

# 三种菊科植物抗癌抗炎组分分离与功能研究

李斌, 魏超田, 劳扬, 张媛媛, 高雄, 陈琼, 林晓蓉, 路海燕, 陈忠正

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

**摘要:** 本研究以甜叶菊、蒲公英、野菊花三种菊科植物为材料, 采用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇和正己烷 4 种溶剂提取, 硅胶柱层析、TLC 分离纯化, 以小鼠肝癌细胞 Hepa 1c1c7 和小鼠巨噬细胞 Raw 264.7 为模型, 通过测定醌还原酶活性和一氧化氮抑制率, 筛选具有抗癌和抗炎的活性组分。结果: 甜叶菊、蒲公英、野菊花的乙醇/乙酸乙酯提取物经分离纯化后得到最强活性组分, 其诱导醌还原酶倍增的浓度分别为 0.26~1.59  $\mu\text{g/mL}$ 、0.45~3.73  $\mu\text{g/mL}$  和 0.60~0.92  $\mu\text{g/mL}$ ; 甜叶菊、蒲公英组分一氧化氮抑制率达到 50% 的浓度分别为 14.02~19.04  $\mu\text{g/mL}$ 、48.90~86.05  $\mu\text{g/mL}$ 。这一研究结果为深入开展菊科植物抗癌抗炎功能成分的分离鉴定及其作用机理打下了前期研究基础。

**关键词:** 甜叶菊; 蒲公英; 野菊花; 醌还原酶; 一氧化氮

**文章编号:** 1673-9078(2013)7-1620-1626

## Anti-cancer and Anti-inflammatory Functions of Active Components Isolated from Three Compositae

LI Bin, WEI Chao-tian, LAO Yang, ZHANG Yuan-yuan, GAO Xiong, CHEN Qiong, LIN Xiao-rong, LU Hai-yan, CHEN Zhong-zheng

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The anti-cancer and anti-inflammatory functions of active components from *Stevia Rebaudiana*, *Taraxacum Officinale* and *Chrysanthemum Indicum* L. were investigated in this article. The components extracted with four solvents (water, ethanol/ethyl acetate, methanol and n-hexane) were separated and purified by silica gel column chromatography and TLC. Murine hepatoma cells (Hepa 1c1c7) and mouse macrophage cells (Raw 264.7) were used to determine quinone reductase activity and inhibition of nitric oxide. Results showed that the strongest activity for all three species was achieved by the ethanol/ethyl acetate extracting; the minimal concentrations to increase double QR specific activity were 0.26~1.59  $\mu\text{g/mL}$ , 0.45~3.73  $\mu\text{g/mL}$  and 0.60~0.92  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, for *Stevia Rebaudiana*, *Taraxacum Officinale* and *Chrysanthemum Indicum* L. The minimal concentrations of *Stevia Rebaudiana* and *Taraxacum Officinale* to achieve 50% inhibition of nitric oxide were 14.02~19.04  $\mu\text{g/mL}$  and 48.90~6.05  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The results provided preliminary basis for identification of anti-cancer and anti-inflammatory ingredients and mechanical investigations from the compositae.

**Key words:** *Stevia rebaudiana*; *Taraxacum officinale*; *Chrysanthemum indicum* L.; quinone reductase; nitric oxide

甜叶菊 (*Stevia rebaudiana*)、蒲公英 (*Taraxacum officinale*)、野菊花 (*Chrysanthemum indicum* L.) 三种菊科植物具有清热解毒、消炎止渴等功效<sup>[1]</sup>。甜叶菊含有二萜类、甜菊糖苷类等物质, 目前主要研究其抗氧化、抗肿瘤等生物活性<sup>[2-4]</sup>; 蒲公英含有三萜类、黄酮类、酚酸类等化合物, 其中黄酮类具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等功能<sup>[5-7]</sup>; 野菊花含有挥发油、萜类及黄酮类化合物等成分, 具有抗癌、抗炎、抗氧化等功能特性<sup>[8-10]</sup>。

收稿日期: 2013-04-06

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-23)

作者简介: 李斌 (1960-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学与营养

通讯作者: 陈忠正

目前, 从天然植物中筛选预防癌症的活性成分已成为研究的热点之一。现有的研究表明, 外源致癌物诱导癌症发生经过开始、发展、促进三个阶段<sup>[11]</sup>。机体在各阶段都形成了预防致癌物诱导细胞发生癌变的酶体系, 主要包括 I 相酶和 II 相酶体系。I 相酶主要是 CYP450 酶体系, 其可激活某些致癌物的活性基团; II 相酶包括醌还原酶 (NAD(P)H:Quinone Reductase, QR)、谷胱甘肽-S-转移酶 (Glutathione S-transferase, GST)、UDP-葡萄糖转移酶 (UDP-glucuronosyl transferases, UGT) 等, 其通过反应使致癌物彻底失活, 从而保护细胞免受外源化合物在代谢过程中产生的活性氧及亲电子物质的损伤, 因而研究醌还原酶等 II 相酶体系的表达对癌症的化学预防有重要意义

[12,13]。炎症是一些癌症发生的辅助因素,炎症反应与炎症介质密切相关,这些炎症介质能引发细胞炎症。一氧化氮(Nitric Oxide, NO)是一种重要的炎症介质,在体内主要由诱导型一氧化氮合成酶(inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS)和环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)催化生成,故抑制 iNOS 和 COX-2 的表达是预防炎症发生的重要手段<sup>[14-15]</sup>。目前已从十字花科、姜、大蒜等植物中筛选出具有较强诱导 QR 活性和抑制 NO 的抗癌、抗炎组分,因此从天然植物中筛选抗癌、抗炎活性组分以预防癌症的发生具有积极意义。

本研究以甜叶菊、蒲公英、野菊花三种菊科植物为材料,通过提取、分离纯化,筛选出具有较强诱导 QR 倍增和抑制 NO 效果的抗癌、抗炎活性组分,为从天然植物中筛选抗癌、抗炎活性组分以预防癌症的发生提供了新的植物资源。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

甜叶菊(*Stevia rebaudiana*),购于广西壮族自治区百色市;蒲公英(*Taraxacum officinale*)、野菊花(*Chrysanthemum indicum* L.),购于广州采芝林大药房;小鼠肝癌细胞 Hepa 1c1c7、小鼠巨噬细胞 Raw 264.7,购于美国模式培养物储存库(ATCC)。

### 1.2 主要试剂和仪器设备

#### 1.2.1 实验试剂

$\alpha$ -MEM 培养基、胰蛋白酶、胎牛血清(FBS)、青霉素和链霉素、DPBS 购于 Life 公司;脂多糖、四甲基偶氮唑蓝(Multiply-table tournament, MTT)、甲萘醌、6-磷酸葡萄糖、6-磷酸葡萄糖脱氢酶、洋地黄皂苷、结晶紫购于 Sigma 公司;Griess 试剂盒,购于 Promega 公司;DMEM(无酚红)培养基、L-谷氨酰胺购于 Hyclone 公司;活性炭(分析纯)购于天津科密欧有限公司;硅胶(200~300 目)、薄层层析板(GF-254)购于青岛谱科试剂有限公司。

#### 1.2.2 仪器设备

Spectra Max Plus 酶标仪, Molecular Devices 公司;R-3 旋转蒸发器, Buchi 公司;HERAcell 150i CO<sub>2</sub> 培养箱, Thermo 公司;Alpha-1-2 LD plus 冷冻干燥机, Christ 公司;HSC-12B 氮吹仪,天津市恒奥发展有限公司;BT 25S/BS 124S 电子天平, Mettler Toledo 公司;Ckx41 显微镜, Olympus 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 溶剂提取

用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷 4 种不同极

性溶剂分别提取甜叶菊、蒲公英和野菊花,旋转蒸发浓缩、冷冻干燥、氮吹干燥等制成初提取样品。

#### 1.3.2 分离纯化

硅胶柱层析分离:称取初提取物样品 2 g,丙酮溶解,加入 15~20 g 硅胶吸附。取 500 mL 硅胶,加二氯甲烷浸泡,装入分离柱,加入样品。用含 2~8% 甲醇的二氯甲烷溶液梯度洗脱、收集。于 254 nm 处测定吸光值,分别浓缩、干燥。

TLC 分离:取硅胶分离产物 10~20 mg,用 1 mL 的乙酸乙酯溶解,薄层层析板点样。通过优化后选择适宜比例的甲醇和二氯甲烷溶液作为展开剂,将分离产物回收、浓缩、干燥。

#### 1.3.3 细胞培养

小鼠肝癌细胞 Hepa 1c1c7 经解冻复苏后,培养于 37 °C、5%的 CO<sub>2</sub> 培养箱中,培养液为 89%  $\alpha$ -MEM 培养基、10% FBS(经热处理和活性炭吸附)、1% 青霉素(100 U/mL)和链霉素(100  $\mu$ g/mL),每隔 3~4 d 继代一次。

小鼠巨噬细胞 Raw 264.7 经解冻复苏后,培养于 37 °C、5%的 CO<sub>2</sub> 培养箱中,培养液为 88% DMEM 培养基、10% FBS、1% 青霉素(100 U/mL)和链霉素(100  $\mu$ g/mL)、1% L-谷氨酰胺(4 mM),每隔 2~3 d 继代一次。

#### 1.3.4 QR 活性测定

参照 Prochaska 和 Santamaria<sup>[16]</sup>的方法。

(1) 接种细胞:取 Hepa 1c1c7 细胞接种于 96 孔板,  $5 \times 10^3$  细胞/孔,于 37 °C、含 5%的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h;(2) 加样:弃去旧培养液,添加含有不同浓度提取物和分离产物的新鲜培养液, 150  $\mu$ L/孔,培养 48 h;(3) 测定:弃去旧培养液,每孔加 50  $\mu$ L 的 0.08% (m/v) 洋地黄皂苷(含 2 mM EDTA 溶液),轻微震荡 30 min。用酶标仪测定 490 nm 波长下 10 min 内反应液中 MTT 吸光值变化的动力学曲线。另备份一块 96 孔板,弃掉旧培养液,结晶紫溶液染色 10~15 min,弃去;SDS 溶解,用酶标仪测定 610 nm 吸光值。样品的相对 QR 诱导活性用 CD 值(Concentration to double relative QR specific activity, CD)表示,定义为使相对 QR 诱导活性值达到倍增时对应的样品浓度;以细胞活力 > 0.5(即 IC<sub>50</sub> > 50%),相对 QR 活性  $\geq 2$  作为样品具有抗癌活性的筛选指标,所测定样品重复 2 次以上。

#### 1.3.5 NO 抑制率测定

(1) 接种细胞:取小鼠巨噬细胞 Raw 264.7 接种于 96 孔板,每孔  $5 \times 10^5$  细胞/mL,于 37 °C、含 5%的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h;(2) 加样:弃去旧培养液,

添加 100  $\mu\text{L}$  含有不同浓度的提取物和分离产物的新鲜培养液, 100  $\mu\text{L}$  的脂多糖溶液, 混匀, 培养 24 h;

(3) 测定: 取出 96 孔板, 取 100  $\mu\text{L}$  培养液到新的 96 孔板, 向新 96 孔板加入 Griess 试剂 A 液和 B 液, 用酶标仪测定 542 nm 吸光值。以 NO 抑制率 $\geq 50\%$ 作为样品具有抗炎活性的筛选指标, 所测定样品重复 2 次以上。

## 2 结果与分析

甜叶菊、蒲公英、野菊花三种菊科植物利用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷 4 种溶剂进行提取, 根据提取物诱导 QR 和抑制 NO 效果, 选择较强的组分采用硅胶柱层析和 TLC 分离纯化, 从中筛选抗癌和抗炎活性组分。

### 2.1 甜叶菊、蒲公英、野菊花初提取物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

#### 2.1.1 甜叶菊初提取物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

甜叶菊采用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷 4 种溶剂进行提取, 其中具有诱导 QR 活性倍增和抑制 NO 活性 ( $\geq 50\%$ ) 的结果如图 1 所示。

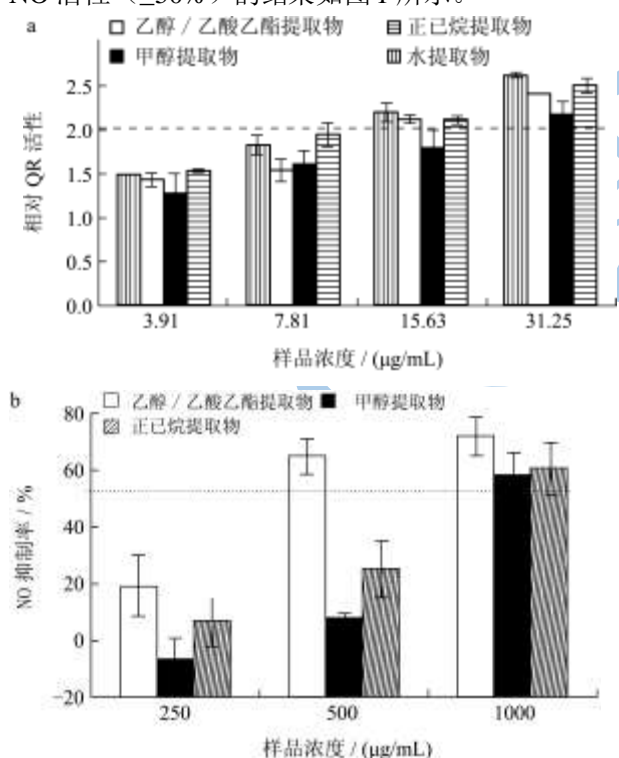


图 1 甜叶菊初提取物诱导 QR 活性(a)和抑制 NO 效果(b)  
**Fig.1 QR inducing (a) and NO inhibiting (b) activities of crude extracts from *Stevia rebaudiana***

由图 1 可知, 甜叶菊中水、正己烷、乙醇/乙酸乙酯、甲醇 4 种提取物诱导 QR 活性达到倍增的浓度分别为 10.54~21.57  $\mu\text{g/mL}$ 、10.33~35.14  $\mu\text{g/mL}$ 、

14.51~54.78  $\mu\text{g/mL}$ 、21.71~59.47  $\mu\text{g/mL}$ , 4 种提取物诱导 QR 活性倍增浓度均在 60.00  $\mu\text{g/mL}$  以下, 表明甜叶菊中含有较强的抗癌活性成分;

甜叶菊的乙醇/乙酸乙酯、正己烷、甲醇提取物抑制 NO 活性达到 50%, 其浓度分别为 467.00~490.00  $\mu\text{g/mL}$ 、852.87~990.56  $\mu\text{g/mL}$ 、955.45~962.11  $\mu\text{g/mL}$ 。从诱导 QR 和抑制 NO 的活性分析, 甜叶菊材料中含有抗癌和抗炎的活性组分, 其乙醇/乙酸乙酯提取物抗癌和抗炎活性高于其他三种提取物。

#### 2.1.2 蒲公英初提取物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

蒲公英采用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷 4 种溶剂进行提取, 其中具有诱导 QR 活性倍增和抑制 NO 活性 ( $\geq 50\%$ ) 的结果如图 2 所示。

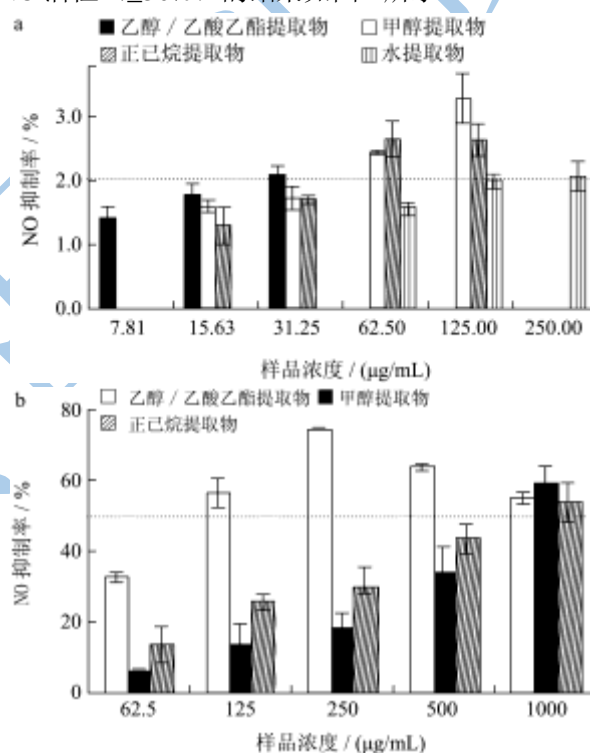


图 2 蒲公英初提取物诱导 QR 活性(a)和抑制 NO 效果(b)  
**Fig.2 QR inducing (a) and NO inhibiting (b) activities of crude extracts from *Taraxacum officinale***

由图 2 可知, 蒲公英 4 种不同极性提取物诱导 QR 活性倍增的浓度: 正己烷提取物为 18.47~38.90  $\mu\text{g/mL}$ , 乙醇/乙酸乙酯提取物为 22.98~50.52  $\mu\text{g/mL}$ , 甲醇提取物为 40.22~48.23  $\mu\text{g/mL}$ , 水提取物为 245.03~720.14  $\mu\text{g/mL}$ ;

甜叶菊的乙醇/乙酸乙酯、正己烷、甲醇提取物抑制 NO 活性达到 50%, 其浓度分别为 43.28~110.64  $\mu\text{g/mL}$ 、362.70~477.59  $\mu\text{g/mL}$ 、258.21~806.77  $\mu\text{g/mL}$ 。从诱导 QR 和抑制 NO 的活性分析, 蒲公英材料中含有抗癌和抗炎的活性组分, 其中乙醇/乙酸乙酯提取物

活性高于其他三种溶剂提取物。

### 2.1.3 野菊花初提取物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

野菊花采用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷 4 种溶剂进行提取，分别测定其抗癌和抗炎活性，结果如图 3 所示。

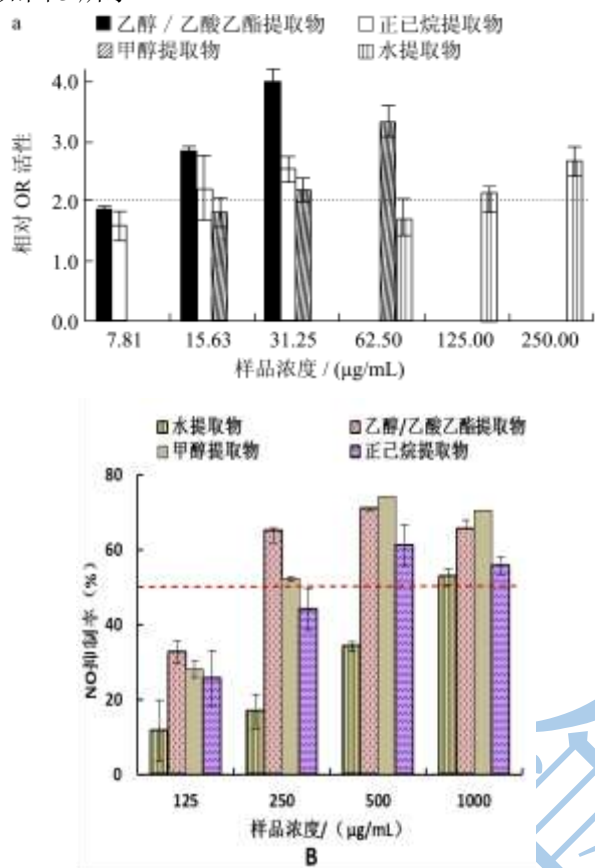


图 3 野菊花初提取物诱导 QR 活性(A)和抑制 NO 效果(B)

Fig.3 QR inducing (A) and NO inhibiting (B) activities of crude extracts from *Chrysanthemum indicum* L

由图 3 可知,野菊花 4 种不同极性提取物诱导 QR 活性倍增的浓度为 7.00~120.00  $\mu\text{g/mL}$ ,其中乙醇/乙酸乙酯提取物为 7.81~8.20  $\mu\text{g/mL}$ ,正己烷提取物为 14.77~21.51  $\mu\text{g/mL}$ ,甲醇提取物为 24.00~33.71  $\mu\text{g/mL}$ ,水提取物为 93.36~110.88  $\mu\text{g/mL}$ ;4 种提取物抑制 NO 活性达到 50%的浓度:乙醇/乙酸乙酯为 122.88~199.14  $\mu\text{g/mL}$ ,甲醇提取物为 236.76~238.21  $\mu\text{g/mL}$ ,正己烷、水提取物为 500.00  $\mu\text{g/mL}$  以上。从诱导 QR 和抑制 NO 效果分析,说明野菊花材料中含有较强的抗癌和抗炎活性成分,其中乙醇/乙酸乙酯提取物效果高于其他三种溶剂。

采用 Hepa 1c1c7 细胞系筛选植物抗癌组分,当其诱导 QR 倍增的浓度小于 100.00  $\mu\text{g/mL}$  时,可认为其具有较强的抗癌活性。甜叶菊、蒲公英、野菊花三种材料 4 种提取物中的乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷提

取物在 60.00  $\mu\text{g/mL}$  以内诱导 QR 活性达到倍增,说明三种材料中含有较强的抗癌组分。根据三种材料不同提取物诱导 QR 和抑制 NO 的活性,选择乙醇/乙酸乙酯提取物进行分离纯化,以进一步分离抗癌和抗炎组分。

### 2.2 甜叶菊、蒲公英、野菊花硅胶柱层析产物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

#### 2.2.1 甜叶菊硅胶柱层析产物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

甜叶菊乙醇/乙酸乙酯提取物经硅胶柱层析分离得 4 组分(F1~F4),其中具有诱导 QR 活性倍增和抑制 NO 活性( $\geq 50\%$ )的结果如图 4 所示。

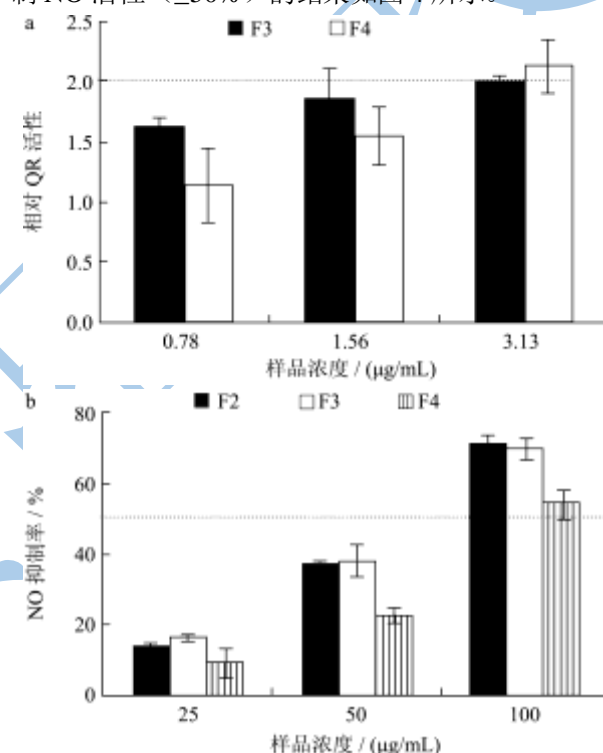


图 4 甜叶菊柱层析产物诱导 QR 活性(A)和抑制 NO 效果(B)

Fig.4 QR inducing (A) and NO inhibiting (B) activities of isolated fractions by chromatography from *Stevia rebaudiana*

由图 4 可知,甜叶菊硅胶柱层析产物 4 组分仅 F3、F4 样品诱导 QR 活性达到倍增,其浓度分别为 2.53~5.25  $\mu\text{g/mL}$  和 2.86~4.53  $\mu\text{g/mL}$ ;而 F3、F2、F4 样品具有抗炎活性,其抑制 NO 活性达到 50%的浓度分别为 45.05~72.25  $\mu\text{g/mL}$ 、68.75~73.56  $\mu\text{g/mL}$ 、94.91~128.17  $\mu\text{g/mL}$ 。从诱导 QR 和抑制 NO 效果分析,说明甜叶菊硅胶柱层析产物含有抗癌和抗炎活性成分。

#### 2.2.2 蒲公英硅胶柱层析产物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

蒲公英乙醇/乙酸乙酯提取物经硅胶柱层析分离得 6 组分(F1~F6),其中具有诱导 QR 活性倍增和抑

制 NO 活性 ( $\geq 50\%$ ) 的结果如图 5 所示。

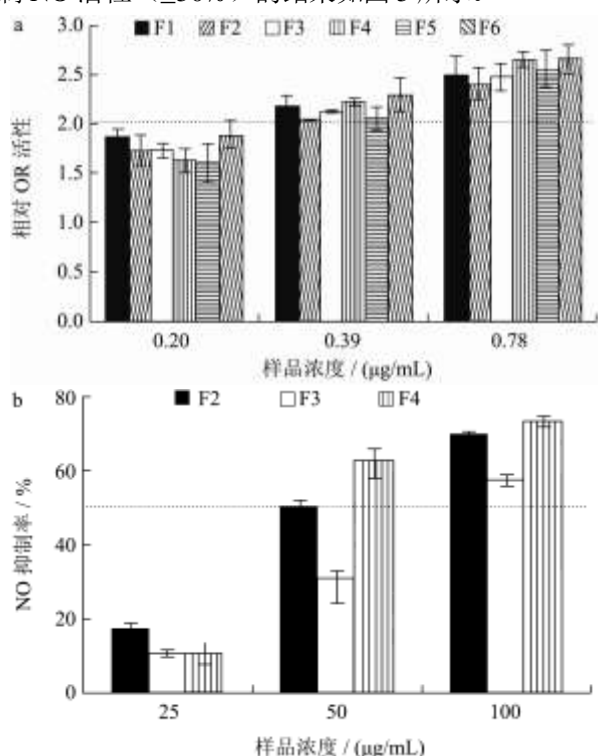


图 5 蒲公英柱层析产物诱导 QR 活性 (A) 和抑制 NO 效果 (B)

**Fig.5 QR inducing (A) and NO inhibiting (B) activities of isolated fractions by chromatography from *Taraxacum officinale***

由图 5 可知, 蒲公英硅胶柱层析分离得到的 6 个组分诱导 QR 活性倍增浓度为 0.90~32.00  $\mu\text{g/mL}$ , 说明蒲公英硅胶柱层析分离产物均具有较强的抗癌活性; 但分离产物中仅 F4、F2、F3 样品具有抗炎活性, 其 NO 抑制率达到 50% 的浓度分别为 16.67~48.82  $\mu\text{g/mL}$ 、32.39~61.79  $\mu\text{g/mL}$ 、84.77~93.87  $\mu\text{g/mL}$ 。从蒲公英柱层析产物诱导 QR 和抑制 NO 活性可知, 不同组分的抗癌活性相近、但抗炎活性不同, 故此还需继续进行分离纯化和功能活性测定。

### 2.2.3 野菊花硅胶柱层析产物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

野菊花乙醇/乙酸乙酯提取物经硅胶柱层析分离得 6 组分 (F1~F6), 其中具有诱导 QR 活性倍增和抑制 NO 活性 ( $\geq 50\%$ ) 的结果如图 6 所示。

由图 6 可知, 野菊花硅胶柱层析分离得到 6 个组分, 其诱导 QR 活性倍增浓度为 0.20~40.00  $\mu\text{g/mL}$ , 其中 F2、F1、F4、F3 样品诱导 QR 倍增浓度在 5.00  $\mu\text{g/mL}$  以内, 分别为 0.28~0.49  $\mu\text{g/mL}$ 、1.25~3.05  $\mu\text{g/mL}$ 、2.14~6.25  $\mu\text{g/mL}$ 、2.71~2.74  $\mu\text{g/mL}$ ; 抗炎活性中仅 F2、F3、F5、F4 样品 NO 抑制率达到 50%, 其浓度分别为 13.33~32.97  $\mu\text{g/mL}$ 、13.90~35.95  $\mu\text{g/mL}$ 、28.36~68.10  $\mu\text{g/mL}$ 、68.37~99.04  $\mu\text{g/mL}$ 。这

一结果说明, 野菊花乙醇/乙酸乙酯提取物硅胶柱层析产物含有较强的抗癌和抗炎组分, 其中 F2 样品诱导 QR 和抑制 NO 活性最强。

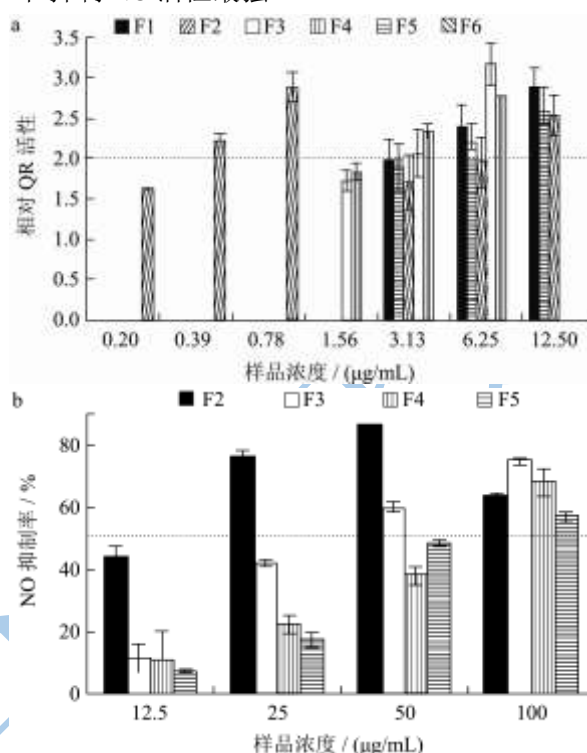


图 6 野菊花柱层析产物诱导 QR 活性 (A) 和抑制 NO 效果 (B)

**Fig.6 QR inducing (A) and NO inhibiting (B) activities of isolated fractions by chromatography from *Chrysanthemum indicum L***

综上所述结果, 甜叶菊的 F3、蒲公英的 F4、野菊花的 F2 组分诱导 QR 活性倍增和抑制 NO 活性 ( $\geq 50\%$ ) 的浓度分别在 10.00  $\mu\text{g/mL}$  以内和 100.00  $\mu\text{g/mL}$  以内, 因此进一步分离纯化其活性组分。

### 2.3 甜叶菊、蒲公英、野菊花 TLC 产物诱导 QR 和抑制 NO 的活性

为更深入研究甜叶菊、蒲公英、野菊花硅胶柱层析产物中抗癌、抗炎的活性组分, 采用 TLC 技术继续进行分离纯化, 得到的组分通过测定其抗癌和抗炎活性进行筛选, 结果如图 7~9 所示。

由图 7~9 可知, 甜叶菊 F3、蒲公英 F4、野菊花 F2 样品通过多级 TLC 分离纯化, 均得到一个组分, 其诱导 QR 活性倍增浓度分别为 0.26~1.59  $\mu\text{g/mL}$ 、0.45~3.73  $\mu\text{g/mL}$ 、0.60~0.92  $\mu\text{g/mL}$ ; 抗炎测定中, 甜叶菊、蒲公英样品在浓度为 14.02~19.04  $\mu\text{g/mL}$ 、48.90~86.05  $\mu\text{g/mL}$  时 NO 抑制率达到 50%, 但野菊花样品在浓度为 100.00  $\mu\text{g/mL}$  时 NO 抑制率仅为 40.75%。这一结果说明: 甜叶菊等三种植物的这三个 TLC 组分均具有极强的抗癌活性; 甜叶菊、蒲公英这两个 TLC 组分的抗炎活性也较强, 但野菊花该 TLC

组分的抗炎活性相对较低。

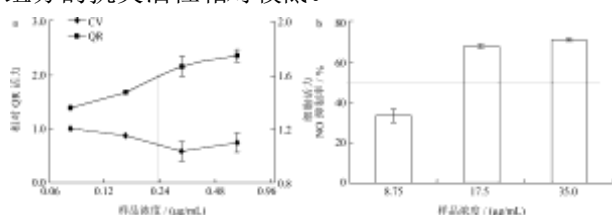


图7 甜叶菊 TLC 产物诱导 QR 活性(a)和抑制 NO 效果(b)

Fig.7 QR inducing (a) and NO inhibiting (b) activities of TLC fraction from *Stevia rebaudiana*

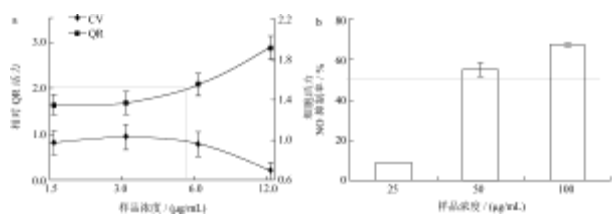


图8 蒲公英 TLC 产物诱导 QR 活性(a)和抑制 NO 效果(b)

Fig.8 QR inducing (a) and NO inhibiting (b) activities of TLC fraction from *Taraxacum officinale*

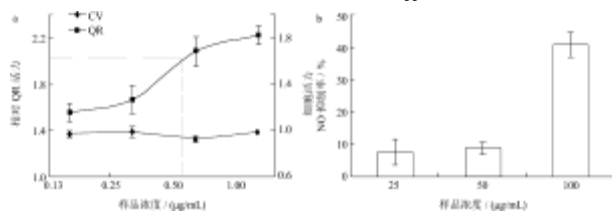


图9 野菊花 TLC 产物诱导 QR 活性(a)和抑制 NO 效果(b)

Fig.9 QR inducing (a) and NO inhibiting (b) activities of TLC fraction from *Chrysanthemum indicum L*

### 3 结论

本研究以小鼠肝癌细胞 Hepa 1c1c7 和小鼠巨噬细胞 Raw 264.7 为细胞模型, 体外筛选甜叶菊、蒲公英、野菊花三种菊科植物中具有抗癌和抗炎活性组分。

3.1 对甜叶菊、蒲公英、野菊花分别采用水、乙醇/乙酸乙酯、甲醇、正己烷 4 种溶剂提取, 三种材料中乙醇/乙酸乙酯提取物诱导 QR 和抑制 NO 活性均高于其他三种溶剂提取物, 其诱导 QR 活性倍增浓度分别为 14.51~54.78 µg/mL、22.98~50.52 µg/mL、7.81~8.20 µg/mL, 抑制 NO 活性(>50%)的浓度为 467.00~490.00 µg/mL、43.28~110.64 µg/mL、122.88~199.14 µg/mL。

3.2 通过对甜叶菊、蒲公英、野菊花乙醇/乙酸乙酯提取物硅胶柱层析分离, 分别得到 4、6、6 个组分, 测定其抗癌和抗炎活性, 得甜叶菊 F3、蒲公英 F4、野菊花 F3 样品诱导 QR 和抑制 NO 的活性高于其他组分, 其诱导 QR 活性倍增和抑制 NO 活性 (>50%) 的浓度分别为 2.53~5.25 µg/mL、1.30~15.86 µg/mL、0.28~0.49 µg/mL 和 68.75~72.25 µg/mL、16.67~48.82 µg/mL、13.33~32.97 µg/mL。

3.3 将硅胶柱层析产物甜叶菊 F3、蒲公英 F4、野菊花 F3 组分进行 TLC 分离纯化, 均得到一 TLC 纯的单一组分, 其中甜叶菊诱导 QR 活性为 0.26~1.59 µg/mL、抑制 NO 效果为 14.02~19.04 µg/mL; 蒲公英诱导 QR 活性为 0.45~3.73 µg/mL、抑制 NO 效果为 48.90~86.05 µg/mL; 野菊花诱导 QR 活性为 0.60~0.92 µg/mL、而 NO 抑制率在 100.00 µg/mL 时未达到 50%。

3.4 今后将在进一步分离纯化这些组分的基础上, 采用核磁共振、质谱、红外等检测方法, 以期鉴定其结构, 深入揭示其抗癌、抗炎作用机理, 为植物化学预防癌症开拓新的植物资源。

### 参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005  
Nanjing University of Chinese Medicine. Chinese Herb Dictionary [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers. 2005
- [2] Muanda FN, Soulimani R, Diop B, et al. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves [J]. LWT - Food Science and Technology. 2011, 44(9): 1865-1872
- [3] Jayaraman S, Manoharan M S, Illanchezian S. *In-vitro* Antimicrobial and Antitumor Activities of *Stevia Rebaudiana* (Asteraceae) Leaf Extracts [J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2008, 7(4): 1143-1149
- [4] Goyal S K, Samsheer, Goyal R K. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2011, 61(1): 1-10
- [5] Park C M, Park J Y, Noh K H, et al. *Taraxacum officinale* Weber extracts inhibit LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production via the NF-κB modulation in RAW 264.7 cells [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 133(2): 834-842
- [6] Yuan A, Li Z, Li X, et al. Distinct effect of *Chrysanthemum indicum* Linné extracts on isoproterenol-induced growth of human hepatocellular carcinoma cells [J]. Oncology Reports, 2009, 22(6): 1357-1363
- [7] 徐月明, 赵一龙, 张爽. 蒲公英抗氧化活性初步研究[J]. 皖西学院学报, 2012, 28(5): 98-101  
Xu Yue-ming, Zhao Yi-long, Zhang shuang. Comparative Free Radical Scavenging Activities of Extracts from *Taraxacum Mongolicum* [J]. Journal of West Anhui University, 2012, 28(5): 98-101
- [8] Cheng W, Li J, You T, et al. Anti-inflammatory and

- immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linne [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 101(1-3): 334-337
- [9] Cheon M S, Yoon T, Lee D Y, et al. *Chrysanthemum indicum* Linné extract inhibits the inflammatory response by suppressing NF- $\kappa$ B and MAPKs activation in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 122(3): 473-477
- [10] Kim C, Kim M, Kim S, et al. *Chrysanthemum indicum* L. extract induces apoptosis through suppression of constitutive STAT3 activation in human prostate cancer DU145 Cells [J]. Phytotherapy Research, 2013, 27(1): 30-38
- [11] Kelloff G J, Crowell J A, Steele V E, et al. Progress in cancer chemoprevention [J]. Annals New York Academy of Sciences, 1999, 889: 1-13
- [12] Talalay P. Chemoprotection against cancer by induction of Phase 2 enzymes [J]. BioFactors, 2000, 12(1-4): 5-11
- [13] 李峰. 生姜化合物诱导 II 相酶及抗炎症活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011
- Li Feng. Studies on phase II enzyme-inducing and anti-inflammatory activity of ginger compounds [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011
- [14] Surh Y, Na H. NF- $\kappa$ B and Nrf2 as prime molecular targets for chemoprevention and cytoprotection with anti-inflammatory and antioxidant phytochemicals [J]. Genes & Nutrition, 2008, 2(4): 313-317
- [15] Hofseth L J, Hussain S P, Wogan G N, et al. Nitric oxide in cancer and chemoprevention [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2003, 34(8): 955-968
- [16] Prochaska H J, Santamaria A B. Direct measurement of NAD(P)H:quinone reductase from cell cultured in microtiter wells: A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers [J]. Analytica Biochemistry, 1988, 169(2): 328-336

## 欢迎订阅 EI 收录期刊、中文核心期刊 《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价 15 元，全年 12 期仅 180 元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿或建立广告宣传和产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学轻工与食品学院麟鸿楼 508，邮编：510640

电话：020-87112373, 87113352, 87112532

E-mail: xdspkj@vip.sohu.com