曹明未, 庞玉新, 魏永耀, 等. 刺梨纳米囊泡的制备、表征及其抗氧化、降血糖与抗毒溶血活性研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 153−161. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040349

CAO Mingwei, PANG Yuxin, WEI Yongyao, et al. Preparation, Characterization of *Rosa roxburghii* Tratt. Nanovesicles and Its Antioxidant, Hypoglycemic, and Antihemolytic Activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 153−161. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040349

· 研究与探讨 ·

刺梨纳米囊泡的制备、表征及其抗氧化、降血糖与抗毒溶血活性研究

曹明未[1], 庞玉新[1,*], 魏永耀[2], 王甜甜[1], 邓芳雪[1], 刘炳楠[1], 刘　畅[1,*]

(1.贵州中医药大学药学院, 贵州贵阳 550025;
2.广东药科大学药学院, 广东广州 510006)

摘　要: 为深入研究刺梨来源纳米囊泡（*Rosa roxburghii* Tratt.-derived nanovesicles，RDNs）的结构特征及其活性，对其进行分离提取及表征，并探究其抗氧化、降血糖及抗金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*，*S. aureus*）外毒素溶血活性。采用超速差速离心法提取 RDNs，通过透射电镜（TEM）观察形态，结合 BCA 法、薄层色谱法和 RNA 提取等方法分别检测蛋白质、脂质和 RNA 的成分及浓度。利用 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除体系评估抗氧化能力，检测 RDNs 对 *α*-葡萄糖苷酶和 *α*-淀粉酶的抑制能力以评估降血糖活性，以 2% 大鼠红细胞为研究对象，将实验分为空白对照组、阳性对照组、*S. aureus*-EVs（*S. aureus*-derived extracellular vesicles）组、RDNs 组和 RDNs+*S. aureus*-EVs 组，检测 RDNs 的体外抗溶血率。结果表明，RDNs 平均粒径为 155.27±1.39 nm，Zeta 电位为−8.60±0.64 mV，−80 ℃ 保存 12 d 稳定，4 ℃ 保存 6 d 以内稳定，超过 6 d 则粒径显著变化（$P<0.01$），pH 为 1.2 时粒径无显著变化（$P>0.05$），pH 为 6.5 时粒径变化显著（$P<0.05$）；RDNs 含蛋白质（5.50±0.00 mg/mL）、脂质（4.23±0.40 mg/mL）和 RNA（3.91±1.97 μg/mL），蛋白分布于 24、50~70、70 kDa，脂质类成分复杂，其中含有植物甾醇类和卵磷脂类。在 0~212.30 mg/mL 范围内，RDNs 对 DPPH、$ABTS^+$自由基的清除效果与浓度呈正相关，且其对两种自由基的半抑制浓度（IC_{50}）分别为 112.90 和 64.38 mg/mL，此外，当浓度为 212.30 mg/mL 时，RDNs 对 $ABTS^+$自由基的清除率可达 99.80%；对 *α*-葡萄糖苷酶和 *α*-淀粉酶的抑制率分别为 48% 和 21%，但其活性显著低于阳性药组（$P<0.01$）；RDNs 组溶血率趋近于 0，*S. aureus*-EVs 组溶血率为 64%，RDNs+*S. aureus*-EVs 组溶血率为 8%，显著低于 *S. aureus*-EVs 组（$P<0.01$）。刺梨纳米囊泡具有抗氧化、降血糖活性且能发挥抗 *S. aureus* 外毒素溶血的作用，为其在抗氧化领域和天然抗菌剂领域的潜在应用奠定了基础。

关键词: 刺梨, 纳米囊泡, 生物活性, 金黄色葡萄球菌, 外毒素

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)08−0153−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040349

本文网刊:

Preparation, Characterization of *Rosa roxburghii* Tratt. Nanovesicles and Its Antioxidant, Hypoglycemic, and Antihemolytic Activities

CAO Mingwei[1], PANG Yuxin[1,*], WEI Yongyao[2], WANG Tiantian[1], DENG Fangxue[1], LIU Bingnan[1], LIU Chang[1,*]

(1.School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;
2.School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

收稿日期: 2025−04−27

基金项目: 国家中医药管理局高水平重点学科建设项目（zyyzdxk-2023186）; 贵州省正品药材种质资源库设备建设项目（正品药材优势特色产业集群（中药材产业集群））（3411-411000163）; 贵州中医药大学喀斯特药用资源保护与创新利用科技创新人才团队项目（GZY TD Hezi [2022]001）; 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题（QZYY-2025-071）。

作者简介: 曹明未（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药民族药开发研究, E-mail: 960276010@qq.com。

*** 通信作者:** 庞玉新（1975−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药民族药开发研究, E-mail: pyxmarx@126.com。
刘畅（1988−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药民族药开发研究, E-mail: 19liuchang@163.com。

Abstract: To deeply investigate the structural characteristics and activities of nanovesicles derived from *Rosa roxburghii* Tratt. (RDNs), they were isolated, extracted, and characterized. Additionally, their antioxidant, hypoglycemic, and anti-hemolytic activities against *Staphylococcus aureus* exotoxin were explored. The RDNs were isolated using ultracentrifugation, and their morphology was characterized through transmission electron microscopy (TEM). The protein, lipid, and RNA composition/concentrations were quantified employing the BCA assay, thin-layer chromatography (TLC), and RNA extraction kits, respectively. The antioxidant capacity was assessed using DPPH and $ABTS^+$ radical scavenging assays, while the hypoglycemic activity was evaluated through *α*-glucosidase and *α*-amylase inhibition assays. Using 2% rat erythrocytes as the research object, the experiment was divided into blank control group, positive control group, *S. aureus*-EVs group, RDNs group, and RDNs+*S. aureus*-EVs group, and *in vitro* anti-hemolytic rate of RDNs was detected. The results indicated that RDNs had an average hydrodynamic diameter of 155.27±1.39 nm, a Zeta potential of −8.60±0.64 mV, and maintained stability at −80 ℃ for 12 days. The particles remained stable during the first 6 days of storage at 4 ℃, but exhibited significant particle size changes after surpassing the 6-day mark (P<0.01). Particle size remained unchanged (P>0.05) at pH1.2, while pH6.5 showed significant change in particle size (P<0.05). Biochemical analysis uncovered the presence of protein (5.50±0.00 mg/mL), lipid (4.23±0.40 mg/mL), and RNA (3.91±1.97 μg/mL). Notably, protein bands were observed at 24, 50~70, and 70 kDa. Lipid components exhibited an intricate composition, which included phytosterols and lecithins. Concentration-dependent (0~212.30 mg/mL) scavenging of DPPH and $ABTS^+$ radicals was observed, with the half-inhibitory concentrations (IC_{50}) for the two radicals being 112.90 and 64.38 mg/mL, respectively. Additionally, when the concentration reached 212.30 mg/mL, the RDNs were capable of eliminating 99.80% of $ABTS^+$. The *α*-glucosidase and *α*-amylase inhibition rates were 48% and 21%, respectively, significantly lower than positive controls (P<0.01). The hemolysis rates were nearly 0 in the RDNs group, 64% in the *S. aureus*-EVs group, and 8% in the RDNs+*S. aureus*-EVs group, which was significantly lower than that in the *S. aureus*-EVs group (P<0.01). The RDNs had antioxidant and hypoglycemic activities and could exert anti-hemolytic effects against *S. aureus* exotoxins, laying a foundation for their potential applications in the fields of antioxidants and natural antibacterial agents.

Key words: *Rosa roxburghii* Tratt.; nanovesicles; bioactivity; *Staphylococcus aureus*; exotoxin

植物来源纳米囊泡(plant-derived nanovesicles, PDEVs)是植物向胞外分泌的 30~1000 nm 膜性囊泡,具有多组分、多功能、生物安全性高、易被生物体吸收等特点[1]。其中中草药植物来源的纳米囊泡(Chinese herbal medicine-derived nanovesicles, CHMDNs)粒径为 30~400 nm,组成成分多为脂质、蛋白质、核酸等活性分子[2−3],在植物各生理活动中起到关键作用。研究表明,CHMDNs 蕴含中草药的绝大部分活性成分,具有与原植物相似的抗炎、抗癌、抗氧化等活性[4−6]。随着 CHMDNs 的分离鉴定技术及功能研究持续深入,其在医学领域的应用潜力正逐步显现。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)是临床常见的革兰氏阳性致病菌,其分泌的由囊泡包裹的外毒素,可通过直接破坏宿主细胞或干扰免疫应答加剧感染进程,其中 *α*-溶血素(*α*-hemolysin, Hla)是引发溶血效应及组织损伤的核心毒性蛋白[7−8]。与传统抗毒素策略相比,CHMDNs 可避免化学合成载体的免疫原性风险,其表面丰富的生物活性分子还能协同调节免疫反应,增强毒素中和效率[9]。因此,从中草药中寻找新型的具有可抗金黄色葡萄球菌外毒素活性的 CHMDNs 是有效途径之一。

刺梨是蔷薇科蔷薇属植物缫丝花(*Rosa roxburghii* Tratt.)的成熟果实[10],是贵州省极具地域特色的中药及民族药[11]。目前,贵州省刺梨种植面积已达 1456 平方千米,产量居全国前列,实现了 31.61 亿元产值[12],产业规模可观。刺梨生长于贵州独特的喀斯特地貌环境,为药食两用重要来源,蕴含着丰富且独特的天然活性成分。研究表明,刺梨具有抗氧化[13]、抗菌[14] 等活性,具有成为可抗金黄色葡萄球菌外毒素活性的 CHMDNs 的潜力。现阶段对新鲜刺梨的研究主要集中于刺梨化学成分鉴定[15]、刺梨白粉病研究[16] 与保鲜和贮藏技术[17] 等方面。开展新鲜刺梨在纳米囊泡领域的研究,不仅能够从中寻找新型的具有可抗金黄色葡萄球菌外毒素活性的 CHMDNs,且有利于打破 CHMDNs 现有研究材料在特色地域植物方面的局限性,拓展 CHMDNs 的现有研究谱系。基于此,本研究以贵州特色药食两用民族药鲜刺梨为研究对象,对其来源纳米囊泡(RDNs)的提取方法和药学性能展开初步探索,重点聚焦于 RDNs 的稳定性、抗氧化性及抗菌性能,旨在为 RDNs 的后续深入研究奠定基础,为阐释该中药药效物质基础提供参考依据,进而推动贵州特色药食同源植物的开发利用,助力地区经济发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)(ATCC 25923) 美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC);刺梨采摘于贵州省贵阳市花溪区党武镇路边寨,经贵州中医药大学刘畅副教授鉴定为蔷薇科蔷薇属植物缫丝花(*Rosa roxburghii* Tratt.)的成熟果实;磷酸缓冲盐溶液(PBS)(WHB824F098) 武汉普诺赛生命科技

有限公司；BCA 试剂盒（CR2405090）、Triton X-100（104H051）　武汉塞维尔生物科技有限公司；RNA 提取试剂盒（X1024）　天根生化科技有限公司；MH 琼脂培养基（240513A30）　广东环凯微生物科技有限公司；LB 肉汤（20231025）　上海博微生物科技有限公司；可溶性淀粉（C16246498，纯度＞99.0%）、L-抗坏血酸（维生素 C）（C16303394，纯度＞99.0%）、阿卡波糖水合物（C16594482，纯度为 98%）、4-硝基苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷（C15134401）　山东科源生化有限公司；1.1-二苯基-2-苦基肼（DPPH）（S04IS224966，纯度为 98%）、α-葡萄糖苷酶（S10050，酶活≥50U/mg）、高峰 α-淀粉酶（N20IS 232564，酶活≥4000U/g）　上海源叶生物科技有限公司；DNS 试剂（240007004）　北京索莱宝科技有限公司；无水乙醇（20240608）　分析纯，成都金山化学试剂有限公司。

CNSVC-TAS-WI-LSC102 型高速落地离心机、Sorvall Legend Micro 17R 型高速冷冻离心机　美国 Thermo Fisher Scientific 公司；L18-P161 型九阳榨汁机　九阳股份有限公司；1530 型全波全长酶标仪　美国 Thermo Fisher Scientific 公司；HH-6 型数显恒温水浴锅、LC-HN-25BS 型电热恒温培养箱　上海力辰邦西仪器科技有限公司；Zetasizer Lab 型马尔文 Zetasizer 粒径仪　英国马尔文公司；IMS-50 型全自动雪花制冰机　常熟市雪科电器有限公司；NanoPhotometer N60 Touch 型超微量核酸蛋白测定仪　德国 IMPLEN 公司；JEM-1400FLASH 透射电子显微镜　日本电子株式会社（JEOL）；SK8210 HP 型超声波清洗器　上海科导超声仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　刺梨 RDNs 的提取　参考文献 [18−20] 方法，选择超速差速离心法提取 RDNs，提取全过程保持温度为 4 ℃。称取 200 g 新鲜刺梨洗净榨汁，按照 1∶1（v/v）加入预冷 1×PBS（pH7.4），4000×g 低速低温离心 1 h 去渣，取上清；10000×g 中速低温离心 1 h 去细胞碎片等，取上清；100000×g 高速低温离心 1.5 h，弃上清，取沉淀；加入适量 PBS，100000×g 高速低温离心 1.5 h，取沉淀，加入 1 mL PBS 分散重悬即得 RDNs（图 1）。RDNs 得率（%）计算公式为：

$$得率(\%) = m_1/m_2 \times 100$$

式中，m_1 为提取物质量，m_2 为提取所用原料质量。

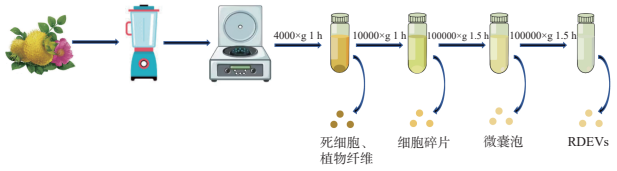


图 1　RDNs 的提取流程

Fig.1　Extraction process of RDNs

1.2.2　粒径检测　取 RDNs 适量，1×PBS 稀释至一定浓度，使用马尔文 Zetasizer 粒径仪测定平均粒径、多分散系数（poly dispersity index，PDI）及 Zeta 电位。

1.2.3　透射电镜（TEM）测试　取 20 μL RDNs，滴于铜网上，静置 3 min 后室温晾干，扣置于 2% 磷钨酸溶液内染色 2 min，用滤纸吸干多余染液后室温干燥置于透射电镜 200 kV 电压下成像。

1.2.4　组成成分鉴定

1.2.4.1　脂质成分鉴定　参考刘贵龙[21] 的方法并稍作修改，向 1.5 mL EP 管中加入氯仿∶甲醇∶RDNs=8∶4∶3 溶液，混匀后 10000×g 离心 10 min，收集最下层脂质，100 ℃ 烘干，氯仿重悬，采用薄层色谱法检测样品中的脂质，并根据样品点样斑点的迁移距离、展开系统、显色反应特异性及显色斑点面积或亮度与标准品（参照物）点样斑点作对比进行初步定性和定量分析。

1.2.4.2　蛋白质成分鉴定　参考李思敏等[22] 的方法并稍作修改，取 RDNs 1 mL，加 RIPA 裂解液 0.5 mL，涡旋，冰上静置 15 min，4 ℃、1256.64 rad/s 离心 15 min，取上清。利用 BCA 法测定样品中的蛋白质含量（μg/mL）。以牛血清蛋白（BSA）为标准品绘制标准曲线，回归方程为 y=0.0477x+0.1172，决定系数 R^2=0.9979。

SDS-凝胶电泳实验：根据试剂盒说明制备 10% 凝胶，制胶完成后，取 RDNs 蛋白质样品 5 μL 于 1.5 mL EP 管中，加入 1 μL 5×蛋白质上样缓冲液，轻轻盖上盖子混匀，沸水浴 10 min，取出，冷却至室温；以每孔 5 μL 的上样量上样，180 V 恒定电压电泳 40 min，电泳结束后将胶取出，显影，拍照，根据蛋白质分子量标准判断 RDNs 蛋白质样品的大小。

1.2.4.3　核酸含量分析　采用 RNA 提取试剂盒对 RDNs 的 RNA 进行提取，使用超微量核酸蛋白测定仪测定 RNA 含量，−80 ℃ 冷冻保存。

1.2.5　稳定性考察

1.2.5.1　不同温度下的稳定性　将 RDNs 分装后分别置于 4 和−80 ℃，于第 3、6、9、12 d，测定粒径变化。

1.2.5.2　不同 pH 下的稳定性　将 RDNs 在 pH1.2（模拟胃液）和 pH6.5（模拟肠液）中孵育 30 min，以 ddH_2O 中的 RDNs 作为对照，测定粒径变化。

1.2.6　RDNs 结构破坏　利用 TritonX-100 和超声仪分别对 RDNs 结构进行化学和物理破坏。取 RDNs 1 mL 于 1.5 mL EP 管中，加入 TritonX-100 1 μL 常温反应 30 min，进行化学解构；取 RDNs 1 mL 于 1.5 mL EP 管中，超声 30 min，进行物理解构。

1.2.7　抗氧化活性

1.2.7.1　DPPH 自由基清除率测定　参考王春霞[23] 的方法并稍作修改，避光精密称取 0.04 mg DPPH

(1-1-二苯基-2-苦基肼),溶于 1 mL 无水乙醇中,获得浓度为 0.04 mg/mL DPPH 溶液,避光保存,备用。吸取浓度为 212.30 mg/mL 的 RDNs 样品进行梯度稀释至不同浓度后(212.30、106.15、53.08、26.54、13.27、6.63、3.32、1.66、0.83 mg/mL),各浓度 RDNs 样品各取 20 μL 与 180 μL DPPH 无水乙醇溶液(0.04 mg/mL)混合后加入到 96 孔板中,同时以相同浓度抗坏血酸(V_C)为阳性对照,平行实验 3 次,室温避光反应 30 min,于 517 nm 波长处测定吸光度(A)值,计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = [1-(A_1-A_2)/A_0]\times 100$$

式中,A_0 为无 RDNs(空白对照)时 DPPH 自由基溶液的吸光度值;A_1 为 DPPH 自由基溶液在 RDNs 存在下的吸光度值;A_2 为 RDNs 在无水乙醇溶液中的吸光度值。

1.2.7.2 $ABTS^+$自由基清除率测定 参考 Yuan 等[24]的方法并稍作修改,取 5 mL 的 7.40 mmol/L 的 $ABTS^+$溶液与 88 μL 的 2.60 mmol/L 的 $K_2S_2O_8$ 溶液混合,避光室温放置 12 h 后得到 $ABTS^+$工作液,加入适量蒸馏水稀释使其在波长 734 nm 处吸光度为 0.70±0.02 时,备用。吸取浓度为 212.30 mg/mL 的 RDNs 样品进行梯度稀释至不同浓度后(212.30、106.15、53.08、26.54、13.27、6.63、3.32、1.66、0.83 mg/mL),各浓度 RDNs 样品各取 20 μL 与 180 μL 的 $ABTS^+$溶液混合后加入到 96 孔板中,同时以相同浓度抗坏血酸(V_C)为阳性对照,平行实验 3 次,室温避光反应 3 h 后,于 734 nm 处测吸光度(A)值,并计算 $ABTS^+$自由基清除率。

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%) = [1-(A_1-A_2)/A_0]\times 100$$

式中,A_0 为无 RDNs(空白对照)时 $ABTS^+$自由基溶液的吸光度值;A_1 为 $ABTS^+$自由基溶液在 RDNs 存在条件下吸光度值;A_2 为 RDNs 在蒸馏水中的吸光度值。

1.2.8 降血糖活性

1.2.8.1 RDNs 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用 参考王春霞[23]的方法并稍作修改,称取 212.30 mg 的阿卡波糖溶于 1 mL 蒸馏水中,备用。准确量取浓度为 212.30 mg/mL 的 RDNs 溶液 1 mL,并使用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后按照表 1 添加剂量于 96 孔板,每组设置 3 个复孔,先加入缓冲液、RDNs 和 37 ℃ 水浴的酶液,于 37 ℃ 反应 15 min 后取出;加入 PNPG 溶液,于 37 ℃ 条件反应 25 min;最后加入 Na_2CO_3 溶液终止反应。以阿卡波糖为阳性对照实验,于 405 nm 处测定吸光度(A),计算抑制率,平行实验 3 次。

表 1 RDNs 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用实验试剂添加量

Table 1 Dosage of reagents added to the experiment for inhibition of α-glucosidase by RDNs

组别	药物反应组	药物对照组	空白反应组	空白对照组
RDNs/阿卡波糖(μL)	40	40	−	−
蒸馏水(μL)		−	40	40
酶液(μL)	40	−	40	−
缓冲液(μL)	−	40	−	40
PNPG(μL)	60	60	60	60
Na_2CO_3溶液(μL)	60	60	60	60

注:“−”表示未添加;表2~表3同。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = (A_{空}-A_{样})/A_{空}\times 100$$

式中,$A_{空}=A_{空白反应组}-A_{空白对照组}$;$A_{样}=A_{药物反应组}-A_{药物对照组}$。

1.2.8.2 RDNs 对 α-淀粉酶的抑制实验 参考王春霞[23]的方法并稍作修改,称取 212.30 mg 的阿卡波糖溶于 1 mL 蒸馏水中,备用。准确量取浓度为 212.30 mg/mL 的 RDNs 溶液 1 mL,并使用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后按照表 2 添加剂量添加到 1.5 mL EP 管中:先加入 300 μL α-淀粉酶溶液、100 μL 样品溶液(RDNs 或阿卡波糖溶液),于 37 ℃ 水浴 5 min;再加入 400 μL 淀粉溶液,混合均匀后于 37 ℃ 水浴 5 min;最后加入 200 μL DNS 试剂,沸水浴 5 min 后取出,冷却至室温,添加蒸馏水使溶液稀释 25 倍;混匀加样至 96 孔板,每孔 200 μL,设 3 个复孔,于 540 nm 测定吸光度,计算抑制率,平行实验 3 次。

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}(\%) = (A_{空}-A_{样})/A_{空}\times 100$$

式中,$A_{空}=A_{空白反应组}-A_{空白对照组}$;$A_{样}=A_{药物反应组}-A_{药物对照组}$。

表 2 RDNs 对 α-淀粉酶的抑制作用实验试剂添加量

Table 2 Dosage of reagents added to the experiment for inhibition of α-amylase by RDNs

组别	药物反应组	药物对照组	空白反应组	空白对照组
RDNs/阿卡波糖(μL)	100	100	−	−
蒸馏水(μL)	−	−	100	100
酶液(μL)	300	−	300	−
缓冲液(μL)	−	300	−	300
1%淀粉(μL)	400	400	400	400
DNS液(μL)	200	200	200	200

1.2.9 RDNs 抗 *S. aureus*-derived extracellular vesicles (*S. aureus*-EVs)活性研究

1.2.9.1 RDNs 平板抑菌实验 吸取 100 μL 浓度为 1.5×10^8 CFU/mL 菌液加入装有 1 mL 浓度为 212.30 mg/mL 的 RDNs 悬液 EP 管混匀后,放入 37 ℃ 培养箱中培养 24 h,取出观察 EP 管中溶液状态,并吸取 100 μL 混合溶液均匀滴于平板上,使用涂布器摊涂均匀,放入 37 ℃ 培养箱中培养 24 h,取出观察并拍照记录。

1.2.9.2 RDNs 体外抗 *S. aureus*-EVs 溶血实验 参考 Tan 等[9]的方法,取制备好的菌液上清过 0.45 μm 过滤器后,滤液加入 100 kDa 超滤管中,在 4000×g 低温条件下过滤 30 min,得滤液即为 *S. aureus*-EVs,

保存至−80 ℃ 备用。取 5 只 1.5 mL 的 EP 管，分为 5 个组，组别分别为空白对照（PBS）组、阳性对照（H_2O）组、*S. aureus*-EVs 组、RDNs 组、RDNs+*S. aureus*-EVs 组，向每组不同 EP 管中加入表 3 所示的溶液后，在 37 ℃ 度下，静置 1 h，251.33 rad/s 离心 5 min，取上清，加入到 96 孔板中，每组设置 3 个复孔，于酶标仪上测波长在 540 nm 处的吸光度（A）值，并计算溶血率，计算公式为：

$$溶血率(\%) = (A_{样品} - A_{空白})/A_{阳性}$$

表 3　RDNs 体外抗溶血实验试剂添加量

Table 3　Dosage of additives for *in vitro* anti-hemolysis experiment of RDNs

项目	空白对照组	阳性对照组	*S. aureus*-EVs组	RDNs组	RDNs+*S. aureus*-EVs组
2%红细胞溶液（μL）	360	360	360	360	360
PBS（μL）	360	–	300	60	–
H_2O（μL）	–	360	–	–	–
S.aureus-EVs（μL）	–	–	60	–	60
RDNs（μL）	–	–	–	300	300

1.3　数据处理

每个实验均重复 3 次及以上，数据结果以均值±标准差（$\bar{x}$±s）表示，采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析，组间数据采用单因素方差分析，P<0.05 表示显著性差异。

2　结果与分析

2.1　RDNs 的提取

超速差速离心提取得到的 RDNs 紧贴离心管底管壁，呈黄棕色状（图 2A），得率约为 0.11%；RDNs 粒径分布曲线对称性较好（图 2B），平均粒径为 155.27±1.39 nm，PDI 值为 0.08±0.03 小于 0.30，Zeta 电位为−8.60±0.64 mV，说明 RDNs 粒子分布稳定均一；从 TEM 图可以观察到 RDNs 具有明显膜状结构，呈典型的茶托或杯盘状囊泡样，符合植物来源纳米囊泡鉴别特征[25−26]。

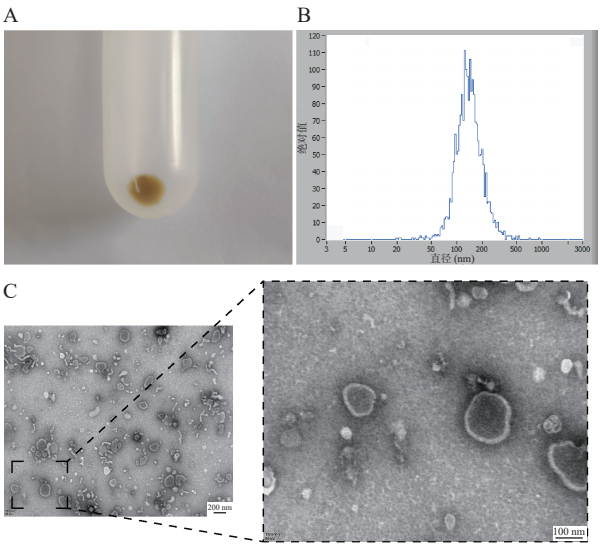


图 2　RDNs 的提取

Fig.2　Extraction of RDNs

注：A：RDNs 的形态；B：RDNs 的粒径分布图；C：RDNs 的 TEM（左图标尺 200 nm，右图标尺 100 nm）。

2.2　RDNs 组成成分表征

实验测得 RDNs 的脂质、蛋白质、核酸含量分别为 5.50±0.00 mg/mL、4.23±0.40、3.91±1.97 μg/mL，RDNs 组分中所含有的物质与文献 [27] 结论一致；RDNs 中所含蛋白质在 24、50~70、70 kDa 均有分布（图 3A）；采用薄层色谱法（图 3B）分析可知，RDNs 含多种脂质类成分，其中有植物甾醇类、卵磷脂类。

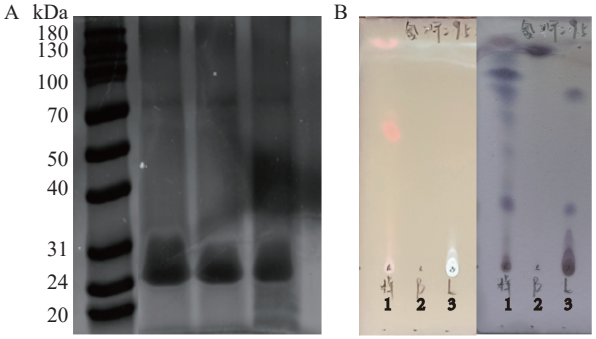


图 3　RDNs 的组成成分

Fig.3　Components of RDNs

注：A：RDNs 蛋白分布图；B：RDNs 脂质类别分布图（左侧为在紫外下有荧光脂质类成分的斑点；右侧为在正常光下其他无荧光脂质类成分的斑点）；泳道 1 为 RDNs 样品，泳道 2 为 *β*-谷甾醇标准品，泳道 3 为卵磷脂标准品。

2.3　稳定性测试结果

2.3.1　温度稳定性考察　利用马尔文 Zetasizer 粒径仪监测 RDNs 在 4 和−80 ℃ 环境存放相同天数的粒径变化。结果表明，在 12 d 内不同温度对 RDNs 的影响显著。在−80 ℃ 条件下，RDNs 存放 12 d 以内的粒径相对稳定（图 4A）；在 4 ℃ 下，存放 6 d 内 RDNs 的粒径无显著变化，6 d 后，粒径骤增（P<0.01）（图 4B）。

2.3.2　pH 稳定性考察　刺梨为药食两用植物，且其通常为口服给药，为了评价 RDNs 在胃肠液中的稳定性，分析其在胃肠液中发挥药效的作用是否与 RDNs 有关，分别配制 pH1.2 和 pH6.5 的模拟胃液和肠液酸度环境，测定 RDNs 在两种不同环境下的粒径变化。结果表明，不同 pH 对 RDNs 粒径的影响有显著性差异，RDNs 的粒径在 pH6.5 中显著增加（P<0.05），在 pH1.2 中变化不显著，结果表明 RDNs 在模拟的肠液酸性环境中，粒径明显变化，这意味着性质极有可能会被改变，而胃液环境对 RDNs 的影响不显著（图 4C）。

2.3.3　RDNs 的结构破坏　对 RDNs 采用化学和物理两种方法进行结构破坏，通过测定其粒径的变化，判断结构破坏是否对 RDNs 的粒径有影响。结果显示，经过结构破坏后，超声破坏组 RDNs 的粒径变化

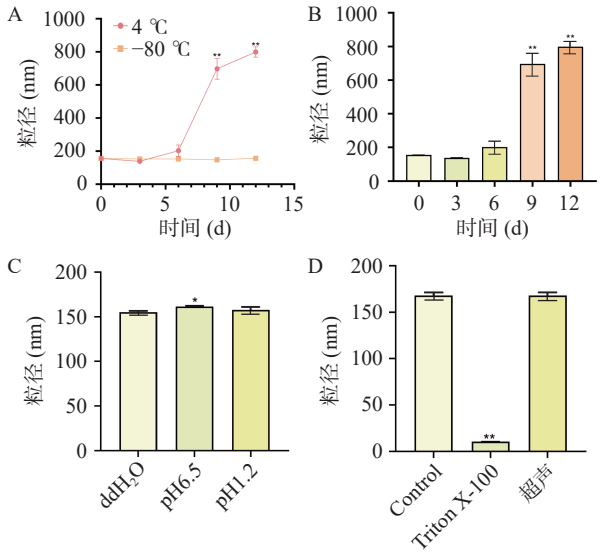


图 4　RDNs 的稳定性

Fig.4　Stability of RDNs

注: A: RDNs 不同温度下的粒径随时间的变化; B: 4 ℃ 下 RDNs 粒径随时间的变化; C: RDNs 不同 pH 下的粒径变化; D: RDNs 结构破坏后的粒径变化; 图 A 中, **表示与−80 ℃ 组相比数据差异显著, P<0.01; 图 B 中, **表示与 0 d 相比数据差异显著, P<0.01; 图 C 中, *表示与 ddH_2O 组相比数据差异显著, P<0.05; 图 D 中, **表示与空白对照组相比数据差异显著, P<0.01。

不显著, TritonX-100 组的粒径显著变小(P<0.01), 表明 RDNs 的结构更容易受到化学试剂的影响, 推测化学试剂的存在对 RDNs 的性质可能会产生影响(图 4D)。

2.4　RDNs 的活性研究

2.4.1　抗氧化活性　将超速差速离心提取法所提取得到的 212.30 mg RDNs 重悬于 1 mL 1×PBS 制成浓度为 212.30 mg/mL RDNs 悬液, 分别测定其 DPPH 自由基清除率、$ABTS^+$自由基清除率。结果表明, 在 0~212.30 mg/mL 范围内, 随着 RDNs 浓度的增加, 其对 DPPH 自由基和 $ABTS^+$自由基的清除率逐渐增强, 浓度与清除效果呈正相关, 存在一定浓度依赖性, 且当浓度为 212.30 mg/mL 时, RDNs 对 DPPH 自由基与 $ABTS^+$自由基的最高清除率分别为 58.20% 和 99.80%(图 5A、图 5B)。经计算, 阳性对照药 V_C 和 RDNs 对 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 0.38 和 112.90 mg/mL; 阳性对照药 V_C 和 RDNs 对 $ABTS^+$自由基的 IC_{50} 值分别为和 0.021 和 64.38 mg/mL, 表明 RDNs 的抗氧化活性较好。

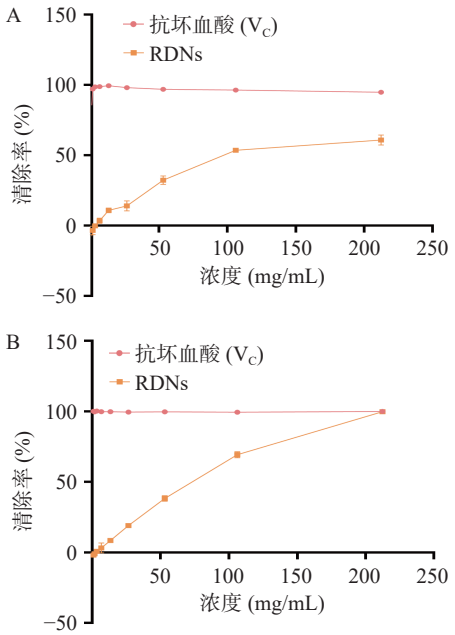


图 5　RDNs 的抗氧化活性

Fig.5　Antioxidant activity of RDNs

注: A: RDNs 对 DPPH 自由基的清除率; B: RDNs 对 $ABTS^+$自由基的清除率。

2.4.2　降血糖活性　测定浓度为 212.30 mg/mL 的 RDNs 悬液对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的抑制作用。实验结果显示(表 4), RDNs 对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶均有抑制作用, 但与阳性药组相比, RDNs 的抑制作用明显较低, 表明 RDNs 虽表现出一定的降血糖活性, 但显著低于阳性药(P<0.01), 提示其降血糖活性可能并非主要通过抑制这两种酶实现。

表 4　RDNs 对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的抑制作用

Table 4　Inhibitory effects of RDNs on α-glucosidase and α-amylase

组别	对α-葡萄糖苷酶的抑制作用(%)	对α-淀粉酶的抑制作用(%)
阿卡波糖组	99.91±0.01	94.12±9.95
RDNs组	48.37±1.54**	21.32±9.36**

注: 与阳性药组相比, **表示P<0.01。

2.4.3　RDNs 抗菌活性　结果表明, RDNs 对 *S. aureus* 无直接杀灭或者抑制作用(图 6A); RDNs 体外抗 *S. aureus*-EVs 溶血实验结果显示(图 6B), 与空

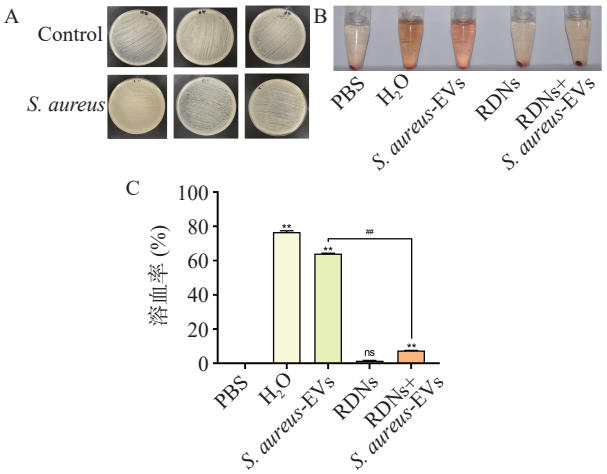


图 6　RDNs 抗菌活性

Fig.6　Antibacterial activity of RDNs

注: A: RDNs 平板抑菌实验; B: RDNs 体外抗溶血实验; C: RDNs 体外抗溶血实验溶血率; **表示与空白对照组相比, P<0.01; ##表示与 *S. aureus*-EVs 组相比, P<0.01, ns 表示无显著差异。

白组相比，*S. aureus*-EVs 组、阳性组和 RDNs+*S. aureus*-EVs 组均出现了不同程度的溶血，RDNs 组无溶血现象，*S. aureus*-EVs 组溶血现象显著（$P<0.01$），RDNs+*S. aureus*-EVs 组有轻微溶血现象；各组溶血率结果显示（图 6C），*S. aureus*-EVs 组和 RDNs+*S. aureus*-EVs 组具有显著性差异（$P<0.01$），表明 RDNs 具有良好的抗溶血能力，因此，可以推测 RDNs 对 *S. aureus* 并无直接抑制作用，而是可以对 *S. aureus* 所产生外毒素的溶血作用发挥抑制作用，从而间接达到抗菌的效果。

3　讨论

本研究系统探究了刺梨纳米囊泡（RDNs）的稳定性、抗氧化活性、酶抑制活性及抗金黄色葡萄球菌外毒素溶血作用，结果表明，RDNs 稳定性受温度、pH 及化学试剂影响明显，在模拟胃液酸性环境下粒径更稳定；其对 DPPH、$ABTS^+$自由基清除能力呈显著浓度依赖性，表现出优异的体外抗氧化活性；对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的抑制效果弱于阳性药物；对 *S. aureus* 无直接抑菌作用，但可显著抑制其外毒素介导的溶血效应，整体证实刺梨纳米囊泡可继承原植物部分活性，且作用机制与原植物存在明显差异。

本研究发现，RDNs 稳定性更易受化学试剂影响，物理因素对其结构破坏程度相对较低，与细胞外囊泡的稳定性规律一致[28]。同时，RDNs 在模拟胃液中粒径更稳定，提示其口服后可在胃部较好维持结构，但在肠道环境中可能发生结构改变，进而影响体内生物利用度，为后续口服递送与功能开发提供了重要依据。

在活性评价中，RDNs 展现出优异的抗氧化能力，在 0~212.30 mg/mL 范围内清除率随浓度升高而增强，$ABTS^+$自由基清除率最高可达 99.80%，显著优于生姜、大蒜、柠檬等多种植物来源纳米囊泡[20]，印证了植物纳米囊泡可继承原植物药理活性的结论[29−31]。但 RDNs 对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的抑制效果显著低于阳性药，推测原因主要包括囊泡中活性成分含量与纯度有限、致密膜结构阻碍了有效物质释放、作用靶点与通路不同于阳性抑制剂等[32−36]。后续可通过质谱技术对 RDNs 进行成分鉴定与定量分析，采用物理或化学手段破碎膜结构以验证物质释放对酶抑制活性的影响，并开展体内实验进一步明确其降糖相关效果。

在抗菌机制研究中，金黄色葡萄球菌可通过释放外毒素引发溶血、炎症等致病效应[37]，本研究发现 RDNs 不直接抑制或杀灭金黄色葡萄球菌，却能显著阻断其外毒素的溶血作用，说明 RDNs 并非依靠杀菌发挥功效，而是通过中和或干扰外毒素实现保护作用，与刺梨原植物直接抑菌的机制截然不同，推测其可能通过囊泡间特异性结合实现功能调控。相较于传统抗生素易引发耐药性与菌群失衡问题，靶向阻断细菌外毒素的策略更具应用前景[9]。本研究首次报道刺梨纳米囊泡的抗氧化与抗外毒素活性，为药食同源植物纳米囊泡的功能挖掘提供了新依据。但研究仍存在不足，RDNs 的关键活性成分、作用靶点、体内代谢途径及酶抑制活性提升策略仍需深入探索，相关体内药效与安全性评价也有待完善。

4　结论

本研究对新鲜刺梨进行超速差速离心提取并制备得 RDNs。RDNs 平均粒径为 155.27±1.39 nm，呈典型双层膜囊泡样结构，最佳存放条件为−80 ℃中性环境中 12 d 以内；在模拟的肠液酸度环境下粒径会显著变化，在模拟的胃液酸度环境下粒径无显著差异；RDNs 的结构对物理破坏的承受力显著强于化学破坏；同时 RDNs 具有显著的抗氧化活性，且在一定浓度范围内，存在明显剂量依赖性，但其降血糖活性不显著，推测可能与其成分特性、作用机制以及环境适应性等多方面因素相关，后续可进行更深入探讨；RDNs 对 *S. aureus* 无直接抑制作用，而是可以对 *S. aureus* 的外毒素产生抑制作用，从而间接对 *S. aureu* 产生抑制作用。综上所述，本研究从刺梨中成功提取并制备 RDNs 并初步证实其具有显著抗氧化和抗 *S. aureus* 溶血的作用，丰富了对药食两用民族药刺梨的认识，拓展了 CHMDNs 现有研究谱系，同时为天然抗菌剂的研发提供了参考依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 赵清，王通，赵可伟. 中草药囊泡研究与应用专家共识（2023 年版）[J]. 中草药，2024, 55(1): 12−22. [ZHAO Q, WANG T, ZHAO K W. Consensus statement on research and application of Chinese herbal medicine derived extracellular vesicles (2023 edition)[J]. Chinese Herbal Medicines, 2024, 55(1): 12−22.]

[2] 赵梦，李思敏，张蕾，等. 植物来源囊泡及其生物医学应用研究进展[J]. 药学学报，2021, 56(8): 2039−2047,2036. [ZHAO M, LI S M, ZHANG L, et al. Research progress of plant-derived vesicles and their biomedical applications[J]. Acta Pharm Sin, 2021, 56(8): 2039−2047,2036.]

[3] HUANG Z Y, EWELINA P, BRADLEY J W, et al. Impact of abiotic stress on miRNA profiles in tomato-derived extracellular vesicles and their biological activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 319.

[4] XIAO Q, ZHAO W, WU C T, et al. Lemon-derived extracellular vesicles nanodrugs enable to efficiently overcome cancer multidrug resistance by endocytosis-triggered energy dissipation and energy production reduction[J]. Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany), 2022, 9(20): e2105274.

[5] ELEONORA B, MARIAEVELINA A, RAFFAELLA B, et al. Plant hairy roots for the production of extracellular vesicles with antitumor bioactivity[J]. Communications Biology, 2022, 5(1): 848.

[6] ZHANG Z Y, YU Y, ZHU G X, et al. The emerging role of plant-derived exosomes-like nanoparticles in immune regulation and periodontitis treatment[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13:

896745.
[7] JIANG J H, CAMERON D R, NETHERCOTT C, et al. Virulence attributes of successful methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2023, 36(4): e0014822.
[8] TUFFS S W, GONCHEVA M I, XU S X, et al. Superantigens promote *Staphylococcus aureus* bloodstream infection by eliciting pathogenic interferon-gamma production[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(8): e2115987119.
[9] TAN S Y, LIU Z Y, CONG M H, et al. Dandelion-derived vesicles-laden hydrogel dressings capable of neutralizing *Staphylococcus aureus* exotoxins for the care of invasive wounds[J]. Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 2024, 368: 355−371.
[10] 夏仕青, 张爱华. 刺梨的营养保健功能及其开发利用研究进展[J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(10): 1129−1132,1153. [XIA S Q, ZHANG A H. Research progress on the nutritional and health functions of *Rosa roxburghii* Tratt. and its development and utilization[J]. Journal of Guizhou Medical University, 2018, 43(10): 1129−1132,1153.]
[11] 代甜甜, 杨小生. 刺梨化学成分及药理活性研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2015, 37(4): 93−97. [DAI T T, YANG X S. Research progress on chemical composition and pharmacological activity of *Rosa roxburghii* Tratt.[J]. Journal of Guiyang University of Traditional Chinese Medicine, 2015, 37(4): 93−97.]
[12] 任旭. 刺梨果酒发酵工艺研究进展[J]. 中国食品, 2025(4): 139−141. [REN X. Research progress on fermentation process of *Rosa roxburghii* fruit wine[J]. China Food, 2025(4): 139−141.]
[13] 曹晶晶, 杨卫杰, 曹轶. 刺梨多糖的抗氧化和抗疲劳研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 260(4): 52−54,59. [CAO J J, YANG W J, CAO Y. Anti-fatigue and antioxidant activity of the polysaccharides isolated from *Rosa roxburghii* Tratt. F. *normalis* Rehd. Et Wils[J]. Journal of Basic Medicine of Chinese Medicine, 2018, 260(4): 52−54,59.]
[14] 梁梦琳, 李清, 龙勇兵, 等. 刺梨的化学成分鉴定及其抗菌活性[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(5): 10−13. [LIANG M L, LI Q, LONG Y B, et al. Identification of chemical constituents of *Rosa roxburghii* Tratt. and their antibacterial activities[J]. Guizhou Agricultural Science, 2019, 47(5): 10−13.]
[15] 邝铭晴, 李词周, 张辉, 等. 原榨刺梨汁的成分分析及精制刺梨液解酒益肝功能探究[J]. 饮料工业, 2023, 26(2): 8−14. [KUANG M Q, LI C Z, ZHANG H, et al. Components analysis of raw *Rosa roxburghii* Tratt. fruit juice and hepatoprotective effect evaluation of refined *Rosa roxburghii* Tratt. fruit juice[J]. Journal of Beverage Industry, 2023, 26(2): 8−14.]
[16] 严凯, 罗泽丽, 胡芳丽, 等. 刺梨白粉病的发生规律及生物学特性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(21): 119−122. [YAN K, LUO Z L, HU F L, et al. Occurrence patterns and biological characteristics of *Rosa roxburghii* powdery mildew[J] Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(21): 119−122.]
[17] 王令, 左云洋, 李久长, 等. 冷藏和冻藏方式对刺梨果品质和风味的影响[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(9): 290−301. [WANG L, ZUO Y Y, LI J C, et al. Effects of refrigeration and freezing methods on the quality and flavor of *Rosa roxburghii* Tratt.[J]. Food and Fermentation Industry, 2024, 50(9): 290−301.]
[18] 刘彦君. 鱼腥草来源的胞外囊泡对巨噬细胞线粒体代谢和炎症反应的调控作用[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020. [LIU Yanjun. Regulatory effects of *Houttuynia cordata*-derived extracellular vesicles on mitochondrial metabolism and inflammatory response in macrophages[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2020.]
[19] 韩菲, 马小梅, 石旭柳, 等. 柑橘属植物来源的外泌体样纳米颗粒及其疾病治疗研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(19): 6768−6778. [HAN F, MA X M, SHI X L, et al. Research progress on Citrus-derived exosome-like nanoparticles and their application on treating diseases[J]. Chinese Journal of Herbal Medicine, 2024, 55(19): 6768−6778.]
[20] 张娇, 马宝莲, 张永兰. 可食用植物来源外泌样纳米颗粒体外抗氧化能力及其对过氧化氢诱导 PC12 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2023, 49(5): 1117−1124. [ZHANG J, MA B L, ZHANG Y L. Antioxidant capacities of edible plant-exosomes-like nanoparticles *in vitro* and their protective effects on oxidative damage of PC12 cells induced by hydrogen peroxide[J]. Journal of Jilin University (Medical Edition), 2023, 49(5): 1117−1124.]
[21] 刘贵龙. 巴戟天小细胞外囊泡提取方法、表征及其生物活性研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2023. [LIU Guilong. Study on extraction methods, characterization, and bioactivities of small extracellular vesicles from *Morinda officinalis*[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2023.]
[22] 李思敏, 何凤军, 秦琳茜, 等. 药食两用植物纳米囊泡样纳米粒的制备和性能研究[J]. 药学学报, 2021, 56(8): 2086−2092. [LI S M, HE F J, QIN L X, et al. Preparation and properties of extracellular vesicle-like nanoparticles from medicinal and edible plants[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2021, 56(8): 2086−2092.]
[23] 王春霞. 薏苡仁多糖的提取及其降血糖活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022. [WANG Chunxia. Study on the extraction and hypoglycemic activity of coix seed polysaccharide[D]. Changchun: Jilin University, 2022.]
[24] YUAN S W, WANG J H, LI X, et al. Study on the structure, antioxidant activity and degradation pattern of polysaccharides isolated from lotus seedpod[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 316: 121065.
[25] RAPOSO G, STOORVOGEL W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends[J]. Journal of Cell Biology, 2013, 200(4): 373−383.
[26] MELO S A, LUECKE L B, KAHLERT C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. Nature, 2015, 523(7559): 177−182.
[27] 杨梦楠, 刘诗琦, 张静, 等. 果蔬中外泌体样纳米颗粒的分离、表征和应用研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(9): 355−361. [YANG M N, LIU S Q, ZHANG J, et al. Isolation, characterization and application of exosome-like nanoparticles from fruits and vegetables: a review[J]. Food Science, 2021, 42(9): 355−361.]
[28] RAWAT S, ARORA S, DHONDALE R M, et al. Stability dynamics of plant-based extracellular vesicles drug delivery[J]. Journal of Xenobiotics, 2025, 15(2): 55.
[29] KIM M, PARK J H. Isolation of aloe saponaria-derived extracellular vesicles and investigation of their potential for chronic wound healing[J]. Pharmaceutics, 2022, 14(9): 1905.
[30] TENG Y, REN Y, SAYED M, et al. Plant-derived exosomal microrna shape the gut microbiota[J]. Cell Host & Microbe, 2018, 24(5): 637−652.
[31] ZHU Z Z, LIAO L Y, QIAO H Z. Extracellular vesicle–based drug delivery system boosts phytochemicals' therapeutic effect for neurodegenerative diseases[J]. Acupuncture and Herbal Medicine,

2022, 2(4): 229−239.
[32] 范春雪, 邓玉林, 张亚玺, 等. 刺梨药理活性研究进展[J]. 生命科学仪器, 2021, 19(2): 14−21. [FAN C X, DENG Y L, ZHANG Y X, et al. Research progress on pharmacological activity of *Rosa roxburghii* Tratt.[J]. Life Science Instruments, 2021, 19(2): 14−21.]
[33] HAN X, ZHENG W, SUN Z, et al. Plant-derived exosomes: Unveiling the similarities and disparities between conventional extract and innovative form[J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2025, 145157087.
[34] MIN C, NING N D, XIAO L C, et al. Plant exosome nanovesicles (PENs): Green delivery platforms[J]. Materials Horizons, 2023, 10(10): 3879−3894.
[35] 王岩. 核桃青皮提取物对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021. [WANG Yan. Study on the inhibitory effect of walnut green husk extract on α-glucosidas[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2021.]
[36] 田宇. 不同处理方法对秋葵抑制 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶作用的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2021. [TIAN Yu. Effect of different treatment methods on the inhibitory activity of okra against α-glucosidase and α-amylase[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.]
[37] TORREALBA P M, YOSHIKAWA Y S F, AOKI V, et al. State of the art on the role of *Staphylococcus aureus* extracellular vesicles in the pathogenesis of atopic dermatitis[J]. Microorganisms, 2024, 12(3): 531.