

# 中国主要水果抑制肝癌 HepG2 细胞和结肠腺癌 Caco-2 细胞增殖活性评价

刘冬, 万红霞, 孙海燕

(深圳职业技术学院深圳市发酵精制检测系统重点实验室, 广东深圳 518055)

**摘要:** 分别采用 Folin-Ciocalteu 法测定了水果提取物的总酚含量, 采用亚甲基蓝法测定了其抗人肝癌细胞 HepG2 和人结肠腺癌细胞 Caco-2 增殖的活性, 分析了总酚含量与抗 HepG2 和 Caco-2 细胞增殖活性之间的相关性。结果显示, 25 种水果中李子的总酚含量最高 ( $1686.08 \pm 96.94 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$  鲜果), 西瓜 ( $83.54 \pm 2.10 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$  鲜果) 和哈密瓜 ( $79.35 \pm 0.76 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$  鲜果) 的总酚含量最低; 在可测出抗增殖  $\text{EC}_{50}$  值的水果中, 李子 ( $18.99 \pm 0.06 \text{ mg/mL}$ ) 和番石榴 ( $20.94 \pm 0.09 \text{ mg/mL}$ ) 抗 HepG2 细胞增殖的活性最强, 梨的活性最弱 ( $389.63 \pm 10.82 \text{ mg/mL}$ )。李子抗 Caco-2 细胞增殖的活性最强 ( $8.73 \pm 0.11 \text{ mg/mL}$ ), 火龙果的活性最弱 ( $388.07 \pm 7.04 \text{ mg/mL}$ )。水果的抗 HepG2 和 Caco-2 细胞增殖活性与其总酚含量相关性显著 ( $R^2=0.4147$ ,  $p<0.01$ ;  $R^2=0.4071$ ,  $p<0.05$ ), 该相关性表明水果中的多酚具有良好的抗肿瘤细胞增殖的活性。

**关键词:** 水果; 多酚; 人结肠腺癌 Caco-2 细胞; 人肝癌 HepG2 细胞; 抗增殖活性

文章编号: 1673-9078(2015)4-23-28

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.4.005

## Evaluation of the Anti-proliferative Activities of Major Fruits in China on Human Hepatic Carcinoma (HepG2) and Colon Adenocarcinoma (Caco-2) Cells

LIU Dong, WAN Hong-xia, SUN Hai-yan

(Shenzhen Key Laboratory of Fermentation, Purification and Analysis, Shenzhen polytechnic, Shenzhen 518055, China)

**Abstract:** The total phenolic content and the anti-proliferative activities of the phenolic extracts against HepG2 and Caco-2 cells were determined by the Folin-Ciocalteu method and the methylene blue assay, respectively; the correlation between the total phenolic content and the anti-proliferative activity of the extracts was analyzed. The results of these analyses revealed that plum (*Prunus salicina* Lindl.) had the highest total phenolic content ( $1686.08 \pm 96.94 \mu\text{mol gallic acid equivalent (GAE)}/100 \text{ g}$  of fresh fruit), whereas watermelon (*Citrullus lanatus*) ( $83.54 \pm 2.10 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$  of fresh fruit) and hami melon (*Cucumis melo var. saccharinus*) ( $79.35 \pm 0.76 \text{ mol GAE}/100\text{g}$  of fresh fruit) had the lowest phenolic content among the 25 tested species. Among the fruit species with quantifiable anti-proliferative activities (half maximal effective concentration ( $\text{EC}_{50}$ )), plum and guava (*Psidium guajava* Linn.) showed the strongest anti-proliferative activities against HepG2 cells ( $\text{EC}_{50}$  values:  $18.99 \pm 0.06$  and  $20.94 \pm 0.09 \text{ mg/mL}$ , respectively), whereas pears (*Pyrus spp.*) showed the weakest anti-proliferative activity against these cells ( $\text{EC}_{50}$  value:  $389.63 \pm 10.82 \text{ mg/mL}$ ). Plum also demonstrated the strongest anti-proliferative activity against Caco-2 cells ( $\text{EC}_{50}$  value:  $8.73 \pm 0.11 \text{ mg/mL}$ ), while the activity of pitava (*Hylocereus undulatus* Britt.) was observed to be the weakest ( $\text{EC}_{50}$  value:  $388.07 \pm 7.04 \text{ mg/mL}$ ). The anti-proliferative activities of fruits on HepG2 and Caco-2 cells were significantly correlated to their total phenolic content ( $R^2 = 0.4147$ ,  $p < 0.01$ ;  $R^2 = 0.4071$ ,  $p < 0.05$ , respectively). This correlation indicates the high anti-proliferative effect of fruit polyphenols on cancer cells.

**Key words:** fruit; polyphenol; HepG2 human hepatic carcinoma cell line; Caco-2 human colon adenocarcinoma cell line; anti-proliferative activity

收稿日期: 2014-08-02

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (S2011010004455); 深圳市科技计划项目 (JC201005280530A, JCYJ20130331151222011); 广东省高等职业院校珠江学者岗位计划资助项目 (2011)

作者简介: 刘冬 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术; 通讯作者: 孙海燕 (1972-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 药理学

流行病学调查表明, 膳食方式与慢性疾病如癌症、心血管病和早老性痴呆症有密切联系, 而膳食摄入充足的水果可以有效减少这些慢性疾病的发病风险<sup>[1-2]</sup>。进一步的实验研究证实, 水果中多酚类物质和V<sub>C</sub>通过抗氧化、调节免疫、调控细胞增殖和凋亡、调控癌基因和抑癌基因表达、调节激素代谢和抗菌抗病毒等机制发挥抗肿瘤作用和抑制心血管病等慢性疾病的发生<sup>[3]</sup>, 其中多酚含量与抗肿瘤活性成显著正相关性且贡献率在90%以上<sup>[4]</sup>。

国内外已有许多有关水果抗肿瘤活性的研究报道。国外Sun等<sup>[4]</sup>对美国最经常消费的11种水果提取物抗HepG2细胞增殖的活性进行了研究。国内李武等<sup>[5]</sup>对热带12种水果提取物抗肝癌HepG2细胞增殖活性进行了研究, 吴丹玲等<sup>[6]</sup>研究了荔枝、龙眼和余甘子等3种热带水果的抗肝癌HepG2细胞增殖的活性; 另外有关石榴、葡萄、苹果等抗肿瘤活性的研究也有报道<sup>[7-9]</sup>。这些报道多是对某种或某几种水果提取物的抗肿瘤细胞活性进行研究, 迄今尚未见全面评价在我国经常消费的主要水果对肿瘤细胞增殖抑制活性的研究报道。

水果中的多酚类物质除了少数以苷元形式可直接在小肠被吸收外<sup>[4,10]</sup>, 大约有90%直接进入结肠, 经肠道微生物酶降解后在肠道发挥抗氧化抗肿瘤作用或在结肠吸收进入体内代谢而发挥抗肿瘤作用<sup>[11]</sup>。为此, 本文选用分别代表人体物质吸收和代谢的结肠腺癌Caco-2细胞(与人体结肠上皮细胞生物学功能相似)和肝癌HepG2细胞(与人体肝细胞生物学功能相似)作为水果抗肿瘤活性的评价标准, 对我国南北方普遍消费的25种常见水果的抗肿瘤活性进行全面系统评价, 研究结果不仅丰富了水果的营养保健理论, 也为消费者合理健康的食用水果和预防肿瘤、心血管病、心脏病等疾病的发病风险提供科学的实验和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

#### 1.1.1 材料与试剂

25种水果均在最佳采摘时间采摘于各种水果的中国主产区, 采摘后于最佳食用时间进行抗增殖活性评价研究。其中, 荔枝(桂味, 高州产)、龙眼(石峡, 泉州产)、杨桃(广州产)、番木瓜(陵水产)、火龙果(钦州产)、香蕉(钦州产)、菠萝(湛江产)、番石榴(台湾产)、黄皮(湛江产)、枇杷(莆田产)、芒果(陵水产)、橙子(赣州产)、橘子(四会产)、李子(贵定

产)、杏(喀什产)、猕猴桃(宝鸡产)、西瓜(南宁产)、哈密瓜(吐鲁番产)、梨(莱阳产)、苹果(红富士, 烟台产)、葡萄(吐鲁番产)、石榴(临潼产)、桃子(秦安产)、油桃(双河产)、白甜瓜(吐鲁番产)。

没食子酸、Folin-ciocalteu试剂、HEPES、非必需氨基酸(100×)、青链霉素混合液(100×)、胰岛素、氢化可的松、William's Medium E培养基、台盼蓝, 购自美国Sigma-Aldrich公司; 高糖DMEM培养基、胎牛血清(FBS)、Hank's平衡盐溶液(HBSS, 1×)、0.05%胰酶-EDTA, 购自美国Life-Technologies公司; Caco-2结肠腺癌细胞株和HepG2肝癌细胞株, 均购自美国ATCC(American Type Culture Collection)。其它试剂均为国产分析纯。

#### 1.1.2 主要器设备

HERA cell 240型CO<sub>2</sub>细胞培养箱, 美国Thermo公司; DMIRB型荧光倒置显微镜, 德国Leica仪器公司; Spectra Max M5e多功能酶标仪, 美国Molecular Devices公司; HR25850飞利浦组织捣碎机, 珠海飞利浦电器有限公司; T25 digital ULTRA-TURRAX匀浆器, 德国IKA公司; 5180 R型冷冻离心机, 德国Eppendorf公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 水果多酚的提取

按照文献方法<sup>[4]</sup>并做改进。具体方法为: 将水果洗干净, 沥干水, 水果多酚的提取做三次平行实验, 每次平行称取水果的可食用部分鲜重100g, 加入预冷的80%丙酮(1:2, m/V), 用组织捣碎机搅拌3min, 在冰浴条件下, 高速匀浆5min。匀浆液经Whatman 1号滤纸过滤, 得滤液。滤渣加入200mL预冷的80%丙酮, 冰浴条件下高速匀浆5min, 过滤, 滤渣再次加入200mL预冷的80%丙酮匀浆5min, 过滤。合并三次滤液, 滤液在45℃条件下旋转蒸发至10g以下, 将浓缩液用超纯水定容至25mL, 分装成1mL/管, 于-80℃贮存备用。

### 1.2.2 总酚含量的测定

Folin-ocalteu法<sup>[4]</sup>。配制没食子酸标准溶液, 37℃水浴解冻样品, 12000r/min离心15min, 分别取提取液及各浓度的标准液100μL至已加入400μL去离子水的试管中, 摇匀, 加入100μL Folin-Ciocalteu试剂, 混匀, 放置6min, 加入1mL 7%的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液和0.8mL去离子水, 混匀, 在室温下反应90min, 在酶标仪上于760nm测定OD值。总酚含量用(平均值±SD) μmol没食子酸当量(GAE)/100g鲜果来表示。

### 1.2.3 细胞培养

Caco-2 细胞接种在高糖 DMEM 培养基中生长, 培养基中含有 10% 胎牛血清 (FBS)、10 mM Hepes 缓冲液、1% 非必需氨基酸、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu\text{g/mL}$  链霉素。细胞在 5%  $\text{CO}_2$ , 37  $^\circ\text{C}$  条件下培养。待细胞进入对数生长期后用 0.05% 胰蛋白酶置于 37  $^\circ\text{C}$  培养箱中消化传代。HepG2 细胞接种在 Complete Medium 培养基中生长, 培养基中含有 5% 胎牛血清 (FBS)、10 mM Hepes 缓冲液、5  $\mu\text{g/mL}$  胰岛素、0.05  $\mu\text{g/mL}$  氢化可的松、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu\text{g/mL}$  链霉素。细胞在 5%  $\text{CO}_2$ , 37  $^\circ\text{C}$  条件下培养。待细胞进入对数生长期后用 0.05% 胰蛋白酶置消化传代。实验所用的细胞在第 10~30 代之间。

### 1.2.4 水果提取物对 HepG2 和 Caco-2 细胞毒性作用

细胞毒性实验参照文献方法<sup>[12]</sup>进行并稍作改进。100  $\mu\text{L}$  HepG2 (或 Caco-2) 单细胞悬液接种到 96 微孔透明板中 ( $4 \times 10^4$  个/孔), 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  培养 24 h 后, 吸出生长培养基, 1  $\times$  PBS 清洗贴壁细胞, 加入 100  $\mu\text{L}$  不同浓度的水果提取物 (不同浓度提取物用生长培养基稀释制备), 设空白对照组 (只加入生长培养基)。5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  培养 24 h, 吸出提取物, 1  $\times$  PBS 清洗贴壁细胞, 加 50  $\mu\text{L}$  孔亚甲基蓝溶液 (1  $\times$  HBSS 含 1.25% 戊二醛和 0.6% 亚甲基蓝), 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  培养 60 min, 吸出亚甲基蓝溶液, 将微孔板轻轻浸入去离子水中清洗三次至洗净细胞表面吸附的染料。将 96 孔板倒置在纸巾上控干水分, 加 100  $\mu\text{L}$  孔洗脱液 (含 49% 1  $\times$  PBS、50% 无水乙醇、1% 冰醋酸)。将 96 孔板室温旋转震荡 20 min, 置于 Spectra Max M5e 多功能酶标仪中测定 570 nm 处的 OD 值。如果样品组比对照组的 OD 值显著性减少即判断为水果提取物有细胞毒性。

### 1.2.5 水果提取物抗 HepG2 和 Caco-2 细胞增殖活性

抗细胞增殖活性实验所用的水果浓度设在没有细胞毒性的范围内。抗增殖实验参照文献方法<sup>[12]</sup>并稍作改进。100  $\mu\text{L}$  HepG2 (或 Caco-2) 单细胞悬液接种到 96 微孔透明板中 ( $2.5 \times 10^4$  个/孔), 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  培养 4 h (Caco-2 细胞培养 6 h), 吸出生长培养基, 加入 100  $\mu\text{L}$  不同浓度的水果提取物 (不同浓度提取物用生长培养基稀释制备), 设空白对照组 (只加入生长培养基) 和控制对照组 (只加入不同浓度的空白提取液)。5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  培养 72 h, 吸出提取物, 1  $\times$  PBS 清洗贴壁细胞, 亚甲基蓝染色测定 OD 值 (染色和测定步骤同 1.2.4)。

细胞抑制率 =  $(1 - \text{样品组 OD 值} / \text{空白对照组 OD 值}) \times 100\%$

样品组 OD 值达到空白对照组 OD 值 50% 时的样品浓度为抗增殖活性的半有效抑制浓度 ( $\text{EC}_{50}$ ),  $\text{EC}_{50}$  值越低表示抗增殖活性越高。

### 1.2.6 统计分析

数据结果以平均值  $\pm$  SD 表示, 实验数据的显著性检验和相关性分析分别运用 SPSS 11.0 统计软件的一-way ANOVA 法 ( $p < 0.05$  视为有显著性差异) 和双变量相关进行分析 ( $p < 0.05$  视为显著性相关)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水果总酚含量

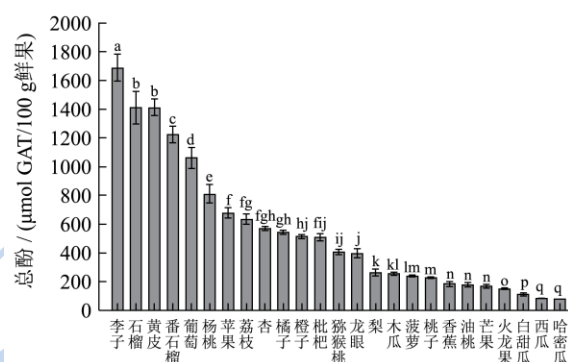


图 1 25 种中国主要水果总酚含量

Fig.1 Total phenolic content of 25 fruit species that are commonly consumed in China

注: 没有共同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。

水果总酚含量见图 1。25 种水果中, 李子的总酚含量 ( $1686.08 \pm 96.94 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ ) 最高, 其次是石榴 ( $1411.20 \pm 114.71 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ ) 和黄皮 ( $1407.09 \pm 65.75 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ ), 其它水果的总酚含量高低依次是番石榴 ( $1223.87 \pm 57.75 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、红葡萄 ( $1063.95 \pm 69.33 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、杨桃 ( $810.43 \pm 65.52 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、苹果 ( $677.20 \pm 37.50 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、荔枝 ( $633.01 \pm 39.17 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、杏 ( $569.18 \pm 12.82 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、橘子 ( $54.96 \pm 9.19 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、橙子 ( $515.22 \pm 9.63 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、枇杷 ( $507.54 \pm 23.01 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、猕猴桃 ( $404.54 \pm 16.46 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、龙眼 ( $393.76 \pm 35.55 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、梨 ( $262.23 \pm 25.38 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、木瓜 ( $257.22 \pm 6.52 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、菠萝 ( $240.13 \pm 6.94 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、桃子 ( $227.16 \pm 5.10 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、香蕉 ( $184.71 \pm 14.87 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、油桃 ( $176.98 \pm 16.36 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、芒果 ( $169.75 \pm 7.80 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ )、火龙果 ( $149.30 \pm 4.82 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ ) 和白甜瓜 ( $111.61 \pm 9.95 \mu\text{mol GAE}/100 \text{ g}$ ), 西瓜 ( $83.54 \pm 2.10$ )

μmol GAE/100 g)和哈密瓜(79.35±0.76 μmol GAE/100 g)的总酚含量最低,且无显著性差异(p>0.05)。

Wolfe 等人<sup>[13]</sup>对美国消费的 25 种主要水果总酚含量的测定结果表明,野生蓝莓和黑莓的总酚含量最高,瓜类(甜瓜、哈密瓜和西瓜)的总酚含量最低。李武等人<sup>[5]</sup>对我国 12 种热带水果总酚含量的测定结果表明,杨桃的总酚含量最高,鳄梨的总酚含量最低。本文与 Wolfe 等人的 15 种相同种类水果总酚含量之间的相关性极显著(R<sup>2</sup>=0.8904, p<0.01),但其中石榴、梨、菠萝、桃子、油桃和芒果的总酚含量差异较大。本文与李武等人的 8 种相同种类水果总酚含量之间的相关性极显著(R<sup>2</sup>=0.7782, p<0.01),但其中杨桃、菠萝、火龙果和芒果的总酚含量差异较大。总酚含量差异的原因可能是由于水果的产地\品种以及采摘时间和贮存时间等因素不同造成的。本文所研究的 25 种水果均在最佳采摘时间采摘于各种水果的中国主产区,采摘后于最佳食用时间进行抗增殖活性评价研究,这样可以保证所研究对象的可比较性,研究结果对消费者的指导意义也更具有确定性。

## 2.2 水果提取物对 HepG2 细胞的毒性和抑制增殖活性

水果提取物的对 HepG2 细胞的毒性和抑制增殖活性结果见表 1。由表 1 可知,25 种水果的提取物对 HepG2 细胞有毒性的浓度各不相同,本研究抗细胞增殖活性实验所用的水果系列浓度均设置在无细胞毒性的提取物浓度范围内,这样可以保证水果提取物样品的 HepG2 细胞抗增殖作用不是由其本身的细胞毒性作用引起的,而是由样品的抗肿瘤作用所引起的(以下水果提取物对 Caco-2 细胞的毒性和抑制增殖活性同此)。由表 1 还可见,李子和番石榴具有最高的抗 HepG2 细胞增殖活性,两者的抗增殖活性相近(p>0.05);葡萄的抗增殖活性次之;其它水果的抗增殖活性高低依次是荔枝>橘子~黄皮>石榴~猕猴桃>杏>苹果>杨桃>白甜瓜>橙子>哈密瓜>菠萝>油桃>龙眼>梨;枇杷、木瓜、桃子、香蕉、芒果、火龙果、西瓜和桃子的抗增殖活性很低,在本实验条件下其抗增殖 EC<sub>50</sub> 值均未测出。

表 1 25 种水果提取物抗 HepG2 细胞增殖的 EC<sub>50</sub> 值

Table 1 EC<sub>50</sub> values of 25 fruit extracts for preventing the proliferation of HepG2 cell

水果名称	EC <sub>50</sub> 值/(mg/mL)	毒性/(mg/mL)	水果名称	EC <sub>50</sub> 值/(mg/mL)	毒性/(mg/mL)
李子	18.99±0.06a	>25	哈密瓜	223.52±6.57k	>400
番石榴	20.94±0.09ab	>30	菠萝	240.41±9.78l	>400
葡萄	22.27±0.34b	>30	油桃	275.27±5.80m	>400
荔枝	26.01±0.40c	>40	龙眼	358.46±6.97n	>400
橘子	33.32±0.76d	>60	梨	389.63±10.82o	>400
黄皮	35.87±0.47d	>60	桃子	NQ	>250
石榴	45.32±1.58e	>400	枇杷	NQ	>400
猕猴桃	47.78±2.65e	>120	火龙果	NQ	>400
杏	60.47±2.03f	>80	木瓜	NQ	>400
苹果	90.96±0.94g	>120	香蕉	NQ	>400
杨桃	111.22±2.51h	>400	芒果	NQ	>400
白甜瓜	120.13±1.77i	>280	西瓜	NQ	>400
橙子	208.60±1.62j	>280			

注:没有共同字母表示差异显著(p<0.05),NQ表示水果抗增殖活性太低而在本实验条件下不能定量。

Sun 等人<sup>[4]</sup>对美国消费的 11 种主要水果抗 HepG2 细胞增殖活性 EC<sub>50</sub> 值的测定结果表明,蔓越莓的抗增殖活性最强(14.5±0.5 mg/mL),桃子的活性最弱(156.3±5.1 mg/mL)。与本文相同种类的水果中,抗 HepG2 细胞增殖活性的高低依次为苹果(49.4±1.6 mg/mL)、葡萄(71.0±2.2 mg/mL)、香蕉(110.1±2.5 mg/mL)和桃子(156.3±5.1 mg/mL),而橙子、菠萝和梨的抗增殖 EC<sub>50</sub> 值未能测出。

李武等人<sup>[5]</sup>用 MTT 法对国内的 12 种热带水果抗 HepG2 细胞增殖活性 EC<sub>50</sub> 值的测定结果表明,杨桃的抗增殖活性最强,木瓜的活性最弱。与本文相同的水果中,抗 HepG2 细胞增殖活性的高低依次为杨桃(31.79±1.12 mg/mL)、番石榴(33.60±0.76 mg/mL)、荔枝(45.12±0.89 mg/mL)、龙眼(49.87±1.17 mg/mL)、火龙果(61.62±1.62 mg/mL)、菠萝(62.69±0.91 mg/mL)、芒果(63.66±0.98 mg/mL)和木瓜(66.93±1.81

mg/mL)。

水果提取物的抗 HepG2 细胞增殖活性与其总酚含量之间的相关性极显著 ( $R^2=0.4147, p<0.01$ ) (见表 2), 但其中总酚含量相对较高的枇杷却未测出抗 HepG2 细胞增殖  $EC_{50}$  值; 白甜瓜的总酚含量相对较低, 其抗 HepG2 细胞增殖活性却较高。水果的抗增殖

活性与其总酚含量的相关性与李武等人<sup>[5]</sup>的研究结果一致, 李武等研究的 12 种热带水果抗 HepG2 细胞增殖  $IC_{50}$  值与其总酚含量之间存在显著的相关性 ( $R^2=0.8847, p<0.05$ )。而 Sun 等人<sup>[4]</sup>研究的 11 种水果抗 HepG2 细胞增殖  $EC_{50}$  值与其总酚含量之间的相关性不显著 ( $R^2=0.4150, p>0.05$ )。

表 2 水果总酚含量与抗 HepG2 和 Caco-2 细胞增殖  $EC_{50}$  值的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between the total phenolic content and  $EC_{50}$  values of fruit extracts for the prevention of proliferation of HepG2 and Caco-2 cells

		总酚含量	抗HepG2增殖 $EC_{50}$ 值	抗Caco-2增殖 $EC_{50}$ 值
总酚含量	Pearson相关性 <sup>a</sup>	1	-0.644**	-0.638*
	显著性(双侧)		0.004	0.026
抗HepG2增殖 $EC_{50}$ 值	Pearson相关性 <sup>a</sup>	-0.644**	1	0.820**
	显著性(双侧)	0.004		0.007
抗Caco-2增殖 $EC_{50}$ 值	Pearson相关性 <sup>a</sup>	-0.638*	0.820**	1
	显著性(双侧)	0.026	0.007	

注: <sup>a</sup>表示相关系数 R, \*\*表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关, \*表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

### 2.3 水果提取物对 Caco-2 细胞的毒性和抑制

#### 增殖活性

水果提取物的对 Caco-2 细胞的毒性和抑制增殖活性结果见表 3。可见, 李子具有最高的抗 Caco-2 细胞增殖活性, 荔枝的抗增殖活性次之; 其它水果的抗

增殖活性高低依次是番石榴 > 杨桃 > 葡萄 > 白甜瓜 ≈ 黄皮 > 石榴 > 枇杷 > 桃子 ≈ 梨 > 火龙果; 油桃、龙眼、木瓜、橘子、猕猴桃、杏、苹果、橙子、哈密瓜、菠萝、油桃、龙眼、木瓜、香蕉、芒果和西瓜的抗增殖活性很低, 在本实验条件下其抗增殖  $EC_{50}$  值均未测出。

表 3 25 种水果提取物抗 Caco-2 细胞增殖的  $EC_{50}$  值

Table 3  $EC_{50}$  values of the 25 fruit extracts for the prevention of proliferation of Caco-2 cells

水果名称	$EC_{50}$ 值/(mg/mL)	毒性/(mg/mL)	水果名称	$EC_{50}$ 值/(mg/mL)	毒性/(mg/mL)
李子	8.73±0.11a	>15	龙眼	NQ	>400
荔枝	11.77±0.97b	>30	木瓜	NQ	>400
番石榴	15.93±0.40c	>45	橘子	NQ	>90
杨桃	31.61±1.06d	>80	猕猴桃	NQ	>200
葡萄	59.25±2.24e	>70	杏	NQ	>60
白甜瓜	112.16±7.25f	>250	苹果	NQ	>70
黄皮	118.38±4.37f	>140	橙子	NQ	>250
石榴	158.37±7.55g	>180	哈密瓜	NQ	>120
枇杷	232.27±3.42h	>400	菠萝	NQ	>120
桃子	272.63±13.19i	>400	香蕉	NQ	>60
梨	289.09±9.66i	>400	芒果	NQ	>200
火龙果	388.07±7.04j	>400	西瓜	NQ	>180
油桃	NQ	>400			

注: 没有共同字母表示差异显著 ( $p<0.05$ ), NQ 表示水果抗增殖活性太低而在本实验条件下不能定量。

水果提取物的抗 Caco-2 细胞增殖活性与其总酚含量之间的相关性显著 ( $R^2=0.4071, p<0.05$ ) (见表 2), 但水果的总酚含量与其抗 Caco-2 细胞增殖活性强弱的顺序存在一定的差异, 如白甜瓜的总酚含量相对较

低, 但其抗 Caco-2 细胞增殖的活性却较高。

水果的抗增殖活性与其总酚含量之间虽具有显著的正相关性, 但除总酚含量以外, 水果多酚的抗增殖活性还受到多酚的组成种类(黄酮类、花青素类或酚

酸类等)及其不同酚类间的协同作用以及其他植物化学成分的影响。因此,不能单从多酚含量的高低来推测其生物学活性<sup>[4, 14]</sup>。另外,水果中某种或某类多酚的抗肿瘤活性值得进一步研究。

### 3 结论

3.1 25 种水果提取物中李子的总酚含量最高(1686.08±96.94 μmol GAE/100 g 鲜果),西瓜(83.54±2.10 μmol GAE/100 g 鲜果)和哈密瓜(79.35±0.76 μmol GAE/100 g 鲜果)的总酚含量最低。在抗增殖活性中,李子(18.99±0.06 mg/mL)和番石榴(20.94±0.09 mg/mL)抗 HepG2 细胞增殖的活性最强,梨的活性最弱(389.63±10.82 mg/mL)。李子抗 Caco-2 细胞增殖的活性最强(8.73±0.11 mg/mL),火龙果的活性最弱(388.07±7.04 mg/mL)。

3.2 水果提取物的总酚含量与其抗 HepG2 细胞增殖活性之间的相关性极显著( $R^2=0.4147$ ,  $p<0.01$ );与其抗 Caco-2 细胞增殖活性之间的相关性显著( $R^2=0.4071$ ,  $p<0.05$ ),表明水果中的多酚具有良好的抗肿瘤细胞增殖的活性。

### 参考文献

- [1] Willett W C. Balancing life-style and genomics research for disease prevention [J]. Science, 2002, 296: 695-698
- [2] Maynard M, Gunnell D, Emmett P, et al. Fruit, vegetables, and antioxidants in childhood and risk of adult cancer: the Boyd Orr cohort [J]. J Epidemiol Community Health, 2003, 57(3): 218-225
- [3] Liu R H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action [J]. J. Nutr., 2004, 134(12): 3479S-3485S
- [4] Sun J, Chu Y F, Wu X Z, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits [J]. J. Agric. Food Chem., 2002, 50: 7449-7454
- [5] 李武,李艳君,杨瑞丽.热带水果多酚提取物的抗氧化和抗增殖活性研究[J].现代食品科技,2013,29(10):2383-2387  
LI Wu, LI Yan-jun, YANG Rui-li. Antioxidant and antiproliferative activities of polyphenol extract from 12 tropical fruits [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(10): 2383-2387
- [6] 吴丹玲.三种热带水果的抗氧化及抗增殖活性研究[D].广州:华南理工大学,2011  
WU Dan-ling. Antioxidant and antiproliferative activities of three tropical fruits [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011
- [7] 姜婧.新疆石榴提取物抗肿瘤活性的基础研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2010  
JIANG Jing. Anti-tumor activity of pomegranate extract the basic research [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2010
- [8] 张琳,马龙,刘涛,等.琐琐葡萄提取物多糖、黄酮对肝癌细胞 HepG2 的增殖抑制作用[J].新疆医科大学学报,2009,32(5): 529-532  
ZHANG Lin, MA Long, LIU Tao, et al. Study on the inhibiting capacity of flavonoid and polysaccharide extracted from suosuo grape to HepG2 cells' reproductive activity [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2009, 32(5): 529-532
- [9] 郑超群,唐海阔,吕标,等.苹果多酚抑制人腺样囊性癌肺高转移细胞株增殖的体外研究[J].中华口腔医学研究杂志(电子版),2011,5(2):118-125  
ZHENG Chao-qun, TANG Hai-kuo, LV Biao, et al. Apple polyphenols inhibiting acc-m cell proliferation: result of in vitro study [J]. Chin. Stomatol. Res. (Electronic Edition), 2011, 5(2): 118-125
- [10] Requena T, Monagas M, Pozo-Bayon M A, et al. Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 10: 1-13
- [11] Clifford M N. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implication for health [J]. Planta Medica, 2004, 70: 1103-1114
- [12] Dana L F, Jie S, Liu R H. A modified methylene blue assay for accurate cell counting [J]. J. Funct. Foods, 2009, 1(1): 109-118
- [13] Wolfe K L, Kang X M, He X J, et al. Cellular antioxidant activity of common fruits [J]. J. Agric. Food Chem., 2008, 56: 8418-8426
- [14] Liu R H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action [J]. J. Nutr., 2004, 134(12 Suppl): 3479S-3485S