同时水解和提取 SFN。结果表明, 微波预处理能促进 SFN 的生成, 用 UAE 同时水解和提取的方法, SFN 的提取率是传统提取方法的 4.07 倍。

1.1.5 高压辅助提取

据报道, 高压均质辅助提取 (high pressure homogenization, HPH) 可使颗粒尺寸减小, 并被用于制药、食品和其他材料制造业^[44]。HPH 可以破坏植物种子的细胞结构, 并帮助将生物活性化合物释放到细胞外环境中。2018 年, Xing 等^[45] 探究了用高压辅助提取方法从西蓝花种子中提取 SFN。结果在 5 000 psi 5 次高温高压下, 西蓝花种子中 SFN 的含量最高, 为 2 199 µg/g。2021 年, Ke 等^[36] 探讨了高静水压对西蓝花 SFN 含量的影响, 西蓝花样品用不同的压力和不同的时间处理, 结果在 400 MPa 下 15 min 生成大量的异硫氰酸酯。

1.1.6 其他提取方法

2021 年, Mahn 等^[37] 为了提高西蓝花中 SFN 的提取率, 建议用脉冲电场 (pulsed electric fields, PEF) 作为组织破碎方法补充传统的溶剂萃取, 从而降低蔬菜基质中的传质阻力。与传统萃取相比, PEF 可将 SFN 回收率提高 50% 以上。这一结果是在暴露于 PEF 150 s 和 10 kV/cm 时获得的。

1.2 SFN纯化技术

基于 SFN 的弱疏水性质, 在植物提取中很难得到较为纯净的 SFN。目前已有多种 SFN 纯化技术。

表 2 对 SFN 纯化技术进行了总结。

1.2.1 固相萃取(SPE)

固相萃取 (solid phase extraction, SPE) 被广泛应用于从不同类型的样品中提取各种分析物^[53]。基于液相色谱小型化的 SPE 具有成本低、吸附量大、操作简单、灵敏度好等优点^[54]。2019 年, Hafezian 等^[46] 研究利用 SBA-15 介孔二氧化硅分离纯化了西蓝花提取物中的天然 SFN。首先用二氯甲烷萃取西蓝花, 然后使用固相萃取 (SPE) 方法通过 SBA-15 介孔二氧化硅纯化 SFN。SBA-15 介孔二氧化硅法对西蓝花提取物中 SFN 的回收率可达 98% 以上, 高于现有的纯化方法。2021 年, Hafezian 等^[47] 提出了一种基于 SBA-15 的高效吸附 SFN 的新型材料。以天然二氧化硅为原料, 采用水热法制备了 SBA-15 纳米粒子, 并在合成后接枝了巯基和氨基。氨基功能化 SBA-15 (SBA-15-NH₂) 的吸附性能最好, 吸附效率最高可达 97% 左右。

1.2.2 制备液相色谱法

制备液相色谱法灵敏度高, 分离度高, 是常用的分离分析技术。2007 年, Liang 等^[48] 先用溶剂提取西蓝花种子获得粗提物, 然后固相萃取 (SPE) 分离和制备高效液相色谱 (HPLC) 纯化。与传统的液-液萃取法相比, 固相萃取法可提高粗提取物中 SFN 的收率。采用 C18 柱、30% 甲醇水溶液为流动相的制备高效液相色谱法, 可获得高纯度、高回收率的 SFN。

1.2.3 半制备液相色谱法

半制备液相色谱法灵敏度高, 可重复性好, 是常用的分离分析技术。2023 年, 李欢等^[49] 采用半制备高效液相色谱法进行 SFN 纯化。色谱条件: 色谱柱为 SinoChrom ODS-BP-C18 柱 (250 mm × 20.0 mm 10 μm)。检测波长为 254 nm。流动相为甲醇-水 (体积比 1:4) 等梯度洗脱, 流速为 9 mL·min⁻¹, 结果 SFN 的纯度为 95%。

1.2.4 高速逆流色谱法

高速逆流色谱 (high speed counter current chromatography, HSCCC) 具有以下优点: (1) 不吸附, 因此可以完全回收色谱样品; (2) 技术简单 (低压法); (3) 操作成本低。2008 年, Liang 等^[50] 为了制备大量高纯度 SFN, 研究了高速逆流色谱法 (HSCCC)。在没有任何初始清理步骤的情况下, 用 HSCCC 法成功地从西蓝花籽的乙酸乙酯萃取物中纯化出 SFN。采用正己烷/乙酸乙酯/甲醇/水 (1:5:1:5, v/v/v/v) 两相溶剂体系进行分离。从 850 mg 乙酸乙酯萃取物中, 用溶剂体系分离出 186 mg SFN。经 HPLC 分析, 纯化后的化合物纯度在 97% 以上。2021 年, Zhang 等^[55] 采用 HSCCC 从西蓝花提取物中分离多酚和 SFN。它们可以显著增加总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC) 和 NAD(P)H 醌氧化还原酶 1 (NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1) 活性 (P < 0.05)。

1.2.5 柱层析法

硅胶和大孔树脂柱层析分离纯化 SFN 具有成本相对较低, 易于再生, 适合大规模生产的优点。2018 年, García-Saldaña 等^[52] 采用一种从西蓝花种子中纯化 SFN 的新方法, 该方法分为三个连续步骤: (1) 水解和提取; (2) 粗提取物的吸附/解吸; (3) 漂白。结果 SFN 产量高达 40%。2023 年, 李奉钢等^[51] 研究 5 种大孔吸附树脂 (AB-8、XAD-2、DM301、HPD-300、HPD-700) 对 SFN 的吸附和解吸性能, 并探究加热温度、pH、光照、贮藏温度对 SFN 稳定性的影响。结果 XAD-2 树脂对 SFN 的纯化效果最好。经大孔树脂纯化后, SFN 的纯度由 39.67% 提高到 85.66%。

2 SFN在伤口愈合中的作用

伤口愈合是一个复杂的生理过程, 通常, 伤口愈合过程可分为四步, 包括止血、炎症、细胞增殖

表2 SFN纯化技术

方法	原料	纯化条件	纯度	参考文献
固相萃取法	西蓝花	SBA-15, 甲醇	94%	[46]
固相萃取法	/	SBA-15-NH ₂ , 二氯甲烷和乙腈	97%	[47]
制备液相色谱法	西蓝花种子	C18柱, 30%甲醇水溶液	99.1%	[48]
半制备液相色谱法	西蓝花种子	ODS-BP-C18, 20%甲醇水溶液	95%	[49]
高速逆流色谱法	西蓝花种子	正己烷/乙酸乙酯/甲醇/水(1:5:1:5, v/v/v/v)	97%	[50]
柱层析	西蓝花种子	XAD-2 树脂, 60%乙醇	85.66%	[51]
柱层析	西蓝花种子	硅胶柱, 无水乙醇	40%	[52]

和细胞外基质重塑^[56]。细菌感染、过度的炎症反应和氧化应激是延缓伤口愈合的三个关键问题。本文将从SFN的抗菌、抗炎和抗氧化三个层面介绍SFN在伤口愈合中的作用。SFN促进伤口愈合作用机制可用图1表示。

2.1 SFN的抗菌活性

伤口愈合延迟的主要原因之一是细菌感染, 这限制了恢复皮肤组织和功能完整性的过程。伤口感染常见的致病菌分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。SFN对两类致病菌均具有抑制作用。

2.1.1 SFN抑制革兰氏阳性菌

金黄色葡萄球菌是常见的共生病菌, 也是皮肤和软组织感染等感染性疾病的主要原因^[57]。巨噬细胞在先天免疫系统中发挥重要作用。2020年, Deramaudt等^[58]研究发现SFN预处理巨噬细胞可通过调节p38/JNK信号通路有效抑制金黄色葡萄球菌在细胞内存活。此外, SFN还抑制了金黄色葡萄球菌诱导的促炎细胞因子白介素IL-1 β 、IL-6和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 以及M1标记物C-C基元趋

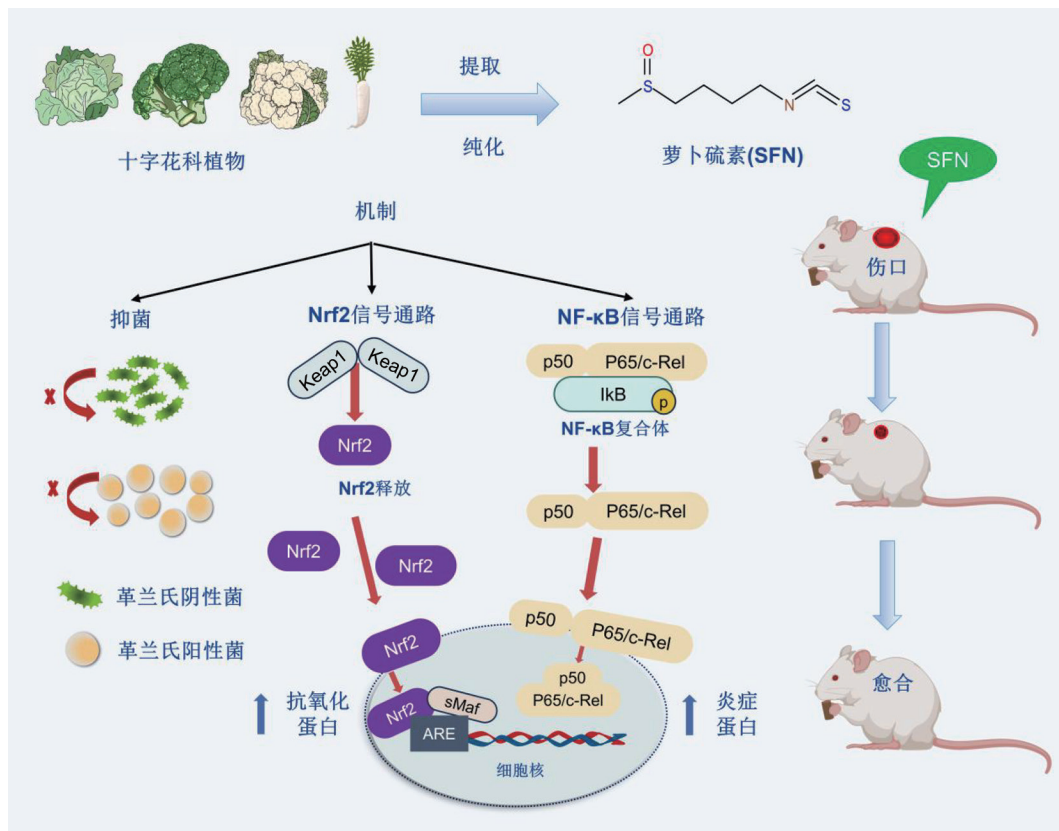
化因子受体7、IL-23和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)基因的转录表达。

白色念珠菌可以引起皮肤黏膜感染^[59]。2022年, Silva等^[60]进行了SFN抗白色念珠菌活性的计算机模拟和体外活性分析。在计算机分析中, 预测了SFN对血脑屏障和皮肤的渗透性以及药物的相似性的估计, 通过使用不同的软件进行。研究发现, SFN对白色念珠菌具有抗真菌活性, 并阻止了这种微生物的生物膜和菌丝形成。

2019年, Nowicki等^[61]研究发现SFN对枯草芽孢杆菌和细菌分离株如大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和粪肠球菌均有抗菌活性^[61]。

2.1.2 SFN抑制革兰氏阴性菌

铜绿假单胞菌(又称绿脓杆菌)对大多数抗菌药物不敏感, 故成为继发感染中的重要致病菌, 特别是大面积烧伤感染时, 伤口常不易愈合, 可引起难以控制的绿脓杆菌败血症^[62]。2022年, Janczewski^[26]报道SFN可以通过抑制铜绿假单胞



Nrf2: 核转录相关因子2; Keap1: Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白; ARE: 抗氧化反应元件; sMaf: 小Maf蛋白; NF- κ B: 核因子 κ B蛋白

图1 SFN促进伤口愈合的作用机制

菌群体感应(细菌之间通过自诱导剂进行交流的系统)从而发挥抗菌作用。

大肠杆菌单独致病力不大,若和其他致病菌在一起时,可造成严重的混合感染,如大面积烧伤感染、阑尾脓肿、急性胆囊炎等。SFN影响细胞膜的通透性,导致大肠杆菌内的小分子物质泄漏。2019年,Nowicki等^[61]观察到用SFN处理后,其RNA和DNA合成受到抑制,确认SFN损害了细胞质膜的完整性。

2.2 SFN的抗氧化活性

氧化应激是由于体内氧化剂和抗氧化防御系统之间的不平衡而发生的病理状况^[63]。在感染伤口中,ROS和RNS,如过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基($OH\cdot$)、超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)和一氧化氮自由基^[64-65]的过度积累可压倒天然抗氧化防御系统,加强炎症反应,从而延迟伤口愈合^[66],并引起瘢痕形成^[67-68]。

Nrf2是一种细胞内转录调节因子,Nrf2与多种生物活动有关,在机体的抗氧化系统中发挥重要作用。SFN间接增加Nrf2水平^[69]。SFN暴露于亲电氧化剂会导致Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1)内的关键半胱氨酸残基氧化,释放Nrf2并允许Nrf2核易位,在细胞核里它与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)或亲电反应元件(electrophile response element, EpRE)结合,促进抗氧化酶的转录激活。2020年,Ishida等^[70]研究发现SFN通过激活Nrf2调控抗氧化基因上调,如血红素加氧酶1(Heme oxygenase 1, HMOX1)、NQO1和谷胱甘肽S-转移谷胱甘肽S-转移酶mu3(glutathione S-transferase mu 3, GSTM3),增强体内抗氧化活性。SFN还可通过下调NADPH氧化酶1(NADPH oxidase 1, nNOX1)和NOX4,降低体内氧化水平。2019年,Chhunchha等^[71]研究发现SFN是转录因子Nrf2的激活因子,通过Nrf2介导的过氧化物还原素(Prdx6)调控抗氧化防御,影响细胞内稳态。

NFE2L2(核因子) γ /Nrf2被认为是SFN的靶点。NFE2L2/Nrf2是转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)的靶基因,TFEB是自噬和溶酶体功能的主要调节因子,2021年,Li等^[13]证明了SFN可以有效激活TFEB。激活的TFEB随后促进自噬体和溶酶体生物发生所需基因的表达,这些基因有助于清除受损的线粒体。因此,通过同时激活巨噬/自噬和解毒途径,天然化合物SFN可能触发细胞自我防御机制,有效减轻与许多疾病相关的氧化应激。

2020年,Akbari等^[72]使用理论化学研究了SFN与自由基的反应机理。三种反应机理分别是自由基加合物形成(RAF)、氢原子转移(HAT)和单电子转移。

2.3 SFN的抗炎活性

炎症反应是机体一种重要的免疫防御机制。当组织受到毒素/细菌的破坏、感染/受热或其他原因的伤害时,就会进入正常的自我保护和损伤修复状态。炎症反应是伤口愈合的重要过程。但是,如果炎症期延长,会导致病理状况并延缓伤口愈合。SFN可以通过抑制某些促进体内炎症的酶的活性来帮助减少炎症。

核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)调节参与炎症反应基因的表达。NF- κ B家族蛋白通常以同源或异源二聚体的形式存在,其中以p50 p65/c-Rel异源二聚体最为常见。如图1,当信号通路被激活时,NF- κ B抑制蛋白(inhibitor of NF- κ B, I κ B)被激酶复合物(IKK)磷酸化后降解。NF- κ B被释放易位到细胞核中。NF- κ B进入细胞核后,作为一个转录因子会诱导炎症基因的转录。SFN通过抑制NF- κ B核易位来抑制细胞的炎症和增殖^[73]。此外,SFN通过Nrf2非依赖性途径抑制多种炎症小体的激活^[74]。

2018年,Eren等^[75]研究发现SFN通过细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路诱导Nrf2活化,抑制脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的促炎细胞因子、肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 和白细胞介素-6的分泌。2019年,Subedi等^[76]研究发现丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导在细胞活化和炎症中起关键作用,在SFN处理后,急性和慢性活化小胶质细胞的MAPK磷酸化水平显著降低,炎症介质(iNOS、COX-2、NO和PGE2)和促炎细胞因子(TNF- α 、IL-6和IL-1 β)的表达降低。2022年,Du等^[77]研究发现SFN可通过减少炎症和氧化应激,对咪喹莫特(imiquimod, IMQ)诱导的银屑病样小鼠和狼疮样MRL/Lpr小鼠具有显著的治疗作用。

3 问题和思考

3.1 SFN稳定性

SFN的提取一般需要切碎、加热及酸碱溶液提取等过程。SFN的提取过程影响其稳定性。切碎会加速SFN的流失。加热会导致SFN的分解和氧化,严重影响其有效性。pH对SFN粗提物稳定性影响

最大, 碱性条件促进其降解^[21]。2021年, Yuanfeng等^[78]报道西蓝花加工过程中黑芥子酶活性和SFN的损失可以通过补充其他十字花科植物(如芥菜、辣根、萝卜等)的外源黑芥子酶来中和。此外, 适度的微波和蒸煮也是提高SFN产量的方法。

3.2 SFN的生物利用度

SFN的剂量根据给药途径和所检测的疾病而变化。在动物研究中, SFN通过三种途径给药: 口服、外用和内服。最广泛使用的路径是口服。虽然, 口服途径SFN通常具有良好的耐受性, 但是SFN水溶性差, 口服生物利用度较低^[79]。大多数SFN在不改变的情况下被排出体外, 2011年, Clarke等^[80]研究发现在给药24h后的尿液中可发现70%~75%的SFN。因此, 开发适合SFN的药物传递系统十分重要, 该系统可以提高生物利用度, 从而提高SFN在作用部位的浓度。基于SFN的纳米递送药物可以促进伤口愈合。例如, 2020年, Cristiano等^[81]开发了含有SFN的超变形囊泡作为治疗皮肤癌的潜在天然纳米药物, 体外研究表明SFN的经皮渗透增加。2023年, Hemati等^[82]提出了一种含有萝卜硫素(SFN)的纳米脂质体作为纳米药物递送系统, 该系统被封装在支架水凝胶系统中, 以促进伤口愈合。萝卜硫素负载纳米脂质体(SFNL)的毒性低于游离SFN。2023年, Lee等^[83]研究发现SFN和负载腺苷的金修饰沸石分子筛纳米复合材料的细胞存活率均超过80%。SFN的金修饰沸石分子筛纳米复合材料能够改善皮肤表面皱纹深度和降低皮肤表面黑色素含量。

3.3 SFN的剂量

SFN在以SFN的前体形式给药时和作为SFN本身给药时的生物利用度非常不同^[84], 因此剂量的选择变得复杂。过量的使用或不当的用法可能会导致副作用。SFN剂量越高, 不良事件报告数量越多, 主要是恶心、胃灼热或其他胃肠道不适。2021年, Fahey等^[85]建议将24h(2~3个半衰期)内尿液中萝卜硫素代谢物(萝卜硫素+萝卜硫素半胱氨酸-甘氨酸+萝卜硫素半胱氨酸+萝卜硫素N-乙酰半胱氨酸)的排泄量作为选择剂量的方式。

4 展望

SFN具有抗菌、抗炎、抗氧化等多种生物活性, 在多种疾病中起到了有利的调节作用, 但还需要提高SFN的生物利用度和稳定性。此外, 目前SFN在临床使用上仍存在剂量选择方面的困难。未来我

们将开发基于SFN的纳米递送药物和新的提取纯化技术用于提高SFN在伤口部位的浓度和SFN的稳定性, 并尝试将24h(~3个半衰期)内尿液中萝卜硫素代谢物(萝卜硫素+萝卜硫素半胱氨酸-甘氨酸+萝卜硫素半胱氨酸+萝卜硫素N-乙酰半胱氨酸)的排泄量作为选择剂量的方式。

[参 考 文 献]

- [1] Shewaye DG, Kahaliw W, Mulaw Belete T, et al. Evaluation of wound healing and anti-inflammatory activities of 80% methanol crude extract and solvent fractions of *Trichilia dregeana* Sond (Meliaceae) leaves in mice. *Evid Based Compl Alt*, 2023, 2023: 9980866
- [2] Hong YK, Chang YH, Lin YC, et al. Inflammation in wound healing and pathological scarring. *Adv Wound Care*, 2023, 12: 288-300
- [3] Wu K, Fu M, Zhao Y, et al. Anti-oxidant anti-inflammatory and antibacterial tannin-crosslinked citrate-based mussel-inspired bioadhesives facilitate scarless wound healing. *Bioact Mater*, 2023, 20: 93-110
- [4] 李静如, 王江玲, 王蔚. 慢性伤口照护的卫生经济学评价研究进展. *护理学杂志*, 2022, 37: 109-12
- [5] Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, et al. Chitosan as a wound dressing starting material: antimicrobial properties and mode of action. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 5889
- [6] Farzaei MH, Derayat P, Pourmanouchehri Z, et al. Characterization and evaluation of antibacterial and wound healing activity of naringenin-loaded polyethylene glycol/polycaprolactone electrospun nanofibers. *J Drug Delivery Sci Technol*, 2023, 81: 104182
- [7] Wei J, Zhao Q, Zhang Y, et al. Sulforaphane-mediated Nrf2 activation prevents radiation-induced skin injury through inhibiting the oxidative-stress-activated DNA damage and NLRP3 inflammasome. *Antioxidants*, 2021, 10: 1850
- [8] Kumari A, Raina N, Wahi A, et al. Wound-healing effects of curcumin and its nanoformulations: a comprehensive review. *Pharmaceutics*, 2022, 14: 2288
- [9] Kant V, Jangir BL, Kumar V, et al. Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by modulation of different cytokines and growth factors. *Growth Factors*, 2020, 38: 105-19
- [10] Jia Y, Shao JH, Zhang KW, et al. Emerging effects of resveratrol on wound healing: a comprehensive review. *Molecules*, 2022, 27: 6736
- [11] Mahn A, Castillo A. Potential of sulforaphane as a natural immune system enhancer: a review. *Molecules*, 2021, 26: 752
- [12] Vanduchova A, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Isothiocyanate from *Broccoli*, *Sulforaphane*, and its properties. *J Med Food*, 2019, 22: 121-6
- [13] Li D, Shao R, Wang N, et al. Sulforaphane activates a lysosome-dependent transcriptional program to mitigate oxidative stress. *Autophagy*, 2021, 17: 872-87

- [14] Mazarakis N, Snibson K, Licciardi PV, et al. The potential use of l-sulforaphane for the treatment of chronic inflammatory diseases: a review of the clinical evidence. *Clin Nutr*, 2020, 39: 664-75
- [15] Krause K, Pyrczak-Felczykowska A, Karczewska M, et al. Dietary isothiocyanates, sulforaphane and 2-phenethyl isothiocyanate, effectively impair vibrio cholerae virulence. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 10187
- [16] Ordonez AA, Bullen CK, Villabona-Rueda AF, et al. Sulforaphane exhibits antiviral activity against pandemic SARS-CoV-2 and seasonal HCoV-OC43 coronaviruses *in vitro* and in mice. *Commun Biol*, 2022, 5: 242
- [17] Uddin MS, Mamun AA, Jakaria M, et al. Emerging promise of sulforaphane-mediated Nrf2 signaling cascade against neurological disorders. *Sci Total Environ*, 2020, 707: 135624
- [18] AL-Ishaq RK, Overy AJ, Büsselberg D. Phytochemicals and gastrointestinal cancer: cellular mechanisms and effects to change cancer progression. *Biomolecules*, 2020, 10: 105
- [19] Zimmerman AW, Singh K, Connors SL, et al. Randomized controlled trial of sulforaphane and metabolite discovery in children with Autism Spectrum Disorder. *Mol Autism*, 2021, 12: 38
- [20] Deng WW, Mei XP, Cheng ZJ, et al. Extraction of weak hydrophobic sulforaphane from broccoli by salting-out assisted hydrophobic deep eutectic solvent extraction. *Food Chem*, 2023, 405: 134817
- [21] Zhang S, Ying DY, Cheng LJ, et al. Sulforaphane in broccoli-based matrices: effects of heat treatment and addition of oil. *LWT*, 2020, 128: 109443
- [22] Treasure K, Harris J, Williamson G. Exploring the anti-inflammatory activity of sulforaphane. *Immunol Cell Biol*, 2023, 101: 805-28
- [23] 张璇, 田明硕, 王健, 等. 萝卜硫素提取纯化及其抗癌功能研究进展. *食品工业科技*, 2022, 43: 424-34
- [24] 李秀霞, 曲杨, 励建荣, 等. 萝卜硫素和菜菔素提取、纯化及检测方法研究进展. *现代食品科技*, 2023, 39: 324-30
- [25] Zhang Y, Talalay P, Cho CG, et al. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 2399-403
- [26] Janczewski L. Sulforaphane and its bifunctional analogs: synthesis and biological activity. *Molecules*, 2022, 27: 1750
- [27] 吴元锋, 徐维亮, 申雨珂, 等. 萝卜硫素制备及纯化工艺研究进展. *食品工业科技*, 2016, 37: 381-6
- [28] Iori R, Bernardi R, Gueyrard D, et al. Formation of glucoraphanin by chemoselective oxidation of natural glucorucin: A chemoenzymatic route to sulforaphane. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9: 1047-8
- [29] González F, Quintero J, Del Río R, et al. Optimization of an extraction process to obtain a food-grade sulforaphane-rich extract from broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Molecules*, 2021, 26: 4042
- [30] Shokri S, Jegasothy H, Augustin MA, et al. Thermosonication for the production of sulforaphane rich broccoli ingredients. *Biomolecules*, 2021, 11: 321
- [31] Mahn A, Quintero J, Castillo N, et al. Effect of ultrasound-assisted blanching on myrosinase activity and sulforaphane content in broccoli florets. *Catalysts*, 2020, 10: 616
- [32] Yu X, Ma F, Zhang L, et al. Extraction and quantification of sulforaphane and indole-3-carbinol from rapeseed tissues using QuEChERS coupled with UHPLC-MS/MS. *Molecules*, 2020, 25: 2149
- [33] Lu YJ, Pang XY, Yang TB. Microwave cooking increases sulforaphane level in broccoli. *Food Sci Nutr*, 2020, 8: 2052-8
- [34] Tanongkankit Y, Sablani SS, Chiewchan N, et al. Microwave-assisted extraction of sulforaphane from white cabbages: Effects of extraction condition, solvent and sample pretreatment. *J Food Eng*, 2013, 117: 151-7
- [35] Cao Y, Tao Y, Zhu XH, et al. Effect of microwave and air-borne ultrasound-assisted air drying on drying kinetics and phytochemical properties of broccoli floret. *Drying Technol*, 2020, 38: 1733-48
- [36] Ke YY, Shyu YT, Wu SJ. Evaluating the anti-inflammatory and antioxidant effects of broccoli treated with high hydrostatic pressure in cell models. *Foods*, 2021, 10: 167
- [37] Mahn A, Comett R, Segura-Ponce LA, et al. Effect of pulsed electric field-assisted extraction on recovery of sulforaphane from broccoli florets. *J Food Process Eng*, 2021, 45: e13837
- [38] Jiang H, Yang S, Tian H, et al. Research progress in the use of liquid-liquid extraction for food flavour analysis. *Trends Food Sci Tech*, 2023, 132: 138-49
- [39] Umego EC, He RH, Ren WB, et al. Ultrasonic-assisted enzymolysis: principle and applications. *Process Biochem*, 2021, 100: 59-68
- [40] Chaves JO, de Souza MC, da Silva LC, et al. Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Front Chem*, 2020, 8: 507887
- [41] Zheng W, Wang W, Fu D, et al. Microwave bag cooking affects the quality, glucosinolates content and hydrolysate production of broccoli florets. *Food Res Int*, 2023, 164: 112401
- [42] Lasunon P, Sengkhampan N. Effect of ultrasound-assisted, microwave-assisted and ultrasound-microwave-assisted extraction on pectin extraction from industrial tomato waste. *Molecules*, 2022, 27: 1157
- [43] Liu Y, Zhang D, Li X, et al. Enhancement of ultrasound-assisted extraction of sulforaphane from broccoli seeds via the application of microwave pretreatment. *Ultrason Sonochem*, 2022, 87: 106061
- [44] Gali L, Bedjou F, Velikov KP, et al. High-pressure homogenization-assisted extraction of bioactive compounds from *Ruta chalepensis*. *J Food Meas Charact*, 2020, 14: 2800-9
- [45] Xing JJ, Cheng YL, Chen P, et al. Effect of high-pressure homogenization on the extraction of sulforaphane from broccoli (*Brassica oleracea*) seeds. *Powder Technol*, 2019, 358: 103-9
- [46] Hafezian SM, Azizi SN, Biparva P, et al. High-efficiency

- purification of sulforaphane from the broccoli extract by nanostructured SBA-15 silica using solid-phase extraction method. *J Chromatogr B*, 2019, 1108: 1-10
- [47] Hafezian SM, Biparva P, Bekhradnia A, et al. Amine and thiol functionalization of SBA-15 nanoparticles for highly efficient adsorption of sulforaphane. *Adv Powder Technol*, 2021, 32: 779-90
- [48] Liang H, Li C, Yuan Q, et al. Separation and purification of sulforaphane from broccoli seeds by solid phase extraction and preparative high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem.*, 2007, 55: 8047-53
- [49] 李欢, 陈雄, 康慧枝, 等. 西蓝花种子中分离纯化萝卜硫素及残留溶剂的方法学验证. *沈阳药科大学学报*, 2023, 40: 1078-84
- [50] Liang H, Li C, Yuan Q, et al. Application of high-speed countercurrent chromatography for the isolation of sulforaphane from broccoli seed meal. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 7746-9
- [51] 李奉钢, 刘艳冰, 钟泽雨, 等. 西蓝花种子中萝卜硫素的纯化及其稳定性研究. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14: 275-82
- [52] García-Saldaña JS, Campas-Baypoli ON, Sánchez-Machado DI, et al. Separation and purification of sulforaphane (1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl) butane) from broccoli seeds by consecutive steps of adsorption-desorption-bleaching. *J Food Eng*, 2018, 237: 162-70
- [53] Chisvert A, Cárdenas S, Lucena R. Dispersive micro-solid phase extraction. *Trac-Trend Anal Chem*, 2019, 112: 226-33
- [54] Wang D, Chen X, Feng J, et al. Recent advances of ordered mesoporous silica materials for solid-phase extraction. *J Chromatogr A*, 2022, 1675: 463157
- [55] Zhang Y, Lv C, Sun J, et al. Protective effects of broccoli extracts and sulforaphane against hydrogen peroxide induced oxidative stress in B16 cells. *J Funct Foods*, 2021, 87: 104833
- [56] Mathew-Steiner SS, Roy S, Sen CK. Collagen in wound healing. *Bioengineering(Basel)*, 2021, 8: 63
- [57] Shrestha LB, Syangtan G, Basnet A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Nepal. *J Nepal Med Assoc*, 2021, 59: 518-22
- [58] Deramautd TB, Ali M, Vinit S, et al. Sulforaphane reduces intracellular survival of *Staphylococcus aureus* in macrophages through inhibition of JNK and p38 MAPK-induced inflammation. *Int J Mol Med*, 2020, 45: 1927- 41
- [59] d'Enfert C, Kaune AK, Alaban LR, et al. The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives. *FEMS Microbiol Rev*, 2021, 45: fuaa060
- [60] Silva BLR, Simão G, Campos CDL, et al. *In silico* and *in vitro* analysis of sulforaphane anti-candida activity. *Antibiotics(Basel)*, 2022, 11: 1842
- [61] Nowicki D, Maciąg-Dorszyńska M, Bogucka K, et al. Various modes of action of dietary phytochemicals, sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, on pathogenic bacteria. *Sci Rep*, 2019, 9: 13677
- [62] Elmassy MM, Mudaliar NS, Colmer-Hamood JA, et al. New markers for sepsis caused by *Pseudomonas aeruginosa* during burn infection. *Metabolomics*, 2020, 16: 40
- [63] Daenen K, Andries A, Mekahli D, et al. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*, 2019, 34: 975-91
- [64] Zhang S, Li Y, Qiu X, et al. Incorporating redox-sensitive nanogels into bioabsorbable nanofibrous membrane to acquire ROS-balance capacity for skin regeneration. *Bioact Mater*, 2021, 6: 3461-72
- [65] Thi PL, Lee Y, Tran DL, et al. *In situ* forming and reactive oxygen species-scavenging gelatin hydrogels for enhancing wound healing efficacy. *Acta Biomater*, 2020, 103: 142-52
- [66] Cano Sanchez M, Lancel S, Boulanger E, et al. Targeting oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the treatment of impaired wound healing: a systematic review. *Antioxidants(Basel)*, 2018, 7: 98
- [67] Kong X, Fu J, Shao K, et al. Biomimetic hydrogel for rapid and scar-free healing of skin wounds inspired by the healing process of oral mucosa. *Acta Biomater*, 2019, 100: 255-69
- [68] Wu H, Li F, Wang S, et al. Ceria nanocrystals decorated mesoporous silica nanoparticle based ROS-scavenging tissue adhesive for highly efficient regenerative wound healing. *Biomaterials*, 2018, 151: 66-77
- [69] Dana AH, Alejandro SP. Role of sulforaphane in endoplasmic reticulum homeostasis through regulation of the antioxidant response. *Life Sci*, 2022, 299: 120554
- [70] Ishida K, Kaji K, Sato S, et al. Sulforaphane ameliorates ethanol plus carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice through the Nrf2-mediated antioxidant response and acetaldehyde metabolism with inhibition of the LPS/TLR4 signaling pathway. *J Nutr Biochem*, 2020, 89: 108573
- [71] Chhunchha B, Kubo E, Singh DP. Sulforaphane-induced Klf9/Prdx6 axis acts as a molecular switch to control redox signaling and determines fate of cells. *Cells*, 2019, 8: 1159
- [72] Akbari E, Namazian M. Sulforaphane: a natural product against reactive oxygen species. *Comput Theor Chem*, 2020, 1183: 112850
- [73] Subedi L, Lee JH, Gaire BP, et al. Sulforaphane inhibits MGO-AGE-mediated neuroinflammation by suppressing NF- κ B, MAPK, and AGE-RAGE signaling pathways in microglial cells. *Antioxidants(Basel)*, 2020, 9: 792
- [74] Zhang Y, Gilmour A, Ahn YH, et al. The isothiocyanate sulforaphane inhibits mTOR in an NRF2-independent manner. *Phytomedicine*, 2021, 86: 153062
- [75] Eren E, Tufekci KU, Isci KB, et al. Sulforaphane inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation, cytotoxicity, oxidative stress, and miR-155 expression and switches to Mox phenotype through activating extracellular signal-regulated kinase 1/2-nuclear factor erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element pathway in murine microglial cells. *Front Immunol*, 2018, 9: 36
- [76] Subedi L, Lee JH, Yumnam S, et al. Anti-inflammatory effect of sulforaphane on LPS-activated microglia

- potentially through JNK/AP-1/NF- κ B inhibition and Nrf2/HO-1 activation. *Cells*, 2019, 8: 194
- [77] Du P, Zhang W, Cui H, et al. Sulforaphane ameliorates the severity of psoriasis and SLE by modulating effector cells and reducing oxidative stress. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 805508
- [78] Yuanfeng W, Chengzhi L, Ligen Z, et al. Approaches for enhancing the stability and formation of sulforaphane. *Food Chem*, 2021, 345: 128771
- [79] Mangla B, Javed S, Sultan MH, et al. Sulforaphane: a review of its therapeutic potentials, advances in its nanodelivery, recent patents, and clinical trials. *Phytother Res*, 2021, 35: 5440-58
- [80] Clarke JD, Hsu A, Williams DE, et al. Metabolism and tissue distribution of sulforaphane in Nrf2 knockout and wild-type mice. *Pharm Res*, 2011, 28: 3171-9
- [81] Cristiano MC, Froiio F, Spaccapelo R, et al. Sulforaphane-loaded ultradeformable vesicles as a potential natural nanomedicine for the treatment of skin cancer diseases. *Pharmaceutics*, 2020, 12: 6
- [82] Hemati H, Haghirsadat F, Hemati M, et al. Design and evaluation of liposomal sulforaphane-loaded polyvinyl alcohol/polyethylene glycol (PVA/PEG) hydrogels as a novel drug delivery system for wound healing. *Gels*, 2023, 9: 748
- [83] Lee S, Lee G, Jeon G, et al. Anti-aging and lightening effects of Au-decorated zeolite-based biocompatible nanocomposites in epidermal delivery systems. *J Funct Biomater*, 2023, 14: 66
- [84] Yagishita Y, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT, et al. Broccoli or sulforaphane: is it the source or dose that matters? *Molecules*, 2019, 24: 3593
- [85] Fahey JW, Kensler TW. The challenges of designing and implementing clinical trials with broccoli sprouts and turning evidence into public health action. *Front Nutr*, 2021, 8: 648788